



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

**SUPLEMENTACIÓN CON GRANO DE SORGO A VAQUILLONAS
CONSUMIENDO UNA PASTURA TEMPLADA: EFECTO SOBRE
EL CONSUMO, EL APROVECHAMIENTO DIGESTIVO Y EL
METABOLISMO DE LA GLUCOSA**

MARTÍN AGUERRE ANTÍA

TESIS DE MAESTRIA EN NUTRICIÓN DE RUMIANTES

**URUGUAY
2010**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

**SUPLEMENTACIÓN CON GRANO DE SORGO A VAQUILLONAS
CONSUMIENDO UNA PASTURA TEMPLADA: EFECTO SOBRE
EL CONSUMO, EL APROVECHAMIENTO DIGESTIVO Y EL
METABOLISMO DE LA GLUCOSA**

MARTÍN AGUERRE ANTÍA

**José Luis Repetto, Prof. PhD
Director de Tesis**

**Cecilia Cajarville, Prof. PhD
Co-director de Tesis**

2010

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE

DEFENSA DE TESIS

Alberto Cirio; DVM, MSc, PhD
Departamento de Fisiología – Facultad de Veterinaria
Universidad de la República – Uruguay

Darío Colomatto; Ing. Agr., PhD
Departamento de Producción Animal – Facultad de Agronomía
Universidad de Buenos Aires – Argentina

Ana Meikle; DMTV, MSc, PhD
Laboratorio de Técnicas Nucleares – Facultad de Veterinaria
Universidad de la República – Uruguay

ACTA DE DEFENSA DE TESIS

La herejía fundamental del científico es pensar que entender no es necesario para aplicar.

Van Soest, 1994

A mi familia y amigos.

AGRAECIMIENTOS

A Joselo y Cecilia, por su orientación y enseñanzas, por ser mucho más que tutores...
Mi agradecimiento va mucho más allá de lo realizado en esta tesis.

A Caro, por hacerme feliz con el simple hecho de estar a mi lado. Por acompañarme en todo momento; por ser “mi cable a tierra” y un apoyo fundamental en mi vida.

A mis padres, por haberme inculcado mis valores y haberme enseñado a dar siempre lo máximo de mí para lograr mis objetivos.

A Vero y Cle, por estar y acompañarme siempre, en las buenas y en las otras...

A Vale, Gastón, Mateo, Gonzalo y Male, por alegrarme la vida.

A la barra de Nutrición y Bovinos: Ale, Analía, Coco, Alejandro, Alvaro y Natalia, por tantos momentos compartidos, por su ayuda y apoyo en el trabajo diario.

A “mis tesistas” Alvaro González, Andrés Cabrera, Cecilia Acosta, Giorella Pinaccio, Gustavo Persak, Ignacio Cuitiño, Leandro Assandri, Rafael Vera, Rosina Carbone y Vanesa Machado, por la invaluable ayuda en la realización de este trabajo.

A Mariana Carriquiry y Ana Laura Astessiano, por su ayuda y dedicación en el análisis e interpretación de los “datos de metabolismo”.

A Gilberto V. Kozloski, Fernanda Hentz y demás integrantes del Laboratorio de Bromatología y Nutrición de Rumiantes de la Universidad Federal de Santa María, por haberme hecho sentir como en casa.

A Mónica Cadenazzi, por su aporte al análisis estadístico de los resultados.

A Elena de Torres y todos los funcionarios del Campo Experimental N°2 de Libertad, por su disposición y ayuda en los trabajos de campo.

A CALCAR, DINACYT y CSIC-UdelaR por el apoyo a la realización de esta maestría.

A todos ustedes, MUCHAS GRACIAS.

INDICE DE CONTENIDOS

	página
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.....	3
Efecto de la inclusión de concentrados energéticos sobre el consumo, ambiente ruminal, aprovechamiento digestivo y aspectos vinculados al uso de la glucosa de animales consumiendo pasturas templadas de alta calidad	3
Efecto de la suplementación sobre el consumo	3
Efecto de la suplementación sobre el ambiente ruminal	7
Efecto de la suplementación sobre la digestibilidad de la Materia Orgánica y de la Fibra de la dieta	9
Efecto de la suplementación sobre la síntesis de proteína microbiana en rumen y el aprovechamiento del nitrógeno	12
Efecto de la suplementación sobre parámetros metabólicos y de expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa	14
En resumen	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS.....	24
DISCUSIÓN.....	31
CONCLUSIONES.....	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
ANEXO.....	45

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	página
Cuadro I. Composición química de los alimentos consumidos por los animales durante el ensayo	20
Cuadro II. Primers usados para la cuantificación de los genes de interés y el control endógeno	23
Cuadro III. Composición química, nivel de FND proveniente de forraje y porcentaje de MO digestible de las dietas consumidas por vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo	24
Cuadro IV. Consumo y digestibilidad de la MS y de los de componentes no nitrogenados de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo	25
Cuadro V. Consumo, digestibilidad de las fracciones nitrogenadas, retención de nitrógeno y síntesis de proteína microbiana de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo	28
Figura 1. Dinámica de pH (A) y de N-NH ₃ (mg/dL) (B) ruminal de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada (S0) y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo (S0,5, S1,0 y S1,5, respectivamente), (medias ± desvío estándar; n = 4). La hora 0 indica el momento de la suplementación.	26
Figura 2. Dinámica de glucosa (g/dL) (A), insulina (uUI/mL) (B) y glucagón (uUI/mL) (C) de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada (S0) y suplementadas con grano de sorgo molido a nivel del 1,5% de su peso vivo (S1,5), (medias ± desvío estándar; n = 6). La hora 0 indica el momento de la suplementación.	29
Figura 3. Expresión hepática de los genes del receptor de insulina (IR), piruvato carboxilasa (PC) y fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PCK-1), relativa al gen de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HPRT), de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada (S0) y suplementadas con grano de sorgo molido a nivel del 1,5% de su peso vivo (S1,5), (medias ± desvío estándar; n = 6). * P < 0.01.	30

ABREVIATURAS

AGV:	ácidos grasos volátiles
ALM:	almidón
A/P	acético/propiónico
CHFF:	carbohidratos de fácil fermentación
CNF:	carbohidratos no fibrosos
CMOD:	consumo de materia orgánica digestible
DI:	digestibilidad intestinal
DR:	digestibilidad ruminal
DT:	digestibilidad total
ESPM:	eficiencia de síntesis de proteína microbiana
EUN:	eficiencia de uso del nitrógeno en rumen
FAD:	fibra ácido detergente
FND:	fibra neutro detergente
FNDf:	fibra neutro detergente proveniente de forraje
HPRT:	hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa
IR:	receptor de insulina
MO:	materia orgánica
MS:	materia seca
N:	nitrógeno
NNA:	nitrógeno no amoniacal
NI:	nitrógeno ingerido
NM:	nitrógeno microbiano
N-NH ₃ :	nitrógeno amoniacal
PB:	proteína bruta
PC:	piruvato carboxilasa
PCK-1:	fosfoenolpiruvato carboxikinasa-1
PV:	peso vivo
RIA:	radioinmunoanálisis
SPM:	síntesis de proteína microbiana
S0:	tratamiento sin suplementación
S0,5:	tratamiento suplementado al 0,5% del PV
S1,0:	tratamiento suplementado al 1,0% del PV
S1,5:	tratamiento suplementado al 1,5% del PV
TS:	tasa de sustitución

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de grano de sorgo en dietas de bovinos consumiendo pasturas templadas de buena calidad sobre el consumo, ambiente ruminal, aprovechamiento digestivo y aspectos vinculados al uso de la glucosa. Veinticuatro vaquillonas, alimentadas en base a un forraje templado, fueron no suplementados (S0) o suplementados con grano de sorgo al 0,5, 1,0 y 1,5% del PV (S0,5, S1,0 y S1,5, respectivamente). El consumo, la dinámica de pH y N-NH₃ en rumen, la digestibilidad de las distintas fracciones de la dieta, la retención de nitrógeno, la síntesis de proteína microbiana en rumen, la dinámica de glucosa, insulina y glucagón en sangre y la expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa, fueron determinados. El consumo de MS y MO total, el consumo de MO digestible (CMOD) y la digestibilidad de la MS y MO aumentaron con la suplementación, el aumento en los niveles de inclusión del grano no tuvo efecto sobre estas variables. La digestibilidad de la FND y FAD no se vio afectada por ninguno de los tratamientos, mientras que para el almidón se encontró una tendencia a una disminución en la digestibilidad por el aumento del nivel de inclusión del grano. La suplementación repercutió en una disminución del pH ruminal, esta disminución fue lineal al nivel de inclusión del grano. Los valores medios de N-NH₃ no fueron afectados por los tratamientos. Los animales del grupo S0 retuvieron menos nitrógeno que los animales suplementados, el nivel de suplementación no afectó esta variable. La suplementación determinó un aumento en la síntesis de proteína microbiana (SPM) respecto a los animales del grupo S0. Sin embargo, la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (ESPM) fue máxima para los animales del grupo S0. La SPM se correlacionó positivamente con el consumo de MO total y con el CMOD. Sin embargo, la ESPM se correlacionó negativamente con estas variables. Los valores medios de glucosa e insulina fueron mayores y los de glucagón menores para el grupo S1,5 respecto al S0. La glucosa tendió a correlacionarse con el consumo de almidón digestible. Los niveles de insulina y glucagón se correlacionaron entre sí. La insulina se correlacionó con el consumo de MO total, con el CMOD, y con el consumo de almidón digestible. Ni la expresión de ARNm del receptor de insulina ni la de la piruvato carboxilasa en hígado varió por la inclusión del concentrado en la dieta. Mientras que la expresión de ARNm de fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PCK-1) fue mayor en el grupo S0, correlacionándose negativamente a los niveles de insulina en sangre. La suplementación determinó un aumento en el consumo, en la digestibilidad de la MS y MO, en la SPM y una disminución en la ESPM. Estos cambios parecen obedecer a la inclusión del grano y no al nivel del mismo en la dieta. La suplementación al 1,5% del PV determinó un mayor anabolismo en los animales de este grupo respecto a los animales del grupo S0.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effects of sorghum grain supplementation of heifers consuming good quality temperate pastures on intake, ruminal environment, digestive utilization, metabolic parameters, and hepatic expression of genes related to glucose metabolism. Twenty four crossbred heifers housed in metabolic crates were non-supplemented (S0) or supplemented with sorghum grain at 5, 10 or 15 g/kg of their BW (S0.5, S1.0 y S1.5, respectively). After an adaptation period, intake, ruminal pH and N-NH₃ dynamics, digestibility of different fractions of the diet, nitrogen retention, microbial protein synthesis, glucose, insulin and glucagon dynamics, and hepatic expression of genes related to glucose metabolism, were measured. Total DM and OM intake, digestible OM intake (DOMI) and DM and OM digestibility increased with sorghum grain supplementation, but no effects of grain inclusion levels were found on those variables. NDF and ADF digestibility was not affected by treatment, whereas starch digestibility tended to decrease as sorghum grain supplementation increased. Ruminal pH decreased with grain supplementation, which was linearly related to grain inclusion in the diet. Ruminal N-NH₃ dynamics were not affected by treatments. Nitrogen retention of S0 group was lower than supplemented groups, and was not affected by sorghum level in the diet. Sorghum grain supplementation led to higher microbial protein synthesis than S0 group. However, microbial protein synthesis efficiency (MPSE), expressed in terms of energy, was highest for animals in S0 group. The microbial protein synthesis was positively correlated with total OM intake and with DOMI. However, MPSE was negatively correlated with these variables. Glucose and insulin were higher and glucagon was lower in S1.5 group than in S0 group. Glucose tended to be correlated with digestible starch intake. Insulin and glucagon were correlated with each other. Insulin was correlated with total OM intake, with DOMI, and with digestible starch intake. Neither insulin receptor nor pyruvate carboxylase RNAm hepatic expression varied with the inclusion of concentrate in the diet, while phosphoenolpyruvate carboxykinase (PCK-1) RNAm hepatic expression was higher in S0 group than in supplemented groups. Phosphoenolpyruvate carboxykinase RNAm hepatic expression was negatively correlated to insulin levels in blood. In conclusion, sorghum grain supplementation increased total DM and OM intake, DM and OM digestibility and microbial protein synthesis, but decreased MPSE, expressed in terms of energy. Those changes seemed to be related to grain inclusion in the diet and not to the level of inclusion. Supplementation at 1.5% of BW revealed a greater anabolism respect to the animals in S0 group.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la producción de carne y leche en el Uruguay así como sus precios han tenido un fuerte incremento. En la última década la producción de carne vacuna aumentó un 17% (Oyhantçal et al. 2009) y la faena un 27%, con precios de exportación que pasaron de 2046 a 2885 U\$S por tonelada de canal, lo que significa un aumento del 40% (INAC, 2009). En el rubro lechero, la entrada de leche a plantas industrializadoras aumentó entre el 2002 y el 2009 más de un 30%, pasando de 1060 a 1396 millones de litros. A su vez, los precios que en 2002 promediaron los 11,2 centavos de dólar, presentaron un incremento paulatino hasta llegar a un máximo histórico de 43,6 centavos de dólar en junio de 2008 (Vidal & Ilundin, 2002; Vidal, 2009). Según Oyhantçal et al. (2009) y Vidal (2009), las perspectivas para el futuro próximo señalan un escenario favorable para la producción tanto de carne como de leche.

El mencionado crecimiento, se dió en el marco de un aumento muy importante de la forestación y de la agricultura. Esta última pasó de 622 mil hectáreas sembradas en la zafra 2001-2002 a 1560 mil en la zafra 2008-2009 (DIEA 2009a), lo cual provocó una aumento muy importante de la competencia y del precio de la tierra. Es así que el valor medio de la tierra en Uruguay ha aumentado de manera ininterrumpida a partir de 2003, superando en el último semestre de 2009 en dos veces y media el valor promedio del período 2000-2009 (2299 vs 923 U\$S/ha, respectivamente) (DIEA, 2009b). Esto ha llevado a que, para poder competir, los sistemas de producción pecuarios estén en un permanente proceso de intensificación, donde el incremento de la producción individual y por hectárea determina que el manejo de la alimentación y la suplementación con granos de cereales cada vez tome mayor importancia.

En un relevamiento de 25 años de estudios publicados en el *Journal of Dairy Science*, Eastridge (2006) reporta que en este período, la producción individual por vaca ha tenido un fuerte incremento, lo que ha llevado a un aumento en los requerimientos por parte de los animales, lo cual no fue acompañado por un aumento de similares características en la capacidad de consumo. Según Eastridge (2006), ésto ha conducido a la necesidad de aumentar la concentración de nutrientes en las dietas, y a la búsqueda por parte de los investigadores de alternativas que permitan aumentar la eficiencia de conversión y la salud de los animales, mediante mejoras de la calidad de los alimentos, la digestibilidad de la dieta y el aumento de la eficiencia de la fermentación ruminal, entre otros factores. Esta realidad no escapa al Uruguay donde en los últimos 10 años la producción por lactancia aumentó un 20% y la edad a faena disminuyó significativamente (DIEA, 2009a), con lo cual los desafíos y necesidades que se plantean para nuestra realidad parecen ir en la misma línea de lo expuesto por Eastridge (2006).

Las pasturas templadas de alta calidad son una excelente fuente de nutrientes a bajo costo utilizada para la alimentación de rumiantes. La materia orgánica (MO) y las fracciones nitrogenadas de este tipo de pasturas son altamente degradadas en rumen (Hoffman et al. 1993; Elizalde et al. 1999b; Bargo et al. 2003; Repetto et al. 2005). Sin embargo, su concentración energética en adición a sus altos contenidos de humedad y fibra puede resultar en bajos consumos de materia seca (MS) y energía por parte de los animales (NRC, 1996; NRC, 2001). La suplementación con granos de cereales a animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad es una medida que

generalmente repercute en un aumento del consumo de MS total y de la digestibilidad de la dieta, lo cual normalmente se traduce en incrementos en la producción por parte de los animales ((Dixon & Stockdale, 1999; Elizalde et al. 1999a; Bargo et al. 2002; Bargo et al. 2003).

Trabajos realizados a nivel nacional muestran impactos productivos importantes por el uso estratégico de concentrados en animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad (Vaz Martins, 1997; Simeone & Beretta, 2005a; Simeone & Beretta, 2005b). Teóricamente, dado que las pasturas templadas de alta calidad son un alimento rico en proteína muy degradable en rumen, la adición de un grano rico en energía complementaría la dieta y de esa manera mejoraría el uso global de los nutrientes y la eficiencia alimenticia. Sin embargo, Dumestre & Rodriguez (1995) plantean que sobre este tipo de pasturas la suplementación con niveles mayores al 0,5% del PV no redundan en aumentos de la ganancia de PV. Vaz Martins (1997) plantea que la respuesta a la suplementación se da cuando el nivel de asignación de forraje no sobrepasa el 2,5% del PV y el suplemento no representa más del 1% del PV. García López et al. (2008) no encontraron efecto de la suplementación, ni interacción entre el suplemento y la asignación de forraje, sobre la ganancia de peso de novillos consumiendo una pastura templada a diferentes asignaciones y suplementados a razón del 1% del PV. Estos resultados coinciden con algunas observaciones empíricas comunicadas por asesores y productores, quienes marcan que los resultados que se obtienen con la suplementación de pasturas templadas de buena calidad con granos de cereales, son muy variables y no siempre repercuten en mejoras productivas.

Si bien hay disponible una amplia fuente de información generada a nivel nacional acerca del efecto a nivel productivo de la suplementación, poco se ha profundizado en la búsqueda de respuestas que permitan explicar estos resultados. Es así que el presente trabajo busca profundizar en cómo la inclusión de grano de sorgo como suplemento de bovinos consumiendo pasturas templadas de buena calidad afecta el consumo, el ambiente ruminal, el aprovechamiento digestivo de la dieta y diversos aspectos vinculados al uso de la glucosa, con el fin de poder entender más profundamente como interaccionan estos dos alimentos.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Efecto de la inclusión de concentrados energéticos sobre el consumo, ambiente ruminal, aprovechamiento digestivo y aspectos vinculados al uso de la glucosa de animales consumiendo pasturas templadas de alta calidad

Las pasturas templadas de buena calidad, como son las praderas mezcla de gramíneas y leguminosas y los verdeos, son ampliamente utilizadas en los sistemas intensivos y semi-intensivos de producción de bovinos y ovinos en Uruguay. Este tipo de pasturas son una excelente fuente de nutrientes a bajo costo utilizada para la alimentación de rumiantes. Según Bargo et al. (2003), contienen entre un 18 y 24% de materia seca (MS), 18 a 25% de proteína bruta (PB), 40 a 45% de fibra neutro detergente (FND) y de 1,53 a 1,67 Mcal/kgMS de energía neta de lactación. La MO y las fracciones nitrogenadas de este tipo de pasturas son altamente degradadas en rumen (Hoffman et al. 1993; Elizalde et al. 1999b; Bargo et al. 2003; Repetto et al. 2005). Sin embargo, la concentración energética de este tipo de alimentos, en adición a sus altos contenidos de humedad y fibra puede resultar en bajos consumos de MS y energía (NRC, 1996; NRC, 2001). Ésto, junto a las fluctuaciones en la disponibilidad de forraje que se dan en las diferentes épocas del año, ha llevado al desarrollo de sistemas de alimentación que combinan pasturas y cantidades variables de suplemento en la dieta.

Cuando granos de cereales son incluidos como suplemento a pasturas templadas de buena calidad, interacciones entre los alimentos pueden ocurrir. Estas interacciones pueden repercutir en cambios en el consumo y en el ambiente ruminal lo que podría llevar a variaciones en la cantidad de proteína microbiana que llegan a duodeno. La digestibilidad total de la dieta puede variar, lo mismo que la digestibilidad de las distintas fracciones del alimento. La magnitud de estos cambios será pues la que determine el efecto de la inclusión del concentrado en el aprovechamiento digestivo total de la dieta y el efecto a nivel productivo que tenga la suplementación (Dixon & Stockdale, 1999; Stockdale, 2000a, Bargo et al. 2003).

1. Efecto de la suplementación sobre el consumo

El consumo de alimento aparece como uno de los factores más importante que determina la performance animal. En situaciones de disponibilidad de pastura no limitantes (kgMS/ha), el consumo de forraje es dependiente de la calidad y de la disponibilidad de forraje por animal (Hoover, 1986; Stockdale, 2000a; Vazquez & Smith, 2000; Bargo et al. 2002; Bargo et al. 2003). Bargo et al. (2002), reportan un aumento de consumo de 17,5 a 20,5 kgMS/día en vacas lecheras, cuando la disponibilidad de forraje por animal pasó de 25 a 40 kgMS/vaca/día. En el mismo sentido, Stockdale (2000b) reporta un aumento en el consumo de MS del 35% cuando la disponibilidad de pastura por animal se duplicó, pasando de 27 a 54 kgMS/vaca/día. Tras revisar un gran número de trabajos Bargo et al. (2003) concluye que para maximizar el consumo de MS de animales consumiendo pastura templadas como único alimento, la oferta de forraje por animal debería ser de 3 a 5 veces más que su consumo potencial. Sin embargo, Kolver & Muller, (1998) estudiando el consumo y nivel de producción de vacas lecheras, consumiendo una pastura de buena calidad como único alimento, o recibiendo una dieta totalmente mezclada (TMR), concluyen que la producción de leche en el grupo consumiendo pasto está limitada debido al bajo consumo de energía que se logra con la pastura. Según estos autores, las diferencias en

el consumo de materia seca, más que la concentración energética de la pastura, aparece como el factor más importante que determina el consumo de energía en los animales consumiendo pastura de buena calidad como único alimento (Kolver & Muller, 1998).

Varios trabajos realizados sobre animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad, muestran un incremento en el consumo de MS total cuando se incluyen concentrados energéticos en la dieta (Vazquez & Smith, 2000; Bargo et al. 2002; Bargo et al. 2003), este incremento es mayor cuanto mayor es el nivel de suplementación (Elizalde et al. 1999a; Reis & Combs, 2000; Sairanen et al. 2005). Según Dixon & Stockdale, (1999), cuando se suplementa forrajes con granos efectos asociativos entre los alimentos, que incluyen cambios en el consumo y en la digestibilidad de la dieta, pueden ocurrir. La suplementación de pasturas templadas con concentrados en base a granos normalmente repercute en una disminución del consumo de forraje (Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999a; Vazquez & Smith, 2000; Reis & Combs, 2000; Bargo et al. 2002; Bargo et al. 2003; Sairanen et al. 2005; Azevedo do Amaral, 2008). Este efecto se conoce como sustitución, la tasa de sustitución (TS) es calculada como: $TS (kg/kg) = (A-B)/C$, donde A representa el consumo de MS de forraje del grupo sin suplemento, B el consumo de MS de forraje del grupo suplementado y C los kg de suplemento consumido por los animales. Cuando la TS es menor que 1, el consumo total del grupo suplementado es mayor al del grupo sin suplementar. Cuando es igual a 1, no hay diferencias entre el consumo del grupo sin suplementar y del suplementado. Tasas de sustitución mayores 1, denotan que la suplementación repercute en caídas de consumo total respecto al grupo sin suplementar. Según Dixon & Stockdale (1999) esto ocurre cuando se dan efectos asociativos negativos entre alimentos que limitan el crecimiento microbiano y la digestión de la fibra. Tasas de sustitución negativas resultan de efectos asociativos positivos entre el forraje y el suplemento suministrado, de forma tal que el consumo de forraje resulta mayor en el grupo suplementado (Dixon & Stockdale, 1999). Se desprende de lo antes planteado que la TS explica en gran parte la respuesta a la suplementación por parte de los animales. Normalmente hay un efecto inverso entre TS y respuesta a la suplementación, altas TS resultan en pequeños incrementos en el consumo total con lo cual la respuesta a la suplementación es baja (Stockdale, 2000a; Bargo et al. 2003, Forbes, 2007a).

Varios factores afectan la TS en bovinos y ovinos, entre ellos se encuentran factores asociados a la pastura, al suplemento y al animal. Dentro de los factores asociados a la pastura, la calidad de la misma, la disponibilidad por animal, la altura y la masa de forraje han demostrado tener efecto en la TS. A su vez, la cantidad y tipo de suplemento, así como el merito genético y el nivel de producción de los animales, también determinan la TS. (Dixon & Stockdale, 1999; Bargo et al. 2003). Cuando se suplementa con granos a rumiantes, la disminución en el consumo de forraje es mayor cuanto mayor es la calidad del forraje ofrecido al animal (Dixson & Stockdale, 1999; Stockdale, 2000a; Forbes, 2007a). De igual forma, la suplementación de bovinos y ovinos consumiendo pasturas a baja disponibilidad por animal, repercute en menores TS que cuando se suplementa a animales consumiendo pasturas a altas disponibilidades (Dixon & Stockdale, 1999; Stockdale, 2000a; Bargo et al. 2003). Stockdale (2000a), plantea que hay una relación simple entre la TS y el consumo de forraje del grupo sin suplementar, esta relación indica que la TS aumenta en 0,21 por cada kg adicional de pasto ingerido, expresado como %PV, en el grupo sin suplemento.

Bargo et al. (2002), estudiando el efecto de la inclusión de concentrado en vacas lecheras consumiendo una pastura templada a dos disponibilidades, 25 y 40 kgMS/animal/día, reportan una menor TS cuando se suplementó los animales a baja disponibilidad de forraje (0,26 y 0,55, respectivamente). El consumo total de alimento no difirió entre ambos grupos suplementados con lo cual la respuesta a la suplementación fue mayor en el grupo suplementado a baja disponibilidad de pastura (Bargo et al. 2002). McEvoy et al. (2008), estudiando el efecto de la inclusión de concentrado en animales consumiendo una pastura templada con disponibilidades de 13 y 17 kg/MS/animal, no encontraron sustitución a ninguna de las 2 disponibilidades al suplementar con 3 kg de concentrado, sin embargo, cuando el concentrado se incrementó a 6 kg/animal la TS fue mayor cuanto mayor disponibilidad de pastura tenían los animales (0,19 vs 0,39). Los autores justifican las bajas TS encontradas en su trabajo debido al bajo nivel de forraje disponible por animal (McEvoy et al. 2008). Según Dixon & Stockdale, (1999), de los factores relacionados a la pastura, el consumo voluntario de forraje, dado por la disponibilidad de forraje por animal, parece tener mayor relevancia en la determinación de la TS que la calidad de la pastura.

El tipo de suplemento influye en la TS y en la respuesta a la suplementación. De manera general, la suplementación con forrajes, provoca caídas en el consumo de pasto mayores que la suplementación con concentrados (Stockdale, 2000a, Bargo et al. 2003). Sin embargo, en algunas ocasiones la suplementación con concentrados puede provocar mayores TS respecto a la suplementación con forrajes, esto puede ser debido al desarrollo de disturbios ruminales, como la acidosis sub-clínica, que afecten la degradación de la fibra (Stockdale, 2000a). Según Bargo et al. (2003), no hay información suficiente que permita concluir si la suplementación con concentrados de tipo fibroso o almidonoso tiene efectos diferentes en la TS. Stockdale (2000a), reporta que no se ha podido encontrar diferencias en la TS según distintos concentrados utilizados para la suplementación de rumiantes.

La cantidad de concentrado incluido en dietas de animales consumiendo pastura templada de buena calidad, influye sobre la TS (Stockdale, 2000a; Reis & Combs, 2000; Sairanen et al. 2005; Forbes, 2007a; McEvoy et al. 2008). Según Stockdale (2000a), la TS aumenta 0,03 kgMS por cada kg de suplemento adicional consumido. Reis & Combs (2000), estudiando el efecto de la inclusión de niveles crecientes de un concentrado en base a maíz en vacas lecheras consumiendo un forraje templado de buena calidad, reportan una disminución lineal en el consumo de MS de forraje con aumentos lineales en el consumo de MS total. La TS para animales suplementados con 5 kg de concentrado fue de 0,24, mientras que cuando se aumentó los niveles de suplementación a 10 kg por animal la TS aumentó a 0,41 (Reis & Combs, 2000). En el mismo sentido, Sairanen et al. (2005) reportan un aumento de 0,24 a 0,73 en la TS cuando se suplementó vacas lecheras consumiendo un forraje templado de alta calidad con 3 y 6 kg de concentrado por animal. McEvoy et al. (2008), reportan aumentos en la TS cuando se incremento el nivel de concentrado en la dieta de 3 a 6 kg en animales consumiendo pastura de buena calidad a 2 disponibilidades diferentes. Sin embargo, Elizalde et al. (1999a), trabajando con novillos consumiendo alfalfa fresca en estado vegetativo e incluyendo grano de maíz a razón del 0,4, 0,8 y 1,2% del peso vivo, reportan una TS de 0,85, 0,70 y 0,76, respectivamente. El aumento en el nivel de suplemento determinó una disminución lineal en el consumo de MO de forraje, con aumentos lineales en el consumo de MO total, lo que no se tradujo en diferencias en la

TS. Los autores atribuyen las altas TS encontradas en su trabajo a la buena calidad del forraje utilizado como alimento base (Elizalde et al. 1999a).

Varias teorías se han planteado con el fin de explicar porque se da una sustitución cuando se suplementa con granos a animales consumiendo pasturas de buena calidad. Dixon & Stockdale (1999), plantean que la inclusión de concentrados energéticos en dietas basadas en forraje pueden provocar caídas en el pH ruminal, disminuir la actividad de la flora celulolítica en rumen y disminuir la tasa de degradación de la fibra, lo cual podría ser la explicación de la disminución en el consumo de forraje. Bajo esta hipótesis, pequeñas cantidades de concentrado o el uso de concentrados de baja tasa de degradación ruminal resultarían en menores TS (Bargo et al. 2003). Otra teoría que se plantea para explicar la TS está relacionada al comportamiento ingestivo en pastoreo. Según esta teoría, la inclusión de concentrado en la dieta reduce el tiempo efectivo de pastoreo por parte de los animales, lo que explicaría las reducciones en el consumo de forraje. Según Bargo et al. (2003) el nivel de suplemento no afecta la tasa ni la masa de bocado, pero sí reduce el tiempo de pastoreo en 12 minutos por kg de concentrado incluido en la dieta. Bargo et al. (2002) estudiando el efecto de la asignación de forraje por animal y de la suplementación sobre el consumo, encontró que la inclusión de concentrado en la dieta afectó tanto la tasa de digestión de la fibra como el tiempo de pastoreo, y que esos efectos fueron más marcados a altas disponibilidades de forraje por animal. Según estos autores, a bajas disponibilidades de forraje la disminución en el tiempo de pastoreo explica en un 100% la disminución en el consumo de forraje por parte de los animales suplementados. Sin embargo, a altas disponibilidades de forraje por animal la disminución del tiempo de pastoreo explica un 80% de la reducción del consumo de forraje, mientras que el 20% restante estaría explicado por una reducción en la tasa de degradación de la fibra (Bargo et al. 2002). Otros autores, relacionan la TS al estatus energético del animal. Según esta teoría, cuando el consumo de energía es bajo respecto a los requerimientos del animal, la TS se minimiza (Sairanen et al. 2005; Forbes, 2007a; McEvoy et al. 2008).

Una teoría más completa y que integra varios aspectos relacionados a la regulación del consumo es la planteada por Forbes (2007b). Este autor plantea la teoría de la regulación del consumo según “el mínimo disconfort”. Manifiesta que la regulación del consumo no está dominada por un único factor, sino que es de carácter multifactorial. Plantea que el consumo está determinado por la integración en el sistema nervioso central de diversas señales como el grado de distensión visceral, el nivel y proporción de nutrientes en la dieta, el nivel y proporción de ácidos grasos volátiles (AGV) en rumen, el estatus energético y factores externos, como el clima o el comportamiento animal. Cada uno de estos factores, cuando se aleja de un nivel “óptimo”, genera lo que el autor llama un “disconfort”. Es así que un “disconfort” se genera por ejemplo, ante la deficiencia o exceso de algún nutriente, ante la distensión visceral, por cambios en el comportamiento ingestivo o por factores sociales. La suma del “disconfort” creado por cada factor genera un “disconfort total”, que el animal tiende a minimizar en su regulación del consumo. Esta teoría que abarca un amplio espectro de factores que se sabe afectan el consumo, parecería ser la más adecuada para explicar las variaciones en la TS al incluir un concentrado en la dieta.

2. Efecto de la suplementación sobre el ambiente ruminal

El ambiente ruminal de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad se caracteriza por tener valores medios de pH entre 6,0 y 6,8, niveles de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) variables, que promedian los 20 mg/dL y que pueden llegar a niveles que sobrepasan los 30 mg/dL. Los AGV alcanzan concentraciones entre 100 y 120 mmol/L, con relaciones acético/propiónico (A/P) de 3,5-4,0/1 (Bargo et al. 2003). El efecto de la inclusión de concentrados energéticos sobre el ambiente ruminal de animales consumiendo pasturas templadas de alta calidad fue estudiado por varios autores (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999a; Reis & Combs, 2000; García et al. 2000; Bargo et al. 2002; Sairanen et al. 2005; Cajarville et al. 2006; Azevedo do Amaral, 2008; Tebot, 2008).

El efecto que la inclusión de concentrados tiene sobre el pH ruminal de animales consumiendo pasturas templadas de alta calidad no es consistente. Mientras que algunos trabajos reportan una disminución en el pH (Elizalde et al. 1999a; Bargo et al. 2002; Sairanen et al. 2005; Cajarville et al. 2006; Tebot, 2008), otros no encuentran cambios por la inclusión de concentrados sobre este tipo de pasturas (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996; Reis & Combs, 2000; García et al. 2000, Azevedo do Amaral, 2008). Kolver & de Veth (2002) reportan que el pH ruminal en animales consumiendo dietas basadas en forraje fresco de buena calidad está relacionado negativamente a los niveles de AGV en rumen. En este sentido, Elizalde et al. (1999a) estudiando el efecto de la inclusión de niveles crecientes de grano de maíz en novillos consumiendo alfalfa en estado vegetativo, reportan una disminución lineal del pH ruminal y una relación lineal negativa entre esta variable y la concentración total de AGV en rumen. Sin embargo, Sairanen et al. (2005) reportan una disminución lineal del pH ruminal desde 6,41 a 6,17 por la inclusión de niveles crecientes de concentrado en la dieta de vacas lecheras en producción sin encontrar cambios en la concentración de AGV totales en rumen. En otro sentido, García et al. (2000) no encontraron cambios en los valores de pH ruminal de animales consumiendo avena en estado vegetativo y suplementados o no a razón del 30% de la dieta con grano de maíz o cebada. Este resultado concuerda con una similar cantidad de materia orgánica fermentada en rumen y con una similar concentración de AGV totales entre los tratamientos (García et al. 2000). Reis & Combs (2000) tampoco encontraron diferencias y reportan valores medios de pH llamativamente altos (media 6,68) al incrementar los niveles de inclusión de concentrado hasta el 50% de la dieta total de vacas consumiendo una pastura templada de alta calidad. Según Bargo et al. (2003), la falta de consistencia de los efectos de la cantidad de concentrado en la dieta sobre el pH ruminal en animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad, sugiere que no hay una relación directa entre la cantidad de concentrado y esta variable. Kolver & de Veth (2002) plantean que debido a la naturaleza multifactorial de la regulación del pH una sola variable relacionada a la dieta no puede ser capaz de explicar las variaciones en el pH ruminal de animales consumiendo dietas basadas en forrajes frescos de buena calidad. Probablemente otros factores como el nivel de consumo, el nivel de fibra efectiva en la dieta, el manejo y la adaptación de los animales a la dieta, estén actuando y puedan ayudar a explicar la variación en estos resultados

Son varios los trabajos que reportan una disminución en los valores medios de N-NH₃ en rumen cuando se suplementa con concentrados energéticos a animales consumiendo pastura templada de buena calidad; esta disminución es mayor cuanto

mayor es la inclusión del concentrado en la dieta (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999b; Reis & Combs, 2000; García et al. 2000, Bargo et al. 2002; Sairanen et al. 2005; Azevedo do Amaral, 2008). Según estos autores, la caída en los niveles de N-NH₃ en rumen es explicada por su mayor captación para la síntesis microbiana en rumen (Bargo et al. 2002; Sairanen et al. 2005), por una reducción en el consumo de nitrógeno proveniente del forraje y del nitrógeno total en la dieta (Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000; Azevedo do Amaral, 2008), o por la combinación de ambos efectos (Berzaghi et al. 1996; Reis & Combs, 2000). En todos los trabajos citados los niveles de N-NH₃ en rumen para todos los tratamientos estuvieron por encima de los niveles mínimos reportados como necesarios para maximizar el crecimiento microbiano en rumen (Hoover, 1986). Por lo tanto, en animales consumiendo este tipo de dietas los niveles de N-NH₃ no serían un factor limitante para el crecimiento microbiano.

En varios trabajos reportados, la suplementación de pasturas templadas de buena calidad con concentrados energéticos no varió los niveles de AGV totales respecto al grupo sin suplementar (Berzaghi et al. 1996; García et al. 2000; Reis & Combs, 2000; Sairanen et al. 2005). Bargo et al. (2002), reportan que la variación en los niveles de AGV totales en animales consumiendo forraje fresco de buena calidad es dependiente de la disponibilidad de pastura por animal. Estos autores encontraron incrementos en los niveles de AGV en rumen cuando se suplementó a animales consumiendo forraje con baja disponibilidad, pero cuando aumentó la disponibilidad de forraje por animal los niveles de AGV totales no se modificaron (Bargo et al. 2002). Reis & Combs (2000), aumentando la inclusión de maíz hasta un 50% de la dieta total, y Sairanen et al. (2005), aumentando los niveles de concentrado hasta un 25% de la dieta total, reportan niveles de AGV totales próximos a 110 y 130 mmol/L, respectivamente, no encontrando cambios según los tratamientos. En el mismo sentido, Jones-Endsley et al. (1997) no encontraron cambios en el nivel de AGV totales de animales consumiendo una pastura mezcla de gramíneas y leguminosas, cuando se incrementó los niveles de concentrado del 30 al 40% de la dieta. Sin embargo, Elizalde et al. (1999b) reportan un leve pero significativo incremento, desde 90 a 94 mmol/L, en los niveles de AGV totales conforme se incrementó el nivel de suplementación con maíz hasta niveles del 1,2% del PV en animales consumiendo alfalfa. Los resultados encontrados por los diversos autores podrían ser explicados por la alta proporción de fibra soluble y la alta degradabilidad de la fibra de este tipo de pasturas (Kolver & de Veth, 2002), las que determinan elevados niveles de AGV en rumen de los animales que las consumen como único alimento. Si bien la inclusión de concentrados en la dieta no afecta mayormente la producción de AGV totales en rumen, ésta si repercute en modificaciones en el perfil de AGV en el fluido ruminal. La relación A/P disminuye, debido a una disminución en los niveles de ácido acético (Sairanen et al. 2005), a aumentos en los niveles de ácido propiónico (Berzaghi et al. 1996; Reis & Combs, 2000, Bargo et al. 2002) o por la combinación de ambos efectos (Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000). Estas modificaciones son mayores cuanto mayor es el nivel de inclusión del concentrado en la dieta (Elizalde et al. 1999b; Reis & Combs, 2000; Sairanen et al. 2005). Las causas de esta alteración en el perfil de AGV estarían determinadas por la variación en la proporción de carbohidratos estructurales y no estructurales (almidón) que se da en la dieta al incluir los concentrados.

En resumen, la inclusión de concentrados en dietas de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad, no ha demostrado tener un efecto consistente

sobre el pH ruminal, sin embargo determina una caída en la concentración de N-NH₃ en rumen. Si bien la producción de AGV totales no se modifica mayormente, el perfil de AGV en rumen se altera, disminuyendo la relación A/P.

3. Efecto de la suplementación sobre la digestibilidad de la Materia Orgánica y de la Fibra de la dieta

Debido a que usualmente los concentrados presentan mayor digestibilidad de la MO que el forraje, es esperable un aumento en la digestibilidad de la dieta por la inclusión de concentrados en animales consumiendo pasturas como único alimento (Dixon & Stockdale, 1999; Bargo et al. 2003). Sin embargo, trabajos realizados sobre animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad reportan diferentes efectos de la inclusión de concentrados sobre la digestibilidad de la MO. Mientras que algunos autores reportan un aumento en esta variable (Elizalde et al. 1999a; Reis & Combs, 2000; Tebot, 2008; Azevedo do Amaral, 2008), otros no encontraron cambios en la digestibilidad por la inclusión de concentrados en la dieta (van Vuuren et al. 1993; García et al. 2000; Sairanen et al. 2005). Ésto puede ser debido a la ocurrencia de efectos asociativos entre alimentos que lleven a alteraciones del medio ruminal y a una disminución de la digestión de la fibra en rumen, lo cual puede determinar que los cambios en la digestibilidad de la MO sean menores a los esperados (Dixson & Stockdale, 1999).

van Vuuren et al. (1993), estudiando el efecto de la inclusión de concentrados ricos en almidón o fibra, como suplemento de vacas lecheras consumiendo una gramínea templada en estado vegetativo, no encontraron cambios en la digestibilidad de la MO, la cual fue en promedio de 78,5%. Sin embargo, la suplementación con el concentrado almidonoso, provocó cambios en el sitio de digestión de la MO, dados por una caída en la digestibilidad ruminal (DR) y un aumento en la digestibilidad intestinal (DI) de la MO. Según estos autores, la inclusión de concentrados ricos en almidón provocó una disminución en la DR y en la digestibilidad total (DT) de la fibra y un aumento en la llegada de almidón a intestino, lo cual explicaría los cambios en el sitio de digestión de la MO de la dieta (van Vuuren et al. 1993). En el mismo sentido, García et al. (2000) no encontraron cambios en la digestibilidad total de la MO cuando se suplementó con grano de maíz o cebada, a razón del 30% de la dieta, a animales consumiendo avena en estado vegetativo. La sustitución parcial de forraje por concentrado determinó una tendencia a una menor proporción de MO digerida en rumen, con un aumento en la DI de la MO en los grupos suplementados. Sin embargo, en este estudio ni la digestibilidad total de la fibra ni su sitio de digestión fueron afectadas por los tratamientos (García et al. 2000). Sairanen et al. (2005), evaluando el efecto del incremento del nivel de concentrados en dieta sobre la DT de la MO, no reportan cambios al incrementar de 0 a 6 kg/animal los niveles de concentrado en vacas lecheras consumiendo pasturas templadas de buena calidad. Si bien en este estudio no se estudió el sitio de digestión de la MO, la DR y la DT de la FND disminuyeron linealmente con la inclusión de concentrado, lo cual sugiere una mayor digestión intestinal de las otras fracciones del alimento.

En otro sentido, Reis & Combs, (2000), estudiando el efecto del incremento del nivel de suplementación en vacas lecheras consumiendo una pastura fresca de alta calidad, reportan un incremento lineal en la DT de la MS y MO al aumentar los niveles de inclusión de grano de maíz en la dieta, la DT de la FND y de la fibra ácido detergente

(FAD) no difirió entre los distintos tratamientos. Estos resultados coinciden con los reportados por Elizalde et al. (1999a), quienes al incrementar los niveles de inclusión de maíz, en novillos consumiendo alfalfa en estado vegetativo, reportan un incremento lineal en la DT de la MO. La DR de la MO, FND y FAD no difirió, la DI de la MO aumentó y la DI de la FND y FAD no varió a medida que se incrementó los niveles de grano en la dieta. Se desprende de estos trabajos que la suplementación con concentrados energéticos almidonosos sobre animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad aumenta la DI de la MO. El efecto que tendrá sobre la digestión global de esta fracción dependerá de cómo se afecte la digestión de la fibra en la dieta.

Hoover (1986), plantea que la inclusión de 10 a 15% de carbohidratos de fácil fermentación (CHFF) en la dieta, pueden afectar la digestión de la fibra, aunque depresiones más severas se encuentran cuando los niveles de CHFF o de grano sobrepasan el 30% de la MS total. Según el autor, la depresión de la digestión de la fibra a nivel ruminal al incluir CHFF en la dieta, podría ser explicada por 3 factores: una disminución del pH ruminal, una preferencia de los microorganismos ruminales a la digestión de los CHFF respecto a la fibra, o por una proliferación diferencial de microorganismos en el rumen (Hoover, 1986). Según este autor, caídas del pH ruminal por debajo de 6,0 afectan seriamente la digestión de la fibra. Sin embargo, una disminución en la degradabilidad de esta fracción puede darse sin cambios de pH ruminal, lo cual estaría asociado a una disminución de la adherencia bacteriana a la fibra al incluir CHFF en la dieta (Hoover, 1986). de Veth & Kolver (2001a), estudiando en sistemas de fermentación continuos el efecto de la disminución del pH sobre la digestión de un raigrás en estado vegetativo, reportan un pH óptimo para la digestibilidad de la MS de 6,35 y caídas importantes en su digestión a niveles de pH por debajo de 5,8. La mayor caída en la digestión de la MS a pH por debajo de 5,8 la atribuyen a una mayor disminución en la digestión de la FND (de Veth & Kolver, 2001a).

Si bien el valor medio de pH ruminal se ha puesto como referencia para estimar posibles alteraciones de la degradación de la fibra, su dinámica es igualmente importante. Hoover (1986) plantea que caídas cíclicas de pH ruminal entre niveles de 5,8 y 6,2 podrían causar caídas moderadas en la degradación de la fibra. Si esta disminución se da por períodos más prolongados de tiempo, entonces la depresión en la digestión de la fibra podría ser de mayor índole (Hoover, 1986). Estudios realizados en sistemas de fermentación continuos evaluando el efecto del tiempo de incubación a pH subóptimo (5,4 y 5,5 vs 6,3 y 6,4) sobre la fermentación ruminal, reportan caídas en la digestión de la MS, MO, FND y FAD por causa de bajos pH; la disminución es mayor cuanto mayor es el tiempo de exposición a pH subóptimo (de Veth & Kolver, 2001b; Cerrato-Sánchez et al. 2007). de Veth & Kolver (2001b), estudiando el efecto del tiempo de incubación de un forraje templado a pH 5,4 respecto a un control incubado a pH 6,3, reportan una caída en la degradación de la FND ya en las primeras 4 horas de incubación a bajo pH, mientras que la mayor caída en el flujo de nitrógeno microbiano se dió entre las 8 y 12 horas de incubación a pH subóptimo. Cerrato-Sánchez et al. (2008) estudiando en sistemas de fermentación continuos el efecto de la magnitud de la caída del pH por 4 horas (5,4 vs 5,1) respecto a un control mantenido a pH de 6,4, no encontraron efectos sobre la digestión de la MO, sin embargo, la digestión de la FND disminuyó numéricamente y estadísticamente cuando el pH cayó a niveles de 5,6 y 5,1, respectivamente. La disminución del pH ruminal a niveles subóptimos, más que la muerte de la flora fibrolítica, causa una reducción en la actividad celulolítica lo cual

podría ser reflejo de una disminución de la adhesión microbiana a las partículas de fibra (de Veth & Kolver, 2001b; Cerrato-Sánchez et al. 2007). Cuando el pH retorna a los niveles óptimos, la actividad celulolítica parece retomarse (de Veth & Kolver, 2001b).

De los trabajos revisados que estudiaron el efecto de la suplementación con concentrados energéticos en animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad sobre la digestión de la fibra, 5 reportan una disminución de la digestibilidad total de la fibra (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996; Bargo et al. 2002; Sairanen et al, 2005; Tebot, 2008) y 5 no encontraron efecto de la inclusión de concentrados en la dieta sobre la digestibilidad de esta fracción (Jones-Endsley et al. 1997; Elizalde et al, 1999b; García et al. 2000; Reis & Combs, 2000; Azevedo do Amaral, 2008).

De los ensayos que reportan cambios en la digestión de la fibra, 2 de ellos no encontraron efecto de los tratamientos sobre el pH ruminal (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996). Estos autores explican sus resultados por el efecto que podría tener el aumento de CHFF sobre la actividad celulolítica en rumen. Sairanen et al. (2005), reportan una disminución lineal del pH ruminal de 6,41 a 6,17, una disminución de 4,3% en la degradabilidad ruminal de la FND, y de 5,3 en la digestibilidad total de la FND, al incrementar los niveles de suplementación con un concentrado en base a granos hasta 6 kg por animal, lo que representó un 25% de la dieta total. Según estos autores, a pesar que el pH medio para el grupo de máxima suplementación fue de 6,17, los animales presentaron durante 7 horas valores de pH entre 6,2 y 5,8, lo que junto al efecto que el almidón podría tener sobre la adhesión bacteriana, explicarían sus resultados. Tebot, (2008), estudiando en ovinos, el efecto de la suplementación con grano de cebada o con una mezcla de cebada y melaza sobre una pastura templada en 2 estados fenológicos distintos, reporta una disminución de la digestibilidad de la FND cuando se suplementó la pastura en estado vegetativo temprano, sin encontrar diferencias entre los grupos suplementados. Dado que el pH medio registrado respecto al grupo control fue menor para el grupo suplementado con cebada (6,15 vs 6,33) y mayor para el grupo suplementado con la mezcla grano melaza (6,51 vs 6,33), estos resultados no podrían ser atribuidos exclusivamente a las variaciones observadas en el pH ruminal.

De los trabajos que no reportan cambios en la digestibilidad de la fibra, la mayor parte no encontraron cambios en el pH ruminal (Jones-Endsley et al. 1997; García et al. 2000; Reis & Combs, 2000; Azevedo do Amaral, 2008). Sin embargo, Elizalde et al. (1999b) estudiando el efecto de la inclusión de niveles crecientes de grano de maíz en novillos consumiendo alfalfa en estado vegetativo, reportan una disminución lineal en el pH ruminal, pasando de 6,29 en el grupo consumiendo pastura *ad libitum*, a 6,09 en el grupo de máxima suplementación. Sin embargo, estas variaciones en el pH ruminal no afectaron la DT ni la DR de la fibra, la cual fue en promedio 62,9% y 54,8%, respectivamente. Estos autores atribuyen sus resultados al relativo menor efecto que tiene la disminución del pH ruminal en la digestión de la fibra de buena calidad.

Se desprende de los trabajos revisados, que la suplementación con concentrados energéticos sobre animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad, no tiene un efecto consistente sobre la degradación de la fibra. Así mismo, los factores vinculados a la disminución de la digestión de la fibra al incluir concentrados sobre este tipo de forrajes, no parecen estar del todo claros.

4. Efecto de la suplementación sobre la síntesis de proteína microbiana en rumen y el aprovechamiento del nitrógeno

La proteína microbiana sinterizada en rumen es la principal fuente de aminoácidos que llega al duodeno de los rumiantes, representando del 50 al 80% de la proteína total absorbida (Nocek & Russell, 1988; Bach et al. 2005). La disponibilidad de nutrientes y la eficiencia que tengan los microorganismos ruminales para su uso, es uno de los factores más importantes que determinan su producción (Clark et al. 1992; Bach et al. 2005). Según Clark et al. (1992), cuando el nitrógeno (N) en rumen no es limitante (niveles de N-NH₃ ruminal mayores a 5 mg/dL), la síntesis de proteína microbiana (SPM) está fuertemente relacionada al consumo de MO y a la proporción de ésta que es fermentada en rumen. Hoover & Stokes (1991), plantean que la energía disponible para el crecimiento bacteriano dependerá de la tasa de digestión en rumen de las distintas fuentes de carbohidratos. Es así, que un aumento en los niveles de carbohidratos no estructurales en la dieta, aumentaría la energía disponible para los microorganismos ruminales y de esa forma la producción de proteína microbiana en rumen (Hoover & Stokes, 1991; Clark et al. 1992; Bach et al. 2005). Así mismo, además del nivel de N en rumen, la presencia de formas orgánicas de N en el fluido ruminal como aminoácidos, aminoácidos ramificados y péptidos afectarían de forma positiva la producción de proteína microbiana (Hoover & Stokes, 1991; Clark et al. 1992; Bach et al. 2005).

Además de los niveles de N y carbohidratos disponibles en rumen para el desarrollo microbiano, factores como el nivel de consumo, el tránsito digestivo, el pH ruminal o la sincronía de nutrientes podrían afectar la SPM. Teóricamente, el suministro de fuentes de proteína y energía con tasas de degradación ruminal similares determinarían que la oferta de nutrientes necesarios para el crecimiento microbiano se diera en forma simultánea. De esta forma se evitarían ineficiencias en el uso de los nutrientes en el medio ruminal e incrementos en la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (ESPM) (Nocek & Russell, 1988; Herrera-Saldana et al. 1990). Sin embargo, varios autores ponen en duda esta teoría (Bach et al. 2005; Hall & Hungtington, 2008; Hersom, 2008). Bach et al. (2005) plantean que debido a la complejidad del ecosistema ruminal, cuando los nutrientes son sincrónicos para una especie microbiana no lo son para otra, de forma tal que la ESPM permanece incambiada. Así mismo, cuando la fuente de N no es sincrónica con la de energía, el N reciclado a rumen puede contribuir a estabilizar los niveles de N y el crecimiento microbiano en rumen (Bach et al. 2005; Hall & Hungtington, 2008).

Bach et al. (2005) plantean que una buena nutrición ruminal permite lograr una alta ESPM, maximizar el crecimiento microbiano, aumentar el flujo de aminoácidos al duodeno y disminuir las pérdidas de N al medio ambiente. La ESPM expresada como gramos de nitrógeno microbiano por kg de MO verdaderamente digerida en rumen (gNM/kgMOVDR), es un buen indicador de la eficiencia de uso de la energía en rumen para la SPM (Bach et al. 2005). Al ser normalmente la energía la principal limitante para la producción microbiana, optimizar la ESPM en función de la energía disponible en rumen permitiría maximizar el crecimiento microbiano (Hoover & Stokes, 1991; Bach et al. 2005). Sin embargo, expresar la ESPM en términos de energía disponible en rumen no brinda información de cuanto del N disponible se usa para el crecimiento microbiano. Bach et al. (2005) plantean la eficiencia de uso del nitrógeno en rumen

(EUN = gramos de NM/ gramos de N disponible) como una medida para estimar el uso del N disponible en rumen para la SPM. Según este autor, datos obtenidos en sistemas de cultivo continuo muestran que en la medida que aumenta EUN disminuye el N-NH₃ en el sistema (Bach et al. 2005). La relación entre ESPM y EUN es cuadrática, optimizándose el crecimiento microbiano a una ESPM de 29 gNM/kgMOVDR y a una EUN de 69%, con lo cual para tener un óptimo crecimiento microbiano en rumen se debería aportar en la dieta 42 g de N disponible/kgMOVDR (Bach et al. 2005).

Las fracciones nitrogenadas de las pasturas templadas de alta calidad son altamente degradadas en rumen (Hoffman et al. 1993; Elizalde et al. 1999b; Bargo et al. 2003; Repetto et al. 2005). Esta alta degradación lleva a la formación de grandes cantidades de N-NH₃ y a pérdidas de N, por su absorción a nivel ruminal, que rondan entre un 15 y un 40% del N total ingerido (Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000; Sairanen et al. 2005; Azevedo do Amaral, 2008). Es así que la cantidad del nitrógeno ingerido que llegue al duodeno dependerá ampliamente de la capacidad que tengan los microorganismos ruminales de captar N-NH₃ en rumen y sintetizar su propia proteína.

Varios trabajos estudiaron el efecto de la inclusión de concentrados en dietas de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad, sobre el consumo y digestión del N (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999b, García et al. 2000; Sairanen et al. 2005; Azevedo do Amaral, 2008). Estos autores reportan que cuando se suplementa con concentrados energéticos a animales consumiendo pasturas templadas el consumo de N de forraje disminuye, lo cual determina generalmente una disminución en el consumo de N total. Sin embargo, el flujo en gramos por día de nitrógeno no amoniacal (NNA) que llega a duodeno no varía (García et al. 2000), aumenta numéricamente (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996) o estadísticamente (Elizalde et al. 1999b) por la adición de concentrado en la dieta. Esto determina que el NNA que llega a duodeno, expresado como % del nitrógeno ingerido (NI) aumente entre un 7 y un 20% según los distintos autores (Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000), lo cual indicaría una menor pérdida de N-NH₃ a nivel ruminal. Sairanen et al (2005) reportan un aumento en el consumo de N total y un comportamiento cuadrático de las pérdidas de N en rumen, al aumentar el nivel de inclusión de concentrado en vacas lecheras consumiendo una pastura de buena calidad, llegando al mínimo de pérdidas con 6 kg de suplemento.

La suplementación con concentrados energéticos o el incremento en los niveles de suplementación en dietas de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad no provocó cambios (Jones-Endsley et al. 1997; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000; Azevedo do Amaral, 2008), provocó un aumento numérico (van Vuuren et al. 1993; Berzaghi et al. 1996) o estadístico (Sairanen et al. 2005) en el flujo de nitrógeno microbiano (NM) a duodeno, expresado tanto como gramos por día o como % del NNA. Sairanen et al. (2005) plantean que el flujo de NM a duodeno en animales consumiendo pastura de buena calidad solo se puede incrementar si se logra un aumento en el consumo de MO fermentable en rumen. van Vuuren et al. (1993) reportan un aumento en la ESPM expresada en función de la MO aparentemente digerida en rumen, cuando se suplementó con un concentrado rico en almidón a animales consumiendo una pastura templada de buena calidad. Sin embargo, la mayoría de los trabajos revisados no encontraron incrementos en la ESPM, expresada en función de la energía disponible en rumen, por la adición de concentrados en dietas de animales consumiendo pasturas

templadas de buena calidad (Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000; Sairanen et al. 2005; Azevedo do Amaral, 2008; Tebot, 2008). Esto podría ser explicado por las altas ESPM que se lograron en los grupos consumiendo pastura como único alimento, las cuales en promedio fueron de 28,3 gNM/kgMOVDR (rango 20-34,6), valores que son muy próximos a los reportados por Bach et al. (2005) como óptimo para el crecimiento microbiano en rumen. Hoover & Stoke (1991), plantean que los monómeros de carbohidratos resultantes de la digestión en rumen aportan cantidades similares de ATP a los microorganismos, con lo cual la tasa de digestión de los carbohidratos es la que determina la energía disponible para el crecimiento bacteriano. Es así, que los altos niveles de fibra soluble y la alta tasa de digestión de la fibra y de la MS que tienen las pasturas templadas de buena calidad, podrían ser una fuente de energía fácilmente disponible para los microorganismos ruminales, debido a esto la suplementación con granos sobre este tipo de pasturas no repercutiría en un aumento de la ESPM (García et al. 2000; Sairanen et al. 2005).

5. Efecto de la suplementación sobre parámetros metabólicos y de expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa

Debido a las características digestivas de los rumiantes, sus niveles de glucosa en sangre dependen fundamentalmente de la neoglucogénesis hepática a partir de precursores no glucídicos como propionato, aminoácidos, glicerol y lactato. La digestión y absorción intestinal del almidón de la dieta también puede constituir un aporte importante a la glucosa sanguínea (Hungtington et al. 2006). La neoglucogénesis hepática está regulada por efectos alostéricos, efectos hormonales de corto plazo y por efectos adaptativos mediados por la inducción o represión en la síntesis de enzimas (Coffee, 1998a). La interacción de estos mecanismos permite mantener los niveles de glucosa en sangre en niveles relativamente constantes.

El propionato producido a nivel ruminal es cuantitativamente el principal precursor neoglucogénico en los rumiantes (Drakley et al. 2001, Hungtington et al. 2006), aportando entre el 55 y 70% de la glucosa formada en hígado (Reynolds et al. 1988; Reynolds et al. 2003; Hungtington et al. 2006). La tasa de conversión de propionato a glucosa en animales consumiendo dietas ricas en concentrados es mayor que en aquellos consumiendo dietas altas en forraje (Drakley et al. 2001). Los aminoácidos como alanina, glutamina, cisteína, glicina, serina y treonina, son otros importantes precursores para la neoglucogénesis hepática, aportando entre un 15 y un 20% de la glucosa formada en hígado (Reynolds et al. 1988; Reynolds et al. 2003; Hungtington et al. 2006). Según Drakley et al. (2001) el aporte que hagan los aminoácidos a la formación de glucosa es dependiente de su oferta al hígado de forma tal que la producción de glucosa desde aminoácidos esta correlacionada positivamente con el consumo de proteína en la dieta (Drakley et al. 2001). El glicerol, aunque cuantitativamente de menor importancia en la síntesis de glucosa, puede ser un precursor de importancia en situaciones donde se de alta movilización grasa (Drakley et al. 2001, Hungtington et al. 2006).

Las 2 principales hormonas que regulan los niveles de glucosa en sangre son la insulina y el glucagón (Coffee, 1998b; Drackley et al. 2001). La insulina promueve la captación de glucosa por los tejidos, promueve la síntesis de glucógeno, la glucólisis y la síntesis de ácidos grasos en hígado (Coffee, 1998b). Si bien la insulina disminuye la neoglucogénesis hepática por disminuir la síntesis de glucosa desde sustratos que entran

vía piruvato, ésta no altera la conversión de propionato a glucosa (Drakley et al. 2001, Hungtington et al. 2006). De manera inversa a la acción de la insulina, el glucagón promueve la liberación de glucosa a la sangre, estimula directamente la conversión de propionato en glucosa y el uso de aminoácidos para la neoglucogénesis (Drakley et al. 2001). La regulación de la homeostasis de la glucosa resulta pues de la interacción de estas 2 hormonas. Altos niveles de insulina contrarrestan los efectos del glucagón, es así que la variación en la relación insulina/glucagón juega un papel muy importante en la regulación de la neoglucogénesis (She et al. 1999; Drakley et al. 2001).

La piruvato carboxilasa (PC) y la fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PEPCK o PCK) son dos enzimas llaves en la neoglucogénesis. La PC cataliza la reacción que carboxila el piruvato a oxaloacetato de esta forma prioriza el uso de alanina, glicerol y lactato como elementos neoglucogénicos (Coffee, 1998a; Drackley et al. 2001). Por otro lado, la PCK es la enzima encargada de catalizar la reacción que carboxila el oxaloacetato a fosfoenol piruvato, de esta forma prioriza la neoglucogénesis a partir de propionato y aminoácidos neoglucogénicos. La regulación de la expresión del ARNm de la PC y PCK en rumiantes no está del todo clara. Bobe et al. (2009) estudiando el efecto de la administración exógena de glucagón en vacas lecheras en lactación sobre la expresión hepática del ARNm de la PC y la PCK reportan un aumento en la expresión de estos genes por la acción de esta hormona. Sin embargo Williams et al. (2006) no encontró efecto de la administración exógena de glucagón sobre los niveles de ARNm y sobre la actividad de estas 2 enzimas. She et al. (1999) reportan un aumento en la expresión del ARNm de la PC y una caída en la expresión del ARNm de la PCK por la administración exógena de glucagón a vacas lecheras en lactación temprana. Según estos autores la expresión de la PCK podría ser reprimida por la acción de la insulina, mientras que la expresión de la PC es estimulada por el glucagón y la insulina tendría poco efecto represivo sobre la expresión del ARNm de esta enzima (She et al. 1999). Bobe et al (2009) plantean que la tasa de transcripción de las enzimas neoglucogénicas estarían reguladas por los niveles de insulina, glucagón y por la oferta de determinados sustratos neoglucogénicos al hígado. Es así que la expresión del ARNm tanto de la PC como de la PCK estarían reguladas por la acción coordinada de la insulina y el glucagón, donde el glucagón tendría un efecto estimulatorio y la insulina un efecto represivo sobre estas enzimas (Bobe et al. 2009).

De acuerdo a la bibliografía consultada, aun no se ha profundizado suficientemente en cómo la inclusión de concentrados en dietas de bovinos consumiendo pasturas templadas de buena calidad afecta las concentraciones de glucosa, insulina y glucagón en sangre y la expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa en estos animales. Trabajos realizados fundamentalmente sobre vacas lecheras han demostrado que cambios en el estatus nutricional del animal, en el consumo de energía, o en el perfil de nutrientes que aporta la dieta pueden determinar cambios en el nivel o tipo de precursores neoglucogénicos y en el sistema homeostático de la glucosa (Harmon, 1992; Velez y Donkin, 2005; Karcher et al. 2007; Lemosquet et al. 2009). Tanto en vacas lecheras como en ganado de carne el consumo de energía está directamente relacionado con la tasa de neoglucogénesis hepática y con la cantidad de propionato que se convierte en glucosa (Hungtington et al. 2006). Lemosquet et al. (2009), estudiando en vacas lecheras el efecto de la infusión ruminal de propionato o la infusión abomasal de glucosa o una mezcla de aminoácidos no esenciales, reportan un aumento en la tasa de aparición post hepática de glucosa en sangre en los grupos infundidos respecto a un control alimentado al 80% de sus

necesidades energéticas. Este aumento fue mayor para los animales que se les infundió glucosa y propionato respecto a los que se les infundió la mezcla de aminoácidos. La concentración plasmática de insulina aumentó numéricamente en los animales infundidos, mientras que los niveles de glucagón fueron mayores en los animales a los que se le infundió la mezcla de aminoácidos no esenciales respecto a los que se les infundió glucosa o propionato (Lemosquet et al. 2009). Según Harmon (1992) los niveles de propionato fundamentalmente, y butirato, determinan incrementos en los niveles de insulina y glucagón en sangre, mientras que el acetato no parece tener influencia en la secreción de estas hormonas (Harmon, 1992). Según este autor dietas que promuevan una alta degradación de almidón y formación de ácido propiónico en rumen tienen asociado mayores niveles de insulina en sangre (Harmon, 1992). Dado que la inclusión de concentrados en dietas de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad resulta en un aumento en los niveles de propionato en rumen y de la llegada de MO y almidón a intestino (Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999a; García et al. 2000) sería esperable cambios en los mecanismos que actúan en la homeostasis de la glucosa por la inclusión de concentrados en dietas de animales consumiendo forrajes templados de buena calidad.

6. En resumen

Cuando granos de cereales son incluidos como suplemento a pasturas templadas de buena calidad, interacciones entre los alimentos pueden ocurrir. Estas interacciones pueden repercutir en cambios en el consumo, en el ambiente ruminal, en la digestibilidad total de la dieta y de las distintas fracciones del alimento. La magnitud de estos cambios determinará el efecto de la inclusión del concentrado en el aprovechamiento digestivo total de la dieta y el efecto a nivel productivo que tenga la suplementación. Varios trabajos realizados sobre animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad muestran un incremento en el consumo de MS total con una disminución en el consumo de forraje al incluir el concentrado en la dieta. La magnitud de estas variaciones dependerá de factores asociados a la pastura, al suplemento y al animal. Dentro de los factores asociados a la pastura, la calidad de la misma, la disponibilidad por animal, la altura y la masa de forraje han demostrado tener efecto sobre estas variables. A su vez, la cantidad y tipo de suplemento, así como el mérito genético y el nivel de producción de los animales también determinan la magnitud de estos cambios. La inclusión de concentrados, no ha demostrado tener un efecto consistente sobre el pH ruminal, sin embargo determina una caída en la concentración de N-NH₃ en rumen. Si bien la producción de AGV totales no se modifica mayormente, el perfil de AGV en rumen se modifica disminuyendo la relación A/P. Al mismo tiempo la inclusión de concentrados determina un aumento en la DI de la MO, el efecto que tendrá sobre la digestión global de esta fracción dependerá de cómo se afecte la digestión de la fibra en la dieta. La mayoría de los trabajos revisados no encontraron incrementos en la ESPM, expresada en función de la energía disponible en rumen, por la adición de concentrados en dietas de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad. Sin embargo la inclusión de concentrado repercutió en un uso más eficiente del nitrógeno de la pastura. Aún no está claro cómo la inclusión de concentrados en dietas de bovinos consumiendo pasturas templadas de buena calidad afecta parámetros metabólicos y de expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa en estos animales. Dado que la inclusión de concentrados en dietas de animales consumiendo este tipo de pasturas resulta en un aumento en los niveles de propionato en rumen y de la llegada de MO y almidón a intestino, sería

esperable cambios en los mecanismos que actúan en la homeostasis de la glucosa por la inclusión de concentrados en dietas de animales consumiendo forrajes templados de buena calidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años, la producción de carne y leche en el Uruguay han tenido un fuerte incremento (Oyhantçal et al. 2009; Vidal 2009). Este crecimiento se dió en el marco de un aumento muy importante de la forestación y de la agricultura, lo cual provocó un aumento en la competencia y en el precio de la tierra (DIEA, 2009b). Esto ha llevado a que para poder competir, los sistemas de producción pecuarios estén en un permanente proceso de intensificación, donde el incremento de la producción individual y por hectárea determina que el manejo de la alimentación y la suplementación con granos de cereales cada vez tome mayor importancia.

El cultivo de sorgo ha tenido un crecimiento constante en los últimos 10 años, pasando de 12.428 hectáreas sembradas y 19.942 toneladas de grano producidas en la zafra 1999-2000 (DIEA, 2003) a 68.057 hectáreas del cultivo sembradas y 324.216 toneladas de grano producido en la zafra 2008-2009, habiendo una intención de siembra para la zafra 2009-2010 de 84.00 hectáreas. (DIEA, 2009c). Su relación de precios con otros granos y su mayor resistencia a problemas climáticos, al ataque de insectos y hongos, lo hacen una alternativa muy interesante para la suplementación de animales en pastoreo. Sin embargo, es poca la información disponible, tanto a nivel nacional como internacional acerca de cómo la inclusión de grano de sorgo afecta el consumo y el aprovechamiento digestivo de la dieta cuando suplementa pasturas templadas de buena calidad.

Trabajos realizados a nivel nacional muestran impactos productivos importantes por el uso estratégico de concentrados en animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad (Vaz Martins, 1997; Simeone & Beretta, 2005a; Simeone & Beretta, 2005b). Teóricamente, dado que las pasturas templadas de alta calidad son un alimento rico en proteína muy degradable en rumen, la adición de un grano rico en energía complementaría la dieta y de esa manera mejoraría el uso global de los nutrientes y la eficiencia alimenticia. Sin embargo, Dumestre & Rodriguez (1995) plantean que sobre este tipo de pasturas la suplementación con niveles mayores al 0,5% del PV no redundan en aumentos de la ganancia de PV. Vaz Martins (1997) plantea que la respuesta a la suplementación se da cuando el nivel de asignación de forraje no sobrepasa el 2,5% del PV y el suplemento no representa más del 1% del PV. Por otro lado, García López et al. (2008) no encontraron efecto de la suplementación, ni interacción entre el suplemento y la asignación de forraje, sobre la ganancia de peso de novillos consumiendo una pastura templada a diferentes asignaciones y suplementados con grano de sorgo a razón del 1% del PV. Estos resultados coinciden con algunas observaciones empíricas comunicadas por asesores y productores, quienes marcan que los resultados que se obtienen con la suplementación de pasturas templadas de buena calidad con granos de cereales, son muy variables y no siempre repercuten en mejoras productivas.

Se desprende de lo antes planteado que si bien hay disponible una amplia fuente de información generada a nivel nacional acerca del efecto a nivel productivo de la suplementación, ésta no siempre tiene resultados coincidentes. Surge pues la necesidad

de profundizar en la búsqueda de respuestas que permitan explicar estos resultados. Así mismo, poca información a nivel internacional hay disponible acerca de cómo la inclusión de grano de sorgo afecta el consumo y el aprovechamiento digestivo de la dieta cuando suplementa pasturas templadas de buena calidad. El presente trabajo busca generar información que ayude a comprender como interactúan estos dos alimentos y cómo la inclusión de niveles crecientes de grano de sorgo afecta el consumo, el aprovechamiento digestivo y el metabolismo de la glucosa en bovinos.

HIPÓTESIS

La inclusión de niveles crecientes de grano de sorgo en dietas de animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad determinará:

- Un aumento en el consumo de MS total y una disminución en el consumo de MS del forraje, siendo este efecto cuadrático con el nivel de inclusión.
- Una caída del pH ruminal y una disminución en la digestibilidad de la fibra.
- Una mayor captación de N-NH₃ y síntesis de proteína microbiana en rumen, sin cambios en la eficiencia de síntesis de proteína microbiana.
- Variaciones en los niveles de insulina y glucagón y en la expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa, sin afectar los niveles de glucosa en sangre.

OBJETIVOS

Objetivo General: Estudiar el efecto sobre el consumo, el ambiente ruminal, el aprovechamiento digestivo de la dieta y aspectos vinculados al uso de la glucosa, de la inclusión de grano de sorgo en dietas de vaquillonas consumiendo pasturas templadas de buena calidad.

Objetivos Específicos:

- 1- Estudiar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de grano de sorgo en dietas de vaquillonas consumiendo una pastura templada de buena calidad sobre el consumo de forraje y de la dieta total.
- 2- Estudiar cómo afecta la inclusión de diferentes niveles de grano de sorgo, el ambiente ruminal y la síntesis de proteína microbiana de vaquillonas consumiendo una pastura templada de buena calidad.
- 3- Evaluar cómo se afecta en vaquillonas consumiendo una pastura templada de buena calidad, la digestibilidad de las diferentes fracciones del alimento cuando se incluyen diferentes niveles de grano de sorgo como suplemento.
- 4- Evaluar como varían las concentraciones de glucosa, insulina y glucagón en sangre y la expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa cuando se suplementa con grano de sorgo a vaquillonas consumiendo una pastura templada de buena calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se realizó entre los meses de noviembre y diciembre de 2007, en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal situado en el Campo Experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (UdelaR), San José, Uruguay (34° latitud sur, 35° longitud oeste). Los análisis de composición química de los alimentos y heces y la determinación de glucosa en sangre se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay. Los niveles de insulina, glucagón y de la expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa fueron determinados en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay. Las determinaciones de almidón, taninos y derivados púricos en orina fueron realizadas en el Laboratorio de Bromatología y Nutrición de Rumiantes de la Universidad Federal de Santa María, Río Grande del Sur, Brasil. El cuidado de los animales, la implantación de sondas ruminales y vesicales, la implantación de catéteres yugulares y las biopsias hepáticas fueron realizadas siguiendo los protocolos aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (C.H.E.A), de la UdelaR, Uruguay.

Diseño experimental:

Para la realización del trabajo experimental fueron utilizadas 24 vaquillonas cruza ($210 \pm 42,5$ kg de PV, media \pm desvío estandar) alojadas individualmente en jaulas metabólicas. Previo a la realización del experimento los animales fueron bloqueados de acuerdo a su peso vivo (PV) en 6 grupos y dentro de cada grupo fueron asignados al azar a uno de 4 tratamientos: no suplementados (S0) o suplementados con grano de sorgo al 0,5, 1,0 y 1,5% de su PV (S0,5, S1,0 y S1,5, respectivamente).

El sorgo fue molido hasta harina y suministrado en 2 comidas diarias a las 0800 y 2000 horas. El alimento base lo constituyó una pastura fresca en estado vegetativo, compuesta por 91% de *Lotus corniculatus* un 5,5% de *Raigrás* y un 3,5% de resto seco, con una disponibilidad de 3317 kgMS/ha. La misma fue sembrada en abril de 2007, sin recibir ningún tipo de fertilización hasta el momento de su uso en el ensayo. La pastura fue cortada diariamente y suministrada *ad libitum* luego de la suplementación de la mañana. El rechazo fue medido inmediatamente antes de la suplementación de las 0800 horas del día siguiente. La composición química de los distintos alimentos se describe en el Cuadro I. El grano de sorgo tuvo un nivel de taninos totales de 0,80% y un nivel de taninos condensados del 0,54% de la MS.

Previo a las determinaciones se realizó un período de adaptación de 21 días donde los animales se habituaron a las condiciones experimentales y a las dietas. Durante este período se implantó quirúrgicamente una sonda para muestreo de líquido ruminal a 4 animales por tratamiento. Luego de la adaptación se determinó el consumo total de la dieta y de forraje, la dinámica de pH y nitrógeno amoniacal (N-NH₃) en rumen, la digestibilidad de las distintas fracciones de la dieta, la retención de nitrógeno, la síntesis de proteína microbiana en rumen, la dinámica de glucosa, insulina y glucagón en sangre y la expresión hepática de genes vinculados al metabolismo de la glucosa.

Cuadro I. Composición química de los alimentos consumidos por los animales durante el ensayo

	Pastura	Grano de Sorgo
MS (%)	31,82	91,28
Composición (%MS)		
MO	93,23	98,80
N	1,98	1,02
FND	41,75	19,20
FAD	28,75	6,42
ALM ^a	3,05	63,29
CNF ^b	35,61	69,73

^aALM = Almidón

^bCNF = Porcentaje de carbohidratos no fibrosos, calculado como: %CNF = %MO - (%PB + %FND + %EE)

Determinaciones y muestreo:

Consumo de alimento: El consumo total de alimento y de forraje se determinó durante 11 días como la diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado en 24 horas. Muestras diarias del suplemento y del forraje ofrecido fueron congeladas a -18°C para posterior análisis de composición, en caso que los animales rechazaran más de un 20% del forraje total ofrecido muestras del rehusado fueron conservadas para su posterior análisis. Sobre las muestras así obtenidas se determinó el contenido en materia seca (MS), materia orgánica (MO), nitrógeno (N), fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y Almidón (ALM) a fin de calcular el consumo de las diferentes fracciones del alimento.

Digestibilidad *in vivo*: Además del consumo total de alimento, en los últimos 5 días de determinación de consumo, se colectó diariamente sobre una bandeja plástica, la totalidad de las heces emitidas por cada animal. Diariamente, luego de registrar los kg emitidos, se homogeneizó y se colectó una muestra de 500 g de materia fecal la cual fue conservada a -18°C hasta su posterior procesamiento. Luego de secada la muestra a 60°C por 48 horas se procedió a la realización de un pool de materia fecal por animal respetando las proporciones de materia seca emitida por día, sobre cada pool así conformado se determinaron las fracciones de MO, N, FND, FAD y ALM. La digestibilidad aparente de las diferentes fracciones de la dieta se determinó como: (A-B)/A*100, donde A representa los kg de la fracción de la dieta consumida y B los kg de la fracción de la dieta eliminada en heces. El consumo de la MO digestible (CMOD) se determinó como el producto del consumo de MO y su digestibilidad.

Síntesis de Proteína Microbiana: La síntesis de proteína microbiana (SPM) fue estimada por métodos indirectos a través de la determinación de la excreción de derivados púricos en orina según la técnica propuesta por Chen & Gomes (1995). La totalidad de la orina emitida por los animales fue colectada y medida diariamente por 5 días en recipientes conteniendo 200 mL de H₂SO₄ al 10% (vol/vol). Una muestra de 50 mL de orina fue colectada y conservada a -18°C para su posterior análisis. Previamente a la

determinación de alantoína y ácido úrico las muestras fueron descongeladas y diluidas con agua en una proporción tal que el volumen final total representara 50 L. Luego de esta dilución se confeccionó un pool por animal sobre el cual se hicieron las determinaciones. La concentración de alantoína y ácido úrico fueron determinadas por colorimetría, el ácido úrico fue determinado usando un kit comercial (LABTEST, Lagoa Santa, MG, Brasil). Los derivados púricos totales se determinaron como la suma de ácido úrico y alantoína. La cantidad de purinas absorbidas (X , mmol/día) correspondiente a la cantidad de purinas excretadas (Y , mmol/día, considerando 158 mg/mmol de alantoína y 168 mg/mol de ácido úrico) fue calculada en base a la ecuación descrita por Chen & Gomes (1995): $X = Y - (0,385 PV^{0,75}) / 0,85$. El flujo de nitrógeno microbiano a intestino fue estimado como: Nm (g/día) = $70X / 0,116 \times 0,83 \times 1000 = 0,727X$, asumiendo una digestibilidad de las purinas microbianas de 0.83, un contenido de nitrógeno en las purinas de 70 mgN/mmol y una relación N de purinas/N total de 0,116. (Chen & Gomes, 1995). El uso del nitrógeno ingerido para la SPM fue estimada como los g de nitrógeno microbiano/g de nitrógeno ingerido (gNM/gNI). Mientras que la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (ESPM) se determinó como los g de nitrógeno microbiano/kg de materia orgánica digestible ingerida (gNM/kgMODI).

Retención de nitrógeno: La retención de nitrógeno fue determinada como $A - (B + C)$, donde A representa el nitrógeno total ingerido, B y C el nitrógeno eliminado en heces y orina respectivamente. Los resultados se expresan como gramos de nitrógeno retenido por día (gN/día).

pH y N-NH₃ en rumen: El último día de ensayo, a través de una sonda implantada quirúrgicamente en rumen a 4 animales de cada tratamiento, se procedió a la colecta de líquido ruminal a cada hora durante las 6 horas post suplementación de la mañana. El pH ruminal fue medido inmediatamente después de colectada la muestra mediante un pHmetro digital (EW-05991-36, Cole Parmer, USA). Una muestra de 10 mL de líquido ruminal fue conservada sobre 10 mL de una solución de NaCl al 20% y congelada a -18°C para la posterior determinación de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) mediante destilación directa de la muestra sobre tetraborato de sodio, los resultados se expresan como mg N-NH₃/dL de líquido ruminal.

Determinaciones de glucosa, insulina y glucagón en sangre: En la totalidad de los animales de los tratamientos S0 y S1,5 se implantó el último día del ensayo un catéter yugular. Muestras de sangre fueron obtenidas cada 2 horas durante las 6 horas post suplementación de la mañana. Las muestras fueron obtenidas en tubos con fluoruro de potasio y EDTA (anticoagulante G, Wiener Laboratorios S.A.I.C., Montevideo, Uruguay), centrifugadas inmediatamente (3000 rpm, 15 min) y el plasma congelado a -18°C para la posterior determinación de glucosa, insulina y glucagón. La determinación de glucosa se realizó por colorimetría usando un kit comercial (BioSystems S.A., Costa Brava 30, Barcelona España), la concentración mínima detectable del ensayo fue de 0,23 mg/dL y el coeficiente de variación intraensayo fue de 4,96%. Las muestras se analizaron por duplicado usando un espectrofotómetro Unico 1200 series (United Products & Instruments, Inc, NJ, EEUU). La concentración de insulina fue determinada por radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida utilizando kits de DPC (Diagnostic Product Co., Los Angeles, CA, EEUU). La concentración mínima detectable del ensayo fue de 2 μ UI/mL. Los coeficientes de variación intraensayo para controles bajos (2,85 μ UI/mL), medios (16,0 μ UI/ml) y altos (25,5 μ UI/ml) fueron 6,2%, 7,0% y 0,3%, respectivamente. Los niveles de glucagón fueron determinados por RIA en fase líquida

utilizando kits de DPC (Diagnostic Product Co., Los Angeles, CA, EEUU). La concentración mínima detectable del ensayo fue de 4,64 μ UI/ml. Los coeficientes de variación intraensayo para controles medios (62 μ UI/mL) y altos (227 μ UI/mL) fueron 4,6 % y 19,2 %, respectivamente.

Cuantificación de los transcriptos en hígado: En el último día de ensayo, sobre la totalidad de los animales del grupo S0 y S1,5 se realizaron biopsias hepáticas usando un biopsiador (Tru-Core®-II Automatic Biopsy Instrument; Angiotech, Lausanne, Switzerland). Luego de la administración intramuscular de 3 mL de clorhidrato de lidocaína al 2%, se realizó una incisión en piel del lado derecho, en la intersección del décimo espacio intercostal con una línea imaginaria que une la tuberosidad coxal y el hombro. El biopsiador se insertó a través del músculo intercostal en el hígado, una muestra de aproximadamente 500 mg de tejido por animal fue colectada y almacenada en N líquido y posteriormente en un freezer a -80 °C para su posterior procesamiento. La extracción de ARN total de la muestra se realizó con TRIzol® (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA) seguido de un tratamiento con DNasa (DNasa Free™ Kit; Ambion, Austin, TX, EEUU). La concentración del ARNm total aislado se determinó midiendo la absorbancia a 260 nm (NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer; Nanodrop Technologies Inc., Wilmington, DE), y la calidad del mismo se evaluó según las relaciones de absorbancia 260/280 y 260/230 (NanoDrop), y mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1%. El ARNm así aislado fue almacenado a -80°C hasta su posterior cuantificación. La retrotranscripción se realizó utilizando un kit SuperScript®III First-Strand Synthesis System (Invitrogen) con hexámeros no específicos y 1 μ g de ARN. La abundancia de ARNm se midió por RT-PCR en tiempo real utilizando 10 μ I SYBR Green® (SYBR GreenER qPCR SuperMix; Invitrogen) la misma cantidad (200nM) de cebadores sentido y antisentido (Operón Biotecnologías GmbH, Colonia, Alemania), y 3 μ l de ADNc diluido (1:7.5 en RNasa / DNasa libre de agua) en un volumen final de 20 μ l. Se utilizaron primers diseñados específicamente para amplificar DNAc de piruvato carboxilasa (PC), fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PCK-1) y el receptor de insulina (IR) como genes objetivos y la hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HPRT) como control endógeno (Cuadro II). Todas las muestras fueron incluidas, en un único ensayo de PCR en tiempo real para cada gen, en duplicado en un disco de 72 - Rotor-Gene™ 6000 (Corbett Life Sciences, Sidney, EEUU). Las condiciones de amplificación fueron de 10 minutos (min) a 95°C y 40 ciclos, 15 segundos a 95°C, 45 segundos a 60°C y 20 segundos a 72°C. Para la cuantificación absoluta de los transcriptos se generaron curvas estándar (n=6 de 10⁶ a 10¹ copias de gen/ul) utilizando plásmidos que codificaban los genes de interés y el control endógeno. Para la estimación del número de copias de ARNm de las muestras se usaron regresiones lineales. La expresión de cada uno de los genes de interés se normalizó a la expresión del control endógeno (Carriquiry et al. 2009). La eficiencia de cuantificación para la expresión de ARNm fue de 95% para PC, de 110% para PCK-1, de 104% para IR y de 99% para HPRT. Los coeficientes de variación intraensayo fueron 12,2%, 17,6%, 7,5% y 13,6%, respectivamente. La expresión de ARNm de HPRT no difirió entre tratamientos, siendo de 3,66 y 3,65 (SEM = 0,08, P = 0,45) para los grupos S0 y S1,5, respectivamente.

Análisis químicos: Sobre las muestras de alimento tanto ofrecido como rehusado y de materia fecal se determinó el contenido de MS, MO y N según A.O.A.C. (1984). Las fracciones FND y FAD se determinaron de acuerdo con Goering & Van Soest (1970). El contenido de ALM se determinó mediante hidrólisis en H₂SO₄ 0,3 M y posterior

análisis de glucosa según Kozloski et al. (1999). El nivel de carbohidratos no fibrosos de las dietas (CNF) fue determinado como: %MO - (%PB + %FND + %EE). El contenido de taninos totales y taninos condensados en el sorgo se realizó según el método propuesto por Makkar (2000). Todos los análisis fueron realizados por duplicado aceptándose coeficientes de variación máximos del 5%.

Análisis estadísticos: Los datos de consumo, digestibilidad, síntesis de proteína microbiana, eficiencia de síntesis de proteína microbiana, los valores medios de pH y N-NH₃ en rumen, de glucosa, insulina y glucagón en sangre y la abundancia de transcritos fueron comparados entre tratamientos por el procedimiento PROC MIXED de SAS (2002) de acuerdo al modelo $Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + e_{ij}$, donde μ es la media general, T_i es el efecto fijo tratamiento, B_j el efecto aleatorio bloque y e_{ij} es el error residual. El efecto de la suplementación se estudió por contrastes ortogonales entre las medias del grupo S0 y la de los grupos suplementados (S0 vs S). El efecto del nivel de inclusión de concentrado en la dieta en los grupos suplementados se estudió por regresión lineal y cuadrática utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS (2002). La dinámica de pH y N-NH₃ en rumen y de glucosa, insulina y glucagón en sangre fue analizada por el procedimiento PROC MIXED de SAS (2002) según el modelo $Y_{ijk} = \mu + T_i + H_j + B_k + (TxH)_{ij} + e_{ijk}$, donde μ es la media general, T_i es el efecto fijo tratamiento, H_j el efecto fijo hora, B_k el efecto aleatorio bloque, $(TxH)_{ij}$ el efecto fijo interacción tratamiento por hora y e_{ijk} es el error residual. La estructura de covarianza fue autorregresiva de orden 1. Se estudió también la correlación de Pearson entre parámetros nutricionales y metabólicos utilizando el PROC CORR de SAS (2002), se presenta el coeficiente de correlación (r) y la probabilidad de las correlaciones que resultaron de interés entre las variables. Diferencias significativas fueron declaradas cuando $P \leq 0,05$.

Cuadro II. Primers usados para la cuantificación de los genes de interés y el control endógeno

Genes ^a	Nº de acceso ^b		Secuencia	Largo (bp)	Fuente
PC	NM_177946.3	Sense	CGTCTTTGCCCACTTCAAGGGAA	70	Este artículo
		Antisense	GAGGCGCGTATTGAGGC		
PCK-1	NM_174537.2	Sense	TGGCCATGATGAACCCTACTCGT	77	Este artículo
		Antisense	CAAATTTTCATCCAGGCATATC		
IR	XM_590552.4	Sense	CTGAAGCCAAGGCAGATGATATT	77	Este artículo
		Antisense	GCCACATCAAGTGAACAACGTT		
HPRT	XM_580802	Sense	TGGAGAAGGTGTTTATTCCTCATG	105	Carriquiry et al. 2009
		Antisense	CACAGAGGGCCACAATGTGA		

^aPC= piruvato carboxilasa, PCK-1= fosfoenolpiruvato carboxikinasa, IR= receptor de insulina; HPRT = hypoxanthine phosphoribosyltransferase (gen control endógeno)

^b Secuencia del GeneBank

RESULTADOS

La composición química, el nivel de FND proveniente de forraje (FNDf) y el porcentaje MO digestible (MOD) de las dietas consumidas por las vaquillonas suplementadas al 0, 0,5, 1,0 y 1,5% de PV se presenta en el Cuadro III. Los niveles de MS, MO, ALM y CNF aumentaron y los de N, FND, FNDf y FAD disminuyeron con la suplementación. Estos cambios fueron mayores, cuanto mayor fue el nivel de inclusión del grano de sorgo en la dieta. El porcentaje de MOD fue menor para la dieta compuesta únicamente por forraje, sin encontrarse diferencias entre los distintos niveles de inclusión de concentrado.

Cuadro III. Composición química, nivel de FND proveniente de forraje y porcentaje de MO digestible de las dietas consumidas por vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo

	Tratamientos ^a				EEM ^b	P ^c		
	S0	S0,5	S1,0	S1,5		S0 vs S	L	C
MS (%)	31,82	40,50	48,60	55,63	0,84	<0,001	<0,001	0,662
Composición (%MS)								
MO	93,23	94,04	94,80	95,46	0,08	<0,001	<0,001	0,666
N	1,98	1,84	1,71	1,59	0,01	<0,001	<0,001	0,646
FND	41,75	38,46	35,39	32,72	0,32	<0,001	<0,001	0,662
FNDf ^d	41,75	35,65	29,97	25,04	0,59	<0,001	<0,001	0,660
FAD	28,75	25,49	22,45	19,81	0,32	<0,001	<0,001	0,663
ALM ^e	3,05	11,85	20,05	27,17	0,85	<0,001	<0,001	0,660
CNF ^f	35,61	40,59	45,24	49,27	0,48	<0,001	<0,001	0,659
MOD ^g	63,11	67,98	68,12	70,23	1,63	0,002	0,323	0,598

^aTratamientos: S0 = Pastura sin suplementación; S0,5; S1,0; S1,5 = suplementados al 0,5% , 1,0% y 1,5% del PV, respectivamente.

^bError estándar de la media (n=6 por tratamiento).

^cnivel de significancia para el contraste S0 vs S = Pastura contra Suplementados (S); L = Efecto lineal y C = efecto cuadrático del incremento en el nivel de inclusión del grano de sorgo en los grupos suplementados.

^dFNDf = Fibra Neutro Detergente proveniente de forraje.

^eALM = Almidón.

^fCNF = Carbohidratos no fibrosos, calculado como: %CNF = %MO - (%PB + %FND + %EE)

^gMOD = Materia Orgánica Digestible.

En el Cuadro IV se presenta el consumo y la digestibilidad de la MS y de los componentes no nitrogenados de la dieta para los distintos tratamientos. El consumo de MS, MO y FND provenientes del forraje disminuyeron con la suplementación, esta disminución fue lineal a medida que aumentó el nivel de inclusión del concentrado en la dieta. De manera inversa, tanto el consumo de MS y MO total como el CMOD aumentaron con la suplementación. Sin embargo, el aumento en el nivel de inclusión del grano no provocó cambios en estas variables. El consumo total de FND no varió y el de ALM aumentó por la suplementación. Conforme se aumentó el nivel de inclusión de

grano el consumo de ALM aumentó linealmente. La digestibilidad de la MS y de la MO aumentaron por la suplementación con el grano de sorgo, sin embargo el aumento en los niveles de inclusión del grano en la dieta no tuvo efecto sobre esta variable. La digestibilidad de la FND y FAD no se vió afectada por ninguno de los tratamientos, mientras que para el ALM se encontró una tendencia lineal a una disminución en la digestibilidad por el aumento en los niveles de inclusión del grano en la dieta. El consumo de MO total y su digestibilidad se correlacionaron positivamente entre sí ($r = 0,65$, $P < 0,001$).

Cuadro IV. Consumo y digestibilidad de la MS y de los de componentes no nitrogenados de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo

	Tratamientos ^a				EEM ^b	P ^c		
	S0	S0,5	S1,0	S1,5		S0 vs S	L	C
Consumo MS Total:								
g/día	5978	7295	7640	8013	448	<0,001	0,255	0,979
% del PV	2,78	3,33	3,39	3,55	0,17	<0,001	0,371	0,800
Consumo MO Total:								
g/día	5558	6845	7228	7638	423	<0,001	0,188	0,979
% del PV	2,58	3,13	3,20	3,38	0,15	<0,001	0,260	0,795
Consumo Total:								
FND(%PV)	1,15	1,25	1,14	1,09	0,07	0,908	0,117	0,771
ALM ^d (%PV)	0,09	0,39	0,67	0,95	0,00	<0,001	<0,001	0,778
MOD ^e (%PV)	1,75	2,27	2,30	2,59	0,12	<0,001	0,106	0,420
Consumo de Forraje:								
MS (%PV)	2,78	2,85	2,44	2,15	0,17	0,020	0,009	0,780
MO (%PV)	2,58	2,65	2,27	2,00	0,16	0,021	0,009	0,776
FND (%PV)	1,15	1,18	1,01	0,89	0,07	0,016	0,009	0,751
Digestibilidad aparente:								
MS	63,58	68,40	68,62	69,17	2,16	0,019	0,761	0,924
MO	67,69	72,28	71,85	73,63	1,72	0,008	0,556	0,577
FND	41,05	43,78	44,15	44,45	4,25	0,507	0,903	0,999
FAD	38,86	38,82	39,16	36,14	5,00	0,612	0,876	0,799
ALM ^d	92,11	90,14	87,76	86,03	1,09	0,001	0,059	0,819

^aTratamientos: S0 = Pastura sin suplementación; S0,5; S1,0; S1,5 = suplementados al 0,5% , 1,0% y 1,5% del PV, respectivamente. ^b Error estándar de la media (n=6 por tratamiento). ^cnivel de significancia para el contraste S0 vs S = Pastura contra Suplementados (S); L = Efecto lineal y C = efecto cuadrático del incremento en el nivel de inclusión del grano de sorgo en los grupos suplementados. ^dALM = almidón. ^eMOD = Materia orgánica digestible.

El valor medio de pH ruminal para los animales de los tratamientos S0, S0,5, S1,0 y S1,5 fue de 6,80, 6,46, 6,08 y 6,17, respectivamente (EEM = 0,19). La suplementación repercutió en una disminución del pH ruminal ($P = 0,009$), esta disminución fue lineal con el nivel de inclusión del grano en la dieta ($P = 0,035$). Los valores medios de N-NH₃ en rumen fueron de $21,81 \pm 2,60$ mg/dL, sin haber sido afectados por los tratamientos. La dinámica de pH y N-NH₃ en el líquido ruminal en las 6 horas post suplementación de la mañana se presentan en la Figura 1. En la dinámica de pH, ni el efecto hora, ni la interacción tratamiento por hora fueron significativos. Los animales no suplementados o suplementados al 0,5% de su PV presentaron todos los valores de pH ruminal por encima de 6,2, mientras que en los suplementados con 1,0 y 1,5% de su PV presentaron 4 valores por debajo de este valor. En cuanto a la dinámica de N-NH₃, se encontró efecto de la hora en los niveles de N-NH₃ en rumen ($P < 0,001$), comenzando a la hora 0 con niveles medios de $20,79 \pm 2,07$ mg/dL, llegando a los niveles más altos a las 4 horas ($27,08 \pm 2,09$ mg/dL) y a los mínimos a las 6 horas post suplementación ($13,73 \pm 2,09$ mg/dL). La interacción tratamiento por hora no fue significativa para esta variable.

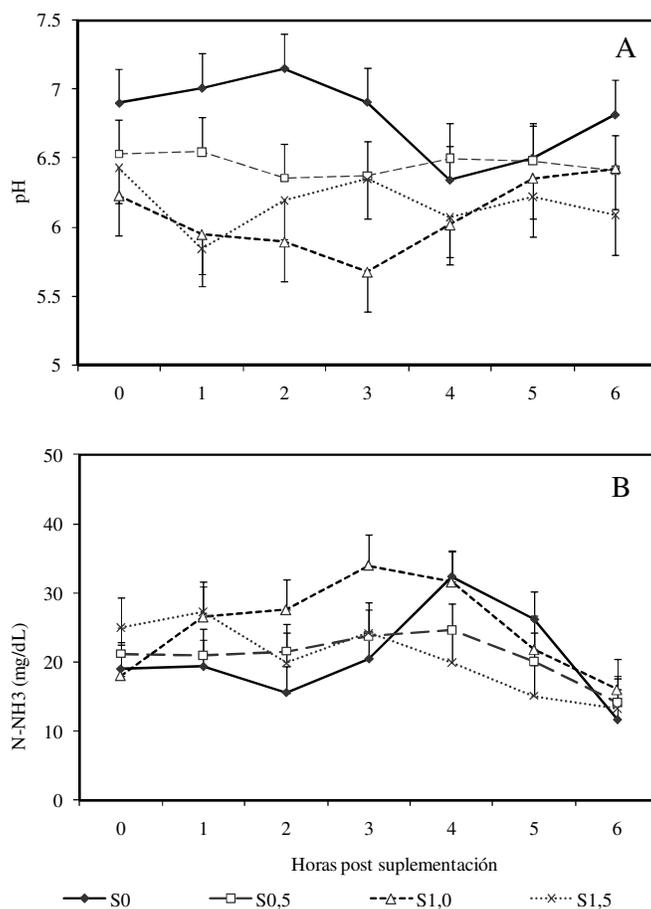


Figura 1. Dinámica de pH (A) y de N-NH₃ (mg/dL) (B) ruminal de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada (S0) y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo (S0,5, S1,0 y S1,5, respectivamente), (medias \pm desvío estándar; n = 4). La hora 0 indica el momento de la suplementación.

En el Cuadro V se presenta el consumo y digestibilidad de las fracciones nitrogenadas, la retención de nitrógeno y la síntesis de proteína microbiana para los animales en los distintos tratamientos. El consumo total y la digestibilidad aparente del N no variaron entre tratamientos, sin embargo el aumento en los niveles de inclusión de concentrado provocó una caída lineal en el consumo de N proveniente del forraje. Los animales del grupo S0 tuvieron una retención de nitrógeno menor que los animales suplementados, sin embargo el nivel de suplementación no afectó esta variable. La suplementación con grano de sorgo a las vaquillonas determinó un aumento en la SPM respecto a los animales cuya dieta incluía la pastura como único alimento. Los diferentes niveles de inclusión del grano de sorgo tendieron a provocar un efecto cuadrático en la SPM con el mayor flujo de NM a duodeno en el tratamiento S1,0. El uso del nitrógeno ingerido para la SPM (gNM/gNI) no varió entre tratamientos. Mientras tanto, la ESPM expresada como g de nitrógeno microbiano por kg de materia orgánica digestible ingerida (gNM/kgDOMI) fue máxima para los animales consumiendo pastura como único alimento, la suplementación provocó una disminución de la ESPM, sin ser ésta afectada por el nivel de suplemento en la dieta. Como era esperable la SPM se correlacionó positivamente con el consumo de MO total ($r = 0,48$, $P = 0,03$) y con el CMOD ($r = 0,45$, $P = 0,05$). Sin embargo, la ESPM se correlacionó negativamente con estas variables ($r = -0,73$, $P < 0,001$ y $r = -0,73$, $P < 0,001$, respectivamente).

La dinámica de glucosa, insulina y glucagón en sangre en las 6 horas post suplementación de la mañana de los animales consumiendo pastura como único alimento o suplementadas al 1,5% de su PV se presentan en la Figura 2. Los valores medios de glucosa en sangre fueron mayores para el grupo S1,5 (74,3 vs 63,5 mg/dL, SEM = 9,9, $P = 0,004$). Ni el efecto hora, ni la interacción tratamiento por hora fueron significativos para esta variable. Los niveles de insulina en el grupo S1,5 tendieron a ser mayores que en los animales del grupo S0 (12,2 vs 8,3 uUI/mL, EEM = 2,2, $P = 0,084$). Mientras que para el grupo S0 los niveles de insulina se mantuvieron constantes en las diferentes mediciones, en el grupo S1,5% la insulina mostró un aumento entre la hora 0 y 2 ($P = 0,050$), manteniéndose constante en el resto de las mediciones. En el mismo sentido que para la glucosa, ni el efecto hora, ni la interacción tratamiento por hora fueron significativos para esta variable. Los valores medios de glucagón fueron menores para el grupo S1,5 (58,0 vs 66,9 uUI/mL, EEM = 4,5, $P = 0,020$), esta diferencia están dadas por los mayores niveles del grupo S0 en las 2 primeras horas de medición ($P < 0,050$). No se encontró efecto hora, pero sí interacción tratamiento por hora ($P = 0,008$) para esta variable. Mientras que para el grupo S0 los valores medios de glucagón caen significativamente a las 4 horas de comenzar la ingesta, para el grupo S1,5 los niveles de glucagón se incrementan en las primeras 2 horas post suplementación manteniéndose constante en el resto de las mediciones. La relación insulina/glucagón tendió a ser mayor en el grupo S1,5 respecto al grupo S0 (0,20 vs 0,13, EEM = 0,03, $P = 0,084$). Los niveles de glucosa en sangre tendieron a correlacionarse con el consumo de ALM digestible ($r = 0,52$, $P = 0,085$). Mientras que los niveles de insulina y glucagón en sangre tuvieron una correlación significativa entre sí ($r = 0,60$, $P = 0,032$). La insulina se correlacionó con el consumo de MO total ($r = 0,67$, $P = 0,013$), con el CMOD ($r = 0,71$, $P = 0,010$), y con el consumo de ALM digestible ($r = 0,69$, $P = 0,014$). El glucagón no se correlacionó con ninguna de estas variables.

Cuadro V. Consumo, digestibilidad de las fracciones nitrogenadas, retención de nitrógeno y síntesis de proteína microbiana de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada y suplementadas con grano de sorgo molido a niveles del 0,5, 1,0 y 1,5% de su peso vivo

	Tratamientos ^a				EEM ^b	P ^c		
	S0	S0,5	S1,0	S1,5		S0 vs S	L	C
Consumo:								
Total (%PV)	0,056	0,062	0,59	0,054	0,01	0,521	0,349	0,778
Total (g/día)	119,7	135,7	131,7	112,5	11,8	0,625	0,475	0,954
Forraje (g/día):	119,7	124,5	110,1	83,7	9,82	0,248	0,005	0,987
Digestibilidad								
Aparente	61,5	64,8	61,8	58,8	2,60	0,905	0,136	0,999
Urinario (g/día)	61,2	56,0	56,5	35,1	4,41	0,003	0,009	0,006
Retención (g/día)	8,2	29,8	20,1	34,7	5,07	0,002	0,536	0,154
Síntesis de proteína microbiana (gNM/día):								
	72,27	73,10	91,81	84,27	4,22	0,042	0,126	0,070
Eficiencia de síntesis de proteína microbiana:								
gNM/gNI ^d	0,65	0,61	0,71	0,80	0,09	0,584	0,191	0,995
gNM/kgDOMI ^e	19,79	14,83	16,75	15,14	1,35	0,010	0,857	0,432

^aTratamientos: S0 = Pastura sin suplementación; S0,5; S1,0; S1,5 = suplementados al 0,5% , 1,0% y 1,5% del PV, respectivamente.

^bError estándar de la media (n=6 por tratamiento).

^cnivel de significancia para el contraste S0 vs S = Pastura contra Suplementados (S); L = Efecto lineal y C = efecto cuadrático del incremento en el nivel de inclusión del grano de sorgo en los grupos suplementados.

^dgramos de nitrógeno microbiano por gramos de nitrógeno ingerido

^egramos de nitrógeno microbiano por kg de materia orgánica digestible ingerida

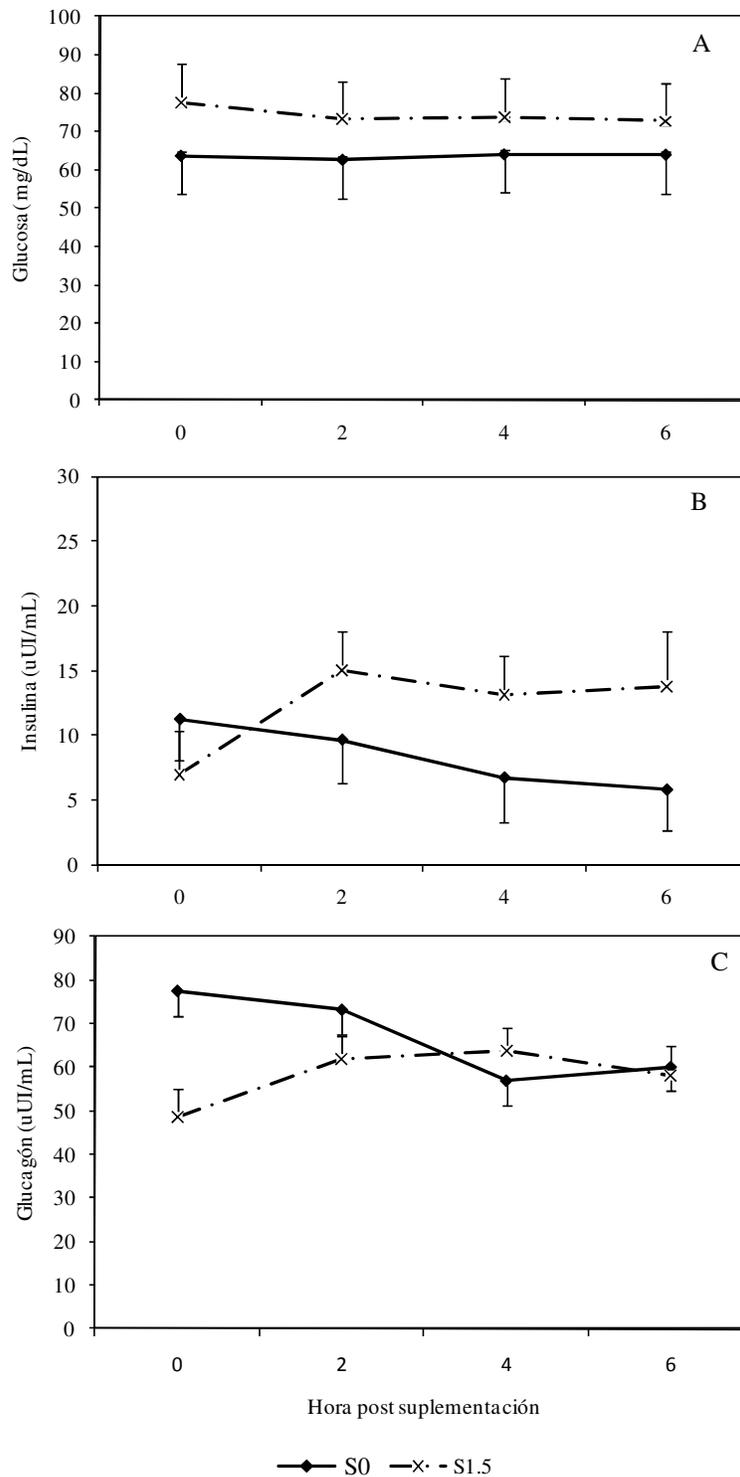


Figura 2. Dinámica de glucosa (g/dL) (A), insulina (uUI/mL) (B) y glucagón (uUI/mL) (C) de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada (S0) y suplementadas con grano de sorgo molido a nivel del 1,5% de su peso vivo (S1,5), (medias \pm desvío estándar; n = 6). La hora 0 indica el momento de la suplementación.

La expresión hepática de los genes de IR, PC y PCK-1 para las vaquillonas del grupo S0 y S1,5 se presenta en la Figura 3. La expresión de ARNm de HPRT no difirió entre tratamientos. A pesar que la expresión de ARNm de PC aumentó numéricamente en el grupo S0, ni la expresión de ARNm del IR ni la de PC variaron estadísticamente por la inclusión del concentrado en la dieta. Mientras tanto, la expresión de ARNm de PCK-1 fue mayor en el grupo consumiendo pastura como único alimento (28,40 vs 15,38, SEM = 3,42, P = 0,020). La expresión de la PCK-1 se correlacionó negativamente a los niveles de insulina en sangre ($r = -0,86$, $P = 0,001$).

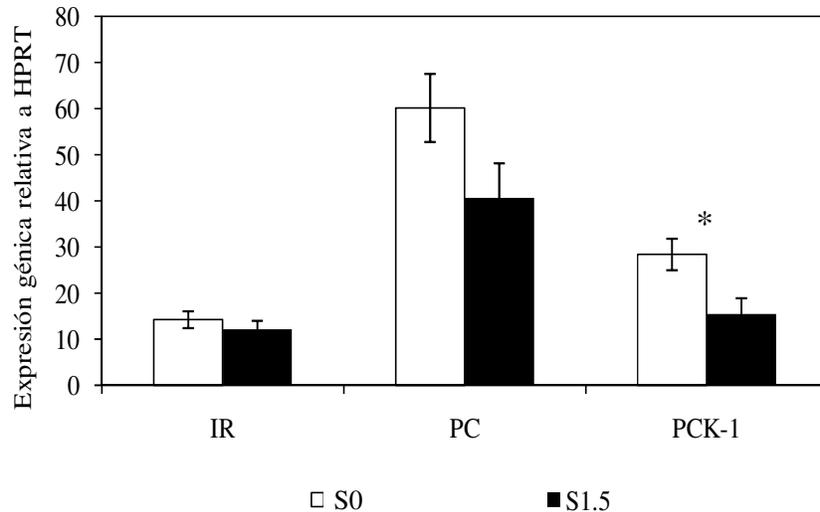


Figura 3. Expresión hepática de los genes del receptor de insulina (IR), piruvato carboxilasa (PC) y fosfoenolpiruvato carboxikinasa (PCK-1), relativa al gen de hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (HPRT), de vaquillonas alimentadas en base a una pastura templada (S0) y suplementadas con grano de sorgo molido a nivel del 1,5% de su peso vivo (S1,5), (medias \pm desvío estándar; $n = 6$). * $P < 0,01$.

DISCUSIÓN

La variación en la composición química de las dietas es coherente con la adición de los niveles crecientes de grano. Los niveles de fibra del forraje utilizado, coinciden con los reportados por Bargo et al. (2003) para pasturas templadas de buena calidad. Sin embargo, los niveles de N están por debajo del rango citado por el mencionado autor para este tipo de pasturas, lo que probablemente sea debido a la ausencia de fertilización de la pastura desde su implantación. Los contenidos de ALM y de CNF sugieren una buena disponibilidad de carbohidratos de fácil fermentación en rumen en todas las dietas. Los niveles de fibra proveniente de forraje estuvieron por encima de los recomendados para asegurar un correcto estímulo a la rumia y a la salivación en todos los tratamientos (NRC, 2001; NRC 1996).

La disminución en el consumo de forraje con aumento del consumo total de MS y MO al incluir el grano de sorgo en la dieta era esperable y coincide con los resultados reportados por varios autores (Dixon & Stockdale, 1999; Elizalde et al. 1999a; Reis & Combs, 2000; Bargo et al. 2003). Ya en el año 1964, Conrad et al. reportan incrementos en el consumo de MS de vacas lecheras cuando la digestibilidad de la dieta aumentó hasta niveles de 67%, valor muy cercano al encontrado para los grupos suplementados en el presente trabajo. Según los mismos autores, por encima de este valor de digestibilidad, el consumo de MS disminuye manteniéndose estable el consumo de energía por parte del animal. En el presente trabajo, esta relación entre consumo y digestibilidad se cumplió. La suplementación determinó una mayor digestibilidad de la MS y de la MO lo que probablemente repercutió en el mayor nivel de consumo de los grupos suplementados. En el mismo, sentido la falta de efecto sobre el consumo total, del incremento del nivel de concentrado en la dieta, estaría relacionada a que la digestibilidad aparente de la MS y MO no varió conforme se incrementó el nivel de suplementación. Sin embargo, si consideramos el CMOD como un reflejo de la energía consumida por los animales, encontramos que si bien para los grupos suplementados el consumo de MS y MO total no varió, el consumo de energía tendió a ser mayor al aumentar el nivel de suplemento en la dieta, lo cual no iría en la misma línea de lo planteado por Conrad et al (1964). Varios autores le han dado un importante papel a la FND y a su estructura en la regulación del consumo en los rumiantes, debido al efecto de distensión que cumple en el rumen. (Van Soest, 1994; Forbes, 1996; Allen, 1996). En el presente trabajo, los animales parecen haber consumido hasta lograr un consumo constante de FND total. Sin embargo, cuando analizamos el consumo de FND proveniente de forraje, principal responsable de la distensión ruminal, éste bajó conforme aumentaron los niveles de inclusión de grano en la dieta. Es así que, si bien la digestibilidad de la dieta y la FND parecen estar jugando un papel importante en la regulación del consumo, ninguno de estos 2 factores aislados parece explicar completamente el consumo por parte de los animales. Probablemente, además de la interacción de estos factores, otros como el nivel y proporción de AGV en rumen ó factores metabólicos puedan estar interviniendo en la regulación del consumo por parte de los animales (Forbes, 2007b).

La ausencia de efecto sobre el consumo total de N y FND de los distintos tratamientos podría ser debido a que si bien a medida que aumentó el nivel de concentrado en la dieta la concentración de estas fracciones disminuyó, ésto fue compensado por un aumento en el consumo de MS por parte de los animales. Del mismo modo el aumento en el consumo de ALM total es reflejo de un efecto

sinérgico entre la concentración de ALM en la dieta y el incremento del consumo de MS total.

Debido a que usualmente los concentrados presentan mayor digestibilidad de la MO que el forraje (Dixon & Stockdale, 1999; Bargo et al. 2003), era esperable un aumento en la digestibilidad de la dieta por la suplementación con grano de sorgo. De los trabajos revisados que estudiaron el efecto sobre la digestibilidad de la MO, de la suplementación con concentrados en animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad, algunos reportan un aumento en esta variable (Elizalde et al. 1999a; Reis & Combs, 2000; Tebot, 2008; Azevedo do Amaral, 2008), mientras que otros no encontraron cambios en la digestibilidad de esta fracción por la suplementación (van Vuuren et al. 1993; García et al. 2000; Sairanen et al. 2005). En el presente trabajo, la suplementación incrementó la digestibilidad aparente de la MS y MO de la dieta total, resultados que coinciden con los reportados por los autores citados en primer término. Sin embargo, el aumento en el nivel de inclusión de concentrados en la dieta, no repercutió sobre esta variable. Según Dixon & Stockdale (1999), ésto podría ser debido a la ocurrencia de efectos asociativos entre alimentos, que llevaran a alteraciones del medio ruminal y a una disminución de la digestión de la fibra en rumen, determinando que los cambios en la digestibilidad de la MO sean menores a los esperados. Sin embargo, en el presente trabajo, los valores medios de pH registrados y su dinámica, junto con la ausencia de efecto sobre la digestibilidad aparente de la FND y FAD que se registró con el incremento en los niveles de inclusión de concentrado en la dieta, no permiten sostener esta afirmación.

Van Soest (1994) plantea que la digestibilidad aparente de la dieta es resultado de la combinación de 2 factores, el tránsito digestivo y la tasa de digestión. Reis & Combs (2000), estudiando el efecto de la inclusión de cantidades crecientes de un concentrado a base de maíz en vacas consumiendo una pastura mezcla de gramíneas y leguminosas, no encontraron cambios en el tiempo de retención de las partículas de forraje en rumen, pero sí una tendencia a una mayor tasa de pasaje de la fase líquida de la digesta. Sairanen et al. (2005) reportan una tendencia cuadrática sobre el tránsito de FND cuando se aumentó el nivel de concentrado en dieta de bovinos consumiendo pastura templada de alta calidad. Sin embargo, la tasa de pasaje de la fase líquida no se vió afectada por los distintos tratamientos. van Vuuren et al. (1993) reportan un aumento en la tasa de pasaje de la MO cuando se suplementó a animales consumiendo una pastura templada con concentrados almidonosos o fibrosos. La mayor tasa de pasaje se dió cuando el concentrado suministrado fue en base a almidón. Por otra parte, un aumento en el tránsito digestivo podría disminuir la digestibilidad de la MO de la dieta (McDonald et al. 2006a). Si bien en el presente trabajo no se midió el tránsito, un incremento del mismo podría explicar la falta de efecto sobre la digestibilidad de la MO del aumento del nivel de inclusión de sorgo en la dieta.

El hecho de que la digestibilidad de la MO no haya aumentado al incrementar los niveles de grano en la dieta, podría también ser atribuida a que la digestibilidad del ALM tendió a disminuir conforme se aumentó el nivel de grano de sorgo. Elizalde et al. (1999a) no reportan diferencias en la digestibilidad total, ni en el sitio de digestión del almidón, cuando incrementaron el nivel de grano de maíz hasta niveles del 1,2% del peso vivo en novillos consumiendo alfalfa. Estos resultados no coinciden con los encontrados en el presente trabajo, posiblemente por el tipo de grano utilizado en la suplementación. Wong et al. (2009) reportan que

tanto la naturaleza del almidón del sorgo, la relación amilosa/amilopectina, la abundancia de puentes disulfuro en su proteína y la interacción entre la matriz proteica y el almidón, pueden afectar la digestibilidad del mismo. El sorgo utilizado en el presente trabajo, según los valores manejados por Hahn & Rooney (1986) y Cheng et al. (2009), tiene un contenido medio de taninos. La presencia de taninos se asocia negativamente con la calidad nutricional del grano, fundamentalmente por formar complejos indigestibles con proteínas y almidón (Reed, 1995), lo cual repercute en la eficiencia alimenticia de la dieta (Larraín et al. 2009). Hibberd et al. (1982a) reportan una menor digestibilidad y producción de gas medidas *in vitro* de sorgos altos en taninos respecto a sorgos bajos en taninos y al maíz. Sin embargo, no encontraron diferencias en los mismos parámetros cuando se incubó el almidón aislado de los distintos granos (Hibberd et al. 1982b), por lo cual atribuyen que la digestibilidad del almidón podría estar limitada por factores tales como los taninos del grano. Según Rooney & Pflugfelder (1986), los taninos presentes en el sorgo se unen a las proteínas e inhiben sistemas enzimáticos que pueden reducir la digestión efectiva del almidón. Probablemente, el incremento de grano en la dieta provocó que los distintos factores que influyen sobre la digestión del almidón del sorgo, junto a un aumento en el tránsito digestivo, afectaran en mayor medida la digestibilidad de esta fracción. A su vez, debido al efecto de los taninos, también hubiera sido esperable una caída en la digestibilidad aparente del N al incrementar los niveles de suplemento en la dieta. Cuando el nivel de N en la dieta es bajo, el componente endógeno presenta un peso relativo mayor sobre la digestibilidad aparente del N (McDonald et al. 2006b). Por esta razón, es probable que las diferencias entre los distintos tratamientos no hayan sido detectadas.

Los menores valores medios de pH ruminal en los grupos suplementados coinciden con los comunicados en otros trabajos (Elizalde et al. 1999a; Bargo et al. 2002; Sairanen et al. 2005; Cajarville et al. 2006). Estos autores reportan que la suplementación con concentrados a animales consumiendo pasturas templadas de buena calidad repercute en una disminución del pH ruminal. En el mismo sentido, la caída del pH a medida que se incrementó el nivel de concentrado en la dieta, está de acuerdo con lo reportado por otros autores (Elizalde et al. 1999a; Sairanen et al. 2005), y podría ser explicada por un aumento en los niveles de CNF y de ALM en las dietas. Si bien el mayor nivel de concentrado en las dietas provocó una disminución lineal en el valor medio de pH ruminal, estos valores se encuentran próximos a los señalados como óptimos para una correcta actividad celulolítica en rumen (Hoover, 1986; Van Soest, 1994). Ésto podría ser debido a 2 factores, en primer término a las características del grano usado para la suplementación, el cual según Offner et al. (2003) es de lenta degradación ruminal. En segundo lugar podría ser debido a que el nivel de FNDf en todas las dietas estuvo por encima de los recomendados para asegurar un correcto estímulo para la rumia y la salivación (NRC, 2001; NRC 1996). Este último factor aseguraría que el aporte de sustancias tampón al medio ruminal se diera en cantidades adecuadas para evitar caídas pronunciadas del pH ruminal. Aunque en el presente trabajo no se midió la evolución del pH mas allá de las 6 horas post suplementación de la mañana, los valores medios registrados, su dinámica y la digestibilidad aparente de las fracciones FND y FAD en las distintas dietas, indicaría que el pH ruminal no afectó la actividad celulolítica en rumen. Por lo tanto, los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que cuando se manejan dietas similares a las del presente ensayo, no sería necesaria la inclusión de aditivos para controlar el pH ruminal.

Si bien los niveles de N-NH₃ registrados en rumen fueron altos, éstos fueron similares a los comunicados por otros autores (Bargo et al. 2003; Sairanen et al. 2005; Cajarville et al. 2006), y se encuentran ya a la hora 0 de medición muy por encima de los reportados como mínimos para optimizar la digestión y el crecimiento microbiano en rumen (Hoover, 1986). Bargo et al. (2003), marcan como el efecto más consistente sobre la fermentación ruminal de la suplementación con concentrados en animales consumiendo pasturas templadas, una disminución en la concentración de N-NH₃. Sin embargo, en el presente trabajo ésto no sucedió. Teóricamente, era de esperar una disminución en el nivel de N-NH₃ en rumen al incluir el grano de sorgo en la dieta. Esto sería debido a una reducción en el consumo de N proveniente del forraje y a una mayor sincronía entre N y CHFF, lo que llevaría a una mayor captación de N-NH₃ por los microorganismos ruminales. En este sentido, Elizalde et al. (1999b), estudiando el efecto de la inclusión de diferentes niveles de grano de maíz en dietas de novillos consumiendo alfalfa, reportan una disminución lineal en la concentración de N-NH₃ ruminal. Los autores atribuyen esta disminución a un menor consumo de proteína bruta y no a una mayor ESPM en rumen. En el presente trabajo, ni el consumo total de N, ni la eficiencia de uso del nitrógeno ingerido para la SPM, fueron afectados por los tratamientos. Estos resultados, junto a la disminución en la ESPM al incluir el suplemento en la dieta, podrían ser la explicación de la ausencia de efecto de los tratamientos sobre los niveles de N-NH₃ en rumen. Otro factor que podría tener incidencia en este resultado podría ser una mayor absorción a nivel ruminal de N-NH₃ en el grupo S0. Esto podría estar dado por el mayor pH ruminal registrado en el grupo S0, lo que determinaría una mayor proporción del N-NH₃ en su forma disociada y por tanto una mayor absorción de este elemento en rumen (Kozloski, 2002).

El aumento en la retención de nitrógeno por la suplementación era esperable. Sin embargo, no van en la misma línea de los resultados encontrados para los niveles de N-NH₃ en rumen, para el consumo y digestibilidad aparente del N y para la eficiencia de uso del nitrógeno ingerido para la SPM (gNM/gNI). Si bien los niveles de insulina y glucagón en sangre y la abundancia de transcritos vinculados al metabolismo de la glucosa no se midieron en todos los tratamientos, la tendencia a mayores niveles de insulina en sangre, los menores niveles de glucagón y la relativa menor abundancia de ARNm de la enzima PCK-1 en hígado, en el grupo suplementado al 1,5% del PV podrían indicar un menor uso de aminoácidos como elemento neoglucogénico. Este menor catabolismo de aminoácidos determinaría que una proporción mayor de aminoácidos queden disponibles para la síntesis proteica, lo que podría ser una explicación a la mayor retención de N en los grupos suplementados.

El aumento en la SPM al incluir el grano de sorgo en la dieta es reflejo de un mayor consumo de MO total y de MOD y coincide con los resultados reportados por Sairanen et al. (2005). Estos autores plantean que la SPM en animales consumiendo pastura de buena calidad sólo se puede incrementar si se logra un aumento en el consumo de MO fermentable en rumen. Según Clark et al. (1992), cuando el N en rumen no es limitante (niveles de N-NH₃ ruminal mayores a 5 mg/dL), la SPM está fuertemente relacionada al consumo de MO y a la proporción de ésta que es fermentada en rumen. En este sentido, Berzaghi et al. (1996) y García et al. (2000), no reportan cambios en los gramos de proteína microbiana sintetizada en rumen cuando se suplementó animales consumiendo pastura de buena calidad con granos de cereales, lo que probablemente este asociado a que en el consumo de MO no varió entre los distintos tratamientos. Sin embargo, otros autores reportan

incrementos en el consumo de MO cuando se incrementó el nivel de concentrado en la dieta, sin encontrar cambios en la SPM en rumen (Jones-Endsley et al. 1997; Elizalde et al. 1999b).

Los niveles medios de N-NH₃ en rumen y su dinámica, sugieren que el nitrógeno no fue un factor limitante para el crecimiento microbiano en ninguno de los tratamientos. La ESPM (gNm/kgDOMI) en el grupo consumiendo pastura como único alimento fue alta y similar a la reportada por otros autores para animales consumiendo pastura templada de buena calidad (van Vuuren et al. 1993; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000). Según Bach et al. (2005) el crecimiento microbiano se optimiza cuando la ESPM es de 29 g de NM por kg de MO verdaderamente digerida en rumen. Este valor indicaría que para el grupo S0 la ESPM estuvo muy próxima a los valores óptimos y por tanto la suplementación no lograría mejoras en esta variable. La correlación negativa entre la ESPM y el consumo de MO y CMOD podría ser asociado al consumo de grano, ya que la inclusión de suplemento en la dieta determinó un aumento en estas variables. El hecho de que la ESPM haya caído cuando se incluyó el grano en la dieta, sugiere que la energía aportada por el sorgo no está en sincronía con la proteína aportada por el forraje, o que la energía aportada por el grano no se utiliza con la misma eficiencia que la aportada por el forraje para la captación del N-NH₃ y SPM en rumen. En el mismo sentido que el presente trabajo, varios autores no encontraron incrementos en la ESPM expresada en términos de energía por la adición de concentrados en dietas compuestas por pasturas templadas de buena calidad (Berzaghi et al. 1996; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000; Sairanen et al. 2005). Hoover & Stoke (1991), plantean que los monómeros de carbohidratos resultantes de la digestión en rumen aportan cantidades similares de ATP a los microorganismos, con lo cual la tasa de digestión de los carbohidratos es la que determina la energía disponible para el crecimiento bacteriano. Es así, que los altos niveles de fibra soluble y la alta tasa de digestión de la fibra y de la MS que tienen las pasturas templadas de buena calidad, podrían ser una fuente de energía fácilmente disponible para los microorganismos ruminales. Debido a esto la suplementación con granos sobre este tipo de pasturas no repercutiría en un aumento de la ESPM (García et al. 2000; Sairanen et al. 2005). Por otro lado, el posible efecto que los taninos del sorgo pueden tener sobre la degradación de los alimentos o sobre las membranas de los microorganismos ruminales (Reed, 1995), junto a posibles alteraciones en los niveles de micronutrientes como el azufre o ácidos grasos ramificados al incluir el grano de sorgo en la dieta, no pueden ser descartados como factores que hayan afectado la ESPM en los grupos suplementados. Los resultados obtenidos en el presente experimento permiten concluir que las dietas compuestas solamente por pasturas templadas de buena calidad aportan un equilibrio de nutrientes para el crecimiento microbiano en rumen que no se logra con la incorporación de grano de sorgo en la dieta.

La suplementación con grano de sorgo a razón del 1,5% del PV repercutió en un mayor nivel de glucosa en sangre, lo que va en la misma dirección de lo comunicado por Drakley et al. (2001). Según estos autores la tasa de conversión de propionato a glucosa es mayor en animales consumiendo dietas ricas en concentrado que en aquellos consumiendo dietas ricas en forraje. Huntington et al. (2006) plantean que el consumo de energía está directamente relacionado con la tasa de neoglucogénesis hepática y con la cantidad de propionato que se convierte en glucosa. En el presente trabajo los niveles de glucosa en sangre no se correlacionaron con el CMOD, pero si tendieron a correlacionarse con el consumo

de ALM digestible, lo que podría ser una explicación a nuestros resultados. Lemostequet et al. (2009), estudiando la tasa de aparición post hepática de glucosa en vacas lecheras, reportan un incremento de la glucosa por la infusión de propionato a nivel ruminal ó de glucosa a nivel abomasal. En este sentido, varios son los autores que han reportado un incremento en el flujo de almidón a intestino y en la proporción de ácido propiónico en el rumen cuando se suplementó a animales consumiendo pastura templada de buena calidad con concentrados almidonosos (van Vuuren et al. 1993; Elizalde et al. 1999b; García et al. 2000). En el presente trabajo, el mayor consumo de ALM digestible podría indicar una mayor absorción intestinal de glucosa. Ésto, junto a una posible mayor proporción de ácido propiónico formado en rumen y utilizado en el hígado como elemento neoglucogénico, podrían ser una explicación a los mayores niveles de glucosa en sangre del grupo suplementado.

Los cambios registrados en los niveles medios de insulina y glucagón en sangre son coherentes con los valores encontrados de glucosa. Mayores niveles de glicemia estimulan la secreción de insulina y disminuyen los niveles de glucagón en sangre (Coffee, 1998b). La correlación positiva en los niveles de estas 2 hormonas sugiere que ambas hormonas, al menos en parte, responderían a un estímulo en común. Harmon (1992) resumiendo una serie de trabajos concluye que la administración de propionato y butirato en rumiantes estimula la secreción de estas 2 hormonas. Este estímulo parecería ser propio de los rumiantes (de Jong, 1982). Lemosquet et al. (2009) reportan un aumento numérico en los niveles de insulina en sangre luego de la infusión de propionato en rumen ó de glucosa en abomaso de vacas lecheras. Según Harmon (1992) dietas que promuevan una alta degradación de almidón y formación de propionato en rumen tienen asociado mayores niveles de insulina en sangre. En el presente trabajo, la correlación encontrada entre la insulina y el consumo de MO total, CMOD y consumo de ALM digestible indicaría que los niveles de insulina en sangre podrían estar asociados a una mayor nivel de consumo, a la energía consumida por parte de los animales ó a una mayor absorción intestinal de glucosa y de propionato a nivel ruminal, elementos que estimulan la secreción de esta hormona. de Jong (1982) estudiando en cabras la relación de los AGV en la regulación de los niveles de insulina y glucagón en sangre plantea que la tasa de incremento de los AGV en rumen puede contribuir a un aumento en la secreción de insulina. Ésto podría ser la explicación al aumento en los niveles de insulina en las 2 horas post suplementación en el grupo S1,5, el cual podría estar asociado a un posible incremento en la tasa de fermentación ruminal y en la producción de AGV luego de la ingesta del concentrado. Posiblemente el nivel basal de glucosa sea el responsable de los mayores niveles de glucagón en sangre en los animales consumiendo pastura como único alimento. La tendencia a una menor relación insulina/glucagón en el grupo S0 sugieren una mayor tasa de neoglucogénesis en éstos animales respecto a los del grupo S1,5. El incremento en los niveles de glucagón en las 2 horas post suplementación en los animales suplementados podría estar asociado a un mayor nivel de AGV absorbidos desde el tubo digestivo (Harmon, 1992). Sin embargo, la caída en los niveles de glucagón en las 4 horas post suplementación en el grupo consumiendo pastura como único alimento no tiene una explicación clara, ya que sería esperable un aumento en los niveles de AGV en las primeras horas luego del comienzo de la ingesta de forraje (Pérez-Ruchel, 2006).

La correlación negativa entre la expresión hepática del ARNm de la enzima PCK-1 y la insulina indicaría una posible inhibición en la expresión de este gen por la acción de esta hormona, resultado que coincide con lo reportado por She et al. (1999). Estos autores plantean que la expresión de la PCK podría ser reprimida por

la acción de la insulina, mientras que la expresión de la PC podría ser estimulada por el glucagón y la insulina tendría poco efecto represivo sobre la expresión del ARNm de esta enzima (She et al. 1999). Bobe et al (2009) plantean que la expresión del ARNm tanto de la PC como de la PCK estarían reguladas por la acción coordinada de la insulina y el glucagón, donde el glucagón tendría un efecto estimulador y la insulina un efecto represivo sobre estas enzimas. En el presente trabajo esta regulación parece haber dominado la expresión de la PCK-1, sin embargo las diferencias encontradas en los tenores hormonales entre los tratamientos no afectaron la expresión de ARNm del IR y de la PC. Los cambios detectados en la expresión de los genes podrían ser explicados por el plano nutricional de los animales de ambos grupos. Un aumento en la PCK-1 priorizaría la neoglucogénesis a partir de propionato, mientras que la PC priorizaría el uso de alanina, glicerol y lactato, metabolitos resultantes del catabolismo proteico y lipídico, como elementos neoglucogénicos (Coffee, 1998a; Drackley et al. 2001). De esta forma el aumento en la expresión de ARNm de PCK-1 en el grupo S0 permitiría un mayor uso de propionato como elemento neoglucogénico. Mientras que, la ausencia de cambios en la expresión de PC podría indicar que en ambos grupos el balance energético fue positivo.

La mayor retención de nitrógeno, los mayores niveles de glucosa, insulina y los menores niveles de glucagón y de expresión de ARNm de PCK-1 en el grupo S1,5 serían indicativos de un mayor anabolismo en los animales de este grupo respecto a los animales consumiendo pastura como único alimento. Estos resultados asociados a un mayor consumo y digestibilidad de la MO en los animales suplementados, sugieren que la suplementación repercutiría en una mayor respuesta productiva de los animales respecto de aquellos que consumen pastura como único alimento.

CONCLUSIONES

La suplementación de vaquillonas consumiendo una pastura fresca de buena calidad con grano de sorgo determinó una caída en el consumo de forraje y un aumento en el consumo de MS y MO total, no observándose diferencias al aumentar los niveles de inclusión de sorgo.

El pH ruminal disminuyó por la inclusión del grano. Sin embargo, los valores medios registrados, su dinámica y la digestibilidad aparente de la fibra en las dietas, indicaría que el pH ruminal no afectó la digestión de la fibra en rumen. Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que cuando se manejan dietas similares a las del presente ensayo, no sería necesaria la inclusión de aditivos para controlar el pH ruminal.

La suplementación no afectó los niveles de N-NH₃, ni la eficiencia de uso del nitrógeno ingerido para la SPM. Sin embargo, la SPM aumentó y la ESPM disminuyó por la inclusión del grano en la dieta. Estos resultados indicarían que las dietas compuestas solamente por pasturas templadas aportan un equilibrio de nutrientes para el crecimiento microbiano en rumen que no se logra con la incorporación de grano de sorgo en la dieta.

La digestibilidad de la MS y MO aumentaron por la suplementación con grano de sorgo, aunque no se modificaron entre los distintos niveles de inclusión. La digestibilidad de las fracciones FND y FAD no se afectó y la del almidón disminuyó al incrementar los niveles de suplementación.

La suplementación al 1,5% del peso vivo determinó una mayor retención de nitrógeno, mayores niveles de glucosa e insulina en sangre, menores niveles de glucagón en sangre y una menor expresión hepática de ARNm de PCK-1 todo lo cual indicaría un mayor anabolismo en los animales de este grupo respecto a los animales consumiendo pastura como único alimento.

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que la suplementación de animales consumiendo una pastura templada con grano de sorgo a razón del 0,5% del PV logra incrementos en el consumo y en el aprovechamiento digestivo de la dieta global. Estos incrementos no se logran mejorar con niveles mayores de suplementación. A pesar de no lograr aumentos en la eficiencia con que se utilizan los nutrientes en el rumen, los resultados de consumo y digestibilidad, producción total de proteína microbiana, asociados a los obtenidos en los parámetros vinculados al uso de la glucosa, sugieren que la respuesta productiva sería mayor en los animales suplementados

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Allen M.S. (1996). Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3063-3075.
2. AOAC. (1984). Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis 14^o Ed. Washington DC, USA.
3. Azevedo do Amaral G. (2008). Valor alimentar de dietas com azevém (*Lolium multiflorum*, LAM.) e suplementação nitrogenada ou energética. MSc Tesis. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.
4. Bach A., Calsamiglia S., Stern M.D. (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 88:(E. Suppl.):E9–E21.
5. Bargo F., Muller L.D., Kolver E.S. & Delahoy J.E. (2003). Invited Review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1–42.
6. Bargo F., Muller L.D., Delahoy J.E., Cassidy T.W. (2002). Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.* 85:1777–1792.
7. Berzaghi P., Herbein J.H., Polan C.E. (1996). Intake, Site, of lactating and extent of nutrient digestion cows grazing pasture. *J. Dairy Sci.* 79:1581-1589.
8. Bobe G., Velez J.C., Beitz D.C., Donkin S.S. (2009). Glucagon increases hepatic mRNA concentrations of ureagenic and gluconeogenic enzymes in early-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:5092–5099.
9. Cajarville C., Aguerre M., Repetto J.L. (2006). Rumen pH, NH₃-N concentration and forage degradation kinetics of cows grazing temperate pastures and supplemented with different sources of grain. *Anim. Res.* 55:511-520.
10. Carriquiry M., Weber W.J., Fahrenkrug S.C., Crooker B.A. (2009). Hepatic gene expression in multiparous holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *J. Dairy Sci.* 92:4889–4900.
11. Cerrato-Sánchez M., Calsamiglia S., Ferret A. (2008). Effect of the magnitude of the decrease of rumen pH on rumen fermentation in a dual-flow continuous culture system. *J. Anim. Sci.* 86:378-383.
12. Cerrato-Sánchez M., Calsamiglia S., Ferret A. (2007). Effects of time at suboptimal pH on rumen fermentation in a dual-flow continuous culture system. *J. Dairy Sci.* 90:1486–1492.
13. Chen X.B., Gomes M.J. (1995). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives - An overview of the technical details. International Feed Resources Unit Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen, Scotland, UK.
14. Cheng S., Yi S., Halgreen L. (2009). The relationships of sorghum kernel pericarp and testa characteristics with tannin content. *Asian J. Crop Sci.* 1(1):1-5.
15. Clark J.H., Klusmeyer T.H., Cameron M.R. (1992). Symposium: Nitrogen metabolism and aminoacid nutrition in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 75:2304-2323.
16. Coffee C.J. (1998a) Gluconeogenesis: The de novo synthesise of glucose and its role in preventing hypoglycemia. En: Coffee, C.J. (1998). *Metabolism*. Ed. Fence Creek Publishing, Madison, Connecticut, EEUU, Cap 13, pp.187-199.
17. Coffee C.J. (1998b). Overview of carbohydrate metabolism: The importance of regulating blood glucose levels. En: Coffee, C.J. (1998). *Metabolism*. Ed. Fencehe Creek Publishing, Madison, Connecticut, EEUU, Cap 9, pp.129-139.

18. Conrad H.R., Pratt A.D., Hibbs J.W. (1964). Regulation of feed intake in dairy cows. I. Change in importance of physical and physiological factors with increasing digestibility. *J. Dairy Sci.* 47:54-62.
19. de Jong A. (1982). Patterns of plasma concentrations of insulin and glucagon after intravascular and intraruminal administration of volatile fatty acids in the goat. *J. Endocrinol.* 92:357-370.
20. de Veth M.J., Kolver E.S. (2001a). Digestion of ryegrass pasture in response to change in pH in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 84:1449–1457
21. de Veth M.J., Kolver E.S. (2001b). Diurnal variation in pH reduces digestion and synthesis of microbial protein when pasture is fermented in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 84:2066–2072.
22. DIEA. (2009a). Anuario estadístico agropecuario 2009. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Uruguay. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5;MNU;>
23. DIEA. (2009b). Serie “Precio de la Tierra” compraventa. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Uruguay. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,55,O,S,0,MNU;E;2;16;10;1;MNU;>
24. DIEA. (2009c). Encuesta agrícola invierno 2009, Serie encuestas N° 279. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Uruguay. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,85,O,S,0,MNU;E;27;5;MNU;>
25. DIEA. (2003). Anuario estadístico agropecuario 2003. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Uruguay. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/portal/hgxpp001.aspx?7,5,27,O,S,0,MNU;E;2;16;10;6;MNU;>
26. Dixon R. M., Stockdale C.R. (1999). Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50:757–773.
27. Drackley J.K., Overton T.R., Douglas G.N. (2001). Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 84(E. Suppl.):E100-E112.
28. Dumestre J., Rodriguez N. (1995). Efecto de niveles de suplementación con grano y frecuencia en el cambio de parcela de pastoreo en el comportamiento de novillos. Tesis de Grado, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Disponible en <http://biblioteca.fagro.edu.uy/cgi-bin/wxis.exe/iah/>
29. Eastridge M.L. (2006). Major advances in applied dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* 89:1311–1323.
30. Elizalde J.C., Merchen N.R., Faulkner D.B. (1999a). Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: I. Effects on digestion of organic matter, fiber, and starch. *J. Anim. Sci.* 77:457-466.
31. Elizalde J.C., Merchen N.R., Faulkner D.B. (1999b). Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: II. Protein and amino acid digestion. *J. Anim. Sci.* 77:467–475.
32. Forbes J.M. (2007a). Diet digestibility, energy concentration and supplementation of forages. En: Forbes J.M. (2007). Voluntary food intake and

- diet selection in farm animals. Ed. CAB International 2° ed. Wallingford, UK, Cap 11, pp.219-242.
33. Forbes J.M. (2007b). Minimal total discomfort. En: Forbes J.M. (2007). Voluntary food intake and diet selection in farm animals. Ed. CAB International 2° ed. Wallingford, UK, Cap 10, pp.203-218.
 34. Forbes J.M. (1996). Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3029-3035.
 35. García S.C., Santini F.J., Elizalde J.C. (2000). Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. *J. Dairy Sci.* 83:746–755.
 36. García López G., García Pintos L., López Ortiz M. (2008). Efecto de la suplementación energética sobre la performance de novillos manejados sobre una mezcla de raigrás perenne bajo cuatro presiones de pastoreo. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía, UdelaR. Uruguay. Disponible en <http://biblioteca.fagro.edu.uy/cgi-bin/wxis.exe/iah/>
 37. Goering H.K., Van Soest P.J. (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook N°379*. U.S.D.A.
 38. Hahn D.H, Rooney L.W. (1986). Effect of genotype on tannins and phenols of sorghum. *Cereal Chem.* 63(1):4-8.
 39. Hall M.B., Huntington G.B. (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *J. Anim. Sci.* 86:E287-E292.
 40. Harmon D.L. (1992). Impact of nutrition on pancreatic exocrine and endocrine secretion in ruminants: a review. *J. Anim. Sci.* 70:1290-1301.
 41. Herrera-Saldana R., Gomez-Alarcon R., Torabi M., Huber J.T. (1990). Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *J. Dairy Sci.* 73:142-148.
 42. Hersom M.J. (2008). Opportunities to enhance performance and efficiency through nutrient synchrony in forage-fed ruminants. *J. Anim. Sci.* 86:E306-E317.
 43. Hibberd C.A., Wagner D.G., Schemm R.L., Mitchell E.D. Jr., Hintz R.L., Weibel D.E. (1982a). Nutritive characteristics of different varieties of sorghum and corn grains. *J. Anim. Sci.* 55:665-672.
 44. Hibberd C.A., Wagner D.G., Schemm R.L., Mitchell E.D. Jr., Weibel, D.E., Hintz R.L. (1982b). Digestibility characteristics of isolated starch from sorghum and corn grain. *J. Anim. Sci.* 55:1490-1497.
 45. Hoffman P.C, Sievert S.J., Shaver R.D., Welch D.A., Combs D.K. (1993). In situ dry matter, protein, and fiber degradation perennial forages. *J. Dairy Sci.* 76:2632-2643.
 46. Hoover W.H, Stokes S.R. (1991). Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74:3630-3644.
 47. Hoover W.H. (1986). Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69:2755-2766.
 48. Huntington G.B., Harmon D.L., Richards C.J. (2006). Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J. Anim. Sci.* 84(E. Suppl.):E14–E24.
 49. INAC. (2009). Informe estadístico año agrícola julio 2008 – junio 2009. Dirección de Información y Análisis Económico, Instituto Nacional de Carne. Disponible en http://www.inac.gub.uy/innovanet/macros/Home_2_4P.jsp?contentid=3119&version=1&channelid=1

50. Jones-Endsley J.M., Cecava M.J., Johnson T.R. (1997). Effects of dietary supplementation on nutrient digestion and the milk yield of intensively grazed lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:3283–3292.
51. Karcher E.L., Pickett M.M., Varga G.A., Donkin S.S. (2007). Effect of dietary carbohydrate and monensin on expression of gluconeogenic enzymes in liver of transition dairy cows. *J. Anim. Sci.* 85:690-699.
52. Kolver E.S., de Veth M.J. (2002). Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. *J. Dairy Sci.* 85:1255–1266.
53. Kolver E.S., Muller L.D. (1998). Performance and nutrient intake of high producing holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81:1403–1411.
54. Kozloski G.V. (2002). Bioquímica da digestão e absorção. En: *Bioquímica dos ruminantes*. Ed. Editoraufsm 1º ed. Universidade Federal De Santa Maria. p.69-87.
55. Kozloski G.V., Rocha J.B.T., Ribeiro Filho H.M.N., Perottoni J. (1999). Comparison of acid and amyloglucosidase hydrolysis for estimation of non-structural polysaccharides in feed samples. *J. Sci. Food. Agric.* 79:1112-1116.
56. Larraín R.E, Schaefer D.M., Arp S.C., Claus J.R., Reed J.D. (2009). Finishing steers with diets based on corn, high-tannin sorghum, or a mix of both: Feedlot performance, carcass characteristics, and beef sensory attributes. *J. Anim. Sci.* 87:2089-2095.
57. Lemosquet S., Delamaire E., Lapierre H., Blum J.W., Peyraud J.L. (2009). Effects of glucose, propionic acid, and nonessential amino acids on glucose metabolism and milk yield in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:3244–3257.
58. Makkar, H. P. S. (2000). Quantification of tannins in tree foliage. *FAO /IAEA Working Document IAEA*, Vienna, Austria.
59. McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D, Morgan C.A. (2006a). Valoración de los alimentos: Digestibilidad. En: *Nutrición Animal*. Ed. Acribia S.A. 6º ed. Zaragoza. España, Cap 10, pp. 205-219.
60. McDonald P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D, Morgan C.A. (2006b). Valoración de los alimentos: Proteína. En: *Nutrición Animal*. Ed. Acribia S.A. 6º ed. Zaragoza. España, Cap 13, pp. 265-293.
61. McEvoy M., Kennedy E., Murphy J.P., Boland T.M., Delaby L., O’Donovan M. (2008). The effect of herbage allowance and concentrate supplementation on milk production performance and dry matter intake of spring-calving dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 91:1258–1269.
62. Nocek J.E., Russell J.B. (1988). Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71:2070-2107.
63. NRC. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. Ed. National Academy Press, 7º ed. Washington D.C., USA.
64. NRC. (1996). Nutrient requirements of beef cattle. Ed. National Academy Press, 7º ed. Washington D.C., USA.
65. Offner A., Bach A., Sauvant D. (2003). Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 106:81–93.
66. Oyhantçal W., Mila F., Frugoni G. (2009). Comportamiento del sector carne vacuna en 2009 y perspectivas para 2010. *Anuario OPYPA 2009*. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/opypa/PUBLICACIONES/Publicaciones.htm>
67. Pérez-Ruchel A. (2006). pH, amoníaco, ácidos grasos volátiles y producción de proteína microbiana en rumen de corderos, según el horario de corte de la pastura consumida. Tesis de Grado, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

68. Reed J.D. (1995). Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73:1516-1528.
69. Reis R.B., Combs D.K. (2000). Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. *J. Dairy Sci.* 83:2888–2898.
70. Repetto J.L., Cajarville C., D' Alessandro J., Curbelo A., Soto C., Garin D. (2005). Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. *Anim. Res.* 54:73-78.
71. Reynolds C.K., Aikman P.C., Lupoli B., Humphries D.J., Beever D.E. (2003). Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:1201–1217.
72. Reynolds C.K., Huntington G.B., Turrell H.F., Reynolds P.J. (1988). Net metabolism of volatile fatty acids, D- β -hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, and blood gasses by portal-drained viscera and liver of lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 71:2395-2405.
73. Rooney L.W., Pflugfelder R.L. (1986). Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J. Anim. Sci.* 63:1607-1623.
74. Sairanen A., Khalili H., Nousiainen J.L., Ahvenjarvi S., Huhtanen P. (2005). The effect of concentrate supplementation on nutrient flow to the omasum in dairy cows receiving freshly cut grass. *J. Dairy Sci.* 88:1443–1453.
75. SAS. (2002). Statistical Analysis Systems Institute. SAS Version 9. SAS Institute, Cary, NC, USA.
76. She P., Lindberg G.L., Hippen A.R., Beitz D.C., Young J.W. (1999). Regulation of messenger ribonucleic acid expression for gluconeogenic enzymes during glucagon infusions into lactating cows. *J. Dairy Sci.* 82:1153–1163.
77. Simeone A., Berreta V. (2005a). Suplementación y engorde a corral: cuándo y cómo integrarlos en el sistema ganadero. En: Jornada Anual de la Unidad de Producción Intensiva de Carne. E.E.M.A.C. Facultad de Agronomía.
78. Simeone A., Berreta V. (2005b). Pasto vs. Grano en invernada: falso dilema. Consideraciones sobre la utilización de alimentos concentrados en sistemas de recría y engorde de ganado bovino. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
79. Stockdale C. R. (2000a). Levels of pasture substitution when concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. *Aust. J. Exp. Agric.* 40:913–921.
80. Stockdale C. R. (2000b). Differences in body condition and body size affect the responses of grazing dairy cows to high-energy supplements in early lactation. *Aust. J. Exp. Agric.* 40:903–911.
81. Tebot I. (2008). Efecto de los suplementos ricos en energía sobre la función ruminal y el metabolismo del nitrógeno en ovinos alimentados con pasto fresco. MSc Tesis. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
82. Van Soest P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. Ed. Cornell University Press. 2^o ed. New York.
83. van Vuuren A.M., Van Der Koelen C.J., Vroonede Bruin J. (1993). Ryegrass versus corn starch or beet pulp fiber diet effects on digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2692-2700.
84. Vaz Martins D. (1997). Suplementación energética en condiciones de pastura limitante. En: Suplementación estratégica para el engorde de ganado. Serie técnica N° 83. INIA La Estanzuela, p.17-22.
85. Vazquez O.P., Smith T.R. (2000). Factors affecting pasture intake and total dry matter intake in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:2301–2309.

86. Velez J.C., Donkin S.S. (2005). Feed restriction induces pyruvate carboxylase but not phosphoenolpyruvate carboxykinase in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:2938–2948.
87. Vidal M.E. (2009). Producción lechera: situación y perspectivas. Anuario OPYPA 2009. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/opypa/PUBLICACIONES/Publicaciones.htm>
88. Vidal M.E., Ilundain M. (2002). Producción lechera: situación actual y perspectivas. Anuario OPYPA 2002. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/opypa/PUBLICACIONES/Publicaciones.htm>
89. Williams E.L., Rodriguez S.M., Beitz D.C., Donkin S.S. (2006). Effects of short-term glucagon administration on gluconeogenic enzymes in the liver of midlactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:693–703.
90. Wong J.H., Lau T., Cai N., Singh J., Pedersen J.F., Vensel W.H., Hurkman W.J., Wilson J.D., Lemaux P.G., Buchanan B.B. (2009). Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. *Journal of Cereal Science* 49:73–82.

ANEXO

Publicación: Dry matter intake and digestibility of wethers and heifers fed temperate pastures supplemented with sorghum grain. Aceptado para su publicación en la revista South African Journal of Animal Science.