



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE MAGISTER EN CIENCIAS AGRARIAS

**SUPLEMENTACIÓN ENERGÉTICA DE BOVINOS A PASTOREO.
EFECTO DE NIVELES MODERADOS DE SUPLEMENTO SOBRE
LA DINÁMICA DE DIGESTIÓN DE LA DIETA BASAL.**

MARÍA ELENA FUENTES

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2016

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Magister en Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Facultad de Agronomía de la UNLPam, durante el período comprendido entre diciembre de 2009 y marzo de 2016, bajo la dirección del Dr. Néstor P. Stritzler, Profesor Titular de la cátedra de Nutrición Animal de la Facultad de Agronomía de la UNLPam y la co-dirección del Dr. Hugo Arelovich, Profesor Titular de la cátedra de Nutrición Animal del Departamento de Agronomía de la UNS.

María Elena Fuentes

Departamento de Agronomía
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el / / , mereciendo
la calificación de(.....)

Agradecimientos

A mi director Néstor Stritzler por brindarme su orientación y acompañamiento durante el desarrollo de esta tesis.

A mi co-director Hugo Arelovich por sus sugerencias y sus valiosos aportes para la elaboración de la misma.

A la Universidad Nacional del Sur por darme la posibilidad de realizar mis estudios de posgrado.

A la Facultad de Agronomía (UNLPam) por facilitar el desarrollo de este trabajo.

A Celia Rabotnikof, Fernando Bacha y Federico Demateis Llera, Celeste Lentz por su participación en el desarrollo del trabajo.

A Sergio Lardone, Juan Rodriguez y Néstor Balzer por su generosa colaboración en el trabajo de campo y de laboratorio.

A Valeria Belmonte, Horacio Pagella y Carlos Ferri por su buena predisposición a mis consultas.

A mis compañeros Laura, Yanina, Héctor y Susana por su apoyo incondicional.

A INTA por permitirme continuar con mi formación de posgrado.

A mi familia, a Claudio y Camilo por alentarme a cada paso de mi vida.

RESUMEN

La suplementación energética es una práctica a la que recurren muchos productores para mejorar la dieta de los animales y cubrir el déficit forrajero. Sin embargo, modifica el ambiente ruminal y por lo tanto la dinámica digestiva de la dieta base, de bovinos en pastoreo. En estas situaciones, que son las más frecuentes en los sistemas de producción de carne y leche de nuestro país, la digestión de la fracción fibrosa aporta una parte importante del total de nutrientes absorbidos y por lo tanto, es fundamental mantenerla en los niveles más altos posibles. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación energética moderada sobre el aprovechamiento de la dieta base fibrosa, en bovinos en pastoreo. Se realizaron tres experimentos durante los cuales los animales fueron alimentados en base a pastoreo directo de diferentes forrajes y en distintas épocas del año. Experimento I: *Avena sativa* (VA) durante el mes de mayo (26,2% PB, 44,9% FDN, 17,0% MS); Experimento II: *Panicum virgatum* diferido (PVD) durante el mes de julio (2,3% PB, 81,7% FDN, 85,2% MS) y Experimento III: *Digitaria eriantha* (DI) durante la segunda quincena de noviembre (9,6% PB, 70,7% FDN, 32,5% MS). Además, se suministró a los animales siempre el mismo suplemento energético, que consistió en grano de maíz partido, en niveles de suplementación de 0% (T1), 0,5% (T2) y 1% (T3) de PV del animal (en MS). Para los experimentos se utilizaron tres novillos Hereford provistos de cánulas en rumen, en un diseño de cuadrado latino 3x3 (tres tratamientos por tres períodos). Cada período fue de 10 días, compuestos de 7 días de acostumbramiento y 3 días de muestreo. Se utilizó el método *in situ* para determinar la degradabilidad de la MS, FDN y PB de las pasturas y otros substratos incubados heno de alfalfa (HA), pasto llorón (PLL) y celulosa (CEL)). Se determinaron los parámetros pH, N-NH₃ y AGV en líquido ruminal.

En el experimento I el efecto del suplemento sobre la degradabilidad efectiva de la fibra de los substratos no fue significativa para ninguno de los dos niveles de grano. En el Experimento II se observó un fuerte impacto negativo sobre los forrajes incubados de bajo valor nutritivo, en el T3 disminuyó la degradabilidad de la fibra de PVD en un 60%, aunque el efecto también fue importante en T2 (30% menos). En el experimento III la reducción en la digestión de la fibra fue significativa (20%) para HA y DI, en el nivel más alto de suplementación ($p < 0,05$).

El pH en líquido ruminal se redujo significativamente con el agregado de grano, en las tres situaciones de pastoreo, el mayor impacto se observó en el Experimento II. El contenido de N-NH₃ ruminal disminuyó significativamente en T2 y T3 en pastoreo de VA, se redujo levemente en T2 en pastoreo de DI y aumentó en T2 y T3 en pastoreo de PVD ($p < 0,05$). La concentración de AGV totales en líquido ruminal no se modificó en pastoreo de VA. En el tratamiento con mayor nivel de maíz cambiaron las proporciones molares individuales, aumentó el ácido propiónico, se redujo el ácido acético y en consecuencia, disminuyó la relación acético: propiónico (A:P, $p < 0,05$). En situación de pastoreo de PVD aumentaron significativamente los AGV totales en T2 y T3 con respecto al testigo. La proporción de ácido acético disminuyó significativamente en T2 y T3 y se redujo la relación A:P. En pastoreo de DI el contenido de AGV totales se acrecentó y también se modificaron las proporciones molares, de manera que la relación A:P se redujo en el T3. Las situaciones nutricionales fueron muy diferentes debido al forraje base, la suplementación y sus interacciones. Los resultados indican que en los forrajes de bajo valor nutritivo el efecto del suplemento energético se traduce en un fuerte deterioro de la degradación de la fibra

ABSTRACT

Energy supplementation is a practice that producers use frequently to improve the utilization of a diet based on forages, and simultaneously meet the animal nutritional needs, particularly with a forage deficit in quantity or quality occurs. However, for grazing cattle, an additional energy supply to high fiber forages could modify the rumen environment and therefore the digestion dynamics of the basal diet. Although supplementation practice is usual in beef and dairy cattle systems in our country, the fibrous fraction of the diet provides a substantial proportion of the total absorbed nutrients. Then, it is essential to sustain fiber digestion rate and its digestibility at the highest possible levels. The aim of this study was to evaluate the effect of a moderate energy supplementation upon the use of a fiber-based diet in grazing beef cattle. Three experiments were carried out during which the animals were fed based on direct grazing of different forages and at different times of the year. Thus, pastures and grazing periods for each experiment were: Experiment I: *Avena sativa* (VA, 26,2% CP, 44,9% NDF, 17,0% DM), on May; Experiment II: *Panicum virgatum* deferred (PVD, 2,3% CP, 81,7% NDF, 85,2% DM), on July; Experiment III: *Digitaria eriantha* (DI, 9,6% CP, 70,7% NDF, 32,5% DM) on the second half of November. Three Hereford steers fitted with rumen cannulas in a 3x3 Latin square design were used for each experiment. These animals received cracked corn grain as the energy supplement, fed at 0% (T1), 0.5% (T2) and 1% (T3) of BW as DM. The treatments and animals were the same in each experiment. Each period was 10 days, composed of 7 days of habit and 3 days of sampling. *In situ* studies were used to measure the degradability of DM, NDF and CP of the pasture of the corresponding treatment, as well as other incubated substrates: alfalfa hay (AH), weeping lovegrass (PLL) and cellulose (CEL). The pH, N-NH₃ and VFA in ruminal fluid were also determined. In Experiment I, the effect of the supplement was not significant on the effective degradability of any of the incubated substrates at any level of grain supply. In Experiment II a strong negative impact of corn supply was observed for the forage of the lowest nutritional quality. For T3 fiber degradability of PVD was decreased by 60%, although the effect was also relevant for T2 with a 30% reduction. In experiment III the reduction in fiber degradability was significant (20%) for HA y DI at the highest supplementation level. The ruminal pH was significantly reduced

with the addition of grain in the three grazing situations, the greatest impact was observed on the Experiment II. The ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration decreased significantly in T2 and T3 when steers were grazing VA, declined slightly in T2 grazing DI, and increased in T2 and T3 grazing PVD ($P < 0.05$). Total VFA did not change when grazing VA; however, VFA molar proportions in T3, increasing propionic acid, decreasing acetic acid, therefore decreasing the acetate: propionate ratio (A: P, $P < 0.05$). When PVD was the basal diet, total VFA were significantly increased in T2 and T3 compared with T1. The proportion of acetic acid significantly decreased in T2 and T3 and dropped the A: P ratio. For DI total VFA content was also increased and the molar proportions affected, the ratio A: P was reduced in T3. Nutrient supply varied because of the different quality of the basal diet and interaction with supplement. Thus, these results indicate that for forages of low nutritional value the effect of energy supplementation results in a substantial decrease of fiber degradation.

Certifico que fueron incluidos los cambios y correcciones sugeridas por los jurados

Firma del director

Índice de Contenidos

	Página
Índice de Contenidos	v
Índice de tablas.....	viii
Índice de Figuras	x
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
Introducción general	1
Características de los forrajes.....	2
Suplementación en pastoreo	3
Objetivos de la suplementación	4
Relación forraje-suplemento-animal.....	4
Suplementación con concentrados energéticos	7
Nivel de suplementación y calidad del forraje	8
Hidratos de carbono de los forrajes	9
Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono	10
Productos de la digestión. Ácidos grasos volátiles.....	11
Metabolismo de las proteínas	13
Relación entre proteína y energía de la dieta.....	14
Influencia de la suplementación energética sobre el pH	16
Hipótesis.....	18
Objetivo general.....	18
Objetivos particulares	18

2. MATERIALES Y MÉTODOS	19
Sitio experimental	19
Componentes de la dieta	19
Características de las pasturas	19
Experimentos.....	21
Animales y tratamientos.....	21
Manejo de la alimentación	23
Incubación en el rumen.....	23
Mediciones y Análisis químicos	25
Estimación de los parámetros de degradación ruminal	25
Ambiente ruminal.....	26
Mediciones y análisis químicos.....	27
Análisis estadístico	28
3. RESULTADOS	29
Valor nutritivo de los componentes de la dieta y substratos incubados.....	29
<i>Experimento I:</i> Dieta basal pastura de avena.....	30
Degradabilidad ruminal de la MS.	30
Degradabilidad ruminal de la FDN	31
Degradabilidad ruminal de la PB.....	33
Parámetros ruminales.....	34
Variaciones del pH en rumen.....	34
Variaciones del N-NH ₃	36
Concentración de AGV.	37

<i>Experimento II: Dieta basal pastura de panicum diferido.</i>	38
Degradabilidad ruminal de la MS.	38
Degradabilidad ruminal de la FDN	40
Degradabilidad ruminal de la PB.....	42
Parámetros ruminales.....	43
Variaciones del pH en rumen.....	43
Variaciones del N-NH ₃	44
Concentración de AGV.	45
<i>Experimento III: Dieta basal pastura de digitaria.</i>	47
Degradabilidad ruminal de la MS.	47
Degradabilidad ruminal de la FDN	49
Degradabilidad ruminal de la PB.....	51
Parámetros ruminales.....	52
Variaciones del pH en rumen.....	52
Variaciones de N-NH ₃	53
Concentración de AGV.	54
4. DISCUSIÓN.....	56
Valor nutritivo de los componentes de la dieta.....	56
<i>Experimento I: Dieta basal pastura de avena.</i>	56
<i>Experimento II: Dieta basal pastura de panicum diferido.</i>	60
<i>Experimento III: Dieta basal pastura de digitaria.</i>	63
DISCUSIÓN GENERAL.....	65
5. CONCLUSIONES	66

6. BIBLIOGRAFÍA.....	68
----------------------	----

Índice de tablas

	Página
Tabla 1. Biomasa aérea disponible y contenido de materia seca (MS), fibra en detergente neutro (FDN) y proteína bruta (PB) de las pasturas.	29
Tabla 2. Composición química sobre base seca de los substratos incubados en rumen. 29	
Tabla 3. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la MS, en pastoreo de VA.....	30
Tabla 4. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la FDN, en pastoreo de VA....	32
Tabla 5. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la PB, en pastoreo de VA.	34
Tabla 6. Valores promedios de pH y N-NH ₃ , en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA.....	35
Tabla 7. pH y N-NH ₃ (mg/100ml) en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	35
Tabla 8. Concentración de AGV totales, ácidos acético, propiónico y butírico (mM/l), en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA.	37
Tabla 9. Concentración de AGV en fluido ruminal, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	38
Tabla 10. Proporciones molares de AGV en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA.....	38
Tabla 11. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la MS en pastoreo de PVD..	39
Tabla 12. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la FDN, en pastoreo de PVD.	41
Tabla 13. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la PB en pastoreo de PVD...	43
Tabla 14. Valores promedios de pH y concentración de N-NH ₃ (mg/100ml), en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD.	44
Tabla 15. pH y N-NH ₃ en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	44

Tabla 16. Concentración de AGV totales, ácido acético, propiónico y butírico (mM/l), en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD.....	46
Tabla 17. Concentración de AGV en fluido ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	47
Tabla 18. Proporciones molares de AGV en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD.....	47
Tabla 19. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la MS, en pastoreo de DI.....	48
Tabla 20. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la FDN en pastoreo de DI....	50
Tabla 21. Parámetros de degradabilidad ruminal <i>in situ</i> de la PB en pastoreo de DI.	51
Tabla 22. Valores promedios de pH y concentración de N-NH ₃ (mg/100ml) en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI.....	52
Tabla 23. pH y N-NH ₃ en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	52
Tabla 24. Concentración de AGV totales, ácido acético, propiónico y butírico (mM/l), en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI	54
Tabla 25. Concentración de AGV en fluido ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	55
Tabla 26. Proporciones molares de AGV en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI.....	55

Índice de Figuras

	Página
Fig. 1. Diferentes respuestas a la suplementación.....	5
Figura 2. Pastura utilizada como verdeo invernal. <i>Avena sativa</i> cv Cristal.	20
Figura 3. Pastura utilizada diferida. <i>Panicum virgatum</i> cv Álamo	20
Figura 4. Pastura utilizada en el rebrote primaveral. <i>Digitaria eriantha</i> cv Irene	21
Figura 5. Bolsitas atadas al tapón de goma, previo a incubar.	24
Figura 6. Bolsita después de incubar y secar en estufa.	25
Figura 7. Filtrado del líquido ruminal.	27
Figura 8. Degradabilidad <i>in situ</i> de la MS.....	31
Figura 9. Degradabilidad <i>in situ</i> de la FDN.....	33
Figura 10. Degradabilidad <i>in situ</i> de la PB	34
Figura 11. Variación de pH ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.....	36
Figura 12. Variación de N-NH ₃ ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	36
Figura 13. Degradabilidad <i>in situ</i> de la MS.....	40
Figura 14. Degradabilidad <i>in situ</i> de la FDN.....	42
Figura 15. Degradabilidad <i>in situ</i> de la PB	43
Figura 16. Variación de pH ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	45
Figura 17. Variación de la concentración de N-NH ₃ ruminal (en mg/100ml) en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	45
Figura 18. Degradabilidad <i>in situ</i> de la MS.....	49

Figura 19. Degradabilidad <i>in situ</i> de la FDN.....	50
Figura 20. Degradabilidad <i>in situ</i> de la PB	51
Figura 21. Variación de pH ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.	53
Figura 22. Variación del contenido de N-NH ₃ ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento	53

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Introducción general

Los rumiantes tienen la capacidad de convertir una fuente fibrosa de alimentos, que no puede ser eficientemente utilizada por otros animales, en calor y productos buscados por el hombre tales como carne, leche y lana (Van Soest, 1994). Es por eso que su mayor fuente de alimentación son los forrajes. Si bien la utilización de granos se implementa cada vez más, el uso de pasturas aporta una fuente de energía de bajo costo para los rumiantes (Clark y Kanneganti, 1998).

Esta habilidad digestiva se basa en la simbiosis establecida entre los microorganismos ruminales y el animal (Yokoyama y Johnson, 1993). Este último aporta alimento y las condiciones ambientales adecuadas, y los microorganismos realizan la degradación por digestión fermentativa aportando productos con mayor valor nutritivo para el rumiante, por ende, la digestión depende del normal desarrollo de los microorganismos. Es necesario entonces, que se mantengan, a nivel ruminal, las condiciones ideales para su crecimiento y multiplicación; esto incluye aporte de nutrientes, anaerobiosis, presión osmótica, temperatura y pH (Relling y Mattioli, 2003).

Los sistemas pastoriles extensivos son la base de la producción ganadera en la región pampeana semiárida. Sin embargo, si el forraje es el único componente de la dieta, pueden tener limitaciones productivas. Estas limitaciones se producen por la variabilidad expresada en las precipitaciones. Esto se manifiesta en alternancias estacionales e interanuales entre períodos húmedos y secos, incluidas las situaciones extremas tanto de humedad como de sequía (Seiler, 2007). La acentuada variabilidad interanual parece aumentar en los últimos años (Stritzler *et al.*, 2007), y es esperable que este fenómeno continúe y aún se intensifique en el futuro cercano (Veneciano y Lartigue, 1999), provocando un grado de incertidumbre importante sobre la expectativa de producción de los recursos forrajeros. Además, existen variaciones en la cantidad y distribución estacional de las lluvias que ocasionan cambios en la productividad de las pasturas y composición de las especies (Elizalde y Santini, 1992). Esto causa una baja disponibilidad de forraje en invierno que afecta la producción animal, tanto en

rodeos de cría como en invernada.

Ante estas situaciones, la utilización de una suplementación energética moderada, esporádica y como complemento del pastoreo en los rodeos de cría y en invernada, es una práctica habitual cuya finalidad es lograr mayor producción, compensar déficits de disponibilidad de forraje y/o estabilizar los sistemas ganaderos (Stritzler, 2004). La eficiencia de la suplementación estará, en consecuencia, enmarcada en dicho sistema, y será positiva o negativa dependiendo de cada situación particular (Stritzler, 2004). Para lograr una máxima expresión productiva con estos recursos forrajeros, es prioritario el establecimiento de un ecosistema ruminal que maximice la degradación de la fibra, complementando los elementos que limitan la capacidad fermentativa microbiana (Leng, 1991).

Se analizarán en la presente revisión algunos factores relacionados al suplemento energético que influyen sobre en el aprovechamiento de la pastura.

Características de los forrajes

La producción obtenida en pastoreo es ampliamente variable entre épocas y entre especies forrajeras o pasturas (Elizalde y Santini, 1992). El forraje producido por una pastura no es el mismo a través de los años y las variaciones en la calidad son una limitante a la utilización del mismo, en muchos casos resulta difícil de predecir y establecer cadenas forrajeras para el mediano plazo. Los años de escasas precipitaciones la producción de forraje de los pastizales naturales es baja, como así también lo es la producción de las pasturas de alfalfa pura o en mezclas con gramíneas, de los verdeos de verano e invierno, y aún de las gramíneas perennes de verano, como pasto llorón, mijo perenne y digitaria (Stritzler y Petrucci, 2005).

Más previsible que las variaciones interanuales en las precipitaciones, son las diferencias entre estaciones del año. La región semiárida central presenta una muy variable distribución de las lluvias entre estaciones, con inviernos generalmente muy secos y temperaturas muy bajas. Esto determina que las pasturas con especies de origen templado (alfalfas con y sin gramíneas) tengan una tasa de crecimiento, durante el período invernal, cercana a cero (Ferri *et al.*,

1998). A causa de esto es frecuente que se presenten situaciones difíciles en el invierno, que se extienden hasta principios de la primavera. Bajo estas condiciones, si no se reducen drásticamente las cargas animales de los establecimientos agropecuarios, la consecuencia es la sobreutilización de los recursos forrajeros. En campos con pastizales naturales, esta situación puede llevar a la degradación del recurso (Viglizzo y Frank, 2006), por pérdida de las especies de buen valor forrajero y la ocupación del espacio por especies indeseables desde el punto de vista de la producción ganadera (Llorens, 1995).

En algunos planteos ganaderos es común transferir hacia el invierno como diferido el uso de pasturas, de modo de cubrir las deficientes ofertas forrajeras normales de la época. El hecho de diferir su uso trae aparejados cambios importantes en su composición química y/o disponibilidad de nutrientes, transformándose en forraje de baja calidad, asociado a su estado de madurez o desarrollo del forraje. Estos forrajes se caracterizan por su bajo contenido proteico, bajo contenido de azúcares y almidón y alto nivel de fibra, generalmente lignificada (Leng, 1990).

Por otra parte, en sistemas de invernada se incluyen verdeos invernales en la cadena forrajera como estrategia de manejo, para corregir el déficit de forraje en el invierno (Rosso y Verde, 1992), y que proveen muy alto valor nutritivo (Ferri y Stritzler, 1996), pero de elevado costo de implantación y; su consumo fresco durante la estación otoño–invernal tiene, generalmente, un impacto negativo sobre las ganancias de peso (Elizalde y Santini, 1992; Arzadún *et al.*, 1996; Méndez y Davies, 1999). Las bajas ganancias de peso se atribuyen a la existencia de desbalances entre sus componentes (Elizalde y Santini, 1992). Los verdeos en otoño se caracterizan por tener un bajo contenido de materia seca, con una alta proporción de la proteína en forma soluble y bajo contenido de carbohidratos solubles (Mendez y Davies, 1999).

Suplementación en pastoreo

La suplementación, en la mayoría de los sistemas donde los animales se encuentran en pastoreo, es un factor importante a considerar cuando se toman decisiones de manejo (Caton y Dhuyvetter, 1997). Por lo tanto, su implementación

debe planificarse teniendo en cuenta el sistema en conjunto y la interacción existente entre sus elementos (Lange, 1973). La falta de planificación hace que, con frecuencia, se comience a pensar en suplementar cuando la situación nutricional de los animales ya es crítica (Stritzler *et al.*, 2007).

Esta alternativa de incorporar un suplemento a la dieta, se utiliza en nuestro país, y particularmente en la región semiárida, cada vez con mayor frecuencia. Su uso tiene como fin adicionar algo que falta, ya sea en cantidad o calidad, como para que el desempeño animal obtenido en pastoreo se mantenga o aumente a través de un aumento de la carga o ganancia de peso (Horn y Paisley, 1998). Mejorando de esta manera la dieta de los animales en cantidad de nutrientes consumidos por día, en valor nutritivo, o ambos.

Objetivos de la suplementación

La suplementación puede perseguir distintos objetivos:

- Aumentar el nivel de producción individual, especialmente cuando la ganancia de peso individual de los animales se encuentra restringida debido a la pastura disponible, ya sea por su cantidad o calidad nutricional (De León, 2005).
- Aumentar la carga animal, cuando la producción diaria por individuo es alta.
- Lograr un balance entre la oferta y la demanda de nutrientes. Esto permitiría mejorar las eficiencias de uso de los alimentos.
- Reducir la duración de las etapas de recría o de terminación, debido a las mayores ganancias diarias obtenidas
- Corregir las deficiencias/excesos de pastura en las diferentes estaciones del año por medio del agregado de los nutrientes que brinda el suplemento a utilizar.
- Tener una mayor certeza (producción más estable) ante situaciones de déficit atípicas, como lo son las sequías prolongadas, o las inundaciones, las cuales suceden con magnitud y frecuencia no previsible.

Relación forraje-suplemento-animal

Cada uno de los integrantes de este sistema productivo, el forraje, el animal y el suplemento, es importante, pero debemos además conocer la interacción que

se produce entre ellos (Stritzler, 2004), para lograr el objetivo propuesto y obtener la máxima eficiencia del proceso.

Podemos encontrar diferentes respuestas en los animales (Lange, 1973) a las relaciones entre forraje y suplemento (Fig. 1), debido a variaciones en el consumo total de nutrientes, cantidad de forraje que el animal obtiene de la pastura y también la receptividad de la pastura:

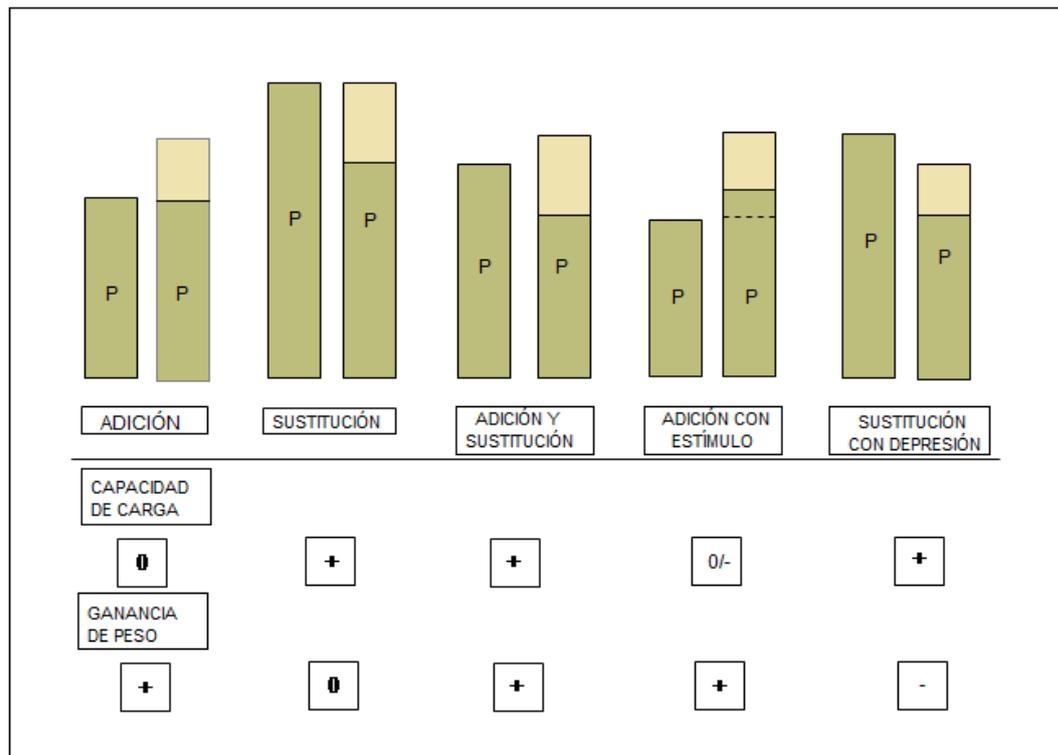


Fig. 1. Diferentes respuestas a la suplementación.

Adición: La adición se da cuando el animal obtiene de la pastura una cantidad limitada de nutrientes, ya sea por una oferta forrajera baja, un tiempo de pastoreo insuficiente o un bajo valor nutritivo de la pastura (Stritzler, 2004). Se produce cuando el consumo del suplemento se agrega al consumo de forraje del animal. Este efecto reviste importancia en otoño cuando ocurren desbalances nutricionales en los forrajes, que se manifiestan en los animales en bajas ganancias de peso (Elizalde y Santini, 1992). Con la suplementación energética se obtiene una respuesta aditiva, que permite un aumento de la ganancia de peso

individual de los animales o la producción de leche, sin modificar la carga de la pastura.

Sustitución: Ocurre cuando el consumo del suplemento deprime el consumo de forraje. Esta respuesta permite un incremento en la carga de la pastura sin existir modificación en la producción individual. Puede observarse una sustitución cuando el animal dispone una buena oferta forrajera de buena calidad, por lo tanto, el suplemento no agrega nutrientes y el animal deja de consumir pastura para incorporar el suplemento (Hodgson, 1990; Kellaway y Porta, 1993; Caton y Dhuyvetter, 1997). La tasa de sustitución se define como la disminución en el consumo de forraje por kilogramo de suplemento (Kellaway y Porta, 1993), y puede ser causada por efectos asociativos negativos en el rumen o por reducciones en el tiempo de pastoreo (Bargo *et al*, 2002). El animal no altera su potencial de ganancia de peso.

Adición con estímulo: Este tipo de respuesta se da cuando el consumo del suplemento estimula la ingesta de forraje, permitiendo un aumento en la ganancia de peso individual, pero pudiendo o no afectar positivamente a la carga de la pastura. Puede ocurrir al suplementar con proteína a animales que se encuentran pastoreando forrajes fibrosos o maduros, los cuales presentan una digestibilidad baja.

Sustitución con depresión: Ocurre cuando el valor nutritivo del suplemento es menor que el de la pastura que los animales se encuentran pastoreando, por lo tanto el consumo de forraje es deprimido, generando una disminución en la ganancia de peso individual, pero permitiendo un aumento en la carga animal debido al menor consumo de la pastura (De León, 2005). Generalmente ocurre que el suplemento disminuye la digestibilidad del forraje, que a su vez es de calidad media.

Estas relaciones no son excluyentes y la magnitud de uno u otro depende, en gran parte, de la calidad nutritiva y disponibilidad de la pastura sobre la que los animales pastorean, y su interacción con el suplemento, en la que también intervienen la calidad nutritiva y el nivel de suplementación.

Suplementación con concentrados energéticos

La utilización de granos de cereales como suplemento en la alimentación del ganado vacuno es una herramienta ampliamente difundida en el país. Esta práctica tiende a incrementarse cuando las relaciones de precio grano: carne o leche son favorables (Santini y Elizalde, 1993). Sin embargo, investigadores y extensionistas se han enfocado en generar y transferir tecnología que permita incorporar la suplementación energética en los rodeos de carne, en una forma más estable y permanente (Latimori y Kloster, 2013). Es decir, que no dependa tan estrechamente de las relaciones de precios entre los granos y la carne, sino que se transforme en un instrumento de uso habitual entre los productores, dirigido a maximizar el uso de los recursos disponibles dentro del establecimiento e incrementar sus ingresos.

En nuestro país, los granos con destino forrajero de mayor importancia son el sorgo y el maíz, aunque por razones económicas o de disponibilidad suelen utilizarse para este fin otros cereales como la cebada, avena o el trigo, que se incorporan principalmente como suplemento de dietas pastoriles. Dentro de este grupo deben incluirse también algunos balanceados comerciales formulados como concentrados energéticos.

La suplementación con granos, en animales en pastoreo, es comúnmente estratégica, y se realiza para mantener la productividad en períodos de escasez de forrajes y para mejorar la producción que se puede obtener sólo con pastura (Leaver, 1986). Complementa y potencia el uso del forraje base, en un planteo netamente pastoril cuando existen limitaciones que restringen las ganancias de peso que afectan el sistema de producción, ya sea la carga animal que puede mantener, productividad por unidad de superficie, duración de la invernada y como consecuencia, el resultado económico de la empresa. Asimismo, el suministro de una dieta más equilibrada y de mayor concentración energética, produce sobre el animal y sobre el sistema beneficios adicionales, como calidad y momento de terminación, estabilidad de la producción, que contribuyen también a mejorar el resultado global de la actividad (Latimori y Kloster, 2013). No obstante, la suplementación principalmente con concentrados energéticos tiene dos efectos perjudiciales y que atenta contra su viabilidad como herramienta, como son la

depresión en la digestión del forraje y la sustitución de forraje por suplemento (Horn y McCollum, 1987; Hodgson, 1990; Fieser y Vanzant, 2004; Loy *et al.*, 2007).

Nivel de suplementación y calidad del forraje

Cuando se incluyen concentrados energéticos en las dietas pastoriles, puede ser esperado un aumento en la digestibilidad total; sin embargo, interacciones entre la digestión de concentrados y pastura pueden reducir la digestión de la fibra (Dixon y Stockdale, 1999). No obstante, el efecto que produce adicionar grano, sobre la utilización del forraje, es diferente según el nivel de suplementación y la calidad del forraje.

A medida que aumenta el nivel de suplemento de la dieta, Lardy *et al.* (2004) demostraron que se afecta negativamente el aporte de los nutrientes de la pastura. En este aspecto, Lusby y Wagner (1986) encontraron que la suplementación con maíz a niveles bajos en animales adultos disminuyó la digestibilidad *in vivo* y el consumo de forraje, a diferencia de otros autores que informaron que los niveles bajos de suplementación de maíz no redujeron el consumo de forraje o la digestibilidad (Chase y Hibberd, 1987).

Matejovsky y Sanson (1995) indicaron que niveles de suplementación con maíz de menos de 0,25% del peso vivo no resultaron en efectos adversos en la utilización del forraje. La digestión de la fibra disminuyó linealmente cuando aumentó el nivel de suplemento, pero no se afectó la digestión cuando los animales eran alimentados con forraje con alta concentración de proteína. Sin embargo, en otro estudio (Leventini *et al.*, 1990), se registró una disminución de la digestibilidad de la dieta de alta calidad nutritiva cuando los niveles de carbohidratos no estructurales superaron el 40% de la dieta. Algunos trabajos reportaron disminución en la digestibilidad de la fibra cuando fueron suplementados con maíz, ovinos (Sanson, 1993) y bovinos (Chase y Hibberd, 1987) que consumían forraje de baja o media calidad (Paisley *et al.*, 1994); mientras que, otros investigadores no encontraron efectos sobre la digestibilidad de la fibra en novillos consumiendo forraje de baja calidad (Sanson y Clanton 1989). La diferencia entre forrajes, en el efecto del almidón sobre la digestión de

la fibra, puede ser relacionada a la morfología de la planta (Mertens y Loften, 1980) y tipo de bacteria asociada con la digestión de la fibra de cada forraje (Akin, 1979).

Hidratos de carbono de los forrajes

Los hidratos de carbono de los vegetales son la principal fuente de energía en la dieta de los bovinos. Desde el punto de vista funcional pueden clasificarse en hidratos de carbono no estructurales y estructurales.

Los hidratos de carbono no estructurales incluyen a los azúcares simples y a los complejos, como el almidón. Este último es un polímero de moléculas de D-glucosa, que según el tipo de unión entre ellas originan la amilosa y amilopectina. La amilosa es una cadena lineal con enlaces glucosídicos α 1-4 y la amilopectina es un polímero ramificado, con cadenas lineales de D-glucosa en uniones α 1-4 y ramificaciones en uniones α 1-6 (Santini y Elizalde, 1993). El almidón es un polisacárido de reserva para los vegetales y está presente especialmente en los granos (Relling y Mattioli, 2003). Como poseen baja concentración de agua y aportan mucha energía en poco volumen, los granos se consideran un alimento concentrado energético.

Los hidratos de carbono estructurales o fibrosos se definen genéricamente como aquellos que conforman parte de la estructura de la pared de las células vegetales. La pared celular proporciona forma y rigidez a la planta y está constituida principalmente por polisacáridos estructurales como son celulosa, hemicelulosa y sustancias pécticas y otros compuestos como proteínas, ligninas, ceras, cutina y minerales. (Stritzler *et al.*, 2011). El contenido de pared celular de un forraje, es equivalente al residuo del tratamiento del forraje con un detergente neutro (Van Soest y Robertson, 1985) y se denomina fibra en detergente neutro (FDN). A medida que los forrajes maduran se van haciendo menos importantes las sustancias pécticas y más predominantes la celulosa y las hemicelulosas, que le dan mayor resistencia a las paredes celulares, y comienzan a aparecer concentraciones crecientes de lignina, que le otorgan mayor rigidez. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante en la naturaleza, y a su vez constituye una de las mayores fuentes de energía. Es un polisacárido formado por cadenas

lineales de glucosa, unidas por enlaces β -1,4 (Stritzler *et al.*, 2011). En la fibra celulósica hay alrededor de 36 cadenas de glucosa, llamados glucanos, y se alinean por láminas para formar microfibrillas sostenidas por puentes de hidrógenos, estos proporcionan gran fuerza y resistencia a la degradación química. Otro de los hidratos de carbono de la pared celular lo constituyen las hemicelulosas, que son un grupo de polisacáridos de gran diversidad, constituidos por largas cadenas compuestas, principalmente, por unidades de xilosa, con cortas ramificaciones y a su vez, unidas por múltiples puentes de hidrógeno a la celulosa (Van Soest, 1994).

La lignina es un complejo formado por un polímero de cuerpos fenólicos, cuya función es de soporte estructural y resistencia a la pared celular (Cornu *et al.*, 1994). Constituye una de las partes más insolubles de la pared celular de las plantas. A causa de su estrecha asociación mediante enlaces covalentes con los polisacáridos de la pared celular, actúa como una barrera física que impide la degradación microbiana de estos compuestos, inhibiendo la actividad enzimática. Las asociaciones lignina-hemicelulosa dificultan tanto el acceso, como el adecuado acoplamiento enzima–sustrato, por lo que además de no ser digerible, influye en la digestibilidad de otros componentes de la pared celular (Cornu *et al.*, 1994).

Metabolismo ruminal de los hidratos de carbono

En las primeras horas de fermentación en el rumen una parte del sustrato, principalmente los azúcares simples que se encuentran dentro de las células vegetales, se solubilizan en el líquido ruminal, degradándose de manera rápida y completa (Santini, 2014). Sin embargo, ellos sólo constituyen una pequeña parte del material potencialmente degradable. A medida que el proceso fermentativo continúa, una menor cantidad de material es hidratado y colonizado por los microorganismos ruminales lo que origina diferentes tasas de degradación dependiendo de la concentración de carbohidratos estructurales, contenido de lignina y estado de madurez de la planta (Van Soest, 1994). La degradabilidad efectiva en el rumen, depende de la velocidad de tránsito ruminal y de su tasa de degradación.

Para lograr la hidrólisis del almidón, es necesario un conjunto de enzimas que actúan a distintos niveles de la cadena de moléculas de glucosa (Santini y Elizalde, 1993). Los enlaces en el almidón por ser tipo alfa, son desdoblados tanto por los microorganismos amilolíticos, como por la amilasa pancreática del animal y las bacterias absorben su unidad estructural, la glucosa (Cone y Becker, 2012).

En la mayor parte de los sistemas productivos pastoriles la fibra conforma el componente fundamental de las raciones y es una fuente importante de energía, además de intervenir en procesos fisiológicos como la estimulación de la rumia y; por lo tanto, en la producción de saliva (Stritzler *et al.*, 1998), que tiene la propiedad de regular el pH del rumen manteniéndolo en un nivel adecuado para la supervivencia de los microorganismos. Asimismo, contribuye a estimular las contracciones ruminales, permitiendo la retención y la mezcla de la ingesta de manera que su contenido pueda experimentar un proceso relativamente lento de digestión microbiana (Mc Donald *et al.*, 1995). La fibra se fermenta en el rumen por la acción de las bacterias fibrolíticas (Satoshi y Kobayashi, 2009). El proceso es relativamente lento, y el primer paso para que suceda la degradación es la adhesión de los microorganismos a la pared vegetal, proceso que se realiza a una velocidad inversamente proporcional al grado de lignificación. La degradación progresa por la acción de las enzimas bacterianas; las bacterias fibrolíticas producen glucosa o pentosas como productos intermedios y utilizan vías fermentativas que conducen a la producción de acetato como producto final más importante en términos cuantitativos (Owens y Goetsch, 1993). La glucosa y el resto de los azúcares son absorbidos y metabolizados por los microorganismos para su propio crecimiento.

Productos de la digestión. Ácidos grasos volátiles

El producto final de los procesos de fermentación de los carbohidratos, que se producen en el rumen por la acción de bacterias y protozoarios, son los ácidos grasos volátiles (AGV), compuestos de cadena carbonada corta (entre 2 y 6 átomos de carbono), que se producen durante la degradación de los alimentos, además de dióxido de carbono y metano. Los AGV más importantes en términos

cuantitativos son el ácido acético, el propiónico y el butírico, ya que suman más del 95% del total de AGV (Aschenbach *et al.*, 2011).

Los productos que se obtienen al final del proceso fermentativo dependen, en gran parte, del tipo de microorganismos presentes en ese momento en el rumen, la composición de la ración (Bannink *et al.*, 2008), el pH del medio y la frecuencia de alimentación. Cuando la ración se basa en forrajes, se produce menor cantidad de AGV, que cuando se compara con raciones a base de concentrados proteicos o energéticos, siendo la proporción de ácido acético elevada (entre 60-70%; Bath y Rook, 1965). Cuando se introducen concentrados en cantidades elevadas, a base de granos en la dieta se observa una disminución en la proporción de ácido acético, aumentando la de ácido propiónico (Cone y Becker, 2012).

La relación molar típica de AGV que se produce cuando un animal se alimenta básicamente con forraje, presenta una proporción de 73:20:7 (acético: propiónico: butírico) en comparación con 60:30:10 en mezclas de forraje-concentrado, y solamente con concentrado se obtiene una relación 50:40:10 (Black, 1990). Se sabe que la relación de AGV también varía con el tipo de forraje ofrecido y su estado de madurez.

La cantidad de AGV producidos en rumen depende de la cantidad de ración fermentada y ésta a su vez de la velocidad de degradación (Sauvant *et al.*, 1999). La suplementación con dietas altamente degradables resulta en un incremento en la producción de AGV, y una reducción de pH. Sauvant *et al.* (1999) encontraron una relación inversa entre la concentración de AGV totales y el pH ruminal, considerando que la reducción de pH por la suplementación energética se debe a una mayor concentración de ácidos grasos volátiles en los animales suplementados. La máxima producción de ácido propiónico ocurre a pH 5,5 porque a pH más bajos proliferan bacterias lácticas a expensas de la producción de propiónico y se acumula ácido láctico (Calsamiglia *et al.*, 2008).

Sin embargo, el pH ruminal no sólo es el resultado de la cantidad de ácido producido, sino que otros factores como la capacidad tampón del medio, también son importantes y en muchos estudios no se encontró efecto de la suplementación sobre la concentración de AGV (Van Vuuren *et al.*, 1986; Berzaghi *et al.*, 1996; Khalili y Sairanen, 2000; Bargo *et al.*, 2003), aún cuando el

pH fue menor que en los animales sin suplementar (Carruthers *et al.*, 1997).

Metabolismo de las proteínas

Las proteínas de los alimentos son hidrolizadas por enzimas bacterianas hasta péptidos de cadena corta y aminoácidos. Los aminoácidos resultantes son utilizados por los microorganismos para su propio metabolismo, directamente para sintetizar su proteína o pueden ser degradados hasta ácidos orgánicos, NH_3 y CO_2 (Bach *et al.*, 2005). Los ácidos orgánicos pueden ser utilizados como fuente energética o como esqueletos carbonados para la síntesis de otros aminoácidos. Los grupos amino son liberados al medio ruminal como producto de desecho, y se convierten, por adiciones de H^+ en el ambiente reductor del rumen, en amoníaco (NH_3) (Relling y Mattioli, 2003). La concentración de éste último es un indicador de la actividad proteolítica en el rumen. El amoníaco puede ser empleado por los microorganismos para la síntesis de su propia proteína (Mehrez *et al.*, 1977; McDonald *et al.*, 1995; Aschenbach *et al.*, 2011). Esto implica que la proteína vegetal es transformada en proteína de mayor valor biológico, valor determinado por su composición en aminoácidos. Es decir, sintetizan proteína en cantidad y tipo de aminoácidos, incluyendo los esenciales, que hacen que el rumiante prácticamente se independice de la calidad de la proteína digerida, con un efecto claramente beneficioso para el animal.

Los factores más importantes que afectan la degradación microbiana de las proteínas de la dieta son el tipo de proteína, las interacciones con otros nutrientes, principalmente los compuestos energéticos y la población microbiana predominante, la cual depende del tipo de ración, la tasa de pasaje y el pH ruminal (Bach *et al.*, 2005).

En un estudio en que se compararon respuestas a distintos pH, se observó que la degradabilidad de la proteína fue reducida cuando el pH fue bajo (constante a 5,7) (Calsamiglia *et al.*, 2002). Si bien la degradación de la proteína ocurre por la acción de enzimas proteolíticas, hay evidencia de la importancia de otras actividades enzimáticas. Endres y Stern (1993) observaron una reducción en la digestión de la proteína y de la FDN cuando el pH disminuyó de 6,3 a 5,9. El recuento de bacterias proteolíticas no fue afectado por el pH, pero el recuento de bacterias celulolíticas fue reducido en un 50%. Con una ración alta en

concentrados, aún si el pH es alto, predominan las bacterias que degradan el almidón y la digestión de la fibra es limitada por la reducción en el número de bacterias celulolíticas, reduciendo también la degradación de la proteína (Mould y Ørskov, 1983). Esto se debe a que hay proteína unida a la fibra, que solamente es degradada por las bacterias proteolíticas después de la despolimerización microbiana de la celulosa (Debroas y Blanchart, 1993).

Relación entre proteína y energía de la dieta

Una vez degradada la proteína, el destino de los aminoácidos y péptidos absorbidos depende de la disponibilidad de energía en el rumen. Si hay suficiente energía disponible, los microorganismos la utilizarán para la síntesis proteica. De lo contrario, la prioridad estará en las rutas catabólicas que produzcan ATP para cubrir las necesidades energéticas del resto de las funciones metabólicas del microorganismo (Ørskov, 1992).

Cuando la dieta es rica en proteínas, como es el caso de los verdes de invierno frescos, el crecimiento microbiano está limitado por el nivel de energía (Davies *et al.*, 1997), y como consecuencia de este desbalance, la proteína es degradada para obtener energía. De esta manera aparecen altas concentraciones de N-NH₃ en el medio ruminal que es absorbido por el rumen a través de su pared y, como es un compuesto tóxico para el organismo, es combinado con CO₂ en el hígado para la formación de urea. Esta reacción se produce por el llamado ciclo de la ornitina y consume energía. La urea producida se excreta en la orina del animal, con la consecuente pérdida de N, con lo que el proceso no es eficiente (Ørskov, 1992; Bach *et al.*, 2005).

Sin embargo, cuando las raciones son bajas en proteína, la mayoría de la urea se recicla secretada con la saliva o a través de la pared ruminal (Calsamiglia *et al.*, 2010; Aschenbach *et al.*, 2011), para su utilización como fuente de nitrógeno para los microorganismos, y es poco lo que se pierde en la orina. Una vez en el rumen es desdoblada por la flora ureolítica en CO₂ y amoníaco, cerrando el “ciclo de la urea”.

El amoníaco es el intermediario central en la degradación y asimilación del N en el rumen. Existen bacterias que hidrolizan carbohidratos estructurales y utilizan

para su supervivencia únicamente amoníaco como fuente de nitrógeno (Russell *et al.*, 1992), en consecuencia, si en el rumen no se encuentran las concentraciones adecuadas de amoníaco, las bacterias no degradaran eficientemente los carbohidratos estructurales de la dieta.

Los niveles de amoníaco en el rumen varían desde 0 a 130 mg de N/100 ml, según la fuente de N y el tiempo transcurrido desde el consumo del alimento. La concentración óptima para la síntesis de proteína microbiana se halla entre 5,6 y 10,0 mg de NH_3 /100 ml de fluido ruminal (Satter y Slyter, 1974; Van Soest, 1994), siempre que la disponibilidad de energía no limite el ecosistema ruminal.

El factor más importante que limita la síntesis de proteína microbiana en el rumen es la energía que se libera en el rumen durante la fermentación de los carbohidratos a ácidos orgánicos. La síntesis de proteína microbiana se incrementa muchas veces por la inclusión de moderadas cantidades de carbohidratos, fácilmente fermentables en la dieta (Dewhurst *et al.*, 2000) porque aumenta la disponibilidad de sustratos y la tasa de crecimiento de las bacterias asociadas a la fase líquida de la digesta.

Se ha encontrado una relación clara entre la suplementación con concentrados energéticos y la caída en la concentración ruminal de amoníaco (Bargo *et al.*, 2003), debido a una mayor captura del amoníaco producido a partir de la proteína de la dieta base (Jones-Endsley *et al.*, 1997; Bargo *et al.*, 2002). De esta manera el agregado de una fuente energética mejoraría la eficiencia de utilización del amoníaco; o la conduciría a una reducción en el consumo diario de nitrógeno (Berzaghi *et al.*, 1996; Carruthers *et al.*, 1997), en aquellos casos en que el suplemento tiene menor concentración proteica que la pastura. Arelovich *et al.* (2003) encontraron que el suministro de almidón de maíz o avena en bajos niveles a bovinos disminuyó la concentración de amoníaco e impactó favorablemente sobre la productividad animal.

La síntesis de proteína microbiana depende de diferentes factores como las fuentes de carbohidratos y proteínas, el nivel de consumo voluntario, la sincronización de las funciones ruminales y el reciclado ruminal de microorganismos. La proteína microbiana tiene un papel importante en rumiantes, esta proteína que se produce en el rumen proporciona más de la mitad de los aminoácidos absorbidos (Yang *et al.*, 2010) y puede constituir entre 70 y 100 %

del nitrógeno disponible en las partes bajas del tracto digestivo en animales que consumen dietas fibrosas con bajo contenido proteico (Ørskov, 1992).

Influencia de la suplementación energética sobre el pH

Cada especie microbiana del rumen posee un rango de pH óptimo para desarrollarse. La flora normal del rumen desarrolla en un rango de pH de 5,5 a 6,9. Valores por encima y por debajo de este rango favorecen el desarrollo de otros microorganismos que alteran el patrón metabólico del rumen (Yokoyama, y Johnson, 1993). El pH surge de la propia fermentación, por un lado, tenemos la producción de una base como el amoníaco, relacionado a la fermentación proteica; y por otro lado, tenemos la producción de ácidos resultantes de la fermentación de carbohidratos. El balance entre las cantidades de ácidos y bases, la velocidad con que ocurre esa producción y la tasa y eficiencia de absorción de los mismos, forman la base del pH del rumen. Como este último está asociado al tipo de dieta y al tipo de flora que prospera, por lo tanto, está asociado también al tipo de AGV producido, aumentando la proporción de ácido acético a medida que el pH se acerca a 6,9 y la de propiónico cuando lo hace hacia el extremo más ácido (5,5).

El rumiante tiene mecanismos para mantener el pH ruminal en los rangos adecuados. La secreción de saliva, que contiene bicarbonatos y fosfatos que le dan un pH alcalino y actúa como tampón en el rumen. La rumia también es un factor importante, cuando el animal consume concentrados la rumia disminuye y por lo tanto disminuye la producción de saliva. Otro mecanismo es la absorción de los AGV, que tiene un doble efecto, la eliminación de ácidos del medio ruminal, y la liberación de bicarbonato hacia el rumen que actúa como tampón.

Se sabe que el agregado de un concentrado energético a la dieta modifica la proporción y actividad de las poblaciones microbianas, el perfil de fermentación y por lo tanto el ambiente ruminal (Tamminga, 1999). Mould y Ørskov (1983), sugirieron que existe una interrelación entre los factores que explican los efectos depresivos del almidón sobre la digestión de la fibra: la preferencia de los microorganismos del rumen por hidratos de carbono no estructurales en lugar de componentes de la fibra, reducción de pH del rumen causado por la rápida

fermentación y disminución de organismos celulolíticos por la competencia por nutrientes esenciales. La acidez inducida por la degradación del almidón sería el principal factor responsable de la interacción negativa. Este efecto negativo se debe a la caída del pH ruminal y a un efecto del almidón que induciría al desarrollo de una población microbiana amilolítica en detrimento de una flora celulolítica (Mould *et al.*, 1983; Archimède, 1992). Sin embargo, otros autores (Mota *et al.*, 2010; Palmonari *et al.* 2010) encontraron que aún con pH muy bajos se puede mantener una población normal de bacterias celulolíticas.

Las características de fermentación rápida del almidón a menudo exceden la habilidad del rumiante para mantener un pH ruminal estable (Ørskov y Fraser, 1975); por lo tanto, el consumo excesivo de carbohidratos rápidamente fermentables resulta en un aumento de la concentración de ácido láctico (Krause y Oetzel, 2006) y en una repentina baja de pH (Bargo *et al.*, 2002); mientras que, otros autores (Carruthers *et al.*, 1997) encontraron que este efecto se verifica aún con bajos niveles de suplemento. Sin embargo, no siempre la suplementación energética afecta el pH ruminal de animales en pastoreo (Berzaghi *et al.*, 1996; Jones-Endsley *et al.*, 1997; Khalili y Sairanen, 2000; Reis y Combs, 2000). La ausencia de una relación clara entre suplementación con concentrados energéticos y pH ruminal sugiere su complejidad, y que no es posible predecir el pH ruminal considerando sólo una variable (Kolver y de Veth, 2002; Dijkstra *et al.*, 2012).

La interacción entre la cantidad y el tipo de suplemento con el consumo y la digestibilidad de la materia seca de la pastura juega, seguramente, un rol clave. Los resultados podrían ser completamente distintos cuando el mismo suplemento, en cantidad y valor nutritivo, es ofrecido a animales que pastorean forrajes de distinta calidad nutritiva. Mould y Ørskov (1983) obtuvieron un umbral de pH de 6,0 – 6,1 por debajo del cual las celulasas fueron totalmente inhibidas, pero este efecto fue mayor con forrajes de baja calidad, por lo que este valor parece variar con la calidad nutritiva de la fibra. La evolución del pH a lo largo del día, inclusive, podría ser distinta sobre distintos forrajes en pastoreo; y por lo tanto, es necesario medir el mismo a distintas horas desde la entrega del suplemento (Bargo *et al.*, 2003). Los efectos sobre la fermentación ruminal dependen de la combinación de la magnitud y el tiempo que el pH permanece por debajo de cierto umbral

(Calsamiglia *et al.*, 2002); el tiempo que está por debajo de 6,0 es un buen indicador de los efectos del pH sobre la fermentación microbiana (Sauvant *et al.*, 1999). Sin embargo, algunos estudios indican que grandes fluctuaciones de pH pueden ser más críticas que un pH bajo, pero menos variable (de Veth y Kolver, 2001).

Hipótesis

La suplementación con niveles moderados de grano afecta el ambiente ruminal y por lo tanto la dinámica digestiva de la dieta base, de bovinos en pastoreo. Estos cambios reducirían la degradabilidad efectiva de la materia seca y de la fibra, y su efecto podría ser distinto según la fuente de fibra que se incube en el rumen y el valor nutritivo de la dieta base.

Objetivo general

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación energética moderada sobre el aprovechamiento de la dieta base fibrosa, en bovinos en pastoreo.

Objetivos particulares

1. Cuantificar el efecto de la suplementación energética sobre la degradabilidad de forrajes de diferente valor nutritivo.
2. Caracterizar parámetros del ambiente ruminal y estimar el grado en que son modificados por la suplementación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El estudio se llevó a cabo en el Campo de Enseñanza de la Facultad de Agronomía (Lat. 36°46'S; Long. 64°16' W, 210 m snm), Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, provincia de La Pampa.

Componentes de la dieta

Se realizaron tres ensayos durante los cuales los animales fueron alimentados en base a pastoreo directo de distintas pasturas, según la época del año, respondiendo a diferente valor nutritivo. Siempre la disponibilidad de MS de las pasturas fue suficiente para no limitar el consumo. Además, se suministró a los animales un suplemento energético que consistió en grano de maíz partido.

Características de las pasturas

Para los ensayos se utilizaron tres pasturas diferentes. Un verdeo de invierno, *Avena sativa* cv Cristal (Fig. 2), implantada en un lote cuya superficie fue de 3 hectáreas. La siembra se realizó a fines del mes de febrero y el ingreso de los animales a la parcela fue en el mes de mayo.

La pastura de *Panicum virgatum* cv Álamo (Fig. 3), estaba implantada desde el año 1995 en una parcela de 3 hectáreas. Se utilizó para el ensayo durante el mes de julio, como forraje diferido.

Para el tercer ensayo se utilizó *Digitaria eriantha* cv Irene (Fig. 4), pastura previamente implantada en la primavera del año 1993, en un lote de 2 hectáreas. El pastoreo en este caso, se llevó a cabo durante el rebrote primaveral, en la segunda quincena de noviembre y primera de diciembre.

Previo al ingreso de los animales a las parcelas se tomaron muestras para determinar disponibilidad y caracterizar sus parámetros nutritivos. Se recolectaron submuestras en un marco de 0,25 m², arrojado al azar con 4 repeticiones, se secaron en estufa a 60°C durante 48 h. Luego de determinada la disponibilidad de

biomasa aérea, las submuestras fueron compuestas en una muestra y se acondicionó para su posterior uso en análisis químicos y en incubación en rumen.



Figura 2. Pastura utilizada como verdeo invernal. *Avena sativa* cv Cristal.



Figura 3. Pastura utilizada diferida. *Panicum virgatum* cv Álamo



Figura 4. Pastura utilizada en el rebrote primaveral. *Digitaria eriantha* cv Irene

Experimentos

Se plantearon tres experimentos, siguiendo el mismo diseño experimental y metodología, aunque el recurso forrajero en el cual pastoreaban los animales fue diferente en cada uno de ellos. De esta manera, cada dieta representó un tratamiento distinto.

Animales y tratamientos

En cada uno de estos experimentos se utilizaron tres novillos Hereford provistos de cánulas ruminales permanentes. Al inicio del pastoreo se determinó el peso vivo, resultando el peso medio de los novillos en cada experimento de:

	Peso promedio
<i>Experimento I</i>	728 ± 95 kg
<i>Experimento II</i>	781 ± 93 kg
<i>Experimento III</i>	723 ± 87 kg

Durante el transcurso de los ensayos los animales fueron alimentados en base a pastoreo directo sobre los siguientes recursos forrajeros:

Experimento I: Verdeo invernal (*Avena sativa* cv. Cristal) (**VA**)

Experimento II: Pastura de *Panicum virgatum* cv. Álamo, diferida (**PVD**)

Experimento III: Pastura de *Digitaria eriantha* cv. Irene, rebrote primaveral (**DI**)

A su vez se les suministró en forma individual grano de maíz duro (grano Flint), partido en un molino de martillos como suplemento energético. En los tres experimentos los niveles de suplementación fueron 0 % (testigo), 0,5 % y 1 % (en materia seca) del peso vivo (PV) del animal.

Cada ensayo se realizó siguiendo un diseño experimental de cuadrado latino de 3 x 3 (Sokal y Rohlf, 1995) y se distribuyeron los animales al azar en los siguientes tratamientos:

T1: Pastoreo sin suplemento

T2: Pastoreo + 0,5% del PV en grano de maíz partido, base seca, y

T3: Pastoreo + 1,0% del PV en grano de maíz partido, base seca.

El esquema, correspondiente al diseño experimental, dentro de cada ensayo fue el siguiente:

Períodos	TRATAMIENTOS		
	0 %	0,5 %	1,0 %
A	Novillo 1	Novillo 2	Novillo 3
B	Novillo 3	Novillo 1	Novillo 2
C	Novillo 2	Novillo 3	Novillo 1

Manejo de la alimentación

Todos los animales experimentales pastorearon en forma conjunta y fueron introducidos diariamente a las 8 de la mañana en corrales individuales, ubicados en cercanías de la parcela, donde se realizaron los muestreos y se les suministraba el grano de maíz en comederos individuales, en los tratamientos correspondientes, retornando luego a la pastura.

En el ensayo con pastoreo de verdeo de invierno, se realizó encierre nocturno, retirándolos del lote de avena a las 20 h y permaneciendo en el corral, con provisión de agua, hasta las 8 h del día siguiente. Luego del muestreo y de recibir el suplemento los animales fueron llevados a pastoreo, en el caso que no comieran toda la ración se dejaban tres horas más en situación de encierre y luego se liberaban al lote de avena. En los demás ensayos siempre permanecieron en la pastura salvo el tiempo que insumía la suplementación y muestreo en corrales.

Cada período fue de 10 días, compuestos de 7 días para acostumbramiento, cuando los animales se familiarizaron con el manejo de encierre en los corrales, muestreo y tratamiento, y 3 días de muestreo. El novillo asignado con el mayor porcentaje de maíz (1%) recibió 7 días antes un nivel más bajo y luego se suministró la cantidad correspondiente a su tratamiento, de esta manera se trató de evitar que el animal sufra algún problema digestivo asociado con un gran cambio en el aporte de grano a su dieta. Cada ensayo tuvo una duración total de 37 días, contando desde el comienzo de alimentación del novillo de mayor nivel de suplementación.

Incubación en el rumen

Dentro de cada período, en los tres experimentos, y una vez finalizado el acostumbramiento se incubaron bolsas de nylon en el rumen, mediante la técnica *in situ* (Ørskov *et al.*, 1980). Las bolsas contenían aproximadamente 2 g de material, de acuerdo a una relación muestra: tamaño de bolsa de 12,6 mg/cm² (Nocek, 1985), fueron cerradas fuertemente con tanza, unidas a un tapón de goma y atadas a una cuerda (Fig. 5). Las muestras incubadas correspondieron a distintas fuentes de fibra, molidas a 3 mm:

1. Heno de alfalfa (*Medicago sativa*) de mediana calidad nutritiva (**HA**)
2. Pasto llorón (*Eragrostis curvula*) diferido. (**PLL**)
3. Celulosa (papel de filtro Whatman nº 40 con una pureza >98% en concentración de celulosa) (**CEL**)
4. Los mismos forrajes ofrecidos a pastoreo en cada tratamiento.

Todos los substratos se incubaron por duplicado, simultáneamente en todos los novillos, durante 3, 6, 12, 24, 48 y 72 horas. Cumplidas las horas de incubación las bolsas fueron retiradas del rumen y colocadas en lavarropas durante 1 hora con circulación constante de agua fría. Posteriormente se secaron en estufa a 60°C durante 48 h (Fig. 6) y se pesó el residuo seco. Para determinar la pérdida por solubilidad inicial se incubaron bolsitas con las muestras en agua destilada a 39°C durante 15 minutos con agitación constante (NKJ, 1985), y luego se colocaron también en lavarropas durante 1 hora con circulación constante de agua fría. Este valor fue considerado como “hora cero”.



Figura 5. Bolsitas atadas al tapón de goma, previo a incubar.



Figura 6. Bolsita después de incubar y secar en estufa.

Mediciones y Análisis químicos

En el residuo de las bolsas se estimó el contenido de materia seca; las muestras fueron molidas a 1 mm para su posterior análisis químico. Además, se analizaron muestras del material antes de ser incubado en las bolsitas y muestras de la pastura que constituyó la dieta base en cada una de las épocas de ensayo, con el objetivo de estimar el valor nutritivo de cada recurso forrajero utilizado. A cada una de ellas se le realizaron determinaciones de:

Proteína bruta (PB) se determinó N total por la técnica de Kjeldahl (AOAC, 1990), calculando la proteína bruta como $N \times 6,25$.

Fibra en Detergente Neutro (FDN) por el método de Van Soest y Robertson (1980).

Estimación de los parámetros de degradación ruminal

Los porcentajes de degradación de materia seca (MS), FDN y PB en cada tiempo de incubación se calcularon con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de degradabilidad} = \frac{\text{MS inicial (g)} - \text{MS residual (g)}}{\text{MS inicial (g)}} * 100$$

En base a esta información se estimaron los parámetros de cinética ruminal, para cada fuente de fibra y cada tratamiento utilizando el modelo descrito por Ørskov y McDonald (1979):

$$p = a + b * (1 - \exp^{-c*t}) \quad (i)$$

Donde:

p= porcentaje de MS degradada al tiempo *t*.

t= tiempo de incubación

a= Representa la fracción soluble y completamente degradable que sale rápidamente de la bolsa de nylon.

b=. Representa la fracción insoluble pero potencialmente degradable del sustrato el cual es degradado por los microorganismos de acuerdo con un proceso cinético de primer orden.

c= tasa constante de la función b. Tasa de desaparición de la fracción lentamente degradable (b)

1 - (a+b) = representa la fracción no degradable de la muestra.

Y la degradabilidad efectiva (**DE**) se estimó como:

$$DE = a + ((b*c)/(c + k)) \quad (ii)$$

Donde:

a, **b** y **c** fueron previamente definidos para la ecuación (i)

k = tasa de pasaje de las partículas del rumen.

Los valores de DE fueron calculados asumiendo tasas de pasaje de 3 %/h para PLL, PVD y CEL, 4 %/h para DI y 5 y 6 %/h correspondiente a HA y VA respectivamente (NKJ, 1985).

Ambiente ruminal

Paralelamente a la incubación de bolsitas, se tomaron muestras de líquido ruminal, con el objetivo de caracterizar algunos parámetros del ambiente del rumen, y estimar el grado en que son modificados por los respectivos

tratamientos.

Las muestras de líquido ruminal se tomaron a las 0, 3, 6, 9, 12 y 18 horas desde el suministro del grano y en los mismos horarios para el tratamiento testigo, durante dos días consecutivos (días 8 y 9 de cada período). Una vez extraído, el licor fue filtrado a través de gasas (Fig. 7), las determinaciones se realizaron sobre el líquido ruminal filtrado.



Figura 7. Filtrado del líquido ruminal.

Mediciones y análisis químicos

En el líquido ruminal se determinó pH, concentración de N amoniacal (N-NH_3), y concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).

pH: Inmediatamente tras la extracción del licor se realizó la determinación sobre la muestra filtrada a través de cuatro capas de gasa, empleando un peachímetro calibrado previamente con las soluciones buffer pH= 4 y pH=7.

Nitrógeno amoniacal (N-NH_3): Las muestras filtradas se acidificaron para detener la fermentación y se guardaron a -18°C para su posterior análisis. El nitrógeno amoniacal se separó del fluido ruminal por destilación con vapor, se

recogió en una solución de ácido bórico y se determinó por titulación con una solución de ácido clorhídrico 0,1 M (Preston, 1986) en el Laboratorio de Nutrición animal de la Facultad de Agronomía de la UNLPam.

Ácidos grasos volátiles (AGV): A las muestras destinadas a la determinación de concentración de AGV se le adicionó una solución de ácido ortofosfórico al 5%. Inmediatamente después fueron llevadas a -18°C hasta el momento de realizar las mediciones. La determinación de la concentración de AGV totales (acético, propiónico y butírico) se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Rumen, CNIA Castelar, dependiente del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. La determinación se realizó con un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14B usando una columna de vidrio de 2 m rellena con 10% de polietileno adipato glicol y 3% de H_3PO_4 en chromosorb AW, y equipado con una ionización de llama detector¹². Las temperaturas de trabajo fueron 155°C , 185°C y 190°C para la columna, el inyector y el detector, respectivamente. Se utilizó un integrador Shimadzu CR6A para la cuantificación y la identificación del pico. El estándar interno fue el ácido 2-metil valérico.

Análisis estadístico

Los parámetros evaluados en estos experimentos se analizaron como medidas repetidas en el tiempo mediante ANOVA utilizando el software InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2010), los novillos fistulados fueron empleados como repetición dentro de cada tratamiento. Cuando el análisis fue significativo, se utilizó el test de Tukey como procedimiento para comparar valores de medias.

3. RESULTADOS

Valor nutritivo de los componentes de la dieta y substratos incubados.

En la Tabla 1 se puede observar la biomasa disponible promedio (kg MS/ha) de las cuatro submuestras recolectadas, y la composición química (%) de la muestra compuesta, de las pasturas al inicio de cada uno de los ensayos. El forraje de VA presentó bajo contenido de MS y muy alto de proteína bruta (Tabla 1). En contraposición, el forraje de PVD mostró un alto contenido de FDN (81,72 %) y muy baja concentración de proteína, de acuerdo con su estado fenológico. La pastura de DI presentó valores intermedios entre ambos recursos (Tabla 1).

Tabla 1. Biomasa aérea disponible y contenido de materia seca (MS), fibra en detergente neutro (FDN) y proteína bruta (PB) de las pasturas.

Pastura	Biomasa disponible (kg MS/ha)	MS (%)	FDN (%/MS)	PB (%/MS)
VA	2615 ± 870	17,0	44,9	26,6
PVD	14700 ± 4902	85,2	81,7	2,3
DI	1226 ± 291	32,5	70,7	9,6

En la Tabla 2 se detalla la caracterización química de los forrajes utilizados en la incubación, durante los tres ensayos. No se incluyó el papel filtro por ser 98% celulosa. A estos recursos, como ya se expresó, se sumaron bolsitas con muestras de las pasturas que consumían los animales en ese momento. El HA mostró buen valor nutritivo a diferencia del PLL que presentó bajo contenido de proteína y alto porcentaje de FDN.

Tabla 2. Composición química sobre base seca de los substratos incubados en rumen.

Substrato	MS (%)	FDN (%)	PB (%)
HA	91,4	43,04	20,1
PLL	92,8	81,84	3,48

Experimento I: Dieta basal pastura de avena

Degradabilidad ruminal de la MS.

El análisis de ANOVA no reveló un efecto significativo por agregado de grano sobre la degradabilidad efectiva de la MS (DEMS) de los forrajes incubados en rumen (Tabla 3). Aun así, la DEMS del PLL y CEL presentó una reducción mayor al 30% en el T3 con respecto al testigo (Tabla 3), cuando esta diferencia fue del orden del 5% en los demás sustratos.

En PLL las fracciones b y 'a+b' fueron afectadas ($p < 0,05$) por el T3, b en un 69% y 'a+b' en un 45% menos en relación al tratamiento sin suplementar. A su vez, la CEL con el T3 registró un aumento importante en la solubilidad (a).

Tabla 3. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la MS, en pastoreo de VA.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	63,4	38,7	37,3	0,16	76,0
T2	62,9	32,6	43,3	0,11	75,9
T3	58,7	36,7	35,8	0,08	72,5
p	0,3075	0,2031	0,8136	0,5643	0,2712
EEM	1,71	5,4	5,3	0,05	1,21
VA					
T1	71,4	38,4	52,7	0,12	91,1
T2	70,0	38,2	51,7	0,10	89,9
T3	68,6	45,4	39,5	0,09	84,9
p	0,6654	0,3434	0,2746	0,3570	0,5101
EEM	2,0	2,98	4,53	0,01	3,35
PLL					
T1	24,8	11,0	28,1 ^a	0,03	39,1 ^a
T2	23,2	13,0	22,4 ^{ab}	0,026	35,4 ^{ab}
T3	17,0	12,8	13,0 ^b	0,029	21,6 ^b
p	0,1468	0,4299	0,0313	0,858	0,0416
EEM	1,71	0,94	1,37	0,01	2,64
CEL					
T1	31,9	2,2 ^a	67,7	0,023	69,9
T2	27,9	3,8 ^{ab}	58,1	0,022	61,9
T3	21,2	9,8 ^b	26,8	0,024	36,6
p	0,3997	0,0438	0,1132	0,2818	0,1473
EEM	4,41	1,22	7,64	0,002	7,21

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

DE: Degradabilidad efectiva. a: fracción soluble. b: fracción potencialmente degradable. c: tasa de degradabilidad.

EEM: error estándar de la media.

La respuesta obtenida con el nivel más bajo de suplemento fue similar al testigo en todos los forrajes.

En la Figura 8 se observa que la curva de degradabilidad de la MS correspondiente a T3 se encuentra por debajo de las correspondientes a T1 y T2 en todos los horarios de incubación. Esta diferencia resulta más evidente para PLL y CEL.

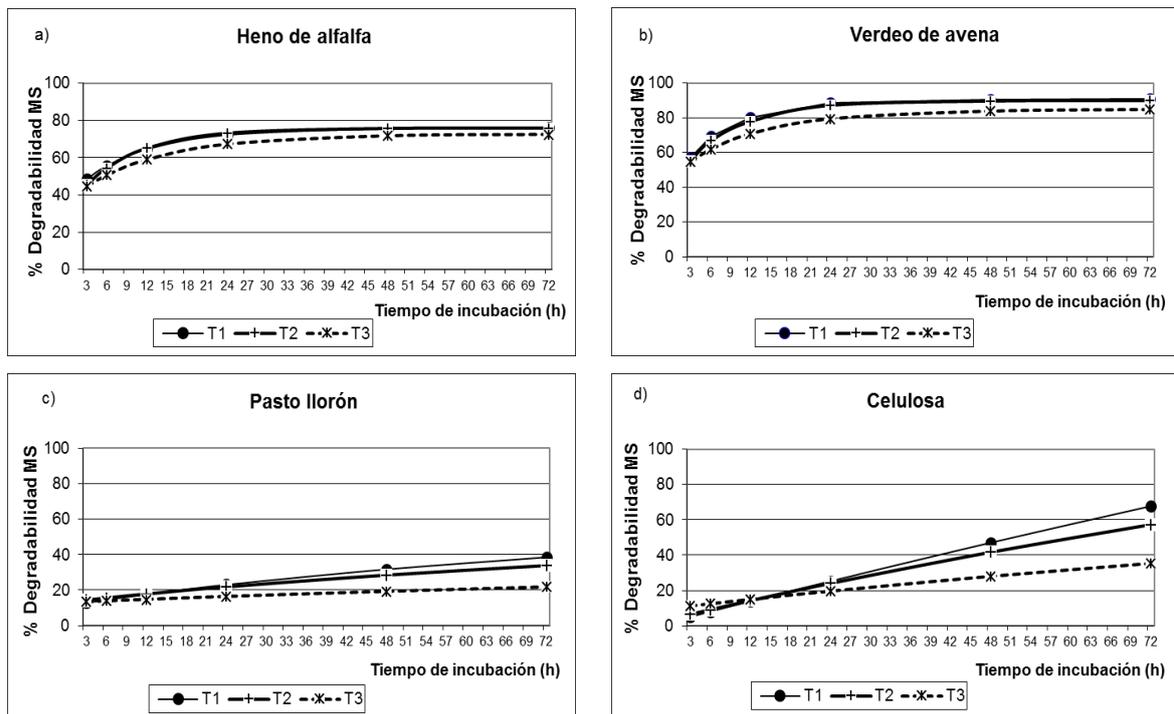


Figura 8. Degradabilidad *in situ* de la MS según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979): Dieta basal pastura de VA. a) HA b) VA c) PLL y d) CEL.

Degradabilidad ruminal de la FDN

Los resultados correspondientes a los parámetros de degradabilidad de la FDN se muestran en la Tabla 4. Debido a que el papel de filtro era de una pureza mayor al 98%, en su composición de celulosa, sólo se consideró la degradabilidad de la MS.

El ANOVA para los parámetros de degradabilidad de FDN sólo detectó diferencias significativas para la fracción 'a+b' en HA y PLL, y para la fracción b

de PLL. En el caso de 'a+b' disminuyó en ambos tratamientos con agregado de maíz. En la fracción b de PLL se diferenció T3 de T1 ($p < 0,05$), con un valor de 13,6 que resultó un 55% inferior a T1. El T2 fue intermedio sin diferenciarse de los demás. La tasa de degradación tendió a disminuir con el incremento en la inclusión de maíz.

La degradabilidad efectiva de la FDN (DEFDN) del PLL se redujo en un 33% cuando se suministró el mayor nivel de grano, con respecto al testigo; en los forrajes HA y VA, esta disminución fue cercana al 20%. En el nivel bajo de suplementación (T2) estos valores fueron similares al tratamiento sin grano.

Tabla 4. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN, en pastoreo de VA.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	33,3	10,6	44,3	0,06	54,9 ^a
T2	33,3	7,7	43,4	0,07	51,1 ^b
T3	26,2	10,5	35,0	0,04	45,5 ^c
p	0,2405	0,9200	0,5194	0,5700	0,0075
EEM	2,3	5,65	5,29	0,02	0,42
VI					
T1	60,4	18,5	66,6	0,07	85,1
T2	57,7	21,2	60,5	0,09	81,7
T3	48,9	23,9	52,1	0,06	76,0
p	0,1363	0,6547	0,4982	0,6433	0,5006
EEM	2,39	3,67	7,27	0,02	4,65
PLL					
T1	20,0	5,9	30,0 ^a	0,09	35,9 ^a
T2	18,9	8,3	22,5 ^{ab}	0,04	30,8 ^a
T3	13,3	7,7	13,6 ^b	0,02	21,3 ^b
p	0,1390	0,5236	0,0507	0,3214	0,0239
EEM	1,44	1,34	1,9	0,01	1,16

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM**: error estándar de la media.

DE: Degradabilidad efectiva. **a**: fracción soluble. **b**: fracción potencialmente degradable. **c**: tasa de degradabilidad.

Al observar la cinética de degradación de la FDN (Fig. 9), para cada alimento, con el tratamiento de mayor cantidad de concentrado se obtuvo una

curva que fue inferior en todos los tiempos de incubación.

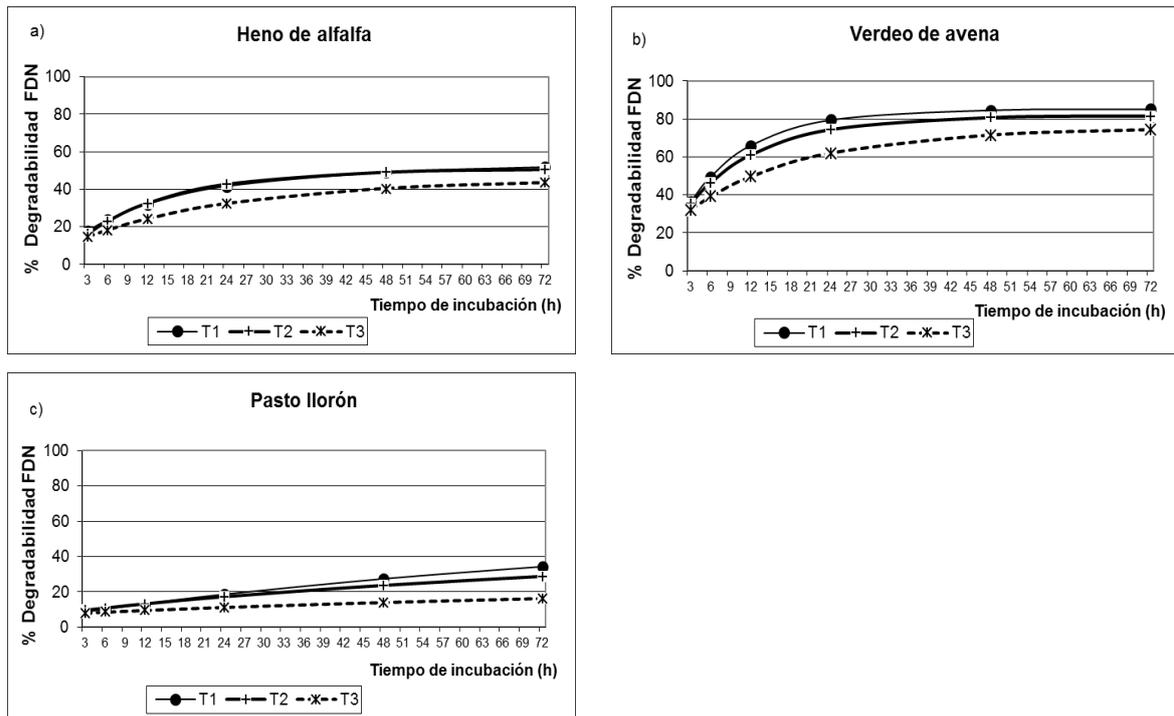


Figura 9. Degradabilidad *in situ* de la FDN según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de VA. a) HA, b) VA y c) PLL.

Degradabilidad ruminal de la PB.

El incremento en los niveles de concentrado no tuvo efectos significativos ($p > 0,05$) en los parámetros de degradabilidad de la PB, para HA y VA (Tabla 5). Se observó en la VA una alta tasa de degradabilidad de la PB y valores de 'a+b' y DE del orden del 97 y el 84%, respectivamente (Tabla 5). En el caso particular de PLL debido a su muy bajo nivel de proteína probablemente hubo un importante efecto de contaminación microbiana, incidiendo en mayor medida en el tratamiento con mayor suministro de grano, que impidió hacer una estimación de la DE. En la Fig. 10 se puede observar la cinética de degradación de la PB.

Tabla 5. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la PB, en pastoreo de VA.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	72,5	15,3	70,1	0,16	85,4
T2	70,9	25,1	60,9	0,18	86,0
T3	71,1	25,5	57,9	0,22	83,4
p	0,3738	0,5225	0,4837	0,2358	0,1694
EEM	0,69	6,05	6,18	0,02	0,62
VA					
T1	84,9	45,3	51,5	0,28	96,8
T2	84,1	42,5	55,3	0,18	97,8
T3	82,9	35,2	62,5	0,21	97,7
p	0,6691	0,5405	0,5205	0,4998	0,8679
EEM	2,3	5,66	5,93	0,05	1,23

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM**: error estándar de la media.

DE: Degradabilidad efectiva. **a**: fracción soluble. **b**: fracción potencialmente degradable. **c**: tasa de degradabilidad.

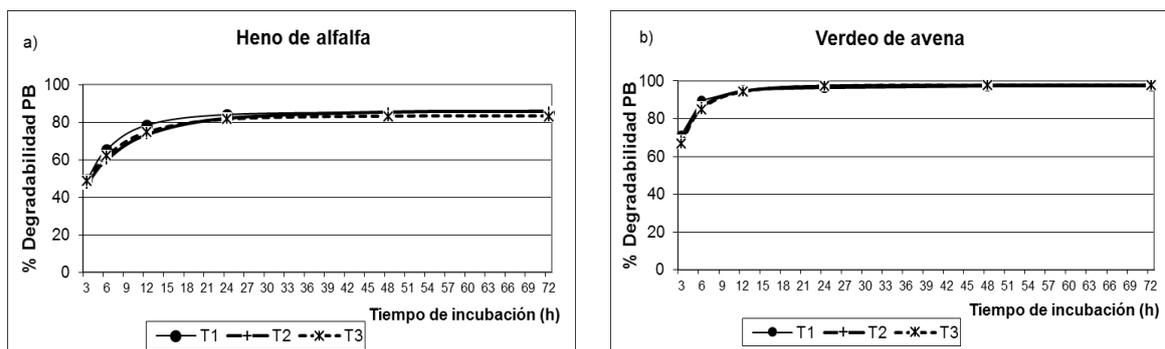


Figura 10. Degradabilidad *in situ* de la PB según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de VA. a) HA, y b) VA.

Parámetros ruminales

Variaciones del pH en rumen.

No se detectó interacción entre tratamientos y horas de muestreo. Los pH medios difirieron significativamente ($p < 0,05$) entre tratamientos (Tabla 6); se encontró una disminución proporcional del mismo al incrementar el aporte de grano.

El comportamiento del pH en función del tiempo (Tabla 7), desde el suministro del suplemento, mostró diferencias ($p < 0,05$) entre horas, pero no hubo

interacción entre tiempo y tratamiento. De forma conjunta, se observó que para todos los tratamientos los pH más elevados se obtuvieron antes de suministrar el suplemento (hora 0), descendiendo luego hasta la hora 9 previo al encierre nocturno.

Los valores mínimos de pH para T1, T2 y T3 fueron 5,79, 5,55 y 5,25 respectivamente.

Todos los tratamientos, a partir de las 3 h de suministrado el suplemento, estuvieron por debajo de 6,2; (Fig. 11), no obstante, el tratamiento correspondiente al suministro de grano al 1% del peso vivo del animal registró los pH más bajos durante el transcurso de los horarios de muestreo.

Tabla 6. Valores promedios de pH y N-NH₃ (mg/100ml), en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA.

	Tratamientos				
	T1	T2	T3	EEM	P
pH	6,01 ^a	5,83 ^b	5,57 ^b	0,06	<0,0001
N-NH₃	49,9 ^a	29,7 ^b	33,6 ^b	3,5	0,0007

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias ($p < 0,05$)

EEM: error estándar de la media.

Tabla 7. pH y N-NH₃ (mg/100ml) en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

	Horas						EEM	P
	0	3	6	9	12	18		
pH	6,14 ^a	5,97 ^{ab}	5,82 ^{bc}	5,63 ^c	5,61 ^c	5,6 ^c	0,09	<0,0001
N-NH₃	18,2 ^a	32,6 ^{ab}	45,1 ^{bc}	46,5 ^{bc}	50,7 ^c	33,2 ^b	5,0	0,0007

Letras distintas en la misma fila indican diferencias ($p < 0,05$)

EEM: error estándar de la media.

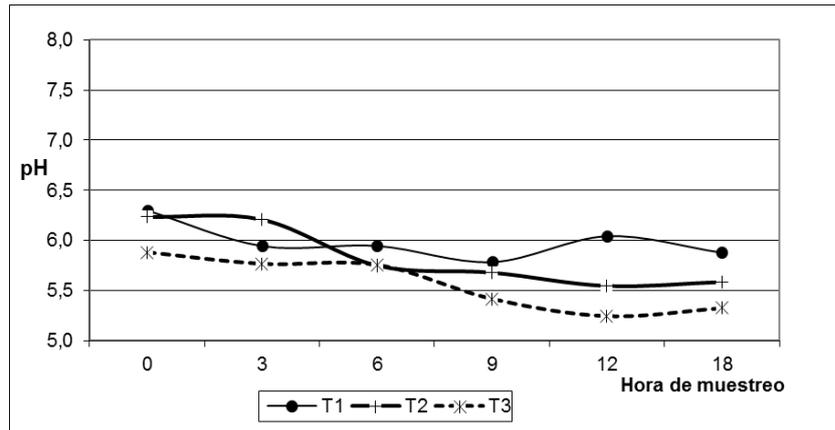


Figura 11. Variación de pH ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento, para los tres tratamientos .

Variaciones del N-NH₃.

En los contenidos medios diarios de N-NH₃ se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el tratamiento sin grano, que tuvo el valor más alto, y los tratamientos con aporte de grano (Tabla 6).

La concentración media de N-NH₃, para los tres tratamientos, aumentó significativamente (Tabla 7) desde el inicio del pastoreo y comenzó a declinar en todos los tratamientos al momento del encierre, que coincide con las 12 horas desde el consumo del grano, alcanzando a la hora 0 el valor más bajo.

A las 12 h se observó el pico más alto en la concentración de N-NH₃ (Fig. 12) que fue de 65,9, 41,4 y 44,69 mg/100ml para T1, T2 y T3, respectivamente.

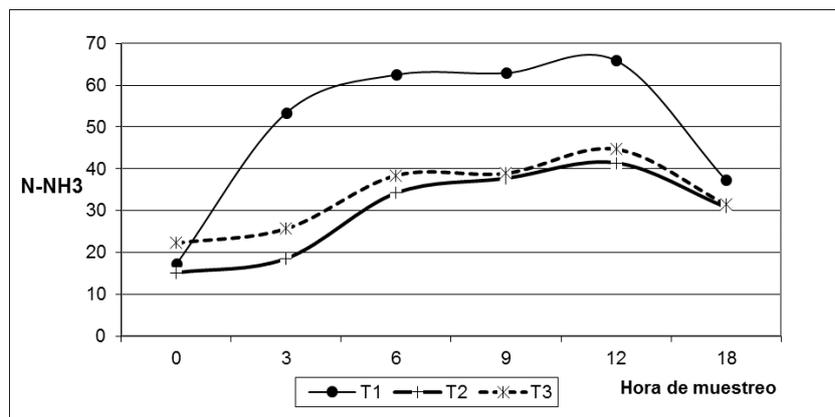


Figura 12. Variación de N-NH₃ ruminal (mg/100ml), en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

Concentración de AGV.

En las concentraciones promedios de AGV totales (Tabla 8), T2 alcanzó el valor más bajo (144 mM/l) diferenciándose ($p < 0,05$) de T3 que tiene la concentración más alta (161 mM/l), mientras que, T1 no se diferencia de ningunos de los dos.

Analizando las concentraciones de AGV por separado, el ácido acético mostró una leve disminución en el T3, aunque no significativa (Tabla 8), mientras que, el ácido propiónico aumentó su concentración en un 60% en el tratamiento con mayor proporción de grano en la dieta. El ácido butírico tuvo una reducción también significativa, en el T3.

La interacción tratamiento por hora no fue significativa, pero sí se encontraron diferencias entre las horas de muestreo ($p < 0,05$), observándose un aumento significativo en las concentraciones de AGV totales a partir de las 6 h desde la suplementación (Tabla 9), Un comportamiento similar tuvieron los diferentes AGV, si bien en la concentración de ácido propiónico esta tendencia no fue significativa.

En las proporciones molares de los AGV (Tabla 10), no hubo diferencias entre T2 y T1 en ninguno de los ácidos considerados. Con el T3 se observa una disminución ($p < 0,05$) en la proporción de ácido acético, al mismo tiempo que la proporción de ácido propiónico aumentó. Como consecuencia, la relación acético:propiónico (A:P) se redujo de 3,2 en el T1 a 2,2 en el T3. La proporción de ácido butírico disminuyó (Tabla 10).

Tabla 8. Concentración de AGV totales y ácidos acético, propiónico y butírico (mM/l), en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA.

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
AGV totales	156,1 ^{ab}	144,2 ^a	161,4 ^b	4,5	0,0247
Ácido Acético	87,1	82,0	80,6	2,56	0,1825
Ácido Propiónico	27,5 ^a	26,6 ^a	44,4 ^b	2,37	<0,0001
Ácido Butírico	28,1 ^a	25,9 ^a	23,1 ^b	0,92	0,0023

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM**: error estándar de la media.

Tabla 9. Concentración de AGV (mM/l) en fluido ruminal, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

	Horas						EEM	P
	0	3	6	9	12	18		
AGV totales	125,6 ^a	129,1 ^a	157,9 ^b	163,3 ^b	178,7 ^b	168,7 ^b	6,2	<0,0001
Ácido Acético	73,5 ^a	73,79 ^a	85,9 ^{ab}	85,9 ^{ab}	88,7 ^b	91,5 ^b	3,45	0,0011
Ácido Propiónico	27,8	26,3	32,1	34,9	38,1	37,8	3,35	0,0533
Ácido Butírico	15,9 ^a	19,8 ^a	28,6 ^{bc}	30,3 ^{bc}	32,8 ^b	26,7 ^c	1,4	<0,0001

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media.

Tabla 10. Proporciones molares de AGV en líquido ruminal de animales en pastoreo de VA.

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
Ácido Acético	61,3 ^a	61,4 ^a	55,4 ^b	0,88	<0,0001
Ácido Propiónico	19,3 ^a	19,7 ^a	28,8 ^b	1,08	<0,0001
Ácido Butírico	19,5 ^a	18,9 ^a	15,8 ^b	0,58	0,0002
Relación A:P	3,2 ^a	3,1 ^a	2,2 ^b	0,12	<0,0001

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media.

Experimento II: Dieta basal pastura de panicum diferido.

Degradabilidad ruminal de la MS.

El suplemento provocó efectos significativos sobre la degradabilidad de la MS de todos los sustratos evaluados.

La degradabilidad efectiva de la alfalfa disminuyó un 15% ($p < 0,05$) en el tratamiento con mayor aporte de maíz, con respecto al tratamiento sin aporte de grano (Tabla 11). El T2 toma un valor intermedio sin diferenciarse de ninguno de los otros. En PLL y PVD se encontraron diferencias entre los tres tratamientos,

con una disminución de aproximadamente 25% en el nivel más bajo de suplementación y 50% en el nivel más alto. El mayor impacto se observó cuando el material incubado fue CEL, con una disminución en la DE del 30 y 70% en el T2 y T3, respectivamente.

La fracción soluble (a) mostró un leve aumento con el agregado del suplemento, que fue significativo sólo para PLL. La fracción b para PVD, PLL y CEL disminuyó ($p < 0,05$) más del 70% en el T3; mientras que, en alfalfa no difirió entre tratamientos. La tasa de degradación (c) de HA mostró una reducción ($P < 0,05$) en ambos tratamientos con inclusión de grano, con respecto al testigo, esta disminución no se observó en los demás forrajes incubados.

Tabla 11. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la MS en pastoreo de PVD.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	61,3 ^a	30,9	44,3	0,11 ^a	75,2 ^a
T2	55,5 ^{ab}	33,4	44,9	0,05 ^b	78,3 ^b
T3	52,3 ^b	33,7	37,9	0,05 ^b	71,6 ^c
p	0,0422	0,8477	0,4748	0,0467	<0,0001
EEM	0,95	3,69	3,67	0,01	0,02
PVD					
T1	24,7 ^a	7,9	47,3 ^a	0,02	55,2 ^a
T2	18,3 ^b	7,6	23,2 ^b	0,02	30,5 ^b
T3	12,3 ^c	8,6	12,8 ^c	0,03	21,4 ^c
p	0,157	0,2874	0,001	0,6776	0,018
EEM	0,8	0,34	0,55	0,01	0,74
PLL					
T1	27,8 ^a	10,6 ^a	36,4 ^a	0,02	47,0 ^a
T2	21,2 ^b	11,2 ^{ab}	23,1 ^b	0,02	34,3 ^b
T3	16,1 ^c	11,5 ^b	8,4 ^c	0,04	19,9 ^c
p	0,0171	0,05	0,0095	0,2819	0,0087
EEM	0,77	0,1	1,37	0,01	1,27
CEL					
T1	33,4 ^a		73,6 ^a	0,05	71,1 ^a
T2	22,5 ^{ab}		56,3 ^{ab}	0,02	56,0 ^{ab}
T3	9,4 ^b		11,0 ^b	0,03	15,5 ^b
p	0,0323		0,076	0,2363	0,0756
EEM	2,19		9,29	0,01	8,22

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) **EEM**: error estándar de la media.

DE: Degradabilidad efectiva. **a**: fracción soluble. **b**: fracción potencialmente degradable. **c**: tasa de degradabilidad.

Al analizar los datos de 'a+b', se observó en todos los forrajes evaluados una disminución de los valores al adicionar el suplemento energético. El HA experimentó, en principio, un leve aumento con el agregado de 0,5% PV de grano, pero esta variable disminuyó al incrementar la proporción de maíz. En los forrajes PVD y PLL la reducción en el T3 fue de alrededor del 60%, y en CEL alcanzó a un 78%.

En la Figura 13 se observa la degradabilidad de la MS de los diferentes alimentos incubados.

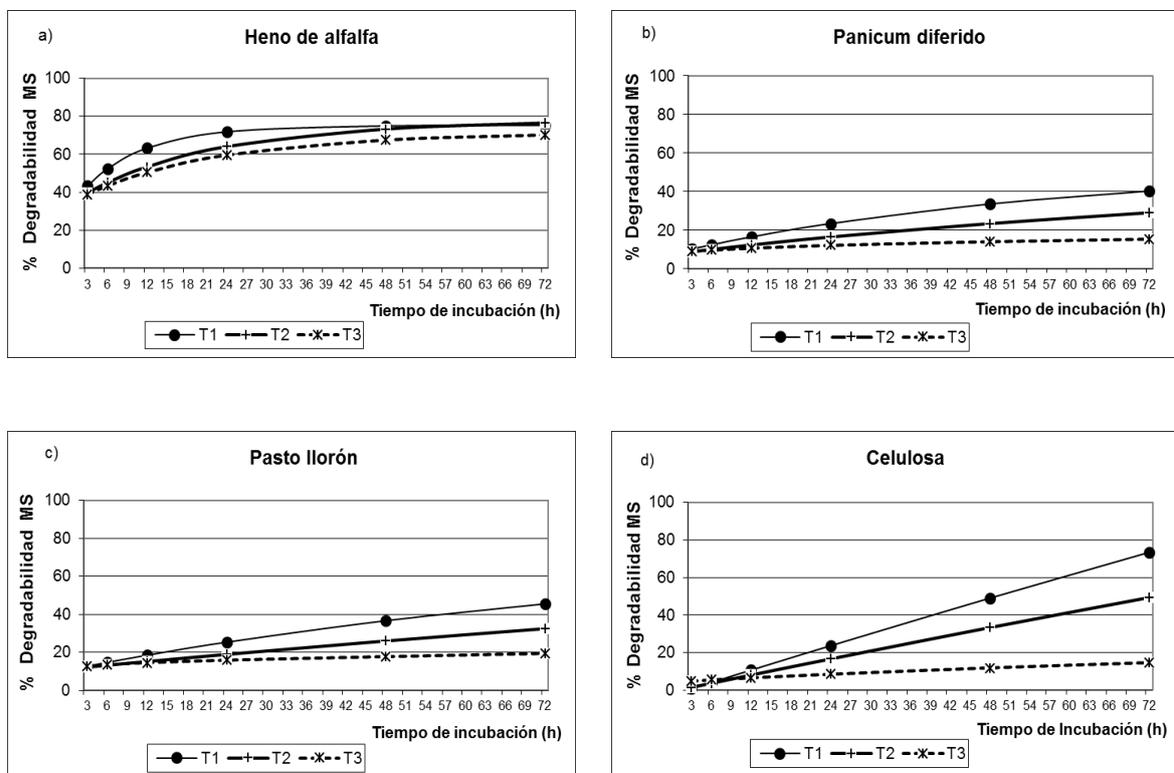


Figura 13. Degradabilidad *in situ* de la MS según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de PVD. a) HA, b) PVD, c) PLL y d) CEL.

Degradabilidad ruminal de la FDN

La suplementación energética tuvo un fuerte impacto en los parámetros de degradabilidad de la FDN. La degradabilidad efectiva de la FDN, para HA, registró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el testigo y los tratamientos con inclusión de maíz (Tabla 12), con una reducción del 26 (T2) y 41% (T3). PVD y PLL

registraron una reducción ($p < 0,05$) con el incremento del grano, de aproximadamente 30 y 60% en T2 y T3, respectivamente.

La fracción b de PVD y PLL mostró una importante disminución en el T3, del orden del 85%. Además, en estos mismos substratos, el parámetro 'a+b' disminuyó con el T2 un 40%; mientras que, con el T3 la reducción fue del 76 y 57% para PVD y PLL, respectivamente.

La tasa de degradabilidad de HA disminuyó ($p < 0,05$) con el suplemento; mientras que, en los demás forrajes no se detectaron diferencias.

En la Figura 14 se puede observar la dinámica de la degradabilidad de la FDN.

Tabla 12. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN, en pastoreo de PVD.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	32,7 ^a	2,9	51,5	0,06 ^a	54,4
T2	24,1 ^b	3,0	53,7	0,03 ^b	56,7
T3	19,2 ^b	6,6	38,9	0,03 ^b	45,5
p	0,0349	0,4302	0,1799	0,1651	0,1657
EEM	1,3	1,8	3,7	0,01	2,6
PVD					
T1	21,5 ^a	2,2	48,9 ^a	0,02	51,1 ^a
T2	14,7 ^b	2,4	28,5 ^b	0,02	30,9 ^b
T3	8,7 ^c	4,4	7,9 ^c	0,03	12,3 ^c
p	0,0178	0,351	0,0057	0,305	0,0015
EEM	0,9	0,88	1,56	0,01	0,76
PLL					
T1	24,1 ^a	4,6	42,8 ^a	0,02	47,4 ^a
T2	16,4 ^b	5,2	23,3 ^{ab}	0,01	28,5 ^{ab}
T3	10,9 ^b	7,9	4,3 ^b	0,02	12,2 ^b
p	0,0314	0,1518	0,0425	0,0893	0,0343
EEM	1,19	0,73	4,05	0,003	3,32

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM**: error estándar de la media.

DE: Degradabilidad efectiva. **a**: fracción soluble. **b**: fracción potencialmente degradable. **c**: tasa de degradabilidad.

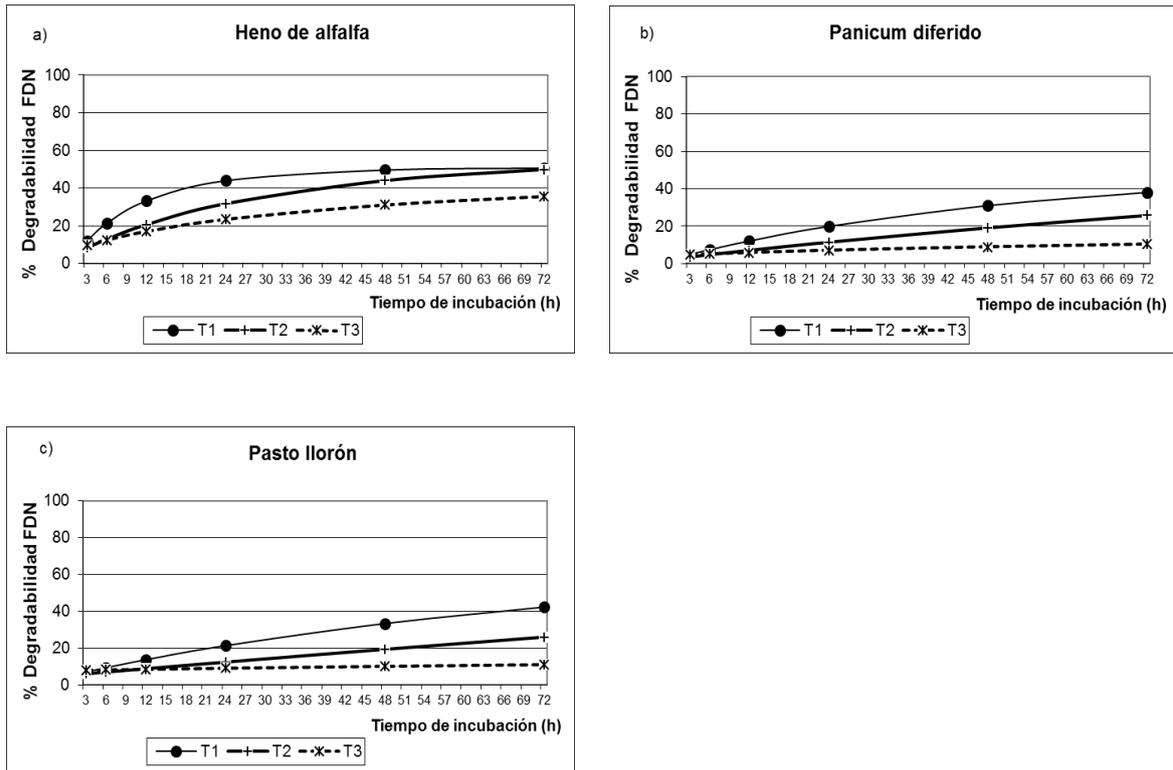


Figura 14. Degradabilidad *in situ* de la FDN según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de PVD. a) HA, b) PVD, y c) PLL.

Degradabilidad ruminal de la PB

El forraje evaluado en este caso fue de HA (Fig. 15), en los demás substratos (PVD y PLL) no fue posible la estimación de los parámetros de degradabilidad de PB, el bajo contenido de proteína determinó un efecto de contaminación microbiana importante.

No se hallaron diferencias ($p > 0,05$) en ninguno de los parámetros de degradabilidad ruminal de la proteína de HA (Tabla 13).

Tabla 13. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la PB en pastoreo de PVD.

Substrato	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	79,6	53,6	40,2	0,091	93,8
T2	79,2	58,2	36,5	0,071	94,7
T3	75,4	52,3	41,9	0,064	94,2
p	0,0916	0,5954	0,5294	0,6557	0,8103
EEM	0,74	3,77	2,93	0,02	0,94

T1: Pastoreo sin suplemento, **T2:** Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, **T3:** Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM:** error estándar de la media.

DE: Degradabilidad efectiva. **a:** fracción soluble. **b:** fracción potencialmente degradable. **c:** tasa de degradabilidad.

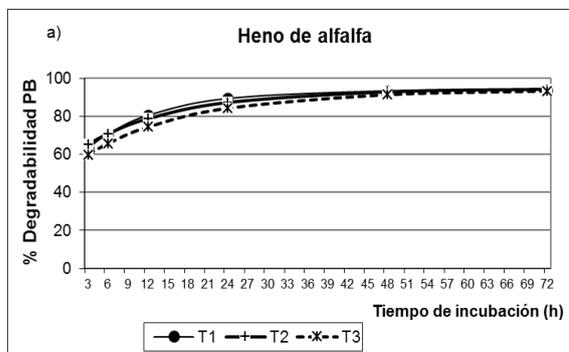


Figura 15. Degradabilidad *in situ* de la PB según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de PVD. a) HA.

Parámetros ruminales

Variaciones del pH en rumen.

No se encontró evidencia que exista interacción entre los tratamientos y las horas de muestreo. Los pH medios diarios en líquido ruminal, de los novillos con suplemento, disminuyeron significativamente ($P < 0,001$; Tabla 14), con respecto al testigo.

Los valores de pH registrados para el tratamiento asignado sólo con pastura, se encontraron por encima de 7 (Fig. 16); mientras que, los datos obtenidos para T2 y T3, fueron por debajo de 6,5 y 6,0, respectivamente.

El pH en función del tiempo, para la media de los tres tratamientos, mostró un leve descenso desde la hora de suplementación (Tabla 15) hasta la hora 6, luego comenzó a incrementarse levemente.

Tabla 14. Valores promedios de pH y concentración de N-NH₃ (mg/100ml), en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD.

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
pH	7,45 ^a	6,12 ^b	5,61 ^b	0,07	<0,0001
N-NH₃	5,37 ^a	6,44 ^b	14,33 ^c	0,94	0,0234

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM error estándar de la media.

Variaciones del N-NH₃.

La dieta con mayor proporción de maíz tuvo un valor promedio de N-NH₃ en líquido ruminal (Tabla 14) de 14,33 mg/100ml, significativamente mayor ($p < 0,05$) que el de T1 (5,37 mg/100ml) y T2 (6,44mg).

La concentración de N-NH₃, y su comportamiento en función del tiempo, mostró una disminución desde la hora en que se suministró el grano (Tabla 15), hasta la hora 9, a partir de entonces comenzó a incrementarse.

Las concentraciones mínimas para T1, T2 y T3 fueron de 4,2, 4,6 y 10,7mg/100ml, respectivamente (Fig. 17), y los máximos alcanzados fueron 6,2, 9,1 y 21,8 mg/100ml.

Tabla 15. pH y N-NH₃ (mg/100ml) en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

	Hora						EEM	p
	0	3	6	9	12	18		
pH	6,62 ^a	6,57 ^a	6,2 ^b	6,33 ^{ab}	6,27 ^b	6,37 ^c	0,10	0,0460
N-NH₃	10,49 ^{ac}	6,66 ^b	6,94 ^{ab}	6,96 ^{ab}	8,88 ^{abc}	12,33 ^c	1,33	0,0234

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media.

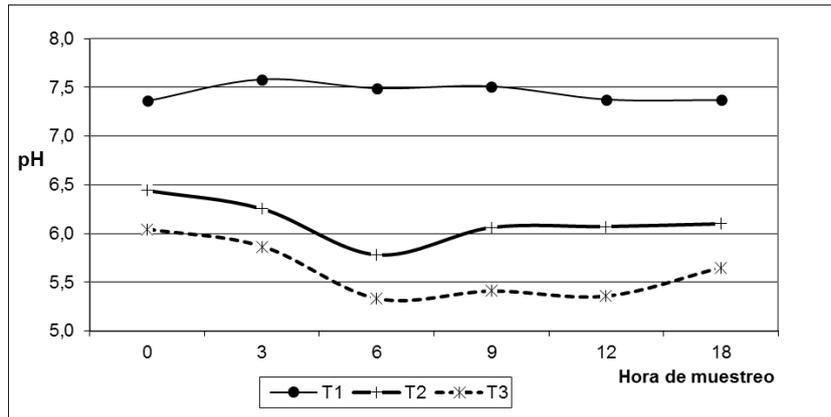


Figura 16. Variación de pH ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

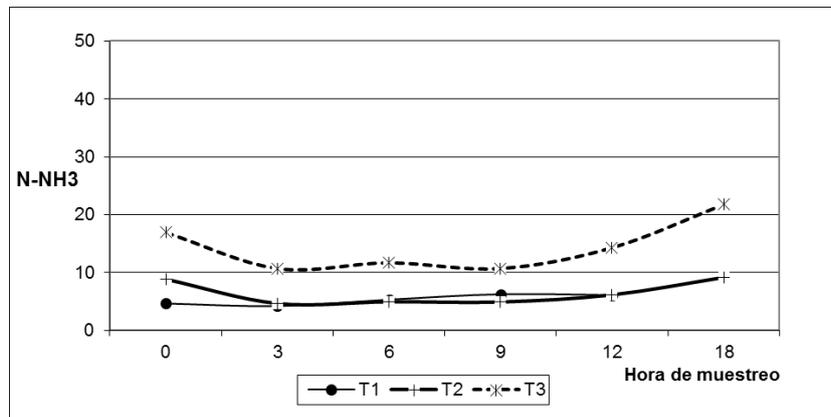


Figura 17. Variación de la concentración de N-NH3 ruminal (en mg/100ml) en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

Concentración de AGV.

El concentrado energético en la dieta produjo, en promedio, una mayor concentración de AGV totales a medida que aumentó su proporción en la dieta (Tabla 16).

Esta mayor cantidad de AGV se vio reflejada en un aumento, mayor del 50%, en la concentración promedio de ácido acético, cuando los animales consumían grano (Tabla 16). También se observó un incremento importante en la

concentración de ácidos propiónico y butírico en los animales suplementados.

Si bien la concentración de AGV totales y ácido acético, en promedio para los tres tratamientos, tendió a elevarse en función del tiempo (Tabla 17) desde el momento de suplementación, no se encontró un efecto horario significativo ($p>0,05$)

La proporción molar de ácido acético, en los tratamientos suplementados, disminuyó significativamente con respecto al tratamiento testigo (Tabla 18). Por otro lado, se observó una disminución en la proporción de ácido propiónico al incorporar un nivel bajo de grano en la dieta y, un leve aumento, aunque no significativo respecto del testigo sin suplementación ($p>0,05$) con el nivel alto de grano. La proporción de ácido butírico expresó un gran crecimiento desde 5,6 (T1) a 20,7%(T3). En la relación A:P se detectaron diferencias entre T2 y T3, esta relación aumentó con la dieta que proporcionó 0,5% de PV de grano, pero al agregar más concentrado energético (1%PV) esta relación fue menor con respecto a T1.

Tabla 16. Concentración de AGV totales, ácido acético, propiónico y butírico (mM/l), en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD.

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
AGV totales	73,85 ^a	129,92 ^b	155,29 ^c	4,5	<0,0001
Ácido Acético	54,55 ^a	86,78 ^b	84,11 ^b	3,22	<0,0001
Ácido Propiónico	12,38 ^a	18,8 ^b	27,47 ^c	1,35	<0,0001
Ácido Butírico	3,93 ^a	15,43 ^b	28,51 ^c	1,11	<0,0001

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media.

Tabla 17. Concentración de AGV (mM/l) en fluido ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

	Horas						EEM	p
	0	3	6	9	12	18		
AGV totales	115,39	112,44	122,09	120,55	118,38	129,27	6,36	0,5280
Ácido Acético	74,07	73,53	77,01	75,69	72,09	78,5	4,55	0,3604
Ácido Propiónico	18,59	18,59	20,0	19,94	19,24	20,94	1,91	0,9456
Ácido Butírico	13,31	13,3	17,02	17,35	18,48	16,27	1,57	0,1178

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media

Tabla 18. Proporciones molares de AGV en líquido ruminal de animales en pastoreo de PVD.

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
Ácido Acético	76,7 ^a	71,8 ^b	60,2 ^c	0,53	<0,0001
Ácido Propiónico	17,6 ^a	15,5 ^b	19,3 ^a	0,52	<0,0001
Ácido Butírico	5,6 ^a	12,7 ^b	20,5 ^c	0,8	<0,0001
Relación A : P	4,3 ^a	4,7 ^b	3,4 ^c	0,09	<0,0001

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

EEM: error estándar de la media.

Experimento III: Dieta basal pastura de digitaria.

Degradabilidad ruminal de la MS.

Para HA y DI se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la DEMS, entre los tres tratamientos (Tabla 19), una disminución de 6 y 11% para alfalfa y de 8 y 17% para DI, en T2 y T3, respectivamente (Tabla 19). Cuando los forrajes que se evaluaron fueron PLL y CEL, las diferencias no fueron significativas

($p>0,05$), para ninguna de las variables estimadas, pero se observó la misma tendencia a disminuir de la DE cuando se incluyó la suplementación energética (Tabla 19). El mayor impacto se observó sobre la CEL que disminuyó un 30% su DE en el T3; mientras que, PLL se redujo un 14%.

En DI se observó una reducción ($p<0,05$) de la tasa de degradación de T3 con relación al testigo. La misma tendencia se observó en HA y CEL; mientras que, en PLL la tasa tendió a aumentar con el agregado de grano.

Los parámetros b y 'a+b' no fueron afectados por los tratamientos ($p>0,05$) La cinética de la degradabilidad ruminal de la MS, en los distintos tratamientos y para cada material incubado se muestra en la Figura 18 (a, b c y d).

Tabla 19. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la MS, en pastoreo de DI.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	63,0 ^a	34,8	40,8	0,11	75,6
T2	59,2 ^b	28,07	46,6	0,10	74,7
T3	55,8 ^c	34,3	40,0	0,06	74,3
p	0,0224	0,4566	0,5318	0,1181	0,5964
EEM	0,55	3,45	3,86	0,01	0,72
DI					
T1	49,8 ^a	13,7	64,2	0,05 ^a	77,9
T2	45,8 ^b	13,3	68,9	0,04 ^{ab}	82,2
T3	41,2 ^c	16,7	59,3	0,03 ^b	76,0
p	0,045	0,4262	0,1288	0,0295	0,0774
EEM	0,29	1,59	1,86	0,003	0,93
PLL					
T1	23,0	7,7	49,6	0,02	57,3
T2	21,0	8,1	27,1	0,04	35,2
T3	19,7	7,8	27,4	0,03	35,2
p	0,4662	0,8678	0,12	0,1396	0,144
EEM	1,53	0,49	4,76	0,004	5,22
CEL					
T1	39,6	0,97 ^a	76,1	0,04	77,1
T2	33,5	2,53 ^{ab}	67,4	0,03	69,9
T3	27,4	4,23 ^b	54,7	0,03	58,9
p	0,4483	0,461	0,5791	0,1073	0,6943
EEM	5,5	0,69	13,14	0,002	13,77

T1: Pastoreo sin suplemento 0%, **T2:** Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, **T3:** Pastoreo+1%PV en grano de maíz. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM:** error estándar de la media.

DE: degradabilidad efectiva; **a:** fracción soluble; **b:** fracción potencialmente degradable; **c:** tasa de degradabilidad.

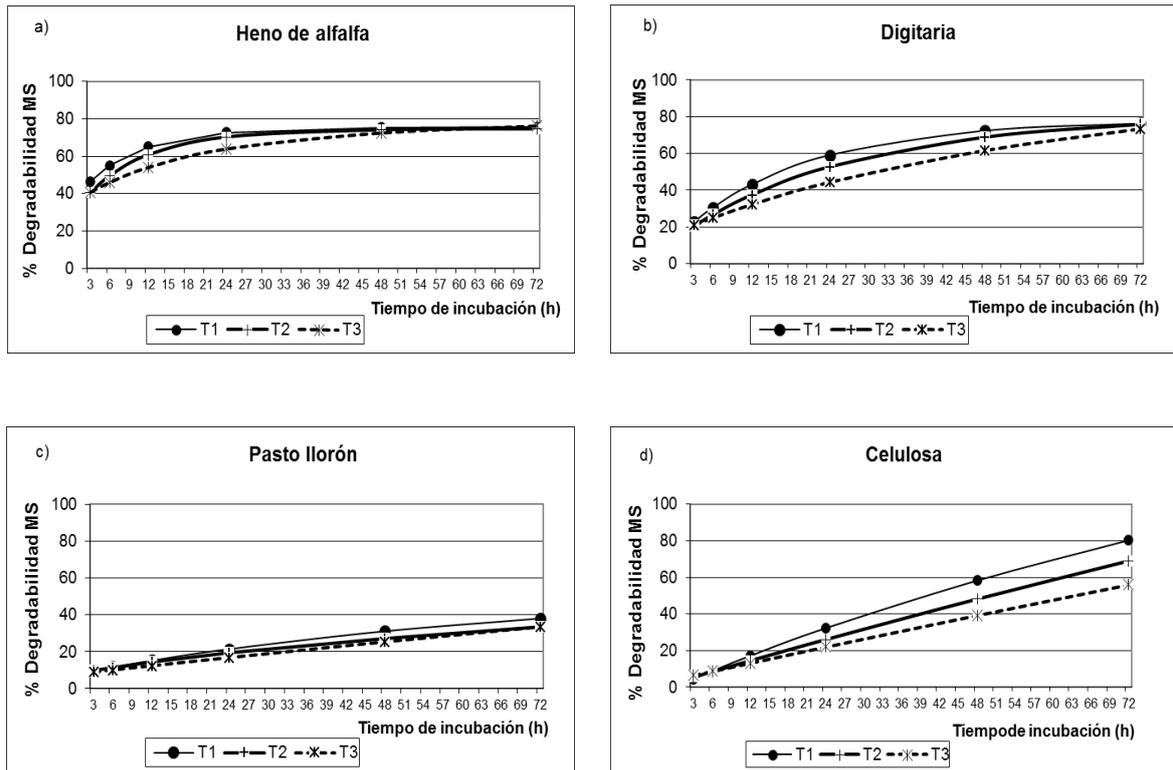


Figura 18. Degradabilidad *in situ* de la MS según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de DI. a) HA, b) DI, c) PLL y c) CEL.

Degradabilidad ruminal de la FDN

En los materiales incubados HA y DI, la DE de la FDN (Tabla 20) sufrió un efecto negativo ($p < 0,05$) en los tratamientos suplementados con maíz. El impacto más importante fue sobre el T3, que se redujo aproximadamente un 20 % en relación al tratamiento sin grano. Siguiendo la misma tendencia, la DE del PLL diferido disminuyó un 14% con el mayor nivel de suplemento energético.

La tasa de degradación de HA y DI se redujo significativamente ($p < 0,05$) por incidencia del T3.

En la Fig. 19 (a, b, c y d) se observa la cinética de la degradabilidad ruminal de la FDN, en los distintos tratamientos y para cada material incubado.

Tabla 20. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la FDN en pastoreo de DI.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	35,3 ^a	9,7	41,8	0,08 ^a	51,5
T2	30,9 ^b	3,6	45,7	0,08 ^a	49,2
T3	27,3 ^b	10,1	45,2	0,04 ^b	55,4
p	0,0128	0,7642	0,8337	0,0418	0,5778
EEM	0,45	6,57	4,79	0,008	3,65
DI					
T1	39,7 ^a		75,2 ^a	0,05 ^a	75,2
T2	36,6 ^a	1,2	79,1 ^b	0,037 ^{ab}	80,3
T3	31,5 ^b	1,6	68,9 ^c	0,03 ^b	70,5
p	0,0193		0,0146	0,0460	0,0915
EEM	0,58		0,36	0,004	1,56
PLL					
T1	20,8	1,2	37,7	0,03	38,9
T2	18,0	2,9	26,5	0,036	29,5
T3	17,8	1,13	33,0	0,03	34,1
p	0,5616	0,5162	0,6731	0,6923	0,8443
EEM	1,89	1,3	4,3	0,002	4,68

T1: Pastoreo sin suplemento, **T2:** Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, **T3:** Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM:** error estándar de la media.

DE: degradabilidad efectiva; **a:** fracción soluble; **b:** fracción potencialmente degradable; **c:** tasa de degradabilidad;

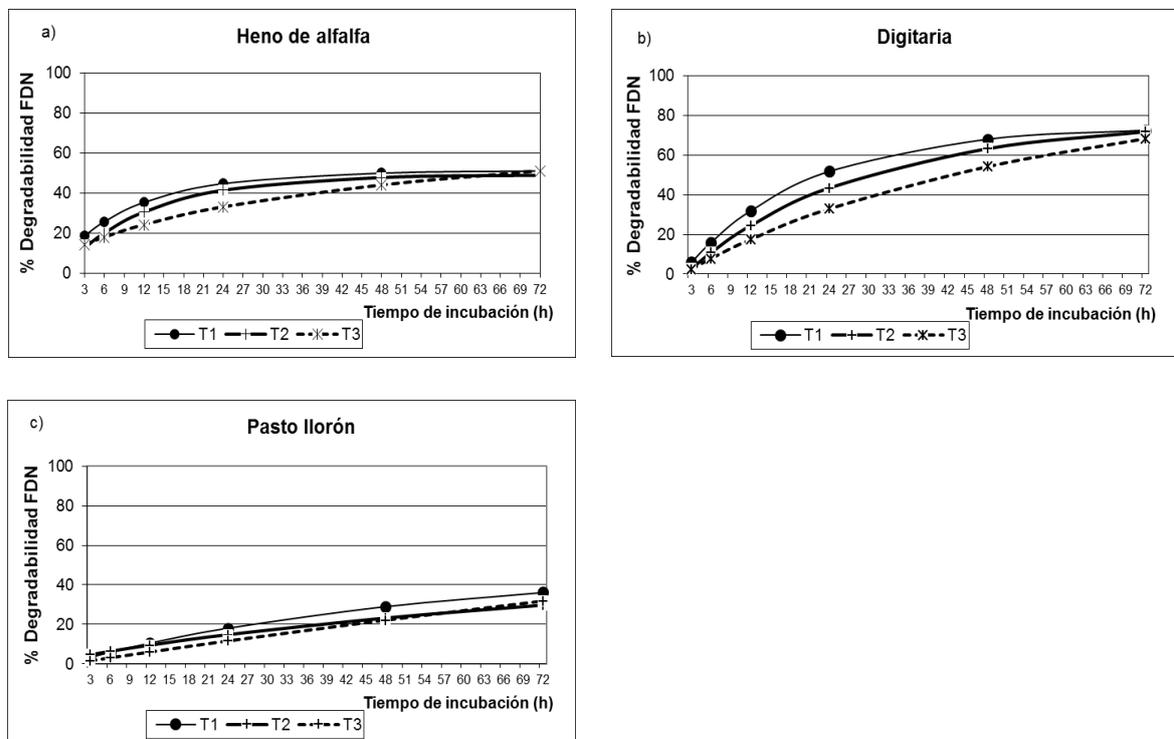


Figura 19. Degradabilidad *in situ* de la FDN según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de DI. a) Heno de alfalfa, b) DI, y c) PLL.

Degradabilidad ruminal de la PB.

Del análisis de los datos se infiere que, no hay un efecto significativo ($p > 0,05$) de los tratamientos con suplemento energético, sobre la degradabilidad de la PB (Tabla 21), para heno de alfalfa y DI. El PLL se comportó igual que en los ensayos anteriores. En la Figura 20 (a y b) se observa la cinética de la degradabilidad ruminal de la PB, en los distintos tratamientos y para cada material incubado.

Tabla 21. Parámetros de degradabilidad ruminal *in situ* de la PB en pastoreo de DI.

Substratos	Parámetros de degradabilidad ruminal				
	DE	a	b	c	a+b
HA					
T1	79,3	52,1	40,8	0,10	92,9
T2	79,36	41,43	51,1	0,15	92,5
T3	78,56	39,73	51,2	0,10	90,9
p	0,2279	0,6251	0,6748	0,2917	0,056
EEM	0,24	8,66	8,58	0,02	0,25
DI					
T1	62,6	19,9	65,9	0,06	85,9 ^{ab}
T2	57,2	20,6	67,0	0,05	87,6 ^a
T3	53,5	16,8	65,3	0,05	82,2 ^b
p	0,1396	0,8386	0,8719	0,5029	0,0424
EEM	1,84	4,58	5,07	0,01	0,59

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). **EEM**: error estándar de la media.

DE: degradabilidad efectiva; **a**: fracción soluble; **b**: fracción potencialmente degradable; **c**: tasa de degradabilidad.

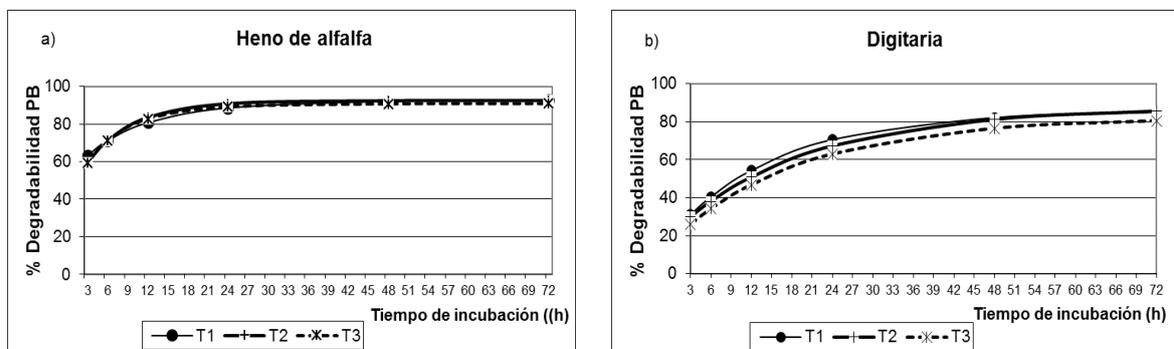


Figura 20. Degradabilidad *in situ* de la PB según el modelo matemático de Ørskov y McDonald (1979). Dieta basal pastura de DI a) HA, y b) DI.

Parámetros ruminales

Variaciones del pH en rumen.

En los valores promedios, obtenidos para este parámetro, se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) en los tratamientos con grano de maíz, con respecto al testigo (Tabla 22).

Al analizar el efecto horario, en promedio de los tres tratamientos, en las 3 primeras horas, desde que se proporcionó el suplemento, el pH disminuyó significativamente ($p < 0,05$) (Tabla 23).

En la Figura 21 se observa que el T3 siempre estuvo por debajo de los otros dos y T2 fue intermedio. Los tratamientos suplementados con concentrado energético se mantuvieron con un pH por debajo de 6, T2 osciló entre 5,6 y 6,0; mientras que, T3 se movió en un rango menor de 5,5 a 5,8. El pH del tratamiento sin suplementar estuvo alrededor de 6,0 con un máximo de 6,2.

Tabla 22. Valores promedios de pH y concentración de N-NH₃ (mg/100ml) en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI.

	Tratamientos				p
	T1	T2	T3	EEM	
pH	6,05 ^a	5,83 ^b	5,65 ^c	0,03	<0,0001
N-NH₃	8,97 ^a	7,25 ^b	7,83 ^{ab}	0,45	0,0337

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM error estándar de la media.

Tabla 23. pH y N-NH₃ (mg/100ml) en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI, en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

	Horas						EEM	p
	0	3	6	9	12	18		
pH	6,01 ^a	5,78 ^b	5,91 ^{ac}	5,80 ^{bc}	5,81 ^{bc}	5,74 ^b	0,03	0,0460
N-NH₃	8,72 ^{ac}	6,6 ^b	6,38 ^b	6,96 ^{ab}	9,29 ^c	10,13 ^c	0,64	0,0004

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM error estándar de la media.

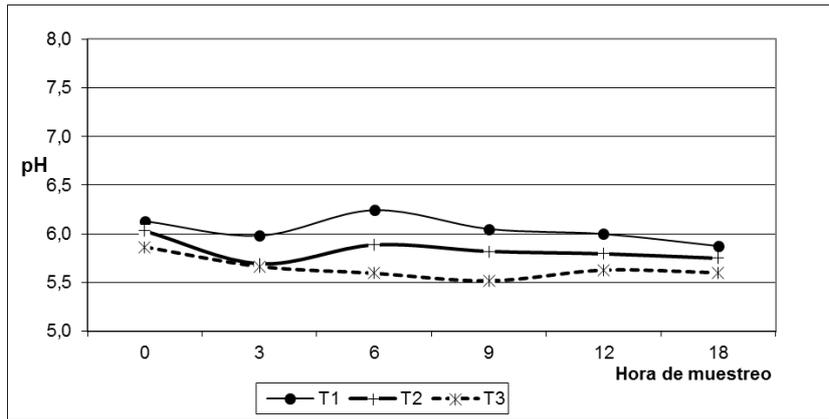


Figura 21. Variación de pH ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

Variaciones de N-NH₃.

En la Tabla 22 se puede observar que el T2 registró una disminución significativa en la concentración de N-NH₃, diferenciándose de T1 ($p < 0,05$); mientras que, T3 ocupa una posición intermedia a ambos, sin diferir de ninguno de ellos.

La concentración de N-NH₃ descendió (Fig. 22) a partir del horario de suplementación, para luego aumentar a partir de las 9 horas (Tabla 23)

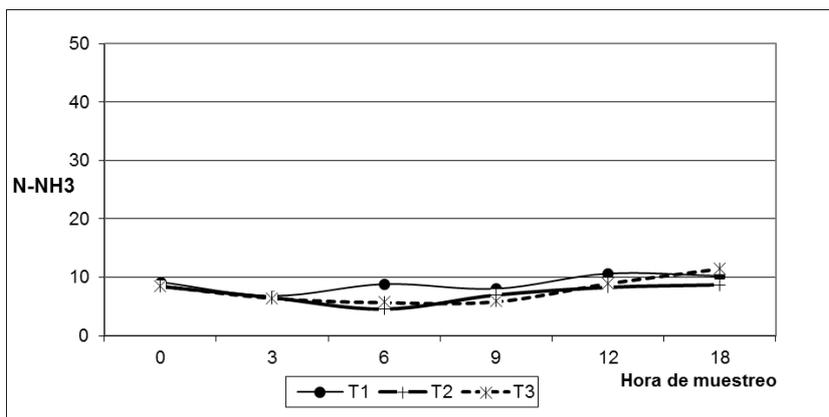


Figura 22. Variación del contenido de N-NH₃ ruminal (en mg/100ml) en función del tiempo desde el suministro del suplemento, para los tres tratamientos.

Concentración de AGV.

En los tratamientos suplementados con maíz, se observó una mayor ($p < 0,05$) concentración promedio de AGV totales (Tabla 24), con respecto al tratamiento que recibió sólo pastura.

En cuanto a la composición individual, la concentración de ácido acético fue similar en los tres tratamientos y no se encontraron diferencias entre ellos en el promedio de los registros (Tabla 24). La concentración de ácido propiónico aumentó un 18% ($p < 0,05$) en el T3, al mismo tiempo, se detectaron incrementos importantes en la concentración de ácido butírico de los tratamientos con suplemento energético.

Se observó un efecto significativo de los horarios de muestreo sobre los AGV (Tabla 25), la concentración de éstos aumentó en el transcurso de las horas, siendo más marcado este incremento a las 12 y 18 horas desde consumido el suplemento.

Tabla 24. Concentración de AGV totales, ácido acético, propiónico y butírico (mM/l), en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
AGV totales	124,64 ^a	130,34 ^b	134,55 ^b	1,95	0,003
Ácido Acético	92,71	94,76	93,62	1,43	0,6283
Ácido Propiónico	18,69 ^a	19,91 ^a	22,1 ^b	0,46	<0,0001
Ácido Butírico	10,2 ^a	12,13 ^b	14,75 ^c	0,27	<0,0001

T1: Pastoreo sin suplemento, T2: Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, T3: Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media.

Tabla 25. Concentración de AGV (mM/l), en fluido ruminal en función del tiempo desde el suministro del suplemento.

	Horas						EEM	P
	0	3	6	9	12	18		
AGV totales	124,22 ^a	127,09 ^{ab}	119,28 ^a	124,6 ^a	134,97 ^b	148,8 ^c	2,76	<0,0001
Ácido Acético	90,58 ^{ab}	92,58 ^{bc}	85,67 ^a	89,54 ^{ab}	97,26 ^c	107,01 ^d	2,11	0,0045
Ácido Propiónico	19,41 ^{ab}	20,03 ^{ab}	18,65 ^a	19,36 ^{ab}	20,72 ^b	23,22 ^c	0,65	0,0004
Ácido Butírico	11,32 ^a	11,69 ^a	11,22 ^a	11,99 ^a	13,26 ^b	14,71 ^c	0,39	0,0016

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media.

Analizando las concentraciones de AGV, expresadas en proporciones molares (Tabla 26), el ácido acético disminuyó ($p < 0,05$) a medida que creció la el nivel de suplemento, y el ácido propiónico aumentó significativamente ($p < 0,05$) sólo con el T3, por lo que se observa también una reducción en la relación A:P. Por su parte, la proporción del ácido butírico creció con el nivel de grano en la dieta.

Tabla 26. Proporciones molares de AGV en líquido ruminal de animales en pastoreo de DI.

	Tratamientos			EEM	p
	T1	T2	T3		
Ácido Acético	76,2 ^a	74,7 ^b	71,8 ^c	0,17	<0,0001
Ácido Propiónico	15,4 ^a	15,7 ^a	16,8 ^b	0,24	0,0003
Acido Butírico	8,4 ^a	9,6 ^b	11,4 ^c	0,17	<0,0001
Relación A:P	4,9 ^a	4,7 ^a	4,3 ^b	0,07	<0,0001

T1: Pastoreo sin suplemento, **T2:** Pastoreo+0,5% PV en grano de maíz, **T3:** Pastoreo+1%PV en grano de maíz.

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

EEM: error estándar de la media

4. DISCUSIÓN

Valor nutritivo de los componentes de la dieta.

Las pasturas utilizadas en cada dieta experimental corresponden a forrajes de valor nutritivo alto (verde de avena), medio (digitaria) y bajo (panicum). El VA se caracterizó por un alto contenido en PB y muy bajo porcentaje de MS, de acuerdo con el estado vegetativo en que se encontraba cuando fue consumido en el mes de mayo. El valor de FDN de PVD fue elevado; asimismo, el nivel bajo de PB fue similar al indicado para esta especie en diferido por Stritzler *et al.* (2007). Esto está relacionado al avanzado estado de madurez del cultivo de verano, que fue diferido al período invernal, las heladas detienen el crecimiento y secan casi por completo el forraje. Estas características determinan a este material como de baja calidad nutritiva (Leng, 1990). Por otra parte, la pastura de DI mostró una calidad intermedia entre las otras dos.

Experimento I: Dieta basal pastura de avena.

La técnica *in situ* ha sido ampliamente utilizada en estudios de degradabilidad en general. Además, ha sido propuesta como un medio simple de estimación de la velocidad y grado de degradabilidad de la proteína de los alimentos en el rumen (Mehrez y Ørskov, 1977). Esta técnica proporciona una herramienta para la evaluación de los forrajes y mejorar nuestra comprensión de los procesos de degradación que se producen en el rumen (Ørskov *et al.*, 1980).

En la evaluación en animales con dieta basal de pastura de VA, se observó que al agregar un suplemento energético en baja proporción (0,5%PV), las variables de degradabilidad de MS y FDN estimadas fueron similares al testigo para los diferentes sustratos incubados. Esto coincide con los hallazgos de algunos autores que no encontraron diferencias en la DEMS (Reis y Combs, 2000), ni en la DEF DN (Bargo *et al.*, 2002) al suplementar pasturas templadas de alta calidad. Cuando el nivel de grano se incrementó hasta 1%PV se observaron algunas diferencias en la respuesta entre MS y FDN. El concentrado causó una reducción no significativa, del orden del 30% en la DEMS de PLL y CEL, y en la DEF DN de PLL. No obstante, para HA y VA, este efecto negativo sólo se observó,

en menor grado (20%) sobre la DEFND. En este sentido, algunos autores (Van Vuuren *et al.*, 1993; García *et al.*, 2000; Sairanen *et al.*, 2005) al incorporar un suplemento energético a las pasturas templadas de alta calidad, no encontraron diferencias en la digestibilidad total (DT) de la MS, pero sí una disminución en la degradabilidad en rumen y un aumento de la digestibilidad en intestino, observando un cambio en el sitio de digestión (Van Vuuren *et al.*, 1993; García *et al.*, 2000). A su vez, encontraron efectos negativos sobre la DT y la DE de la fibra (Van Vuuren *et al.*, 1993; Sairanen *et al.*, 2005), a diferencia de otros trabajos que no hallaron efecto en estas variables (Elizalde *et al.*, 1999; García *et al.*, 2000) al suministrar grano de maíz, hasta un 30% de la dieta.

Comparado con la dieta de pastura sola, la fracción soluble (a), que representa la fracción que es rápida y completamente degradada en rumen, no fue afectada por los tratamientos, tanto en MS como en FDN, excepto en la MS de CEL, que incrementó el valor de (a) con el nivel más alto de grano. En cambio, el efecto más importante sobre la fracción (b) se observó en la MS y FDN de PLL que disminuyó con el nivel más alto de suplemento. Esta reducción en (b) también fue observada por otros autores (Reis y Combs, 2000), suplementando con 10kg/d de maíz que no afectaron a las demás fracciones.

La digestión de la proteína de pasturas templadas de alta calidad, no parece ser afectada por la suplementación energética (Bargo *et al.*, 2003). Las variables de degradabilidad de la PB, de HA y VA, no se alteraron por las diferentes cantidades de grano. La DEPB alcanzó en VA 84%, y el valor de (a) alrededor de 40% lo que implica que la proteína es altamente soluble a nivel ruminal. Las fracciones nitrogenadas de las pasturas templadas de alta calidad son altamente degradadas en rumen (Hoffman *et al.*, 1993; Elizalde *et al.* 1999; Bargo *et al.*, 2003). Esto favorecería la síntesis de proteína microbiana si se complementa con concentrados que cubran las necesidades para la misma. Cuando los niveles de N-NH₃ ruminal son mayores a 5 mg/dl, el nitrógeno no es limitante y la energía disponible para la síntesis de proteína microbiana dependerá de la fermentación de las distintas fuentes de carbohidratos en la dieta (Hoover y Stokes, 1991). La captación de N por parte de los microorganismos ruminales, mejora con el incremento en la dieta de las cantidades de hidratos de carbono rápidamente fermentables (Bach *et al.*, 2005). A pesar de que numerosos estudios muestran

resultados contradictorios por diferentes razones y atribuidos a distintos factores (Hall y Huntington, 2008; Yang *et al.*, 2010), al menos teóricamente la sincronía entre provisión de N y E, de una fuente de carbohidratos al rumen, debería permitir una utilización más eficiente de los nutrientes y mejorar la síntesis de proteína microbiana, aunque la relación óptima entre hidratos de carbono y N-NH₃ no ha sido claramente determinada.

Analizar el licor ruminal permitió conocer las condiciones del ambiente bajo el cual se desarrolla el proceso digestivo, y explicar algunos resultados obtenidos. El pH medio fue más bajo con el nivel más alto de suplementación, y el valor medio del tratamiento testigo, fue el más alto. Estos resultados muestran una reducción del pH, cuando disminuye la relación forraje: concentrado, evidenciando un efecto del suministro de concentrado energético sobre el pH, similar a lo hallado en otros estudios sobre pasturas templadas de alta calidad. (Moss *et al.*, 1995; Elizalde *et al.*, 1999; Bargo *et al.*, 2002; Rymer y Givens, 2002; Aguerre *et al.*, 2009). Esta reducción del pH, cuando se incrementa el nivel de grano en la dieta, a menudo se asocia con una alta fermentación ruminal, la reducción del tiempo de rumia (Maekawa *et al.*, 2002), la disminución del flujo de saliva, y en consecuencia con la reducción de la cantidad de buffer en el rumen (Rymer y Givens, 2002; Aguerre *et al.*, 2009), además, de una alta producción de AGV totales (Bargo *et al.*, 2002). El aumento de la acidez observado en el tratamiento con pastoreo de VA sin suplemento, probablemente se produjo, por ser la VA un forraje de alto valor nutritivo, que provee una alta disponibilidad de nutrientes para los microorganismos del rumen, y un consecuente aumento de la producción de AGV como desechos de la fermentación ruminal (Kolver y de Veth, 2002), provocando la reducción del pH (Bargo *et al.*, 2002). Para el tratamiento testigo el pH ruminal medio fue 6,0. Este valor es el indicado por algunos autores (Mould y Ørskov, 1983; Owens y Goeschel, 1993; Roussel y Wilson, 1996; Krajcarski-Hunt *et al.*, 2002) como umbral por debajo del cual se afecta la actividad celulolítica. En las dietas suplementadas, el pH promedio se encontró por debajo de este índice (5,83-5,57 en T2 y T3, respectivamente) lo que concuerda con lo encontrado por otros autores en similares condiciones experimentales (Davies *et al.*, 1997). En T3 el pH se mantuvo por debajo de 6,0 durante todo el periodo de muestreo; mientras que, T2 lo hizo por un periodo

menor de tiempo durante el día (Fig. 11). Sin embargo, las reducciones encontradas en la digestión, son mucho menores a lo que se esperaría en un ambiente con pH tan bajos como éstos, atribuyendo los resultados a un menor efecto relativo de la disminución de pH en la digestión de la fibra de buena calidad. Además, como el pH se mantuvo, por debajo del umbral crítico por un tiempo prolongado, este mínimo efecto sobre la digestión podría explicarse porque no hubo grandes fluctuaciones durante el día lo que, según de Veth y Kolver (2001), sería más crítico que un pH bajo, pero menos variable. De acuerdo a lo informado por Mota *et al.* (2010) y Palmonari *et al.* (2010), aún con bajos pH se puede mantener una población normal de bacterias celulolíticas.

Se hallaron concentraciones altas de N-NH₃ en rumen, en los tres tratamientos, muy superiores a los 5 mg/dl citados por Satter y Slyter (1974) como óptimos para el desarrollo bacteriano. Las altas concentraciones de N-NH₃ ruminal encontradas, resultan de las pasturas templadas de buena calidad, con valores de proteína por encima del 20%, cuyas fracciones nitrogenadas son altamente degradadas en rumen (Elizalde *et al.*, 1999; Repetto *et al.*, 2005) y puede conducir a importantes pérdidas de nitrógeno por orina (Van Vuuren *et al.*, 1986) debido a que los forrajes frescos en etapas inmaduras tienen bajo contenido de carbohidratos solubles (Beever *et al.*, 1986; Elizalde y Santini, 1992). La significativa reducción encontrada en la concentración media de N-NH₃ en T2 y T3 está asociada posiblemente a una mejor utilización del N-NH₃, de manera que se incrementa la síntesis microbiana, por un aporte importante de energía al rumen, dado por los carbohidratos rápidamente fermentables, provenientes del maíz (Beever *et al.*, 1986, Bach *et al.*, 2005); y a una reducción en el consumo del forraje, por un efecto de sustitución (Bargo *et al.*, 2002). Es esperable que este último resulte de mayor trascendencia con niveles altos (1%PV) que con niveles moderados (0,5%PV) de suplementación.

Dado que los animales fueron encerrados durante la noche, sin acceso a la pastura, esto explicaría la significativa disminución en los valores medios encontrados desde esa hora hasta el día siguiente, en que se inició nuevamente el pastoreo, y el contenido de N-NH₃ ruminal comenzó a incrementarse.

La suplementación del verdeo de avena con concentrado energético no varió los niveles de AGV totales con respecto al testigo sin suplementar. Este

resultado fue encontrado por otros autores en pasturas templadas de buena calidad (Berzaghi *et al.*, 1996, Bargo *et al.*, 2002, Sarainen *et al.*, 2005); incluso aumentando el nivel de maíz hasta un 50 % de la dieta (Reis y Combs, 2000) no se cambia la cantidad de AGV totales producidos en rumen. Sin embargo, Elizalde *et al.* (1999) reportaron un leve aumento en los niveles de AGV, conforme se incrementaron los niveles de maíz hasta 1,2 %PV, en animales consumiendo alfalfa. La escasa diferencia en la concentración de AGV totales, podría explicarse por la alta degradabilidad de la MS de VA, de la que se espera alta producción de AGV totales cuando es consumida como único alimento. En cambio, la suplementación energética sí tuvo incidencia en las modificaciones en el perfil de AGV del rumen en el T3. La concentración molar de ácido propiónico se incrementó; mientras que, el acético no fue afectado. En las proporciones molares no hubo cambios importantes en los AGV en el T2, pero con el T3 aumenta el ácido propiónico, a expensas de la proporción de ácido acético. La disminución en la relación A:P en el T3, fue resultado de la alta concentración de ácido propiónico, determinada por la variación en la cantidad de grano incluido en la dieta. Estas alteraciones en el perfil de ácidos indican un cambio en la fermentación debido a que el ácido propiónico es el principal producto final de la fermentación del almidón. Reis y Combs (2000) reportaron similar comportamiento en los AGV al suplementar con maíz pasturas mixtas de gramíneas y leguminosas. A través de las horas de muestreo se observó un aumento en la concentración de AGV en el líquido ruminal, debido a que la concentración de AGV depende de la tasa de fermentación del alimento ingerido; por lo tanto, el menor valor se encontró a la hora 0, cuando los animales estaban en ayuno por el encierre nocturno. Una evolución similar durante el día se observó para los diferentes AGV.

Experimento II: Dieta basal pastura de panicum diferido.

Cuando la dieta base de los novillos fue PVD diferido, la incidencia sobre la DE de la MS y FDN debida al agregado del suplemento, fue significativa en todos los forrajes incubados, y el impacto fue más pronunciado sobre la degradabilidad de la FDN. En aquellos caracterizados por ser fibrosos, como el PLL y el PVD, y

en la CEL, se observó el efecto sobre la degradabilidad (MS y FDN) en los dos tratamientos (T2 y T3), disminuyendo la misma de manera proporcional con el incremento de maíz en la dieta. Esto es consistente con los resultados hallados por Sanson y Clanton (1989), quienes reportaron que niveles de maíz por encima de 0,25% del PVD disminuyen la degradabilidad de forrajes de baja calidad nutritiva. El proceso digestivo con un forraje de baja calidad es más lento porque la estructura de la fibra es más compleja (Gaylean y Goetsch, 1993) y el grado de lignificación de la fibra es mayor que en forrajes de mayor valor nutritivo (Moore y Jung, 2001). De esta manera, el agregado de grano reduce la digestión de la fibra ya sea por la disminución de pH (Bargo *et al.*, 2002), por un efecto inhibitorio que ejerce el almidón sobre la degradabilidad de la celulosa (Arelovich *et al.*, 2003), o por una preferencia de las bacterias por el almidón (Hoover, 1986). Además, Chase y Hibberd (1989) responsabilizaron por la disminución en la tasa de digestión al bajo contenido de N-NH₃ en rumen. El efecto sobre la DEMS del HA incubado, fue principalmente con el nivel más alto de suplemento (1 %PV) en relación al testigo, y la reducción fue en menor grado que en los demás forrajes. En cambio, el impacto fue más importante sobre la DEF DN, que disminuyó además con el nivel más bajo (0,5%PV). Esto demuestra que a menor calidad nutritiva del forraje base, el efecto de la suplementación energética sobre la digestión de la fibra es mayor, incluso con el suministro de menor cantidad de suplemento tal como fue observado por Matejovsky y Sanson (1995).

Utilizando el método *in situ* para estimar la degradabilidad de la proteína en forrajes altos en fibra y bajos en proteína, la contaminación microbiana de los residuos afecta seriamente la estimación de la degradabilidad (Edmunds *et al.*, 2012). Esto se vió reflejado en la incubación de PLL y PVD, materiales de muy bajo contenido de proteína. El procedimiento de lavado elimina gran parte de los microbios, pero algunos pueden estar unidos al residuo y no pueden ser removidos. Esta contaminación tiene una influencia menor sobre la degradabilidad de MS, pero como el contenido de proteína de los microbios es alto, la estimación de la degradabilidad de la proteína es subestimada (Mathers y Aitchison, 1981). En el caso del HA, los parámetros estimados para la degradabilidad de la PB no se mostraron afectados por los tratamientos.

El pH elevado, observado en los animales que consumieron pastura

solamente, es característico de dietas de forrajes altos en contenido de FDN, ya que inducen a una gran actividad de rumia y alta producción de saliva (Welch y Smith, 1970, Beauchemin y Buchanan-Smith, 1990) y además bajas concentraciones de AGV. El impacto de la suplementación sobre el pH se observó claramente con respecto al testigo. La dieta T3 tuvo el pH ruminal medio más bajo (5,6), considerándose por debajo del valor crítico para maximizar la digestión de la fracción fibrosa, según lo expuesto en otros trabajos (Mould y Ørskov, 1983; Owens y Goetsch, 1993; Russell y Wilson, 1996; Krajcarski-Hunt *et al.*, 2002). Además se mantuvo por un periodo prolongado por debajo de 5,5. Estas reducciones de pH en magnitud y tiempo facilitan el crecimiento de bacterias amilolíticas, inhibiendo la actividad celulolítica (Cerrato-Sanchez, *et al.*, 2008; Aschenbach *et al.*, 2011). En el T2 la degradabilidad de la MS y FDN de los forrajes incubados se vio afectada, aunque en menor grado, a pesar de que el pH medio fue de 6,12, y sólo a las 6h fue menor al umbral (pH 6,0) mencionado por Mould y Ørskov (1983). En este sentido, otros autores (Van Soest, 1994; de Veth & Kolver, 2001; Cerrato-Sánchez *et al.*, 2007) han documentado efectos negativos sobre la digestibilidad de la fibra con pH por debajo de 6,2. Bach (2005) sugiere también, que con raciones con concentrado energético, aún si el pH es alto, predominan las bacterias que degradan almidón y la digestión de la fibra es limitada por el número reducido de bacterias celulolíticas.

En los tratamientos con pastoreo sólo y con menor nivel de suplemento, las concentraciones de N-NH₃ fueron bajas y reflejan el bajo contenido de proteína de la pastura de PVD. La falta de N-NH₃ puede tener un efecto depresivo en la digestión de toda la dieta (Sanson y Clanton, 1989). Con el nivel más alto de concentrado energético se observó un incremento en la concentración de N-NH₃ ruminal de más del doble con respecto al tratamiento control. Este aumento podría atribuirse a que el maíz, además de aportar energía, contribuyó con su contenido de proteína al N soluble, aunque la degradabilidad de la proteína del maíz es de 50% (NRC, 2000). Inversamente, cuando suplementaron pasturas de baja calidad (4,2% PB) con grano, Chase y Hibberd (1987) observaron una reducción en la concentración de N-NH₃. Estas diferencias pueden deberse a la concentración de PB extremadamente baja de PVD (2,3%), menor a la observada en otros estudios. Además, la síntesis de proteína requiere de cofactores u otros

nutrientes (Hoover y Stokes, 1991; Stern *et al.*, 2006) que posiblemente no estén en cantidades adecuadas en el PVD, por la baja calidad del forraje, y el amoníaco no se pueda capitalizar en proteína microbiana.

Los niveles de N-NH₃ en rumen en T1 y T2 por momentos estuvieron por debajo del mínimo de 5-8 mg/100ml sugerido como necesarios para el óptimo crecimiento microbiano en rumen (Satter y Slyter, 1974; Funk *et al.*, 1987), si bien otros estudios indican que el nivel mínimo, para forrajes de bajo contenido de nitrógeno, es óptimo en niveles cercanos a 10mg/100ml (Krebs y Leng, 1984; Boniface *et al.*, 1986; Perdok *et al.*, 1988). Más aún, en una revisión bibliográfica, Hoover (1986) concluyó que en condiciones de elevados carbohidratos rápidamente fermentables en la dieta y limitaciones en la proteína disponible (<6%PB), las concentraciones de amoníaco requeridas para el óptimo crecimiento de los organismos celulolíticos pueden incrementarse a 21 mg/100ml.

La concentración total de AGV también fue afectada por los niveles de maíz en la dieta. A medida que se incrementó el suplemento, creció la concentración media de AGV totales, llegando a duplicarse en el T3 con respecto al testigo, manifestando de esta manera la baja calidad nutritiva de la pastura base. El menor nivel de maíz puede haber tenido un impacto menor sobre la utilización de la fibra en el rumen, de acuerdo al leve incremento en la relación A:P; esto indicaría un aumento en la producción de ácido acético a expensas del ácido propiónico. Esta relación disminuyó con el 1% PV de maíz, indicando un cambio hacia una fermentación amilolítica a niveles altos de concentrado energético. Similares respuestas obtuvieron Sanson y Clanton (1989) al suplementar un forraje de baja calidad con distintos niveles de maíz (0, 0,25, 0,5 y 0,7% PV).

Experimento III: Dieta basal pastura de digitaria.

En los forrajes incubados, durante el pastoreo de DI, se observó una tendencia a disminuir la DE de la MS y la FDN con el aumento del nivel de grano; similares resultados encontraron otros autores en estudios con pasturas de mediana calidad nutritiva (Carey *et al.*, 1993, Paisley, *et al.*, 1994). El suministro de 0,5% PV de grano en la dieta tuvo menor efecto sobre los forrajes evaluados; mientras que, el tratamiento con 1,0% PV provocó una reducción en la DE que se

evidenció en mayor medida en la CEL (30% menos) y en la FDN de PLL, HA y DI; sin embargo, en estos últimos la disminución no superó el 20%.

El efecto de la suplementación sobre la tasa de degradación de MS y FDN se observó en el T3 y no en T2, y principalmente en alfalfa y digitaria. Estos resultados están de acuerdo con algunos autores (Carey *et al.*, 1993,) que sugieren que niveles bajos de suplementación energética no altera la tasa de degradación de dietas con forrajes de mediana calidad.

Al igual que lo observado anteriormente, la degradabilidad de la proteína no varía por el suplemento energético.

La suplementación energética provocó una leve depresión en el valor del pH ruminal. Los tratamientos T2 y T3 mostraron pH medios de 5,8 y 5,6, respectivamente, por debajo del umbral de 6,0 indicado anteriormente como crítico. No obstante, el rango de oscilación de ambos tratamientos fue entre 6 y 5,5 lo que no representa una gran fluctuación, de manera se podría explicar el poco efecto sobre las variables de degradabilidad, de acuerdo a lo expuesto por Veth y Kolver (2001). Es evidente que el pastoreo de la DI también contribuyó a un descenso del pH, por las bajas mediciones en el tratamiento sin suplementación.

Los niveles de N-NH₃ no fueron muy altos, pero estuvieron por encima del mínimo (5mg/100ml) requerido para un óptimo crecimiento microbiano. No hubo demasiadas variaciones en su concentración entre tratamientos. Si bien no hay un efecto claro del suplemento sobre este parámetro, se observa una leve reducción en el tratamiento suplementado con menor nivel de grano, que se debería al aumento en los niveles de carbohidratos no estructurales. Estos a su vez, podrían aumentar la energía disponible para los microorganismos ruminales y de esa manera incrementar la síntesis de proteína microbiana en rumen utilizando el nitrógeno amoniacal, como explican algunos autores (Bach *et al.*, 2005). Con relación a este punto, como ya se analizó, los estudios indican que el suministro sincrónico de la energía y de nitrógeno en el rumen, es beneficioso en términos de utilización eficiente de los nutrientes por los rumiantes (Hall y Huntington, 2008; Krehbiel *et al.* 2008). Sin embargo, también se han reportado resultados contradictorios debido a que es difícil distinguir los efectos de la sincronía de aquellos causados por otros factores (Yang *et al.*, 2010).

La producción de AGV totales se incrementó con la adición de grano a la dieta. La variación horaria de la concentración de AGV totales en el rumen muestra un patrón inverso al pH, esto concuerda con otros autores (Kolver y de Veth, 2002) que determinaron una correlación entre el aumento de los AGV y la disminución del pH. El cambio en la fermentación modificó el perfil de los ácidos grasos producidos, incrementando la concentración de propiónico y de butírico con el nivel más alto de grano. De esta manera, la relación A:P disminuyó debido a que prevaleció una fermentación propiónica. Estos cambios en las proporciones de los ácidos también fueron observados en otros trabajos (Reis y Combs, 2000; Bargo et al, 2002) al suplementar pasturas de calidad media.

DISCUSIÓN GENERAL

Al suministrar un suplemento energético se presume una disminución en el pH del rumen. Como resultado se afecta la población microbiana, y hay una menor tasa de replicación de las bacterias fibrolíticas (Russell y Dombrowski, 1980) de manera que causa una depresión de la digestión de la dieta basal (Fernández *et al.*, 1988), a medida que aumenta el nivel de grano (Berzaghi *et al.*, 1996). Asimismo, Mould y Ørskov (1983) sugirieron que el tipo de sustrato que se está fermentado podría también afectar a la actividad celulolítica (efecto “almidón”), contribuyendo a la depresión de digestión. En este trabajo, la intensidad del efecto sobre la digestión fue distinto, de acuerdo al forraje base que consumían los animales. Además, parece estar más asociado a la digestión de la fibra que a la MS como sugirieron Matejovsky y Sanson (1995).

En las tres situaciones de pastoreo estudiadas, con el suministro suplementario de grano, se redujo el pH en líquido ruminal. Esto es atribuible al incremento en la tasa de fermentación, como ocurre habitualmente con alta disponibilidad de carbohidratos rápidamente degradables. De esta manera se registraron valores por debajo de 6,0 alcanzando mínimos de 5,5-5,3 en T2 y T3, respectivamente. El tratamiento con el nivel más alto de grano, mostró los valores más bajos de pH. Sin embargo, el impacto del pH sobre la disminución de la degradabilidad no fue siempre el mismo, sino que dependió del ambiente generado por el forraje base. La alta degradabilidad del forraje de VA tuvo un

importante rol en la disminución del pH, debido a la producción adicional de AGV, incluso con el nivel más bajo de suplemento el pH descendió por debajo de 6,0, siendo ésta una de las limitantes mencionadas para lograr una óptima digestión ruminal (Sauvant *et al.*, 1999). De todas maneras, la degradabilidad de la fibra no fue afectada de manera importante, salvo cuando fue de muy baja calidad como en el PLL utilizado como sustrato. Estas observaciones coinciden con lo reportado por Mould *et al.*(1983), quienes indican que la calidad del forraje genera un comportamiento fermentativo diferencial ante el suplemento, debido a que la degradabilidad es deprimida en mayor grado en forrajes de baja calidad que en aquellos de alto valor nutritivo. Cuando se evaluó la respuesta a la suplementación sobre la pastura de PVD se observó que, aún en niveles bajos de suplemento, tuvo un impacto negativo sobre la digestión de la fibra, a pesar de que el pH medio a ese nivel se mantuvo por encima de 6,0. Esto sugiere que hay un efecto “hidrato de carbono” sobre forrajes de baja digestibilidad. El valor medio de pH sirve como referencia para estimar alteraciones en la digestión de la fibra pero por sí solo no es un buen predictor, también es importante la dinámica (Hoover, 1986).

Los cambios producidos en la concentración de N-NH₃ en líquido ruminal responden también al valor nutritivo del forraje, más precisamente al contenido de N. En el experimento sobre VA, los altos niveles de N-NH₃ disminuyeron en la medida que se incrementó la cantidad de carbohidratos rápidamente disponibles (Hoover y Stokes, 1991) respondiendo a un mejor aprovechamiento para la síntesis microbiana (Bach *et al.*, 2005), restringida por el desbalance de nutrientes. La concentración de proteína del PVD fue muy baja y se reflejó en el bajo contenido de N-NH₃ en rumen, que podría tener un efecto sobre la digestión debido a que se requiere un nivel mínimo de N-NH₃ en rumen para un crecimiento bacteriano adecuado (Satter y Slyter, 1974; Calsamiglia *et al.* 2010), si bien la adición del suplemento incrementó este nivel. No se afectó la concentración en el líquido ruminal en la pastura de DI.

5. CONCLUSIONES

Las características climáticas de la región semiárida, hacen necesario recurrir a la suplementación como herramienta para complementar el pastoreo

directo de los animales. La suplementación energética produce algunos efectos sobre los procesos digestivos, que varían de acuerdo a la calidad de la pastura, al nivel de suplementación, y la incidencia de uno u otro sobre el ambiente ruminal.

Se generaron tres situaciones nutricionales muy diferentes de acuerdo al forraje base, la suplementación y sus interacciones. Como consecuencia, se observó que en los forrajes de media o alta calidad el suplemento con energía tuvo poco efecto sobre la degradabilidad de la fibra, a pesar de los bajos pH medidos.

Se destaca que en los forrajes de muy bajo valor nutritivo el suplemento energético tiene un fuerte impacto negativo en la degradación de la fibra, que se traduce en una reducción de hasta un 60%. Además, se observó que en esta situación aún con niveles bajos de suplemento se produce un deterioro de la degradación de la fibra. Esto implica que adicionar un suplemento energético en estas situaciones, no significa un aporte nutricional de importancia.

Los cambios en la dieta causaron importantes variaciones en el ambiente ruminal. Las reducciones en el pH ruminal fueron más pronunciadas en pastoreo de PVD y menos perceptibles en DI y VA. El N-NH₃ en rumen disminuyó su concentración en VA, que tiene altos niveles de nitrógeno; se mantuvo en los mismos niveles en DI y aumentó en PVD, que tiene bajo nivel de nitrógeno.

Cuando el forraje base fue de alto valor nutritivo, la concentración de AGV totales es similar entre tratamientos, esto indica que el suplemento sustituye al forraje. No obstante, cuando el forraje fue PVD la situación es distinta, y existe una relación directa entre concentración de AGV y nivel de suplementación.

Se generan cambios en la relación entre productos finales de la fermentación, debido a la competencia entre las poblaciones microbianas por los substratos disponibles. La fermentación del forraje produce más ácido acético; mientras que, la fermentación del almidón tiende a incrementar la proporción de ácido propiónico, que por ser precursor de la glucosa, favorece, la formación de grasa corporal en los animales. Así, la relación A:P se reduce con el aumento del nivel de suplementación energética.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aguerre, M., Repetto, J.L., Pérez-Ruchel, A., Mendoza, A., Pinacchio, G. y Cajarville, C. 2009. Rumen pH and NH₃-N concentration of sheep fed temperate pastures supplemented with sorghum grain. *South African Journal of Animal Science* **39**:246-250

Akin, D.E. 1979. Microscope evaluation of forage digestion by rumen microorganisms-A review. *Journal of Animal Science* **48**:701-710.

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, 15th edition (AOAC, Arlington, VA).

Archimède, H. 1992. Etude des facteurs impliqués dans les interactions digestives entre fourrages et aliments concentrés chez les ruminants. Thèse de Docteur de l'Institut National Agronomique Paris- Grignon.

Arelovich, H.M., Arzadún, M.J., Laborde, H.E., Vasquez, M.G. 2003. Performance of beef cattle grazing oats supplemented with energy, escape protein or high quality hay. *Animal Feed Science and Technology* **105**: 29–42.

Arzadún, M.J., Freddi, J., Pissani, A. y Sastre, P. 1996. Composición del forraje de avena y respuesta a la suplementación (comunicación). *Revista Argentina de Producción Animal* **16** (Supl.1): 140.

Aschenbach, J.R., Penner, G.B., Stumpff, F. y Gäbel, G. 2011. Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *Journal of Animal Science* **89**:1092-1107.

Bach, A., Calsamiglia, S. y Stern, M.D. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal Dairy Science*. **88**: (E. Suppl.):E9–E21.

Bannink, A., France, J, Lopez, S. Gerrits, W.J.J., Kebreab, E., Tamminga, S. y Dijkstra, J. 2008. Modelling the implications of feeding strategy on rumen

fermentation and functioning of the rumen wall. *Animal Feed Science and Technology* **143**: 3–26.

Bargo, F.; Muller, L.D.; Delahoy, J.E. y Cassidy, T.W. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *Journal of Dairy Science* **85**: 1777-1792.

Bargo, F., Muller, L.D., Kolver, E.S. y Delahoy, J.E. 2003. Production and digestion of supplemented Dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science* **86**: 1-42.

Bath, I.H. y Rook, J.A.F. 1965. The evaluation of cattle foods and diets in terms of the ruminal concentration of volatile fatty acids: II. Roughages and succulents. *Journal of Agricultural Science*. **64**: 67-75.

Beauchemin, K.A. y Buchanan-Smith, J.G. 1990. Effects of fiber source and method of feeding on chewing activities, digestive function, and productivity of dairy cows *Journal of Dairy Science* **73**:749-762.

Beever, D.E., Dhanoa, M.S., Losada, H.R., Evans, R.T, Cammell, S.B. y France, J. 1986. The effect of forage species and stage of harvest on the process of digestion occurring in the rumen of cattle. *British Journal of Nutrition* **56**:439-454.

Berzaghi, P.; Herbein, J.H. y Polan, C.E. 1996. Intake, site, and extent of nutrient digestion of lactating cows grazing pasture. *Journal of Dairy Science* **79**:1581–1589.

Black, J.L. 1990. Nutrition of the grazing ruminant. *Proceedings New Zealand Society Production* **50**: 07-27.

Boniface, A.M., Murray, R.M. y Hogan, J.P. 1986. Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* **16**, 151–154.

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. *Animal Research* **55**:511-520.

Calsamiglia, S., Ferret, A. y Devant, M. 2002. Effects of pH and pH fluctuations on microbial fermentation and nutrient flow from a dual-flow continuous culture system. *Journal of Dairy Science* **85**:574–579.

Calsamiglia, S. Cardozo, P.W., Ferret, A. y Bach, A. 2008. Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. *Journal of Animal Science* **86**: 702-711.

Calsamiglia, S., Ferret, A., Reynolds, C.K., Kristensen, N.B., y van Vuuren, A.M. 2010. Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. *Animal* **4**:1184–1196.

Carey, D.A., Caton, J.S. y Biondini, M.1993. Influence of energy source on forage intake, digestibility, *in situ* forage degradation. *Journal of Animal Science* **71**:2260-2269.

Carruthers, V.R.; Neil, P.G. y Dalley, D.E. 1997. Effect of altering the non-structural: structural carbohydrate ratio in a pasture diet on milk production and ruminal metabolites in cows in early and late lactation. *Animal Science* **64**:393–402.

Caton, J.S. y Dhuyvetter, D.V. 1997. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *Journal of Animal Science* **75**:533-542.

Cerrato-Sánchez, M, Calsamiglia, S. y Ferret, A. 2008. Effect of the magnitude of the decrease of rumen pH on rumen fermentation in a dual-flow continuous culture system. *Journal of Animal Science*.**86**:378-383.

Chase, C.C. Jr, y Hibberd C.A. 1989. Effect of level and frequency of maize supplementation on the utilization of low-quality grass hay by beef cows. *Animal Feed Science and Technology* **24**:129-139

Chase, C.C. Jr., y Hibberd, C.A. 1987. Utilization of low-quality native grass by beef cows fed increasing quantities of corn grain. *Journal of Animal Science* **65**:557-566.

Clark, D.A. y Kanneganti, V.R. 1998. Grazing management systems for dairy cattle. In: Cherney, J. H., y. Cherney, D. J. R. Grass for dairy cattle. CAB International. 311-334.

Cone, J.W. y Becker, P.M. 2012. Fermentation kinetics and production of volatile fatty acids and microbial protein by starchy feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* **172**: 34– 41.

Cornu, A., Besle, J.M., Mosoni, P., Grenet, E. 1994. Lignin-carbohydrate complexes in forages: structure and consequences in the ruminal degradation of cell-wall carbohydrates. *Reproduction Nutrition Development*. **34**:385-398.

Davies, P.; Dillon, A. y Méndez, D.G. 1997. Efecto de la suplementación energética sobre el ambiente ruminal y la digestión de la fibra en un verdeo de avena. *Revista Argentina de Producción Animal* **17** (Supl. 1): 6-7.

Debroas, D., y Blanchart, G. 1993. Interactions between proteolytic and cellulolytic rumen bacteria during hydrolysis of plant cell wall protein. *Reproduction Nutrition Development* **33**:283–288.

De León, M. 2005. Estrategias de suplementación de pasturas. *Boletín Técnico*

Producción Animal N° 5. Año 3. Proyecto Regional de ganadería, producción de carne bovina. INTA E.E.A. Manfredi.

de Veth, M.J., y Kolver, E.S. 2001. Diurnal variation in pH reduces digestion and synthesis of microbial protein when pasture is fermented in continuous culture. *Journal of Dairy Science* **84**:2066–2072.

Dewhurst, R.J., Davies, D.R. y Merry, R.J. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Animal Feed Science and Technology* **85**:1-21.

Dijkstra, J., Ellis, J.L., Kebreab, E., Strathe, A.B., López, S., France, J. Bannink A. 2012. Ruminant pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal Feed Science and Technology* **172**: 22– 33

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo, C.W. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

Dixon, R.M. y Stockdale, C.R. 1999. Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Australian Journal of Agricultural Research* **50**:757-773.

Edmunds, B., Südekum, K.H., Spiegers, H., Schwarz, F. 2012. Estimating ruminal crude protein degradation of forages using *in situ* and *in vitro* techniques. *Animal Feed Science and Technology* **175**: 95-105

Elizalde, J.C. y Santini, F.J. 1992. Factores nutricionales que limitan las ganancias de peso en bovinos en el período otoño-invierno. Boletín Técnico N°104. INTA CERBAS, EEA Balcarce. 27 pp.

Elizalde J.C., Merchen N.R. y Faulkner D.B. 1999. Supplemental cracked corn for steers fed fresh alfalfa: II. Protein and amino acid digestion. *Journal Animal Science* **77**:467–475.

Endres, M.I., y Stern, M.D. 1993. Effects of pH and diets containing various levels of lignosulfonate-treated soybean meal on microbial fermentation in continuous culture. *Journal of Dairy Science* **76** (1):177.

Fernández, H., Santini, F., Piatti, F. y Cocimano, M. 1988. Cambios en el pH ruminal en novillos suplementados energéticamente: una propuesta para su análisis. *Revista Argentina de Producción Animal* **8**: 1-13

Fernández, H., Santini, F., Cocimano, M. 1984. Efecto de la suplementación energética sobre la digestión de la pared celular. *Revista Argentina de Producción Animal* **4**: 1121-1135.

Ferri, C.M.; Jouve, V.V.; Stritzler, N.P. y Petruzzi, H.J. 1998. Estimation of intake and apparent digestibility of kleingrass from *in situ* parameters measured in sheep. *Animal Science* **67**: 535-540.

Ferri, C.M. y Stritzler, N.P. 1996. Comportamiento de verdeos invernales en Santa Rosa, La Pampa. II. Estimación de la degradabilidad ruminal *in sacco*. *Revista de la Facultad de Agronomía, UNLPam.* **9**: 17-24.

Fieser, B.G. y Vanzant, E.S. 2004. Interactions between supplement energy source and tall fescue hay maturity on forage utilization by beef steers. *Journal of Animal Science* **82**: 307-318.

Freeman, A. S., Galyean, M. L, y. Caton, J. S. 1992. Effects of supplemental protein percentage and feeding level on intake, ruminal fermentation, and digesta passage in beef steers fed prairie hay *Journal Animal Science* **70**:1562-1572

Funk, M.A., Galyean, M.L., Branine, M.E. y Kryls, L.J. 1987. Steers grazing bluegrama rangeland throughout the growing season. I. Dietary composition, Intake, digesta kinetics and ruminal fermentation. *Journal Animal Science* **65**:1342-1353.

Galyean, M.L., y Goetsch, A.L. 1993. Utilization of forage fiber by ruminants. In: Jung, H.G, Buxton, D.R., Haltfield, R.D. y Ralph, J. Forage Cell Wall Structure and Digestibility. P 34-72. ASA-CSSA- SSSA, Madison, WI.

García S.C., Santini, F.J., y Elizalde, J.C. 2000. Sites of digestion and bacterial protein synthesis in dairy heifers fed fresh oats with or without corn or barley grain. *Journal Dairy Science* **83**:746–755

Hall, M. B. y Huntington, G. B. 2008. Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice *Journal. Animal. Science.* **86** (E. Suppl.):E287–E292

Hodgson, J. 1990. Grazing management. Science into practice. Longman Handbooks in Agriculture. 203 p.

Hoffman, P.C, Sievert, S. J., Shaver, R. D., Welch, D. A. y Combs, D. K. 1993. *In situ* dry matter, protein, and fiber degradation of perennial forages. *Journal Dairy Science* **76**:2632-2643.

Hoover, W.H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal Dairy Science* **69**:2755-2766.

Hoover, W.H y Stokes, S.R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *Journal Dairy Science.* **74**:3630-3644.

Horn, G.W., y Paisley, S.I. 1998. Supplementation strategies for growing cattle grazing small grain winter pastures. *Journal of Animal Science* **76**:22-29.

Horn, G.W., y McCollum, F.T. 1987. Energy supplementation of grazing ruminants. In: M. Judkins. *Proceeding, Grazing Livestock Nutrition Conf.*, Jackson, WY. p. 125-136.

Jones-Endsley, J.M.; Cecava, M.J. y Johnson, T.R. 1997. Effects of dietary

supplementation on nutrient digestion and the milk yield of intensively grazed lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **80**: 3283–3292.

Khalili, H. y Sairanen, A. 2000. Effect of concentrate type on rumen fermentation and milk production of cows at pasture. *Animal Feed Science and Technology* **84**:199–212.

Kellaway, R. y Porta, S. 1993. Feeding concentrates supplements for dairy cows. *Dairy Research and Development Corporation*. Agmedia. Glen Iris, Victoria, Australia. 173 p.

Krajcarski-Hunt, H., Plaizier, J. C., Walton, J.P, Spratt, R. y McBride, B.W. 2002. Short communication: Effect of subacute ruminal acidosis on *in situ* fiber digestion in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science* **85**:570–573.

Krause, K.M. y Oetzel, G.R. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds. A review. *Animal Feed Science and Technology* **126**: 215-236

Krebs, G. y Leng, R.L. (1984). The effect of supplementation with molasses/urea blocks on the ruminal digestion. *Animal Production in Australia*, **15**:704.

Krehbiel, C.R., Bandyk, C.A. Hersom, M.J. y Branine, M. E. 2008. Alpharma Beef Cattle Nutrition symposium: Manipulation of nutrient synchrony **86**:E285-E286.

Kolver, E.S., y de Veth, M.J. 2002. Prediction of ruminal pH from pasture-based diets. *Journal of Dairy Science* **85**: 1255–1266. *Journal of Animal Science*

Lange, A. 1973. Suplementación de pasturas para la producción de carne. AACREA. Colección Investigación Aplicada. 72 p.

Lardy, G.P.; Ulmer, D.N.; Anderson, V.L. y Caton, J.S. 2004. Effects of

increasing level of supplemental barley on forage intake, digestibility, and ruminal fermentation in steers fed medium-quality grass hay. *Journal of Animal Science* **82**: 3662-3668.

Latimori, N.J. y Kloster, A.M. 2013. Suplementación sobre pasturas de calidad. En: Latimori, N.J. y Kloster, A.M. *Invernada bovina en zonas mixtas*. (eds.). INTA E.E.A. Marcos Juarez. Pág. 131-154.

Leaver, J.D. 1986. Effects of Supplements on Herbage Intake and Performance. In: Grazing Ed. J. Frame, British Grassland Society Occasional Symposium N^o. 19, Great Malvern, Great Britain, pp. 79-87.

Lechartier, C y Peyraud, J.L. 2010. The effects of forage proportion and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed neutral detergent fiber and starch contents. *Journal Dairy Science* **93**:666–681.

Leng, R.A. 1990. Factors affecting the utilization of 'poor quality' forage by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutrition Research Reviews* **3**: 277-303.

Leng, R.A. 1991. Application of biotechnology to nutrition of animals in developing countries. *FAO Animal Production and Health* paper 90. Roma, Italia: 146 pp.

Leventini, M.W., Hunt, C.W., Roffler, R.E y Casebolt, D.G. 1990. Effect of dietary level of barley-based supplements and ruminal buffer on digestion and growth by beef cattle. *Journal of Animal Science* **68**:4334-4344.

Llorens, E.M. 1995. Viewpoint: The state and transition model applied to the herbaceous layer of Argentina's Caldén forest. *Journal of Range Management* **48**: 442-447.

Loy, T.W., MacDonald, J.C., Klopfenstein, T.J. y Erickson, G.E. 2007. Effect of

distillers grains or corn supplementation frequency on forage intake and digestibility. *Journal of Animal Science* **85**: 2625-2630.

Lusby, K.S., y Wagner, D.G. 1986. Effects of supplements on feed intake. In: Owens, F. N. Symposium Proc.: *Feed Intake by Beef Cattle*. Oklahoma Agricultural Experiment Station MP-121 pp173-181.

Maekawa, M., Beauchemin, K.A. y Christensen D.A. 2002. Effect of Concentrate Level and Feeding Management on Chewing Activities, Saliva Production, and Ruminal pH of Lactating Dairy Cows. *Journal Dairy Science* **85**:1165–1175.

Matejovsky, K.M. y Sanson D.W. 1995. Intake and digestion of low-, medium- and high-quality grass hays by lambs receiving increasing levels of corn supplementation. *Journal of Animal Science* **73**:2156–2163.

Mathers, J.C. y Aitchison, E.M. 1981. Direct estimation of the extent of contamination of food residues by microbial matter after incubation within synthetic fibre bags in the rumen. *Journal Agricultural Science Cambridge*. **96**: 691-693.

McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D. y Morgan, C.A. 1995. Animal Nutrition. 5th Ed. Longman, Singapore. 607 pp.

Mehrez, A.Z. y Ørskov, E.R. 1977. A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *Journal of Agricultural Science. Cambridge*. **88**: 645-650.

Mehrez, A.Z., Ørskov, R.E, McDonald, I.W. 1977. Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *British Journal of Nutrition* **38**: 437-443.

Méndez, D. y Davies, P. 1999. Utilización de verdeos invernales. Publicación Técnica N° 29. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. EEA General Villegas. 31pp.

Mertens, D.R. y Loften, J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics in vitro. *Journal Dairy Science* **63**: 1437-1446.

Moore, K. y Jung, H.G. 2001. Lignin and fiber digestion. *Journal of Range Management* **54**: 420-430.

Moss, A.R., Givens, D.I. y Garnsworthy, C. 1995. The effect of supplementing grass silage with barley on digestibility, in sacco degradability, rumen fermentation and methane production in sheep at two levels of intake. *Animal Feed Science and Technology*. **55**: 9-33.

Mota, M.F., Vilela, D., dos Santos, G.T., Elyas, A.C.W., Lopes, F.C.F., Verneque, R. da S., Paiva, P.C. de A. y Pinto Neto, A. 2010. Parâmetros ruminais de vacas leiteiras mantidas em pastagem tropical. *Archivos de Zootecnia* **59**: 217-224.

Mould, F.L., y Ørskov, R.E.. 1983. Manipulation of rumen fluid pH and its influence on cellulolysis in sacco, dry matter degradation and the ruminal microflora of sheep offered either hay or concentrate. *Animal Feed Science and Technology* **10**:1–14.

Mould, F.L., Ørskov, E.R. y Mann, S.O. 1983. Associative effects of mixed feeds. I. Effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Animal Feed Science and Technology* **10**:15-30.

NKJ (Nordiske Kontaktorgan for Jordbrugsforskning). 1985. Introduction to the Nordic protein evaluation system for ruminants into practice and further research requirements. *Acta Agriculturae Scandinavica Supplementum* **25**: 216-220.

Nocek, J.E. 1985. Evaluation of specific variables affecting in situ estimates of ruminal dry matter and protein digestion. *Journal Animal Science* **60**: 1347-1358.

NRC. 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle. Seventh Revised Edition: Update 2000. Subcommittee on Beef Cattle Nutrition. Committee on Animal Nutrition, National Research Council. National Academy press. Washington DC.

Ørskov, E.R. 1992. Protein Nutrition in Ruminants. 2nd Edition. Academic Press. New York, EUA.

Ørskov, E.R. y McDonald, P. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* **92**:499-503.

Ørskov, E.R., y Fraser, C. 1975. The effects of processing of barley-based supplements on rumen pH, rate of digestion and voluntary intake of dried grass in sheep. *British Journal of Nutrition* **34**:493-500

Ørskov, E.R., DeB Hovell, F.D. y Mould, F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. **5**:195-213.

Owens, F.N. y Goetsch, A.L. 1993. Fermentación ruminal. In: Church, D.C. El Rumiante: fisiología digestiva y nutrición. Editorial Acribia, Zaragoza. España. Cap. 8. p 159-190.

Paisley, S.I, Sanson, D.W., Gaebe, R.J., Hixon, D.L. y Heldt, J.S. 1994. Effects of different levels of dry-rolled corn or barley on utilization of medium-quality meadow hay with steers. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* **45**:129

Palmonari, A, Stevenson, D.M., Mertens, D.R., Cruywagen, C.W. y Weimer, P.J. 2010. pH dynamics and bacterial community composition in the rumen of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* **93**: 279–287.

Perdok, H.B., Leng, R.A., Bird, S.H., Habib, G. y Van Houtert, M. 1988. Improving livestock production from straw-based diets. In: Thomson, E.F. y

Thomson, F.S. Increasing Small Ruminant Productivity in Semi-arid Areas. (eds.), ICARDA, Syria. p. 81–91.

Preston, T.R. 1986. Better utilization of crop residues and by-products in animal feeding: research guidelines 2. A practical manual for research workers. FAO Animal production and health paper 50/2. Rome.154 p.

Reis, R.B. y Combs, D.K. 2000. Effects of increasing levels of grain supplementation on rumen environment and lactation performance of dairy cows grazing grass-legume pasture. *Journal of Dairy Science* **83**: 2888–2898.

Reis, R.B., San Emeterio, F., Combs, D.K., Satter, L.D y Costa, H.N. 2001. Effects of corn particle size and source on performance of lactating cows fed direct-cut grass-legume forage. *Journal of Dairy Science* **84**:429–441.

Repetto, J.L., Cajarville, C., D’Alessandro, J., Curbelo, A., Soto, C. y Garin, D. 2005. Effect of wilting and ensiling on ruminal degradability of temperate grass and legume mixtures. *Animal Research* **54**:73-78.

Relling, A. y Mattioli, G. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, 74 p.

Rymer, C. y Givens, D.I., 2002. Relationships between patterns of rumen fermentation measured in sheep and in situ degradability and the in vitro gas production profile of the diet. *Animal Feed Science and Technology* **101**:31-44.

Rosso, O.R. y Verde, S. 1992. Avena: Producción de forraje y utilización en la alimentación de vacunos. *Boletín Técnico* N° 109. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. EEA Balcarce, Argentina. 27 p.

Russell, J.B., Wilson, D. B.1996. Why Are Ruminant Cellulolytic Bacteria Unable to Digest Cellulose at Low pH? *Journal of Dairy Science* **79**:1503-1509.

Russell, J. B., y Dombrowski, D. B. 1980. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. *Applied and Environmental Microbiology*. **39**:604–610.

Russell, J.B., Connors, J.D., Fox, D.G, Van Soest, P.J. y Sniffen, C.J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminant fermentation. *Journal of Animal Science* **70**:3551-3651.

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. *Journal of Dairy Science*. **88**:1443–1453.

Sanson, D.W. 1993. Effects of increasing levels of corn or beet pulp on utilization of low-quality crested wheatgrass hay by lambs and in vitro dry matter disappearance of forages. *Journal of Animal Science* **71**:1615-1622

Sanson, D.W., y Clanton, D.C. 1989. Intake and digestibility of low quality meadow hay by cattle receiving various levels of whole shelled corn *Journal of Animal Science* **67**:2854- 2862.

Santini, F.J. 2014. Conceptos básicos de la nutrición de rumiantes. En Nutrición Animal Aplicada. *Grupo de Nutrición Animal de la Unidad Integrada Balcarce. INTA EEA Balcarce. 159p.*

Santini, F.J. y Elizalde, J.C. 1993. Utilización de granos en la alimentación de rumiantes. *Revista Argentina de Producción Animal* **13**: 39-60.

Santini, F.J. y Elizalde, J.C. 1994. Suplementación de vacunos. AACREA Cuaderno de Actualización Técnica. **53**:10-16.

Satoshi, K. y Kobayashi, Y. 2009. Fibrolytic Rumen Bacteria: Their Ecology and Functions. *Asian-Aust. Journal Animal Science* **22**: 131- 138.

Satter, L.D y Slyter, L.L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition* **32**:199-205.

Sauvant, D., Meschy, F. y Mertens, D.R. 1999. Les composantes de l'acidose ruminale et les effets acidogènes des rations. *INRA Productions Animales* **12**:49–60.

Seiler, R.A. 2007. Cambio climático y variabilidad climática: necesidad de nuevas estrategias de adaptación en los sistemas de producción ganadera. *Revista Argentina de Producción Animal* **27**(2):99-111.

Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. Tercera Edición, Freeman & Co., Nueva York, U.S.A.

Stern, M.D., Bach, A. y Calsamiglia, S. 2006. New concepts in protein nutrition of ruminants. 21st Animal Southwest Nutrition and Management Conference, February 23-24, Tempe, Arizona, pp. 45-76.

Stritzler, N.P. 2004. Suplementación de rodeos de cría e invernada en pastoreo en la Región del Caldenal. *Publicación de Divulgación Técnica N° 82*. EEA Anguil "Ing. Agr. G. Covas", INTA.

Stritzler, N.P., Jensen, B.B, y Wolstrup, J. 1998. Factors affecting degradation of barley straw "in sacco" and microbial activity in the rumen of cows fed fibre-rich diets. III. The amount of supplemental energy. *Animal Feed Science and Technology* **70**: 225-238.

Stritzler, N.P. y Petruzzi, H.J. 2005. Las gramíneas perennes estivales y su impacto productivo en la región pampeana semiárida. *Forrajes 2005*. pp. 99 – 116.

Stritzler, N.P., Rabotnikof, C.M., Ferri, C.M. y Pagella, H.J.2011. Los forrajes en

la alimentación de los rumiantes. En: Cangiano, C.A. y Brizuela, M.A. Producción animal en pastoreo. 2º Ed. *Ediciones INTA* .512 p.

Stritzler, N.P.; Petruzzi, H.J.; Frasinelli, C.A.; Veneciano, J.H.; Ferri, C.M. y Viglizzo, E.F. 2007. Variabilidad climática en la Región Semiárida Central de Argentina. Adaptación tecnológica en sistemas extensivos de producción animal. *Revista Argentina de Producción Animal* **27**: 113-125.

Tamminga, S. 1999. Influence of feeding management on ruminal fiber digestibility. In: Jung, H.G.; Buxton, D.R.; Hatfield, R.D. y Ralph, J. Forage cell wall structure and digestibility (Eds.), ASAS, U.S.A. p. 571-602.

Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2ª Ed. Ithaca. Cornell University Press. 476 p.

Van Soest, P.J. y Robertson, J.B. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, U.S.A., 165 pp.

Van Soest, P.J. y Robertson, J.B. 1980. Systems of analysis for evaluating fibrous feeds. In: Standardization of Analytical Methodology in Feeds. Pigden, W. J., Balch, C.C. & Graham, M. (Eds.), pp. 49–60. International Research Development Center, Ottawa, Canada.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B. y Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* **74**: 3583-3597.

van Vuuren, A.M., van der Koelen, C.J., y Vroons-de Bruin, J. 1993. Ryegrass versus corn starch or beet pulp fiber diet effects on digestion and intestinal amino acids in dairy cows. *Journal of Dairy Science*. **76**:2692-2700.

van Vuuren, A.M.; Van der Koelen, J. y Vroons-de Bruin, J. 1986. Influence of the level and composition of concentrate supplements on rumen fermentation

patterns of grazing dairy cows. *Netherland Journal of Agricultural Science* **34**: 457-467.

Veneciano, J.H. y Lartigue, E. del C. 1999. El cambio climático global y el futuro de los agroecosistemas extensivos de San Luis: una mirada preliminar. *Revista Oeste Ganadero* **1**: 9-13.

Viglizzo, E.F. y Frank, F.C. 2006. Ecological interactions, feedbacks, thresholds and collapses in the Argentine Pampas in response to climate and farming during the last century. *Quarterly International* **158**: 122-126.

Welch, J.G. y Smith, A.M. 1970. Forage Quality and Rumination Time in Cattle. *Journal of Dairy Science* **53**: 797-800.

Yang, J.Y., Seo, J., Kim, H.J., Seo, S. y Ha, J.K. 2010. Nutrient synchrony: is it a suitable strategy to improve nitrogen utilization and animal performance? *Asian-Aust. Journal Animal Science* **23**: 972–979.

Yokoyama, M.T. y Johnson, K.A.1993. Microbiología del rumen e intestino En: Church, D.C. El Rumiante: fisiología digestiva y nutrición. *Editorial Acribia*. Zaragoza. España. Cap. 7. p 137-157

Zinn, R.A. y Owens, F.N. 1983. Influence of feed intake level on site of digestion in steers fed high concentrate diet. *Journal Animal Science* **56**:471-475.