

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS CLINICAS VETERINARIAS

“Efecto del consumo de ensilaje de pradera permanente de Ballica (*Lolium perenne*), en distintos estados fenológicos, con y sin hongo endófito (*Neothyphodium lolii*), sobre la presentación de cuadros tremorgénicos y respuesta productiva en vacas con estabulación invernal.”

Memoria de Título presentada como parte de los requisitos para optar al Título de MEDICO VETERINARIO.

NELLY ADELINA MORALES ROSAS
VALDIVIA-CHILE
2002

PROFESOR PATROCINANTE _____
Nombre Firma

PROFESOR COPATROCINANTE _____
Nombre Firma

PROFESOR COLABORADOR _____
Nombre Firma

PROFESORES CALIFICADORES _____
Nombre Firma

Nombre Firma

Nombre Firma

FECHA DE APROBACION: _____

*"A mis dos grandes amores, mis Padres
por su amor y entrega, que hicieron
de una ilusión una realidad ."*

2.- INDICE

3.- RESUMEN	1
4.- SUMMARY	2
5.- INTRODUCCION	3
5.1 Gorgojo argentino (<i>Listronotus bonariensis</i>)	3
5.2 Hongo endófito (<i>Neothyfodium Lolii</i>)	4
5.2.1 Toxinas	7
5.3 Efecto del consumo de ballicas con endófito sobre la salud de los animales	8
5.4 Efecto del consumo de ballicas con endófito sobre la producción de carne y leche	11
Hipotesis	13
Objetivos	13
6.- MATERIAL Y METODOS	14
6.1 Material	14
6.1.1 Ubicación del ensayo	14
6.1.2 Animales	14
6.1.3 Recurso alimentario	14
6.1.4 Infraestructura	15
6.2 Métodos	16
6.2.1 Diseño experimental	16
6.2.2 Identificación de los tratamientos	18
6.2.3 Manejo alimentario	17
6.2.3.1 Periodo pre-experimental	17
6.2.3.2 Periodo experimental	18
6.2.4 Muestras y mediciones	19
6.2.4.1 Salud de los animales.....	19
6.2.4.2 Parámetros sanguíneos.....	19
6.2.4.3 Producción de leche.....	20
6.2.4.4 Composición láctea	21
6.2.4.5 Peso vivo y condición corporal	21
6.2.4.6 Análisis nutricional del alimento	21
6.2.4.7 Consumo de alimentos	22
6.4.5 Análisis estadístico	22

7.- RESULTADOS	24
7.1 Presentación del temblor de las ballicas.....	24
7.2 Actividad enzimática	24
7.3 Producción y composición de leche.....	27
7.3.1 Producción de leche	27
7.3.2 Composición láctea	28
7.4 Peso vivo y condición corporal	30
7.5 Consumo de alimentos	32
8.- DISCUCION	35
8.1 Presentación del temblor de las ballicas	35
8.2 Actividad enzimática	36
8.3 Caracterización nutricional de los ensilajes de praderas de ballicas.....	37
8.4 Producción y composición láctea	39
8.4.1 Producción de leche	39
8.4.2 Composición láctea	42
8.5 Peso vivo y condición corporal	45
8.6 Consumo de alimentos	46
8.7 Conclusiones	49
9.- BIBLIOGRAFIA	50
Anexos	57
Agradecimientos	62

3.- RESUMEN

Neothyphodium Lolii, es un hongo que se desarrolla en el espacio intercelular de los tejidos de algunas plantas (endófito), en una relación simbiótica con estas. El hongo produce allí una serie de toxinas que pueden provocar problemas de salud en los animales que pastorean praderas de ballicas con endófitos, se desconoce la toxicidad de los alcaloides sobre los animales que consumen forrajes conservados de praderas de ballicas con endófitos. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del consumo de ensilaje de pradera de ballica (*Lolium perenne*) con endófito, sobre la presentación del cuadro tremorgénico en vacas; así como también evaluar el efecto en la producción y composición de leche, el cambio de peso vivo y condición corporal, la actividad sérica de algunas enzimas hepáticas y el nivel de consumo de este ensilaje por los animales.

Se utilizaron 30 vacas Frisón Negro, en lactancia, asignadas según su producción, número de partos y días en leche, aleatoriamente a los siguientes tres tratamientos: **I.** Ensilaje de corte temprano de pradera ballica Yatsyn -1 sin endófito (*N. lolii*), asociada a trébol blanco. **II.** Ensilaje de corte temprano de pradera ballica Yatsyn -1 con endófito (*N. lolii*), asociada a trébol blanco. **III.** Ensilaje de corte tardío de pradera de ballica Yatsyn -1 con endófito (*N. lolii*), asociada a trébol blanco. Los animales fueron estabulados por 15 semanas, alimentados 2 veces al día según tratamiento, constituyendo un 80% de la ración total, además de un núcleo proteico, cebada falla y sales minerales, el rechazo promedio por grupo fue pesado 4 veces a la semana. Se registró el peso vivo y condición corporal cada 15 días, producción y composición de leche 2 días seguidos, mañana y tarde, frecuencia respiratoria y examen visual de los animales, semanalmente. Se tomaron muestras de sangre los días 1, 45 y 90. El método estadístico utilizado fue bloques al azar de medidas repetidas con covarianza.

No se observó evidencia clínica de la presentación del síndrome tremorgénico en los animales que consumieron ensilajes de ballicas infectadas con (*N.lolii*) de corte temprano y tardío. Tampoco se observó diferencias en la actividad sérica de las enzimas aspartato - amino transferasa (AST), gama-glutamyltransferasa (GGT) y creatinkinasa (CK), así como en el peso vivo y condición corporal de los animales. Hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en la producción y composición de leche (sólidos no grasos y lactosa), en donde el promedio de producción diaria fue de 15,2, 15,6 y 13,1 lts. para los tratamientos I, II y III respectivamente. También hubo, diferencias significativas ($p < 0,05$), en el consumo promedio de la ración, en donde el tratamiento III tuvo un 20,6% menos de consumo en relación a los tratamientos I y II que fueron similares al análisis estadístico.

Se concluye, que la diferencia encontrada en el consumo de ensilaje de ballica en los grupos con y sin hongo endófito, se debería a la calidad nutritiva presentada por la época de corte, lo que probablemente limitó la ingesta de este, influyendo probablemente de esta manera en la producción y composición de la leche.

4.- SUMMARY

Neothyphodium Lolii is a fungus that develops in between the tissue cells of some plants (endophyte) in a symbiotic relationship with them. This fungus produces several alkaloids, which may cause health problems in livestock grazing endophyte-infected ryegrass pastures. Toxicity of these alkaloids in animals that are fed on endophyte-infected ryegrass silage is still unknown. Thus, the aim of this research was to determine the effect of endophyte-infected ryegrass (*Lolium perenne*) consumption on staggers incidence in dairy cows as well as to compare milk production and composition, live bodyweight and body condition, liver serum enzymes activity and animal silage consumption.

Thirty milking Holstein-Friesian cows were assigned randomly to three different treatments as following: Group I received early cut silage from Yatsyn -1 ryegrass without endophyte (*N.lolii*), associated with white clover. Group II received early cut silage from Yatsyn -1 ryegrass with endophyte (*N.lolii*), associated with white clover. Group III received late cut silage from Yatsyn -1 ryegrass with endophyte (*N. lolii*), associated with white clover. The cows were housed for a period of 15 weeks, fed twice a day on silage according to treatment (which constituted 80% of the total rations) in addition to a protein nucleus, second grade barley and mineral salts. Leftover feed was weighed four times a week. Live bodyweight and body condition were measured every two weeks; milk production was controlled on two consecutive days (morning and afternoon). Milk components analysis, respiratory frequency and a weekly clinical inspection of all cows were done. Blood samples were taken on days 1, 45 and 90 of the experimental period. The statistical design were randomized blocks with repeated measures and co variable.

Animals fed with early and late cut endophyte-infected ryegrass silage did not show clinical evidences of the tremorgenic syndrome. There were no treatment differences for aspartate – amino transferase (AST), gamma-glutamyltransferase (GGT) and creatinkinase (CK) serum enzymes activity, live bodyweight and body condition. There were statistically significant differences ($P<.05$) for milk production and composition (non fat solids and lactose) where average daily production was 15.2, 15.6 and 13.1 liters for treatments I, II and III, respectively. Also there were significant differences ($P<.05$) for average feed intake, cows in treatment III consumed 20.6 % less feed as compared to treatments I and II which were not significantly different.

It is concluded that the feed intake difference found between endophyte-free and endophyte-infected ryegrass silage was probably due to the nutritional quality of the ryegrass at cutting time, which probably limited feed intake and consequently affected milk production and composition.

5.- INTRODUCCION

Entre las actividades agropecuarias del sur de Chile se destaca los sistemas de producción de leche y carne bovina, aportando la Décima Región de los Lagos el 65% de la leche recepcionada en planta y alrededor del 45% de la carne bovina del país. En ambos sistemas la alimentación de la masa ganadera es principalmente en base a forraje de praderas naturalizadas, mejoradas y/o sembradas (Lanuza, 2001); las que se sustentan en el uso de ballica perenne (*Lolium perenne*) o también denominada ballica inglesa, como principal especie de pastoreo.

Se estima que de las praderas sembradas en las IX y X regiones, la ballica está presente en un 35 y un 80%, respectivamente (Galdames, 1993). Dentro de este contexto las praderas se constituyen en una "fortaleza", pues permiten producir leche o carne a menores costos que los registrados en otras áreas del país. Sin embargo, esta condición ventajosa se ha visto amenazada por factores climáticos y de diversas plagas de insectos que afectan seriamente su productividad y vida útil (Cisternas, 2001).

5. 1. Gorgojo argentino (*Listronotus bonariensis*).

Una de las plagas que afecta a esta gramínea, y cuyo incremento de su incidencia en las ballicas ha motivado una preocupación cada vez mayor (Cisternas y Torres, 1997), es el insecto, coleóptero, de la familia *Curculionidae* (sensu lato), (Aguilera y Marin, 1994), denominado *Listronotus bonariensis* Kuschel, *Hyperodes bonariensis* Kuschel ó *Neobagus setosus* Hustache (May, 1993). Este insecto se conoce con el nombre común de "gorgojo de las ballicas", "gorgojo de las praderas" y/o "gorgojo argentino del tallo de las ballicas" (Aguilera, 1990). Es nativo de Sudamérica, presenta 4 formas distintas de metamorfosis y el adulto mide 2,5 a 4 mm de largo y se caracteriza por atacar las gramíneas, fundamentalmente ballicas (*Lolium* sp.) y con especial preferencia a ballicas de rotación corta (*L. multiflorum* y *L. hybridum*), especies de gran importancia en Chile. Se encuentra desde la IV región de Coquimbo a la X región de Los Lagos. En el ámbito mundial está registrado en Argentina, Uruguay, Bolivia, Brasil y Nueva Zelandia (Aguilera, 1990).

Los primeros antecedentes registrados del ataque de este insecto sobre ballicas, trigo y maíz, se tienen desde 1991 para la Décima Región (Cisternas,1999). Los principales daños, los causa el estado larval, el cual se alimenta internamente en la base de los macollos, provocando la muerte de estos y una escasa a nula producción de semillas en los ejes florales perforados. El daño de los insectos adultos sobre las praderas establecidas tarde en primavera y temprano en otoño, pueden afectar al

establecimiento de las plantas por consumo foliar de las plántulas recién emergidas (Cisternas y Torres , 1997).

El *L. bonariensis* *Kuschel* es además hospedero ocasional de alfalfa, avena, cebada, chéptica, maíz, repollo, trébol y trigo teniendo como enemigos naturales dos parasitoides microhimenopteros: Hym., *Braconidae*; *Microctonus hyperodae* *Loan*, que parasita adultos de *L. bonariensis*, y Hym. , *Mymaridae*; *Patasson atomaria* *Brethes*, el cual parasita sus huevos, más común en oviposturas sobre piojillos y chéptica en praderas de la X región (Prado, 1991).

Este insecto se introdujo accidentalmente a Nueva Zelandia y Australia a principios de siglo, siendo reportado por primera vez para Nueva Zelandia en 1927 como una plaga de poca importancia en cereales. Fue sólo hasta 1940 con la introducción de la ballica Manawa que se transformó en el insecto plaga de mayor importancia en praderas de ballicas, infectando 7 millones de hectáreas en Nueva Zelandia. Los daños causados por la plaga han sido estimados en un rango de US \$ 43 a 138 millones por año, sólo por reducción de rendimiento y costo de regeneración (Prestidge y col., 1991). Estos mismos autores asumen pérdidas de rendimiento debido al gorgojo del 5 al 30% en praderas de *L. perenne* menores de 3 años y un 2% en praderas mayores de 3 años.

En la zona sur de Chile, a pesar de la existencia del insecto en poblaciones similares a las encontradas en Nueva Zelandia, hasta fines de 1994, no se habían reportado casos con daños de importancia económica en forma frecuente. Lo anterior, supuestamente debido a que por el hecho de ser nativo, era mantenido por sus enemigos naturales en poblaciones bajo el umbral de daño económico. Sin embargo, en los primeros meses de 1995 se detectaron más casos con pérdidas de hasta 90% que los registrados en los últimos 5 o 6 años, situación que se repitió en la temporada 1995 -1996, similar a lo ocurrido en Nueva Zelandia a partir de la década del 50 (Torres, 1996).

5. 2. Hongo endófito (*Neothyphodium lolii*).

Una de las formas de combate de *L. bonariensis* desarrollada por investigadores de Nueva Zelandia, es el uso de variedades infectadas con el hongo endófito *Neothyphodium lolii* en ballicas, las cuales son resistentes a la alimentación de los adultos, larvas y oviposturas de huevos (Cisternas y Torres, 1997). En USA y Nueva Zelandia el tema ha sido estudiado por más años, debido a la necesidad de controlar el insecto (*Listronotus bonariensis* *Kuschel*). En Chile, el estudio de los hongos endófitos en gramíneas forrajeras y su asociación con la producción animal, se inicia solo a principios de los 90.

El término endófito (griego: endo - dentro y fito - planta) puede incluir a cualquier organismo que esté contenido o creciendo enteramente dentro de la planta hospedera. Sin embargo, en el ámbito de las praderas como en el de la producción animal se emplea para referirse al hongo endófito de la festuca (*Acremonium coenophialum*) y de la ballica (*Neotyphodium lolii*), (Galdames, 1995).

Los primeros antecedentes de la existencia del hongo endófito en ballica fueron hechos en 1935, y los reportes de toxicidad en 1959; asociándose recién ambos factores en el año 1981. Por lo tanto, en Chile las primeras investigaciones que estudian la interacción hongo planta y sus efectos sobre los animales y las plantas se iniciaron en la década de los ochenta (Torres, 1996).

El uso de cultivares forrajeros con hongo endófito (*N. lolii*) en Chile, está presente en la Décima Región desde los años 90 (Torres, 1996). En ballicas con y sin endófito se reportan diferencias favorables en producción de materia seca, área foliar, número de macollos y crecimiento de hojas y raíces en plantas infectadas (Latch y Christensen 1982; Latch y col., 1985). Estas logran mayor crecimiento, persistencia, mejor tolerancia a condiciones adversas del medio ambiente (déficit hídrico) y cierta resistencia al ataque de plagas, en donde destaca el gorgojo argentino de la ballica, *L. bonariensis* (Torres, 1996).

Estos endófitos se caracterizan por establecer una relación simbiótica de tipo mutualista, junto con estar relacionados con problemas de intoxicación animal (Galdames, 1995). Este mismo autor señala que los hongos endófitos se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo. A la fecha ha sido reportada la presencia de endófitos en 209 hospederos, los cuales corresponden principalmente a gramíneas. Sin embargo, y particularmente los endófitos del género *Acremonium* tienen un rango de hospedero más limitado, habiéndose encontrado infectando a 25 especies (Galdames, 1995).

En Nueva Zelanda, donde la ballica perenne es la principal gramínea forrajera, se ha determinado que sobre el 90 % de las praderas están infectadas con *N. lolii*. Además, la mayoría de los cultivares comerciales creados en ese país, son portadoras del hongo en altos niveles (Galdames, 1995). Este mismo autor señala que en Europa la situación es bastante diferente, ya que estudios realizados en praderas antiguas de ocho países de ese continente señalan que sobre el 80 % contenían *N. lolii*, no así los cultivares comerciales, donde sólo 4 de 16 evaluados fueron positivos al hongo y estos no superaron el 20 % de infestación.

En Chile, por muchos años las ballicas de las variedades Ruanui y Nui junto al cultivar nacional Santa Elvira han sido las más empleadas. Los niveles de endófito en ballica perenne en Chile, tanto en cultivares comerciales como experimentales varían desde libre del hongo a porcentajes entre 15 y 85% de infestación. La actual predominancia en el mercado nacional de los cultivares neozelandeses, con altos niveles de *N. lolii*, hace suponer que la incidencia del endófito en las praderas

artificiales se ha visto modificada significativamente (Torres, 1996). Este mismo autor menciona que el hongo no produce signos en la planta, mantiene una relación simbiótica con ella, encontrando nutrientes, protección (espacios intercelulares de su tejido) y la posibilidad de reproducirse y diseminarse. Por lo tanto, allí puede completar todo su ciclo de vida, considerándose así un endófito verdadero.

El ciclo de vida de *N. lolii* (Figura 1), se inicia con la semilla infectada con grandes cantidades de micelios del hongo, al germinar, origina una plántula en cuya base se ubica el endófito a los pocos días después, así como también en los macollos que emergen posteriormente, para que finalmente en la primavera, al iniciarse el estado reproductivo se localice en la inflorescencia, dentro de las semillas, las cuales darán origen a nuevas plantas infectadas (Prestidge y Thom, 1994). Los principales medios de diseminación del hongo endófito son la siembra de la semilla infectada y la regeneración de plantas infectadas con el hongo en praderas (Latch y Christensen, 1982). Lo anterior, deja claramente establecido, que la única forma conocida de transmisión natural del hongo se produce a través de la semilla (Prestidge y Thom, 1994). Sin embargo, la diseminación resulta efectiva si las hifas del hongo alojadas en la semilla permanecen viables. Una vez cosechada la semilla, las condiciones ambientales durante su almacenaje tienen efectos directos sobre la viabilidad del hongo. Algunas evaluaciones señalan que al almacenar la semilla a temperatura ambiente, la viabilidad de estos hongos decrece fuertemente después de 1-2 años. Sin embargo, *N. lolii* puede sobrevivir al menos por 7 años en la semilla, si ésta se almacena entre 0 y 5°C (Latch y Christensen, 1982).

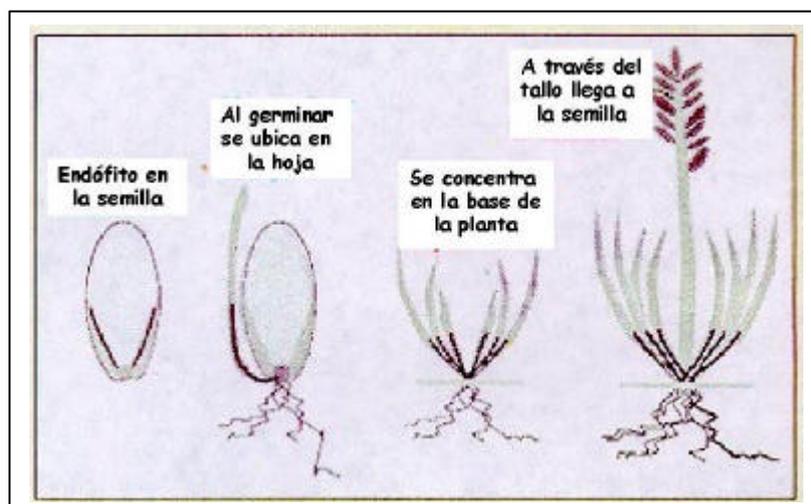


Figura 1. Ciclo de vida del endófito *Neotyphodium lolii* (adaptado de Prestidge y Thom, 1994).

5. 2. 1. Toxinas.

Los hongos endófitos son capaces de producir una serie de compuestos, a los cuales se les responsabiliza de la intoxicación de mamíferos, como así también de la tolerancia y no preferencia al ataque de insectos y al comportamiento de las forrajeras en condiciones ambientales determinadas. En la relación simbiótica, *N. Lolii* / *Lolium perenne* se producen una serie de alcaloides que no han sido totalmente identificados, aislándose los siguientes: lolitremos A, B y C, lolitriol, peramina, paxilina, α -paxitriol, β -paxitriol y ergopéptidos (Familton y col., 1995). Los de mayor importancia por sus efectos sobre los herbívoros vertebrados e invertebrados son lolitrem B, peramina y ergovalina.

Se ha determinado que la distribución porcentual y la concentración de lolitrem B, identificada en Ruakura en 1981 (Easton, 1999), es similar a la que puede presentar el *N. lolii* dentro de la planta, siendo más alta en la vaina que en la lámina de la hoja. Por otra parte, la peramina fue identificada en 1985 (Easton, 1999) y se encuentra principalmente en la parte baja de la hoja y concentrada en las porciones adyacentes a la lígula (Keogh y col., 1996). La concentración de peramina no cambia apreciablemente en la planta con la estación (Prestidge y Thom, 1994) y este compuesto se considera el principal responsable de la resistencia de la ballica al gorgojo argentino (Galdames, 1995).

En un estudio realizado por Lane y col. (1997), concluyen que la concentración de ergovalina en ballicas perennes infectadas con *N. lolii* son más altos en los tejidos más importantes para la supervivencia y diseminación del endófito, como son la base de la planta, brotes recientes y órganos reproductores en vías de desarrollo. La concentración de ergovalina también se asocia a las partes basales de la planta, donde se encuentran las hojas más viejas, similar a lo que ocurre con lolitrem B (Familton y col., 1995). Los niveles tóxicos de ergovalina presentes en ballicas infectadas, han generado también en Nueva Zelandia, el cuadro denominado estrés calórico, con signos de aumento de temperatura corporal, incrementos en la frecuencia respiratoria, disnea, salivación excesiva y letargia, pudiendo causar una súbita caída en la producción de leche (Easton, 1999).

Los niveles de toxinas en la ballica presentan una tendencia estacional (Figura 2), teniendo un primer aumento a mediados de primavera, luego una caída para alcanzar la mayor concentración a fines de verano e inicio de otoño, lo que se relaciona con mayor incidencia de problemas en el ganado en esa época del año; así como también tienden a aumentar en condiciones de sequía y de alto contenido de nitrógeno en el suelo (Easton, 1999).

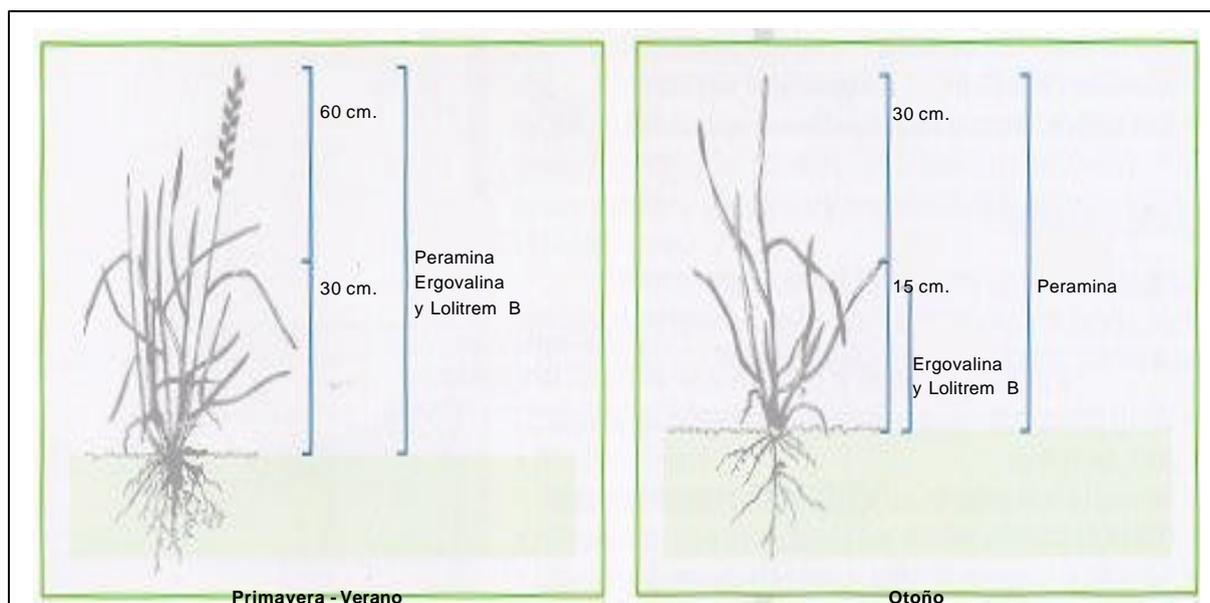


Figura 2. Concentración y distribución de alcaloides en una planta de ballica según época del año (Keogh y col., 1996).

La ergovalina y el lolitrem B se encuentran en bajas concentraciones en la planta en la primavera temprana y aumenta en la medida que se elevan las temperaturas y comienza el desarrollo reproductivo. Los niveles de toxinas bajan en el rebrote post-reproductivo, para volver a elevarse a través del verano en respuesta a un déficit de agua y quizás de mayor temperatura; además de la presencia de un mayor número de hojas senescentes y también de hojas muertas por defoliación o por desecación rápida. Estas hojas muertas en la pradera pueden ser una fuente significativa de ambas toxinas, así como también puede serlo el heno (Easton, 1999).

5.3. Efecto del consumo de ballicas con endófito sobre la salud de los animales.

Gallagher y col. (1981), reportan por primera vez el aislamiento de dos potentes neurotoxinas desde praderas en donde los animales enfermaban del síndrome conocido como "ryegrass staggers" o "temblor de las ballicas". Ellos propusieron el nombre general de lolitremos para estos compuestos basados en su asociación con ballicas (*Lolium perenne* L) y de su habilidad para producir temblores musculares en los animales. Este cuadro también puede presentarse en ovejas, caballos y venados (Easton, 1999), así como también en alpacas (Janet, 1997). El lolitrem B es la principal toxina asociada como responsable de este fenómeno (Galdames, 1995). Una concentración de 2,0 - 2,5 mg/kg de peso seco de lolitrem B en plantas ha sido citado como el umbral para la inducción del cuadro "Temblor de las ballicas" (Di Menna y col., 1992). Porter (1995), señala que el síndrome tremorgénico se desarrolla con una concentración de 5ug de lolitrem B /g de pasto verde.

El temblor de las ballicas ha sido descrita principalmente en Nueva Zelanda y en menor grado en Australia, EEUU, y Gran Bretaña. La frecuencia es muy variable, ya que depende de condiciones de clima, especialmente durante el verano-otoño, cuando el pasto está seco y crece lentamente. Suele desaparecer con lluvias abundantes y crecimiento rápido de las plantas. Regularmente se afecta un número variable de animales (5%-75%) (Mackintosh 1982, cit. por Radostits y col., 1994). La mortalidad es generalmente baja, excepto cuando la muerte ocurre por accidente como resultado de una actividad neuromuscular incontrolable (Familton, 1995), en donde los animales suelen caer fortuitamente dentro de bebederos, zanjas o desde alturas, entre otras (Cheeke, 1998). La incidencia puede variar considerablemente entre rebaños y entre años (Familton y col., 1995).

Los síndromes tremorgénicos comprenden una serie de cuadros tóxicos del bovino que se caracterizan por una reducida función neuromuscular, lo que provoca temblores musculares que pueden variar desde leves, en los músculos del cuello y escápula, hasta ataxia e incoordinación, lo que pueden llevar a la muerte, siendo esta de muy baja ocurrencia (Fletcher y Harvey, 1981). Otro signo que se puede observar, son los aparentes esfuerzos para frotar el abdomen con la punta de las patas traseras (Easton, 1999). La anomalía de los reflejos posturales conduce a decúbito lateral o decúbito esternal, con las patas traseras estiradas (Radostits y col., 1994).

El temblor de las ballicas se caracteriza por ser una intoxicación de naturaleza transitoria, produciéndose los signos clínicos de tipo neuromuscular después de 7 a 14 días de exposición continua en praderas de ballicas con endófito y con condiciones climáticas favorables para el desarrollo del cuadro. Los animales en reposo pueden parecer no afectados o tener leves movimientos de la cabeza y ocasionalmente temblores. En casos extremos el animal queda postrado en forma permanente por varios días. Los animales afectados de forma moderada no pueden ejecutar movimientos rápidos como consecuencia de la rigidez del tronco y las extremidades y por su tendencia a la caída. Es muy difícil para estos animales cambiar de dirección en su desplazamiento (Radostits y col., 1994).

Los signos clínicos de tipo neuromuscular sólo se manifiestan cuando los animales son sometidos a un estrés, como es el arreo. La gravedad del problema se determina por el número de animales afectados del rebaño y por el grado de la signología clínica (Lanuza, 2001).

Se señala a las ovejas, caballos y venados como los animales más susceptibles a la intoxicación con endófitos de la ballica, debido al hábito de pastoreo más bajo (Prestidge y Thom, 1994). En ovejas, la forma leve se presenta con signos durante la marcha, observándose que las extremidades se mueven sin flexionar las articulaciones. En los casos graves, en el momento en que el animal inicia un movimiento dispone las extremidades en extensión y abducción, lo que provoca la caída. Aparecen también convulsiones tetánicas (Radostits y col., 1994). En los

vacunos, especialmente las vacas de lechería el problema es menos frecuente debido a que se les cambia rutinariamente a praderas en fase de crecimiento (Prestidge, 1993). El cuadro que presentan es análogo al de los ovinos. Aparecen movimientos de la cabeza en el reposo y ocasionalmente temblores, pero las convulsiones son más graves y la flexión de las extremidades es más marcada que la extensión. En equinos aparece temblor, hipersensibilidad, titubeos y la marcha tambaleante, precede casi siempre, a la parálisis posterior (Radostits y col., 1994).

Además de los problemas neurotóxicos producidos por el endófito de la ballica, se han observado disminuciones en las tasas de incremento de peso, especialmente en periodos estivales y a inicios de Otoño, adicionalmente se describe un aumento en la frecuencia respiratoria en forma más marcada que en el aumento de la temperatura corporal (Fletcher, 1993). El aumento de la actividad sérica de las enzimas AST y CK indicarían daño muscular. A la necropsia no se han observado grandes lesiones; pero si se puede identificar en casos crónicos de intoxicación, una axonopatía proximal de las células de Purkinje, la que corresponden a tumefacción celular (Familton y col., 1995). Se presenta palidez macroscópica de los músculos esqueléticos e histológicamente se observan áreas focales de necrosis hialina (Radostits y col., 1994).

Radostits y col. (1994), mencionan que no existe ninguna prueba que ayude al diagnóstico de este cuadro. Eso sí, mencionan que es frecuente que exista anemia con cuerpos de Heinz en los glóbulos rojos de los bovinos que ingieren ballicas con endófito, pero no se conoce la relación entre ambos hechos.

Por otra parte, se puede realizar el diagnóstico mediante la anamnesis y signología clínica de animales que pastorean ballicas perennes (Nicholson, 1989). Pero hay que reconocer que esta intoxicación es muy semejante a otras enfermedades del sistema nervioso, sobre todo a las producidas por tóxicos vegetales (Radostits y col., 1994).

En cuanto al tratamiento, no es necesario instaurar ninguno, debido a que la curación espontánea se produce rápidamente al retirar los animales afectados de los pastos infectados (Radostits y col., 1994).

Para controlar el temblor de las ballicas, se sugieren métodos de pastoreo rotativo tendientes a evitar el consumo de partes bajas de la planta (Keogh y Clements 1993, cit. por Familton y col., 1995). El uso de praderas mixtas de ballica perenne con trébol para reducir la toxicidad, al diluir de esta manera la dosis de alcaloides consumida (Cosgrove y col., 1996). También el arreo lento de los animales y la disposición de agua permanente (Lanuzza y col., 2000). Y el uso de una línea de endófito (187BB) que no produce lolitrem B, la que han eliminado la presentación del cuadro en el bovino (Cosgrove y col., 1996). En ovinos luego de 6 a 8 semanas sin signos, han aparecido formas leves del temblor de las ballicas, asociándose a la paxilina, micotoxina tremorgénica, como una posible causa del cuadro (Fletcher , 1993).

5. 4. Efecto del consumo de ballicas con endófito sobre la producción de carne y leche.

Con respecto a la problemática de la asociación simbiótica hongo endófito - planta, sobre la respuesta animal, se ha señalado que a pesar que los animales no presenten signos clínicos de intoxicación, existe un efecto que, dependiendo de diversas circunstancias de clima, manejo rotacional y otros, afecta la producción de leche y/o carne de los bovinos (Lanuza, 2001). Se han encontrado además, disminuciones en las tasas de incremento de peso, especialmente en periodos estivales y a inicios de otoño (Fletcher, 1993). Las reducciones en las ganancias de peso se pensaba que se debían al menor consumo que provocaban los problemas neurotóxicos; sin embargo, se ha observado similar efecto en animales que no sufrían problemas neurotóxicos (Fletcher, 1993).

Trabajos de producción de carne, revelan que no existen diferencias en ganancia de peso vivo en animales que consumían praderas con ballicas infectadas con el hongo endófito *N. lolii*, respecto de los que consumían ballicas sin endófito. Sólo Cosgrove y col. (1993), citados por Easton (1999), observaron un efecto negativo de un 40% para los animales que consumían ballica con endófito en un periodo corto de verano, pero las diferencias no fueron sostenidas en el tiempo.

Mc Callum y Tomson (1994), utilizaron ballicas infectadas con el hongo endófito y ballicas libres de lolitremo B, obteniendo similares ganancias de peso en el total de la temporada y de una leve mayor ganancia de peso en el periodo de presentación del temblor de las ballicas en el grupo con ballicas sin endófitos.

Crosgrave y col. (1996), compararon ganancias de peso de toretes en praderas con diferente nivel y cepas de endófito y con y sin presencia de trébol blanco. Los resultados revelaron que el efecto directo de los alcaloides sobre el consumo y la ganancia de peso vivo es pequeño y están influenciados por la estación; además encontraron que la presencia de trébol blanco ayuda a disminuir la presentación de temblores musculares y que la ausencia de lolitrem B en las ballicas hace que no se presente el cuadro tremorgénico.

En Chile, evaluando la ganancia de peso de terneras en crecimiento, no se encontraron diferencias debidas a la presencia de endófito, a la vez que, la pradera infectada con el hongo soportó una mayor carga animal y productividad por hectárea (Lanuza y col., 1998).

En producción de leche, los resultados de la literatura son variables debido a que las condiciones no son totalmente comparables. Holmes (1989), cit. por Thom y col. (1994), presenta diferencias no muy consistentes en la producción de sólidos de

vacas que pastorean praderas de ballicas con y sin endófito, presentando una leve disminución de la producción de grasa.

En un estudio realizado en Australia, durante el mes de Marzo, la producción de leche fue un 9% y 15% menor en vacas que pastorearon variedades de ballicas Edgar y Ellet con alto nivel de endófito, respectivamente, en relación a vacas que pastoreaban ballicas Ellet con bajo nivel de endófito (Valentine y col., 1993).

En Chile, Butendieck y col. (1994), suministraron a vacas en pastoreo y estabuladas cultivares de ballica perenne variedad Embassy con alto porcentaje del hongo endófito. Los resultados indicaron una reducción manifiesta del consumo; observándose una reducción del consumo de un 41% con soiling, siendo ésta menor, bajo condiciones de pastoreo. Como consecuencia de lo anterior, se observó una reducción en la producción de leche del orden del 34% en vacas estabuladas y de un 15% en vacas a pastoreo.

En una investigación efectuada en Nueva Zelanda (Mc Callum y Tomson, 1994) no se observó diferencias en la producción de sólidos en vacas que pastorearon diferentes ballicas asociadas con distintos niveles de lolitremo B y ergovalina. Por otra parte Thom y col. (1997), reportan que el endófito de las ballicas tuvo un pequeño efecto sobre la producción de leche en vacas que pastoreaban en praderas de ballicas con y sin trébol blanco. En este caso el efecto se vio sólo en 2 de 9 periodos en los 3 años del estudio. Los mismos autores también concluyen que la influencia del endófito es pequeña e inconsistente bajo sus condiciones experimentales y no estuvo fuertemente relacionada con la aparición de los signos del temblor de las ballicas o con las altas concentraciones de lolitremo B en las plantas. El trébol blanco en las praderas parece haber contribuido a la dilución del efecto del endófito sobre la producción de leche en verano y otoño en este experimento.

Lanuza y col. (1999), al comparar la producción de leche de vacas que pastoreaban praderas de ballica Yatsin -1 con y sin endófito asociado a trébol blanco, observaron una mayor producción de un 7,5% en las vacas que consumieron ballicas sin el hongo endófito. Según los mismos autores las praderas de ballicas con endófito soportaron una mayor carga animal y con ello la productividad por superficie fue similar. Sin embargo, en una segunda temporada, no encontraron diferencias en la producción de leche utilizando las mismas praderas con vacas lecheras de parto de primavera del año 2000. Esta respuesta se explica en parte debido a una sequía en la segunda mitad del ensayo, lo que obligó a bajar la carga animal y a realizar una suplementación con ensilaje y además, debido a un mayor porcentaje de trébol blanco en la mezcla forrajera, lo que produjo el llamado efecto de dilución de las toxinas.

En este sentido algunos autores han reportado el efecto de dilución de las toxinas, ya sea con trébol blanco o con suplementación con ensilaje, en vacas lecheras con menores niveles productivos (Thom y col. 1997; Clark y col., 1996).

En relación a investigaciones realizadas en praderas de ballicas con endófitos en forma de forraje conservado, Clark y col. (1996), realizaron 2 experimentos con vacas lecheras pastoreando praderas de ballicas con alto y bajo nivel de hongo endófito, asociados con trébol blanco. Los animales en estos experimentos eran además suplementados con ensilaje de ballicas con niveles altos y bajos de endófitos, asociadas con trébol blanco, para así determinar su incidencia en la producción. En el primer ensayo se observó una mayor producción de un 10,3% de leche en praderas con bajo endófito, mientras que en el segundo ensayo no se observó efectos significativos sobre la producción de leche y componentes lácteos, con distintos niveles de endófito en praderas y ensilajes.

En Chile, no se han desarrollado estudios para demostrar si el empleo de ensilaje de ballica infectada con endófito causaría la presentación del temblor de las ballicas o influiría de alguna otra manera en la producción de los animales. Enmarcándose dentro de este contexto, se plantea la siguiente hipótesis:

"El consumo de ensilaje de ballica con endófitos, cosechado en distintos estados fenológicos y asociado a trébol blanco, produce el cuadro denominado "temblor de las ballicas" y además afecta la producción y composición de leche, peso vivo, condición corporal de los animales y el consumo de alimentos"

Para comprobar esta hipótesis se planteó evaluar en vacas lecheras el efecto del consumo de ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito, asociada a trébol blanco, sobre:

- La presentación del síndrome "temblor de las ballicas" o "ryegrass staggers".
- La actividad enzimática sérica de aspartato - amino transferasa (AST), gama - glutamiltransferasa (GGT) y creatinquinasa (CK).
- La producción y composición láctea.
- El peso vivo y condición corporal.
- El consumo de alimentos.

6. - MATERIAL Y METODOS

6. 1. MATERIAL.

6. 1. 1. Ubicación de ensayo.

El ensayo se realizó durante la temporada de Invierno e inicios de Primavera del año 2001, en el Centro Regional de Investigación Remehue (CRI - Remehue) del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), ubicado a 8 kilómetros al norte de la ciudad de Osorno, Décima Región, Chile. Tuvo una duración de 15 semanas, desde el 4 de junio hasta el 26 de septiembre.

6. 1. 2. Animales.

Se utilizaron 30 vacas lecheras Frisón Negro, en lactancia, con partos de verano y Otoño del año 2001, pertenecientes al rebaño lechero del CRI - Remehue.

6. 1. 3. Recurso alimentario.

Para llevar a cabo este estudio experimental, se conservó en forma de ensilaje, praderas de ballicas Yatsin -1 con y sin endófito (*N. lolii*), asociados a trébol blanco variedades *Aran* y *Kopu* en un porcentaje de un 5% (Foto 1), en dos estados fenológicos según tratamientos, corte temprano (a inicios de noviembre) para los tratamientos I y II y corte tardío (a fines de noviembre) para el tratamiento III.



Foto 1. Ensilajes de pradera de ballica *Yatsin 1*, con y sin hongo endófito, asociado a trébol blanco.

6. 1. 4. Infraestructura.

Las vacas permanecieron estabuladas en una construcción de estabulación libre, con dormideros de cama caliente (Foto 2), la que poseía además un patio de alimentación semi techado (Foto 3), de libre acceso, el que contaba con bebedero automático y comedero de madera (Foto 4).



Foto 2. Dormideros de los animales con cama caliente.



Foto 3. Patio de alimentación.



Foto 4. Comederos para cada tratamiento.

6. 2. METODOS

6. 2. 1. Diseño experimental.

El diseño experimental consistió en tres tratamientos con 10 vacas cada uno asignadas al azar, según su producción láctea (menor a 25 litros), días en lactancia (mayor a 60 días) y número de partos.

6. 2. 2. Identificación de los tratamientos.

La identificación individual de los animales se realizó mediante autocrotales y para la diferenciación de los tres tratamientos se usó una marca de color sobre la grupa de los animales.

Tratamiento I. Animales alimentados con ensilaje de corte temprano de pradera de ballica Yatsyn - 1 sin endófito (*Neotyphodium lolii*), asociado a trébol blanco.

Tratamiento II. Animales alimentados con ensilaje de corte temprano de pradera de ballica Yatsyn - 1 con endófito (*Neotyphodium lolii*), asociado a trébol blanco.

Tratamiento III. Animales alimentados con ensilaje de corte tardío de pradera de ballica Yatsyn - 1 con endófito (*Neotyphodium lolii*), asociado a trébol blanco.

6. 2. 3. Manejo alimentario.

Para el manejo alimentario se consideraron 2 periodos.

6. 2. 3. 1. Periodo pre experimental.

Este fue un periodo de transición, de una duración de 10 días en que las vacas fueron sometidas a un cambio paulatino de alimentación, de pastoreo y suplementación parcial a una ración basada en un 80% de forraje conservado, con estabulación permanente (Cuadro 1). De esta manera el ingreso a la etapa experimental fue con la ración definitiva y ya acostumbradas a la estabulación.

Considerando los aspectos que influyen en la producción de los animales y en su composición láctea se formularon raciones con aportes de nutrientes similares, para cada uno de los tres tratamientos (Anexo 1, 2 y 3).

Cuadro 1. Alimentación de transición durante el periodo pre- experimental, para cada uno de los tres tratamientos.

Tratamiento I	DÍAS									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ensilaje prad. Ensayo	-	5	10	20	30	40	50	60	70	75
Ensilaje pradera producción	20	15	10	5	-	-	-	-	-	-
Ensilaje Maíz	25	25	20	20	15	15	10	5	5	-
Ensilaje Alfalfa	5	4	3	2	1	-	-	-	-	-
Cosetan	2	1,5	1,5	1	1	0,5	-	-	-	-
Cebada	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2	2	2	2
Núcleo Proteico	1,5	1,5	1,4	1,4	1,3	1,3	1,2	1,2	1,2	1,2
Sal	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Bicarbonato	0,15	0,15	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-
Tratamiento II										
Ensilaje prad. Ensayo	-	5	10	20	30	40	50	60	70	75
Ensilaje pradera producción	20	15	10	5	-	-	-	-	-	-
Ensilaje Maíz	25	25	20	20	15	15	10	5	5	-
Ensilaje Alfalfa	5	4	3	2	1	-	-	-	-	-
Cosetan	2	1,5	1,5	1	1	0,5	-	-	-	-
Cebada	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1	0,9	0,8	0,75	0,68
Núcleo Proteico	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2,1	2,2	2,3	2,55
Sal	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Bicarbonato	0,15	0,15	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-
Tratamiento III										
Ensilaje prad. Ensayo	-	5	10	20	30	40	50	60	70	75
Ensilaje pradera producción	20	15	10	5	-	-	-	-	-	-
Ensilaje Maíz	25	25	20	20	15	15	10	5	5	-
Ensilaje Alfalfa	5	4	3	2	1	-	-	-	-	-
Cosetan	2	1,5	1,5	1	1	0,5	-	-	-	-
Cebada	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2	2	2	2	0,6
Núcleo Proteico	1,5	1,5	1,4	1,4	1,3	1,3	1,2	1,2	1,2	2,62
Sal	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Bicarbonato	0,15	0,15	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-

6. 2. 3. 2. Periodo experimental.

En esta segunda etapa los animales consumieron ensilaje de ballica con y sin hongo endófito ,un núcleo proteico, cebada falla y sales minerales, en las cantidades que se presentan en el cuadro 2. La cantidad de ensilaje de pradera es un promedio del consumo en fresco de los animales durante esta etapa.

Cuadro 2. Ración total promedio ofrecida, en base fresco, a tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito, durante el periodo experimental.

Ración (Kg.)	Tratamientos		
	I	II	III
Ensilaje pradera	71,2	71,6	58,3
Cebada	2,0	0,75	0,6
Núcleo proteico	1,2	2,55	2,6
Sal mineral	0,25	0,25	0,25

6. 2. 4. Muestras y mediciones.

6. 2. 4. 1. Salud de los animales.

Una vez por semana se tomó la frecuencia respiratoria individual de las vacas de cada tratamiento y se examinó mediante inspección, con el objeto de determinar la presentación de signos tremorgénicos, clasificándose los hallazgos de acuerdo a la siguiente pauta evaluativa (Cuadro 3).(Comunicación personal Dr. Oscar Araya).

Cuadro 3. Pauta evaluativa para la intoxicación por micotoxinas tremorgénicas producidas por el hongo endófito *Neothyphodium lolii*.

Grado	Intensidad	Signología Clínica
0	Negativo	No presenta signos clínicos.
1	Leve	Tremores de cabeza, orejas y musculares leves.
2	Mediano	Tremores musculares severos e hipermetría.
3	Intenso	Tremores severos y ataxia.

6. 2. 4. 2. Parámetros sanguíneos.

Durante el ensayo (días 1, 45 y 90), se tomó una muestra individual de sangre de la vena coccígea media (Foto 5), las cuales fueron enviadas al Laboratorio de Patología Clínica Veterinaria de la Universidad Austral de Chile, para la determinación sérica de creatinquinasa (CK), gama-glutamilttransferasa (GGT) y aspartato-aminotransferasa (AST).



Foto 5. Toma de muestra de sangre de la vena coccígea media.

6. 2. 4. 3. Producción de leche.

La producción láctea fue medida individualmente dos días seguidos durante cada semana, mañana y tarde, usando vasos volumétricos. (Foto 6).



Foto 6. Medición de leche con vasos volumétricos.

6. 2. 4. 4. Composición de la leche.

Una vez por semana, se realizó un análisis composicional de la leche, en una muestra compuesta de dos días seguidos (Fotos 7 y 8), las que fueron analizadas por espectrofotometría infrarrojo, la que se realizó mediante un espectrofotómetro MilkoScan 4000, en el Laboratorio de Calidad de Leche del INIA - Carillanca.



Fotos 7 y 8. Preparación, de las muestras compuestas de leche de los animales.

6. 2. 4. 5. Peso vivo y condición corporal.

Cada 15 días se pesó individualmente a los animales en una pesa mecánica, y se evaluó su condición corporal según el método descrito por Wildman y col. (1982), según escala de 1 a 5 de acuerdo a la cantidad de grasa subcutánea corporal o reservas de energía en la vaca.

6. 2. 4. 6. Análisis nutricional del alimento.

Se tomó una muestra de ensilaje 3 veces a la semana por tratamiento (Foto 9), para un análisis bromatológico completo de muestras compuestas.



Foto 9. Muestras de ensilaje, de pradera de ballica con y sin hongo endófito, para análisis bromatológico.

6. 2. 4. 7. Consumo del alimento.

El alimento, previamente pesado, se les ofreció grupalmente a las vacas dos veces al día según tratamiento. El rechazo del alimento de la ración total por tratamiento, fue pesado 4 veces a la semana (martes, miércoles, jueves y viernes) para conocer el consumo real del grupo de vacas de cada tratamiento, utilizando una pesa mecánica de 200 kg. de capacidad.

6. 2. 5. Análisis Estadístico.

Los datos de la frecuencia respiratoria, valores séricos, producción y composición de leche, peso vivo y condición corporal y consumo de alimentos, fueron descritos mediante el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ijkl} = \mathbf{m} + T_i + V_{ij} + P_k + TP_{ik} + e_{jkl}$$

donde:

y_{ijkl} = respuesta productiva de la j-ésima vaca dentro del i-ésimo tratamiento en el k-ésimo periodo de medición.

\mathbf{m} = intercepto general

T_i = efecto fijo del i-ésimo tratamiento

V_{ij} = efecto fijo de la j-ésima vaca anidada dentro del i-ésimo tratamiento. (Esto equivale a error tipo a)

P_k = efecto fijo del k-ésimo periodo o tiempo de medición.

TP_{ik} = efecto fijo de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y el k-ésimo periodo de medición.

e_{ijkl} = efecto aleatorio residual $\sim N(0, \mathbf{s}^2)$

El error usado en las comparaciones entre tratamientos correspondió a el error tipo a.

Los datos fueron editados usando diferentes procedimientos del paquete estadístico SAS (1993) el análisis de varianza fue realizado usando el procedimiento PROC GLM de SAS.

7. - Resultados

7. 1. Presentación del temblor de las ballicas.

Durante el desarrollo del ensayo, no se presentó ningún hallazgo definido que se pudiera clasificar dentro de la pauta evaluativa (Cuadro 3) para la intoxicación por micotoxinas tremorgénicas producidas por el hongo endófito *N. lolii*.

En las mediciones de frecuencia respiratoria realizadas en los animales durante el ensayo se encontró al análisis estadístico diferencias significativas ($p < 0,05$), siendo el tratamiento I diferente a los tratamientos II y III que resultaron con valores similares. En el cuadro 4 se observa los promedios de las frecuencias respiratorias e los animales durante el periodo del ensayo.

Cuadro 4. Promedios y desviación estándar de la frecuencia respiratoria de los tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Frecuencia Respiratoria (ciclos/min.)	Tratamientos		
	I	II	III
Promedio	21,3 ± 4,2 a	22,6 ± 3,9 b	22,4 ± 4,0 b

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

7. 2. Actividad enzimática.

Durante el ensayo la actividad sérica de aspartato - amino transferasa (AST) y gama - glutamiltransferasa (GGT), presentaron valores que fluctuaron dentro del rango de referencia, que van desde 50 a 150 u/l, para AST y de 3 a 39 u/l, para GGT, como se puede observar en las figuras 3 y 4 respectivamente.

No ocurrió lo mismo con la actividad sérica de la enzima creatinquinasa (CK), la cual presentó valores por sobre el máximo de referencia, como observamos en la figura 5. Al análisis estadístico no se presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), para ninguno de los tres grupos de tratamientos.

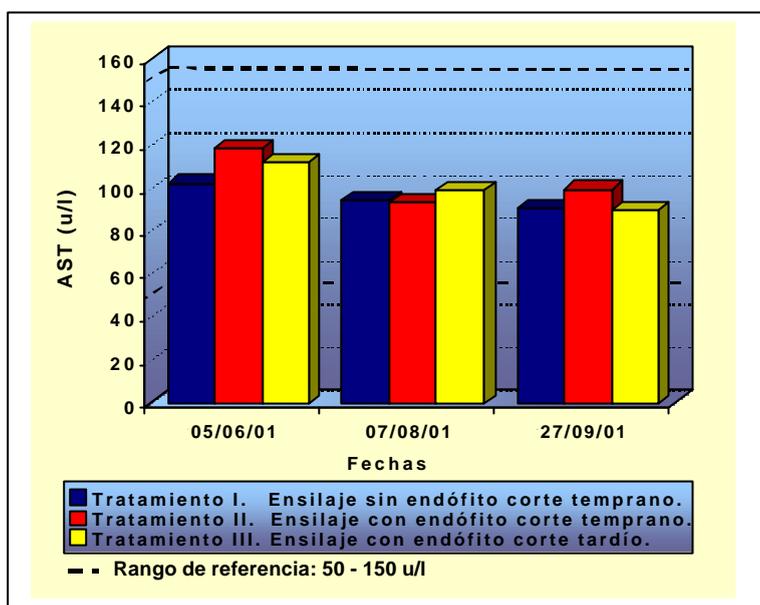


Figura 3. Actividad sérica de aspartato - amino transferasa (AST), de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

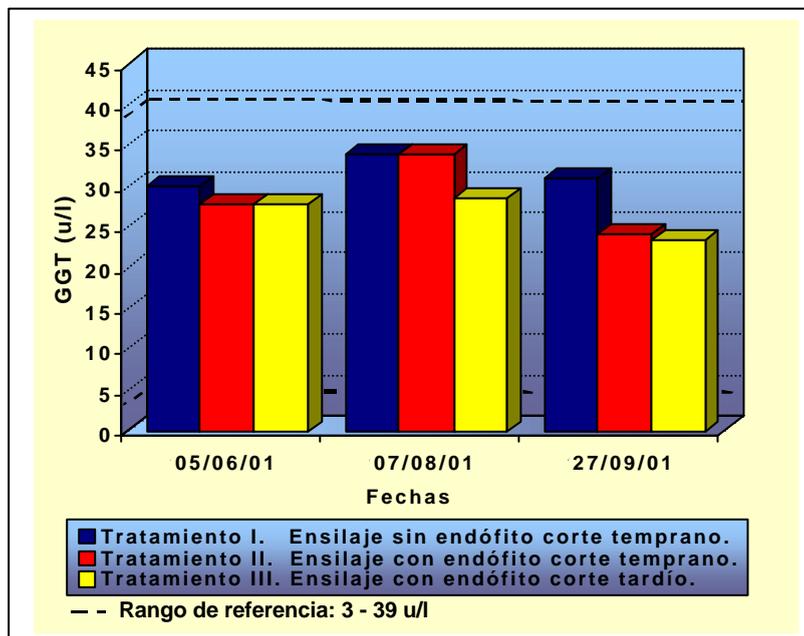


Figura 4. Actividad sérica de gama- glutamiltransferasa (GGT), de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

En la figura 5 observamos que la actividad sérica de la enzima creatinquinasa alcanzó a presentar valores sobre el rango mayor de referencia que va de 0 a 200 u/l de CK. Se puede señalar que en el primer muestreo de sangre, realizado a inicios del ensayo, vemos que el tratamiento II presenta valores sobre el rango mayor de referencia, siguiéndolos el tratamiento I y III en orden descendente en relación a los valores séricos de CK. En los otros dos muestreos a mediados y fines del ensayo los valores se encontraron dentro de los rangos de referencia.

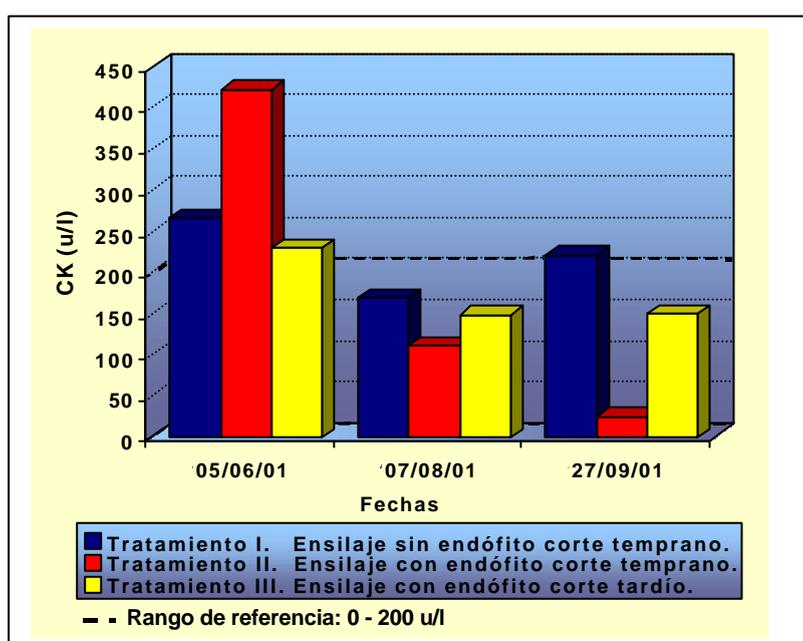


Figura 5. Actividad sérica de creatinquinasa (CK), de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

7. 3. Producción y composición láctea.

7. 3. 1. Producción de leche.

El efecto de la alimentación de ensilaje de ballica con y sin hongo endófito sobre la producción láctea promedio por semana para los tres tratamientos se presenta en la figura 6.

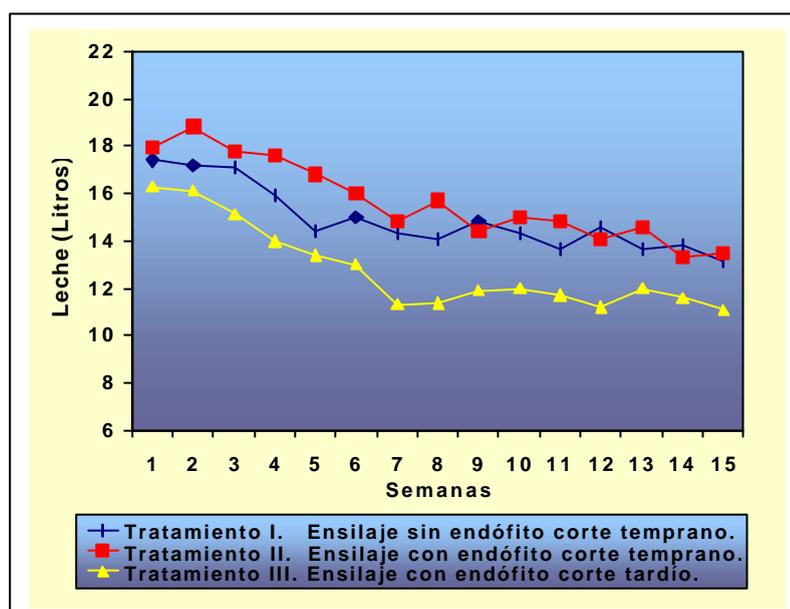


Figura 6. Evolución de la producción promedio de leche de tres grupos de vacas, con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera en dos estados fenológicos, de ballica con y sin hongo endófito.

La producción de leche resultó significativa ($p < 0,05$). En la figura 6 observamos que las curvas de producción difieren levemente, entre los tratamientos I y II, presentando la menor la producción el tratamiento III.

En el cuadro 5, se observan los promedios de producción diaria de leche que fueron 15,20, 15,65 y 13,10 lts, para los tratamientos I, II y III respectivamente. La diferencia entre los tratamientos resultó significativa ($p < 0,05$), siendo el tratamiento III diferente a los tratamientos I y II. Este último fue el que alcanzó la mayor producción promedio de leche (100%), teniendo los tratamientos I y III una producción menor, que en porcentaje fue de un 2,9% y un 16,3% respectivamente, en relación al tratamiento II.

Cuadro 5. Producción láctea total (litros) del ensayo, producción promedio de leche semanal más desviación estándar y porcentajes de la producción promedio de leche, de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

Leche	Tratamientos		
	I	II	III
Producción total (Litros)	15.960	16.433	13.755
Promedio/vaca/litros	15,20 ± (2,72) a	15,65 ± (2,43) a	13,10 ± (2,90) b
Porcentaje (%)	97,12	100,0	83,70

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

7. 3. 2. Composición láctea.

Los resultados de la composición de leche y recuento de células somáticas(RCS), de las vacas del ensayo, se observan en el cuadro 6.

Cuadro 6. Composición de la leche y RCS, desviaciones estándar, de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

Componentes lácteos	Tratamientos		
	I	II	III
Materia grasa (%)	3,65 ± 0,52	3,55 ± 0,38	3,36 ± 0,42
Proteína (%)	2,90 ± 0,21	2,89 ± 0,20	2,80 ± 0,19
Lactosa (%)	5,08 ± 0,15 a	5,08 ± 0,15 a	4,88 ± 0,24 b
Sólidos totales (%)	12,81 ± 0,81	12,74 ± 0,66	12,20 ± 0,79
Sólidos no grasos (%)	8,83 ± 0,29 a	8,83 ± 0,26 a	8,53 ± 0,36 b
Urea (mg/L.)	330 ± 80	340 ± 90	390 ± 110
RCS (x 1000)	225 ± 322	105 ± 268	177 ± 188

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

Los componentes lácteos, como materia grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, sólidos no grasos y urea en leche fueron analizados usando el análisis de varianza , de acuerdo al modelo estadístico presentado anteriormente. Para los análisis de los valores del recuento de células somáticas en la leche, fue necesario realizar una transformación logarítmica, pero para una mejor interpretación se presentan los datos sin transformación. (Cuadro 6).

Dentro de los componentes de la leche que presentaron diferencias significativas, fueron los sólidos no grasos y la lactosa.

Los tratamientos I y II presentaron valores promedios similares con un porcentaje de 8,83% de sólidos no grasos en la leche, cada uno. En cambio el tratamiento III difiere de los dos anteriores teniendo un valor promedio más bajo, de un 8,53% de sólidos no grasos en la leche.

La evolución promedio del contenido de sólidos no grasos en la leche, según cada tratamiento, se puede observar en la Figura 7.

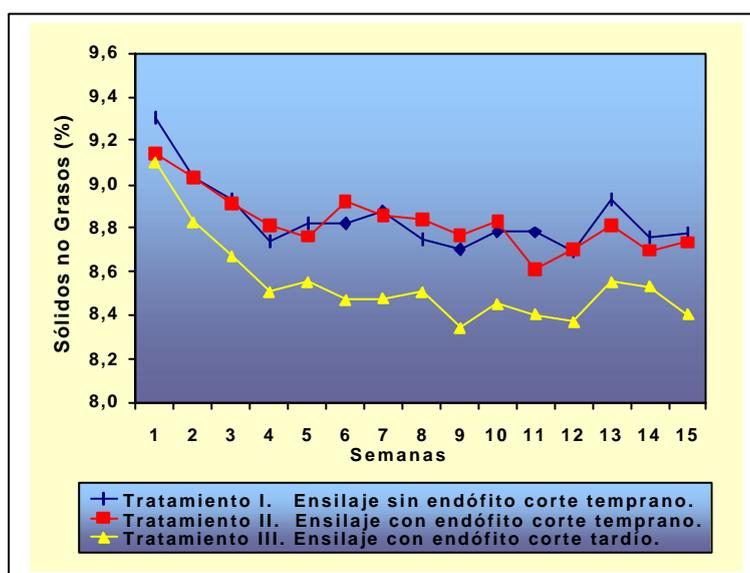


Figura 7. Evolución de los sólidos no grasos en leche de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

La lactosa en la leche presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) al análisis estadístico. Los tratamientos I y II presentaron promedios similares de 5,08 % respectivamente, siendo el tratamiento III diferente estadísticamente a los dos primeros con un promedio menor de 4,88 % de lactosa, en la leche. En la figura 8 se aprecian las curvas de los valores promedios de lactosa para cada uno de los tratamientos.

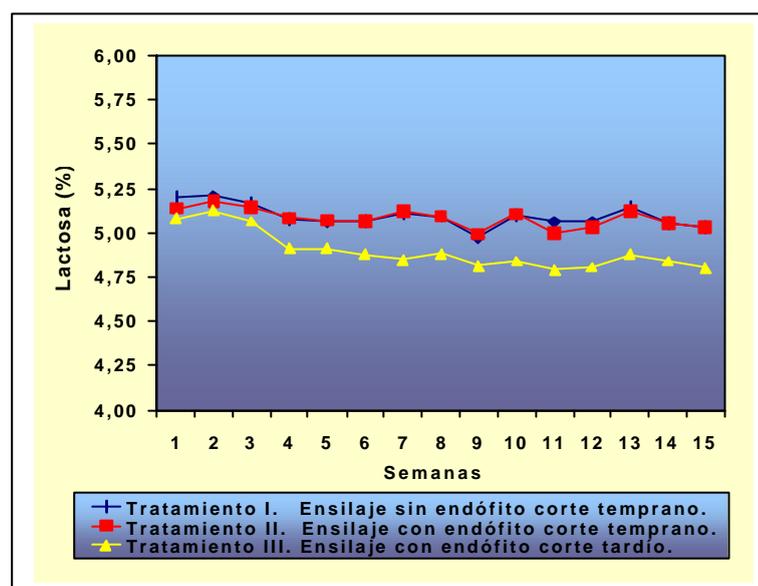


Figura 8. Evolución de la lactosa promedio en la leche de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica con y sin hongo endófito.

7.4. Peso vivo y condición corporal.

Los promedios de los pesos vivos (Kg.) de los animales durante el periodo experimental, fueron de: 507, 483 y 489 Kg. para los tratamientos I, II y III respectivamente. Las diferencias entre los tratamientos fueron significativas ($p < 0,05$), al análisis estadístico. En la figura 9. podemos observar la evolución del peso de los animales para cada uno de los tratamientos.

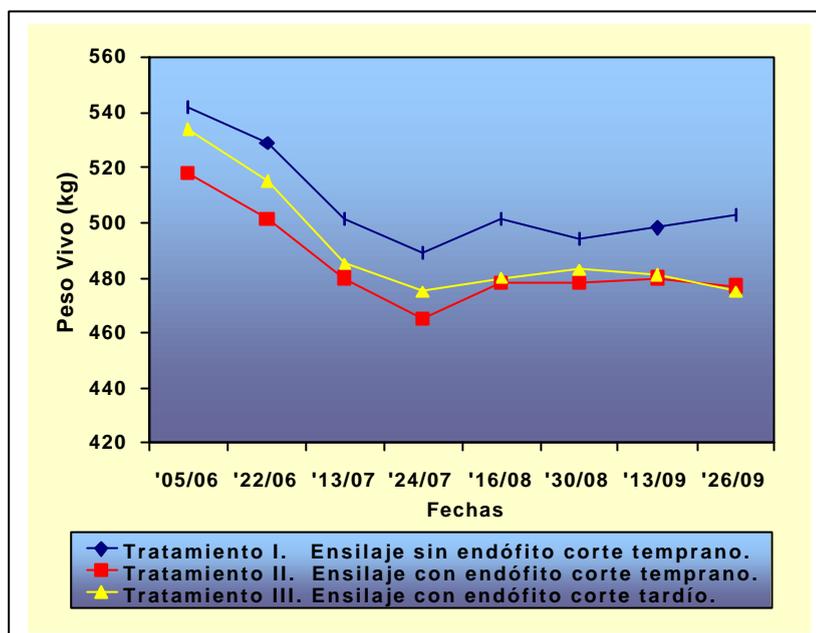


Figura 9. Evolución del peso vivo de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

La condición corporal promedio de los animales, durante el periodo experimental, correspondientes a los tratamientos I, II y III fueron de 2,43, 2,38 y 2,36 puntos respectivamente. Las diferencias entre los tratamientos no resultaron ser significativas ($p < 0,05$). En la figura 10 se observa el cambio de la condición corporal de los animales para cada uno de los tres tratamientos a través del periodo experimental.

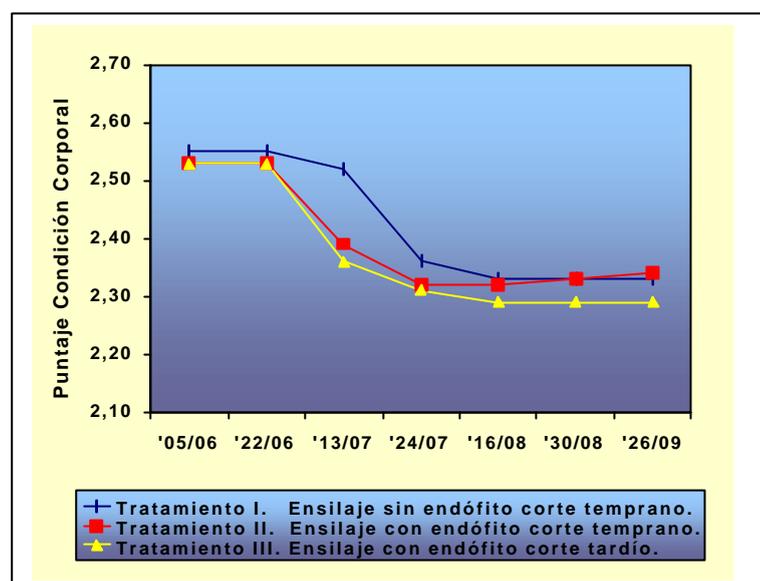


Figura 10. Evolución de la condición corporal de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

7.5. Consumo de alimentos.

El consumo de las raciones en base fresco, realizadas por los animales según los tratamientos tuvieron como promedio: 67,58, 67,18 y 53,96 kg. de ensilaje por vaca, para los tratamientos I, II y III respectivamente. Los resultados del consumo de los animales al análisis estadístico fueron significativos ($p < 0,05$) en donde el tratamiento III tuvo un 20,6% menos de consumo en relación al tratamiento I y II que fueron similares al análisis estadístico (Cuadro 7).

Cuadro 7. Ración diaria ofrecida y promedios del consumo real más desviación estándar a tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica, en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Item.	Tratamientos		
	I	II	III
Ensilaje T.C.O.(Kg.)	71,2	71,6	58,3
Concentrado ofrecido(Kg.)	3,4	3,5	3,4
Total ofrecido (Kg.)	74,65	75,15	61,75
Total Consumido(Kg.)	67,58 ± 5,17 ^a	67,18 ± 3,98 ^a	53,96 ± 4,31 ^b
Consumo Relativo (%) entre tratamientos del total consumido.	100	99,41	79,32

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Por otra parte se les ofreció a los animales de los tratamientos I, II y III una dieta total de 14,92, 14,69 y 14,24 kg. respectivamente. Según los rechazos por grupo de tratamiento, el consumo real de la ración completa fue de un 14,45, 14,25 y 13,56 kg. de materia seca para los tratamientos I, II y III respectivamente. (Cuadro 8). En la figura 11, se observa el promedio semanal del consumo de kg./ms de la ración completa de las vacas de cada tratamiento, durante el periodo experimental.

Cuadro 8. Ración diaria ofrecida en kg. de materia seca a tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica, en dos estados fenológicos y consumo real, promedios, desviación estándar y porcentaje de rechazos.

Item	Tratamientos		
	I	II	III
Ensilaje ofrecido (Kg.)	11,89	11,67	11,25
Concentrado ofrecido (Kg.)	2,99	3,08	2,99
Total ofrecido (Kg.)	14,92	14,69	14,24
Total Consumido (Kg.)	14,45 ± 0,85	14,25 ± 0,77	13,56 ± 0,75
Rechazo (%)	8,7	9,0	9,8

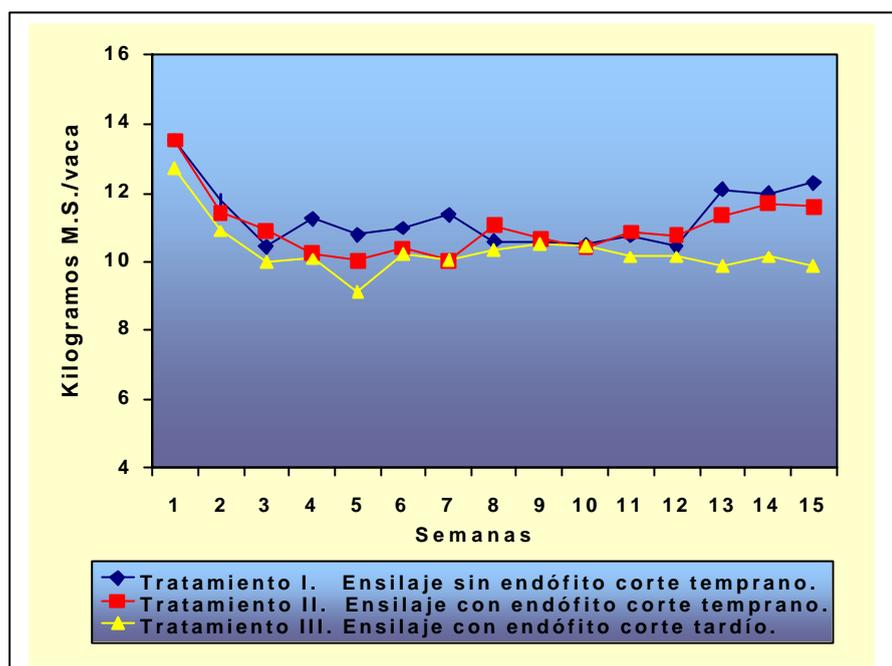


Fig.11.- Evolución del consumo promedio semanal de Kg. de materia seca de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

La formulación inicial de la ración fue realizada con anterioridad al ensayo, en base a un análisis bromatológico de los ensilajes y concentrados (Anexo 7), resultando una ración isoproteica para los tratamientos. Durante el desarrollo del ensayo experimental, se tomaron muestras de los ensilajes y concentrados los cuales fueron analizados al término de este, observándose una diferencia de los valores de materia seca y proteína para los tratamientos II y III, resultando de esto dietas con un porcentaje de proteína diferente de 15,8%, 17,6% y 14,6% para los tratamientos I, II y III respectivamente, lo que hace un consumo de raciones no isoproteicas (Anexos 4, 5 y 6).

8.- Discusión

8.1. Presentación del temblor de las ballicas.

En el desarrollo del ensayo, los tres grupos de animales fueron vigilados durante el transcurso del día y en momentos en que se podía presentar alguna signología tremorgénica (reposo y estrés), descrita en la pauta de evaluación mencionada (Cuadro 3), no manifestándose ninguna alteración en el comportamiento que se pudiera atribuir al consumo de las toxinas del endófito contenido en el ensilaje de ballica.

El análisis estadístico presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) para los valores de la frecuencia respiratoria, en donde el tratamiento I, tuvo un promedio más bajo, que los tratamientos II y III, los que fueron similares y con promedios más altos (cuadro 4). Si bien es cierto la frecuencia respiratoria de los tratamientos resultó ser significativa al análisis estadístico, los promedios con sus respectivas desviaciones estándar (cuadro 4), para los tres tratamientos están dentro del rango de referencia para la especie bovina (Radostis y col., 1994), en que la frecuencia deberá situarse dentro de los siguientes límites para el ganado vacuno, 10 - 30/ min.

Es conocido y descrito en la literatura, que el consumo de pradera de ballica con endófito causa una serie de signología clínica en los animales, conocido como síndromes tremorgénicos. Mc leay y Smith (1999), menciona que las micotoxinas lolitrem B y paxilina son bien conocidas por la habilidad de causar temblores en los animales e incrementos en el promedio de la respiración, presión sanguínea y promedio cardíaco (efecto originado por una vasoconstricción periférica), pero tienen poca relación con el efecto de la temperatura corporal de los animales. Fletcher (1993), también describe un aumento en la frecuencia respiratoria en forma más marcada que en el aumento de la temperatura corporal, cuando los animales consumen praderas de ballicas con endófitos. En los vacunos, especialmente las vacas de lechería el problema es menos frecuente debido a que se les cambia rutinariamente a praderas en fase de crecimiento (Prestidge, 1993).

En relación a lo que sucede con las toxinas en los ensilajes de ballicas con endófitos y con los animales que la consumen, Fletcher y col. (1999), ha demostrado la presencia de dos toxinas en el ensilaje, la ergovalina y el lolitrem B, pero la estabilidad en el ensilaje y la toxicidad en los animales no ha sido aún demostrada. Easton (1999), aporta mencionando que las toxinas, del endófito pueden permanecer estables en el henilaje de ballicas y en un menor grado en el ensilaje. De lo cual podemos deducir que si estaban presentes, las toxinas del endófito, no se presentaron síndromes tremorgénicos en los animales debido probablemente a su menor estabilidad en el ensilaje, lo que se traduce en una menor concentración en el forraje consumido. Otra de las posibles causas de la ausencia de los síndromes tremorgénicos en las vacas lecheras, de los tratamientos es por un efecto de dilución de las toxinas, contenidas en el ensilaje. Los animales presentan los síndromes

tremorgénicos o el temblor de las ballicas, cuando consumen la toxina existente en la parte basal de las plantas de una pradera de ballica, infectada con el hongo endófito cuando esta se encuentra en un estado vegetativo, lo que ocurre cuando los animales son sometidos a pastoreos intensivos, así como también cuando consumen de una pradera la planta de ballica en un estado reproductivo, en donde las semillas concentran las toxinas. En cambio en el ensayo los animales del tratamiento III, consumieron la planta completa, en donde la parte intermedia ayudaría a diluir el efecto de las toxinas en el organismo del animal, no presentándose, problemas de salud con la ingesta de ensilaje de ballicas con endófitos.

Y por último, otra posible causa de la no presentación del temblor de la ballicas en los tres grupos de animales suplementados con forraje conservado de ballica con endófito, es una eventual pérdida de las toxinas en los efluentes de los ensilajes, que en el caso del tratamiento II, ha de suponerse una mayor pérdida y por ende una menor concentración de las toxinas, consumidas por los animales debido a que era de corte temprano con un menor porcentaje de materia seca.

8.2. Actividad enzimática.

Los resultados en el ensayo, de los niveles séricos de las enzimas, CK, GGT y AST, no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$), y al ser comparados con los valores de referencia (Wittwer, 2000), se encontraron dentro del rango. Sin embargo, podemos ver que la actividad sérica de la creatinquinasa, para los tratamientos I y II, alcanzó valores sobre el rango de referencia, pero estos se encontraban aún dentro de los valores permitidos, los que son de hasta 500 u/l en muestras pos- ejercicio (Figura 5). La participación de las toxinas del hongo endófito en el aumento de los valores séricos de la creatinquinasa, se debería descartar, ya que los valores corresponden a una medición realizada al inicio del ensayo experimental, en donde los animales aún no recibían la dieta basada en ensilaje de ballica con hongo endófito, atribuyendo esta alza, al manejo que fueron sometidos los animales (arreas y separación en el corral) antes de tomar las muestras.

En relación a la actividad sérica de las enzimas, en animales que presentan cuadros tremorgénicos, Piper (1989), cit. por Cheeke (1998), menciona que hay una notable elevación de los niveles séricos de AST en ovejas con presentación del temblor de las ballicas y con sugerentes daños hepatobiliares. Sin embargo Fletcher (1993), dice que niveles séricos de AST son también elevados con daños musculares, la probable causa de los cambios en las enzimas séricas es secundario al daño muscular, desde un golpe, magulladuras a otras heridas físicas durante episodios de temblores. También se describen en estudios realizados con animales aumentos de los niveles séricos de CK, GGT y AST en que consumen praderas de ballicas con endófitos, según Familton y col. (1995), el aumento de la actividad sérica de las enzimas AST y CK indicarían daño muscular. No se han reportado aún casos, de niveles séricos elevados en animales que consumen ensilaje de ballica con endófitos.

8.3. Caracterización nutricional de los ensilajes de pradera de ballica.

Las diferencias composicionales que presentan los ensilajes, utilizados en el ensayo experimental se explican por el efecto del estado fenológico que presentaban las praderas al momento del corte temprano (a inicios de Noviembre) y tardío (a fines de Noviembre). Elizalde (1994), explica que el valor nutritivo de los ensilajes está determinado principalmente por la composición del forraje al momento de la cosecha y por las modificaciones químicas que toman lugar durante el proceso de ensilado.

Materia seca: El promedio de materia seca de las muestras de los ensilajes utilizados en el ensayo experimental fueron de 16,7%, 16,3% y 19,2% para los tratamientos I, II y III respectivamente (Anexo 8), valor que resulta algo inferior a los niveles observados en el Anexo 9. Siendo el tratamiento III el que posee mayor porcentaje de materia seca. Mc Donald (1981), menciona que un forraje adecuado para ensilaje no debe tener un contenido muy bajo de materia seca y que un nivel de un 20% es considerado como adecuado.

Energía metabolizable: El promedio de energía metabolizable de las muestras de los ensilajes fueron 2,53, 2,66 y 2,31 para los tratamientos I, II y III respectivamente (Anexo 8). Al ser comparados con los valores del Anexo 9, resultarían superior al promedio, lo que nos indica un material de buena calidad. Según Dumont (1994), la concentración de energía metabolizable de un buen ensilaje debería ser un valor cercano a 2,6 m/cal. por kilogramo de materia seca. Observando los promedios de energía de los ensilajes utilizados, el tratamiento III, tiene un valor promedio más bajo en relación a los valores de los tratamientos I y II. Teniendo este último el promedio de energía más alto.

Digestibilidad: La digestibilidad promedio de los ensilajes fue de 69,3%, 73,2% y 62,6% para los tratamientos I, II y III respectivamente (Anexo 8). Siendo el tratamiento III el de más baja digestibilidad, lo que coincide a su vez con la menor energía entregada en el ensilaje. Lo contrario se da para el tratamiento II, el cual presenta el mayor valor de digestibilidad junto con el de la energía presente en el ensilaje.

pH y Nitrógeno amoniacal: El promedio del pH de los ensilajes para los tratamientos I, II y III fueron de 4,50, 4,17 y 4,33 respectivamente (Anexo 8). El pH es un indicador de la acidez y de la calidad de la fermentación del ensilaje. Según Thomas y col. (1991), los valores de pH antes mencionados están dentro de un rango de ensilaje de calidad buena a moderada con un pH de 4,0 a 4,5.

El N-NH₃ es otro indicador de calidad de fermentación y se expresa como porcentaje del total de nitrógeno. Es producido durante la fermentación de los ensilajes debido a la acción proteolítica de microorganismos del género Clostridium y Enterobacteria (Mc Donald y col., 1991).

Los promedios de N-NH₃ que alcanzaron los ensilajes de los tratamientos I, II y III fueron 5,7%, 6,1% y 4,6% respectivamente (Anexo 8). En general se ha encontrado

que el nitrógeno amoniacal, de los ensilajes, expresado como % del nitrógeno total se correlaciona negativamente con el consumo voluntario, como lo podemos ver en el cuadro 9.

Cuadro 9. Nivel de nitrógeno amoniacal de los ensilajes y su relación con la calidad de fermentación y consumo.

Nitrógeno Amoniacal % N. Total	Calidad de Fermentación	Consumo Relativo %
0-5	Excelente	100
5-10	Buena	98
10-15	Moderado	95
15 y más	Malo	90

(Fuente: Thomas y col., 1991)

Al comparar los valores de $N-NH_3$, alcanzados por los ensilajes del ensayo, con los valores del cuadro 9, observamos que el tratamiento III, presenta la mejor calidad de fermentación, aunque no se ve reflejado en un aumento del consumo voluntario de los animales del mismo tratamiento. Sin embargo no existe evidencia de que el nitrógeno amoniacal por sí mismo, tenga un efecto negativo en el consumo voluntario de los ensilajes (Rook 1991, cit. por Elizalde, 1994). En general se puede concluir en forma práctica que el contenido de $N-NH_3$ de los ensilajes, expresados como porcentaje del nitrógeno total, puede proporcionar un índice para separar ensilajes de bajo consumo, de ensilajes bien fermentados que tendrían mejor consumo (Tomas y col., 1991).

Proteína total: La proteína total correspondiente a los tratamientos I, II y III son de 14,6%, 13,8% y 9,6% respectivamente (Anexo 8). Siendo el tratamiento III el de más bajo porcentaje de proteínas en el ensilaje. La calidad de las proteínas de un ensilaje normalmente es bajo, debido a los cambios sufridos por fermentaciones durante el almacenamiento (Dumont, 1994). El mismo autor menciona que niveles de 14% de proteína total son adecuados en la ración base, sin embargo, en la mayoría de los casos hay respuestas a la suplementación proteica sobre todo en animales de alta producción donde la proteína no degradable cobra gran importancia.

Según Klein (1994), en la fermentación del forraje la proteína es transformada mayoritariamente en nitrógeno no proteico (50% o más de la proteína total); además de la proteína verdadera restante es de alta solubilidad siendo rápidamente degradada en el rumen. Esto incide sobre la baja eficiencia con que la proteína del ensilaje (pradera y alfalfa) es usada para la síntesis microbiana siendo por lo tanto altamente probable que una ración compuesta mayoritariamente por ensilaje resulte en un aporte deficitario de proteína.

8. 4. Producción y composición láctea.

Es ampliamente reconocido que el manejo alimenticio de las vacas lecheras es uno de los factores que mayor incidencia tiene en la producción de leche; por lo que deben ser alimentadas según sus requerimientos nutritivos, los que varían de acuerdo a su peso vivo, nivel de producción y momento de lactancia en que se encuentran los animales. En relación a los factores que inciden en la composición de la leche, Latrille (1993), menciona los ligados al animal (estado de lactación, raza, estado sanitario, etc.) y los factores ambientales (alimentación, estación del año, etc.)

8. 4. 1. Producción de leche.

De las mediciones realizadas durante el ensayo, se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) para la producción de leche (Cuadro 5), siendo el tratamiento I y II los de más alta producción, en comparación al tratamiento III el que alcanzó la menor producción de leche. Las vacas hicieron su ingreso al ensayo, con una producción promedio de 23 litros para los animales del tratamiento I y II, y de 24 litros de leche para los animales del tratamiento III, y con una media de 77 días en leche para los tratamientos I y II y de 83 días para el tratamiento III. En el transcurso del ensayo la producción de leche disminuyó en 7,8, 7,4 y 9,9 litros promedios para los tratamientos I, II y III, respectivamente, alcanzando dentro del periodo de ensayo, los promedios presentados en el Cuadro 5.

La alimentación se basó principalmente en ensilaje de pradera de ballica con y sin hongo endófito; cortada en diferentes estados fenológicos, representando el ensilaje consumido por los animales de cada tratamiento un 82,3, 81,9 y 83,0 por ciento de la ración total en base materia seca, para los tratamientos I, II y III, respectivamente. El resto de la dieta consistió en una mezcla de granos, concentrados proteicos y sales minerales. Hay que hacer notar que la ración de cada tratamiento, no les permitió sostener la producción de leche con la que hicieron ingreso al ensayo, lo cual provocó la caída de la producción promedio de todos los tratamientos. Dentro de esto, otro factor que influyó en la producción de los animales fue la diferencia en el consumo de nutrientes totales debido al distinto aporte de proteína entregado en la dieta, para los diferentes tratamientos. Sin embargo, el objetivo del presente estudio fue medir el potencial productivo posterior al pico de la lactancia, con una dieta alta en forraje ($> 80\%$ b.m.s.) con el hongo endófito. Al respecto Campling (1970), cit. por Ekern y Vik-mo (1983), menciona que el potencial del forraje para sostener la producción de leche depende de varios factores, entre los cuales el consumo voluntario y el valor nutritivo por unidad de materia seca son los más prominentes. Según Klein (1994), es reconocido en forma generalizada, que el ensilaje de pradera como único alimento presenta limitantes que restringen su valor nutritivo para producciones de leche medias a altas en vacas lecheras.

Dos de los ensilajes utilizados en el ensayo fueron elaborados a inicios de noviembre (corte temprano) y el tercero a fines de noviembre (corte tardío), lo que hace que su composición química no sea semejante, disminuyendo su calidad en el corte más tardío, al disminuir en primera instancia su digestibilidad y porcentaje de proteína. Elizalde y Klein (1989), mencionan que la digestibilidad, como la proteína disminuyen a medida que avanza la madurez de la pradera, a la vez el rendimiento por corte va en aumento. Los mismos autores señalan que mientras avanza el estado de madurez de la pradera, aumenta el porcentaje de materia seca y hay una tendencia a aumentar el porcentaje de carbohidratos solubles que son necesarios para una buena fermentación. Lanuza (1989), señala que de la calidad del ensilaje dependerá el nivel de leche que puedan sostener las vacas. Según lo señalado, podemos comentar que los ensilajes de los tratamientos I y II, fueron los que presentaron valores de proteína y digestibilidad de mejor calidad, lo que se tradujo en un mayor consumo y por ende en una mayor producción en litros de leche, en comparación al tratamiento III del ensayo. Thomas y col. (1991), nos confirma esta mayor producción de los tratamientos I y II, mencionando que existe una respuesta positiva en el consumo de ensilaje y producción de leche cuando aumenta la digestibilidad del ensilaje.

Estos resultados son comparables con trabajos realizados en alimentación de vacas lecheras con una dieta basada principalmente en ensilaje de pradera, en los que se han tenido resultados similares. En Francia, Dulphy y col. (1981), concluyen de una serie de ensayos, que cuando los ensilajes de pradera se realizan adecuadamente, en un estado de corte temprano, con una digestibilidad de la materia orgánica superior a 70%, ellos han podido sustentar producciones de leche desde 10 a 17 kg. Castle y Watson (1976), señalan que ensilajes de pradera de alta digestibilidad y ofrecidos como único alimento a vacas en lactancia media, sostienen una producción promedio de 14,6 kg. de leche.

En este estudio se obtuvieron resultados semejantes, en donde las producciones de los tratamientos I, II y III fueron de 15,2, 15,7 y 13,1 Lts., lo que a su vez se relacionan positivamente con los promedios de digestibilidad de los ensilajes que fueron de 73,2%, 69,3% y 62,6%, para los tratamientos I, II y III respectivamente, teniendo los tratamientos I y II producciones similares de leche, en relación al tratamiento III, el cual obtuvo una menor producción.

La explicación a esta limitante de producción es mencionada por Klein (1994), quien analiza la producción de leche en vacas alimentadas con ensilaje, mencionando que el cambio en la fracción proteica del forraje debido al ensilado es trascendental. La consecuencia de estos cambios es que la mayor parte de la proteína (nitrógeno) esta disponible inmediatamente una vez que el ensilaje llega al rumen, señalando que los microorganismos simplemente no son capaces de reproducirse y crecer tan rápido como para poder utilizar el nitrógeno libre antes que este sea absorbido a través de las paredes ruminales, siendo posteriormente eliminado como urea en la leche y/o orina. De esta forma las bacterias pueden sufrir una falta de nitrógeno

cuando se suministra solo ensilaje, especialmente cuando en éste han ocurrido problemas fermentativos. Wittwer (1996), señala que es importante considerar que la excreción de nitrógeno representa un gasto en energía para el animal, por lo que este tendrá una deficiencia de aminoácidos para la síntesis láctea en la glándula mamaria y por otro lado las bacterias ruminales no degradarán la fibra del forraje y finalmente la producción de leche será varios litros menos al potencial productivo de las vacas (Klein, 1994).

En relación a la aceptación del alimento por parte de los animales, se describe que pasturas con hongo endófito presentan una menor palatabilidad y que al dar a escoger a los animales alimento con y sin endófito estos prefieren el que este libre del endófito (Comunicación personal, Dr. Francisco Lanuza). Esto nos hace pensar que la conducta de los animales podría ser similar al consumir ensilajes con y sin endófito.

La palatabilidad, es decir la respuesta perceptiva de un animal al alimento, depende del gusto, olor, sabor y textura (Baumgardt, 1970 cit. Ekern y Vick - mo, 1983), factores que según los mismos autores, han sido catalogados como una determinante para el consumo del alimento.

En este mismo sentido, los animales del tratamiento III, el cual presentó el menor consumo y por ende la menor producción de leche, en comparación con el tratamiento I, que tuvo un mayor consumo de ensilaje junto con el segundo valor mayor en producción de leche, podría argumentarse que hay dos factores que influyeron en las diferencias de consumo y producción, los cuales serían la calidad y palatabilidad del ensilaje. La calidad del forraje recibido por el tratamiento III presentaba una baja digestibilidad de 62,6%, relacionado este valor con su menor aporte de energía de 2,31 Mcal.EM/Kg.MS. Por otro lado, la menor palatabilidad del ensilaje puede ser atribuida a que provenía de una pradera de ballicas con hongo endófito y que al ser cosechado tardíamente tendría concentraciones de las toxinas del hongo en la parte superior de la planta, ya que se conoce que al iniciarse el estado reproductivo, las toxinas como el lolitrem B y la ergovalina se localizan en la inflorescencia, dentro de las semillas de la planta.

No existe en la literatura trabajos realizados en alimentación de vacas lecheras con dietas exclusivas de ensilaje de ballicas con endófitos, como el realizado en este ensayo experimental y su posible efecto en la salud de los animales con la consecuente presentación del "temblor de las ballicas". Sólo Clark y col. (1996), llevaron a cabo 2 experimentos en los cuales se utilizó ensilaje de ballica con endófitos, pero no como dieta base. El estudio consistió en determinar el efecto del consumo de praderas de ballicas con y sin trébol, siendo además suplementadas con ensilajes de ballicas con trébol blanco, en que ambos contenían niveles altos y bajos de endófito. El experimento 1 de este trabajo consistió en vacas que sólo consumían praderas de ballicas con bajo nivel de endófito, siendo la producción de leche al tercer día de un 6,9% más que las que consumían praderas de ballicas con alto nivel

de endófito y 4,1% más cuando se suplementa con ensilajes con bajo nivel de endófito respecto del nivel alto de endófito. El efecto se mantiene hasta el día 7 y 10 teniendo un 10,3% más de leche en vacas que consumieron praderas con bajo nivel de endófito. En un segundo experimento, cuando el trébol se incluía en las praderas en un nivel de entre un 17 - 25% no se observó efectos significativos del nivel de endófito en praderas y ensilajes, así como tampoco en las producciones y componentes de la leche. Estos autores concluyen que el endófito, tanto en praderas como en el ensilaje, puede tener un efecto transitorio en la producción de leche y de proteína durante el otoño, siendo el beneficio nutricional del trébol blanco para incrementar los sólidos es muy reducida por el endófito, tanto en dietas de praderas como de ensilaje.

8.4. 2. Composición láctea.

Al examinar los resultados del análisis de la leche, entregados por el laboratorio de calidad de leche del INIA-Carillanca, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para dos componentes, que fueron los sólidos no grasos y dentro de ellos la lactosa (cuadro 6). Los componentes de los sólidos no grasos son la lactosa, las proteínas y los minerales (Rolando, 1985).

Los componentes de la leche estuvieron dentro del rango de lo esperado a excepción de la proteína, la que en los tres tratamientos estuvo por debajo del promedio del rebaño INIA-Remehue, para los años 1997 - 2001, otorgado por el control lechero de Cooprinten, que alcanza un valor de 3,2% de proteína en la leche. Se describen otros valores de proteína para leche cruda, a nivel de silos de plantas lecheras para la X región, de un 3,32% (Pinto, 1998).

Como ya se mencionaba, los valores de los sólidos no grasos y dentro de ellos la lactosa, obtuvieron promedios similares para los tratamientos I y II, alcanzando el menor promedio en sólidos no grasos y lactosa, el tratamiento III, que si recordamos fue este tratamiento el que también alcanzó la menor producción de leche, siendo los tratamientos I y II similares en producción. Esta relación es importante, ya que como menciona Corbellini (1997), la lactosa es el componente menos variable dentro de los sólidos totales y que el volumen total de leche depende de su síntesis diaria por la glándula mamaria. Por lo tanto, este autor sostiene que los factores que modifican su tasa de formación afectan en definitiva la cantidad total de leche producida; indicando que los factores son dos, la alimentación, en lo referente al ingreso de energía en la dieta y la salud mamaria.

Según Ramírez (1994), los componentes lácteos en forma normal varían en concentración en la leche durante la lactancia. La lactosa después de alcanzar su

pico en los primeros días de la lactancia se estabiliza. Tanto las proteínas como la grasa láctea descienden el primer mes, posteriormente se estabilizan, para nuevamente aumentar su concentración al final de la lactancia.

A pesar de la diferencia significativa ($p < 0,05$) de la lactosa en la leche, los valores se encuentran dentro del rango de lo esperado en leche cruda, a nivel de silos de plantas de animales para la X Región, que van de 4,28 a 5,52% según Pinto (1998). A su vez Baechler (1995), menciona que la síntesis de lactosa puede reducirse en condiciones de subalimentación, especialmente cuando ocurren al inicio de la lactancia.

Si nos remitimos a los anexos 4, 5 y 6 podemos observar que los tres tratamientos presentan déficit de energía en la dieta, siendo el tratamiento III, el que alcanza el mayor déficit (3,64%, 2,26% y 16,16% para los tratamientos I, II y III respectivamente). Baechler (1995), menciona que lo anterior provoca un déficit de glucosa disponible en la circulación, en donde dos tercios son usados en la glándula mamaria para la síntesis de lactosa, aminoácidos y energía.

Los cambios en el porcentaje de sólidos no grasos de la leche se deben, fundamentalmente, a las modificaciones sufridas por su contenido proteico y que se deben en este caso a las modificaciones en la concentración de caseína. (Rolando, 1985). Según Ramírez (1994), los factores básicos que afectan la síntesis y concentración de proteína en leche, son relativamente poco conocidos y poco comprendidos; sin embargo, se han identificado algunas variables que afectan la concentración proteica de la leche. Así raciones deficitarias en energía deprimen la síntesis de proteína bacteriana en rumen lo que genera excedentes de amonio que no son usados en síntesis proteica. En estos casos, el desbalance se refleja por un aumento de la concentración de urea, junto con una disminución de la concentración de proteínas lácteas.

Los valores promedio de urea en leche para los animales pertenecientes a los tratamientos I, II y III fueron: 330 ± 80 mg/l, 340 ± 90 mg/l y 390 ± 110 mg/l respectivamente. Cabe mencionar que los valores de urea alcanzados por los tratamientos están dentro del rango de referencia señalado por Wittwer (1996). Los niveles de proteína en la leche para los tratamientos I, II y III alcanzan porcentajes menores a los señalados por el autor, lo que nos indicaría, según Nelson (1997) y Seglar (1997) cit. por Contreras (1998), un aporte deficitario de energía, ya que la concentración de la proteína cruda en la leche es dependiente directamente del aporte de energía de la dieta.

Según Miller (1979), cit., por Guarda (1996), el déficit proteico en la dieta de las vacas reduce su producción de leche, proteína y sólidos no grasos de la leche. También un bajo aporte de carbohidratos fermentables en el rumen, impedirá utilizar el amoniaco para la síntesis de proteínas de la flora ruminal (Santibañez y Pantoja, 1996) lo que determinará una reducción final de la proteína láctea.

Ramírez (1994), menciona que la síntesis de proteína requiere de un consumo de energía de una fuente de nitrógeno, que el nivel energético de la ración influye directamente en la síntesis de proteína de la leche y al faltar aminoácidos, la síntesis de proteína de la leche se detiene y con ella la de lactosa y por ende la producción de leche disminuye. Los autores Kirchgessner y col. (1967), cit. Oldham y Sutton (1983), concuerdan con lo mencionado anteriormente, concluyendo que deficiencias de energía reducen la proteína en la leche. Por otro lado, Kaufmann (1983), menciona como afectaría el consumo de energía al contenido de proteína en la leche y establece que la restricción de energía para la producción de proteína microbiana reduce la producción de proteína de la leche, además que, cuando se reduce el consumo de energía, la oxidación de las proteínas puede aumentar, de tal manera que las proteínas se utilizan más como nutriente productor de energía para compensar el déficit de energía, o para ahorrar glucosa de la oxidación, lo cual permitiría el mantenimiento, en lo posible, de la lactosa y por lo tanto de la producción de leche. En cualquier caso, menos aminoácidos estarían disponibles para la síntesis de proteínas de la leche.

Dentro de la misma temática, Reid y col. (1966), Lindsay y col. (1977), cit. por Kaufmann (1983), dicen que la producción y el contenido de proteína de la leche puede aumentar elevando el suministro de energía, dado que la utilización de la proteína corporal es muy limitada.

Ramírez (1994), señala, que si el aporte energético es deficiente no sólo disminuye la síntesis de proteína bacteriana; lo cual afecta el aporte aminoacídico, sino que también es utilizada como fuente de energía, disminuye aún más los precursores de proteína en la glándula mamaria. Por otra parte, en la síntesis de proteína, que ocurre en las células secretoras de la glándula mamaria, se necesita energía como activador de la reacción, siendo las fuentes más importantes el ácido acético y la glucosa, que se forma esencialmente de ácido propiónico.

En un estudio realizado por Tessmann y col. (1991), cit. por Latrille (1993), observaron una baja marcada en el porcentaje de proteína de la leche al aumentar el porcentaje de forrajes en la dieta. En donde las vacas que recibieron una dieta casi exclusivamente de forraje (98%) produjeron leche con solo 2,95% de proteína. Esto concuerda con los resultados de la proteína de la leche de los tratamientos I, II y III que fueron de 2,90%, 2,89% y 2,80% respectivamente. Teniendo su dieta base un porcentaje de forraje consumido de 82,28 %, 81,89 % y 82,96 % para los tratamientos I, II y III respectivamente. Ekern y Vick - mo (1983), también afirman que al utilizar sólo forraje generalmente se provoca una baja en la producción de leche y un balance energético aún más negativo.

En lo concerniente a la materia grasa de la leche de los tres tratamientos (Cuadro 6). Se puede explicar el menor porcentaje de materia grasa alcanzado por el tratamiento III, debido a la menor digestibilidad que presentaba el ensilaje, debido a su época de

corte tardío y por ende al mayor tiempo que demandaba a los animales en consumir su alimento. Esto queda demostrado en un estudio realizado por Grummer y col. (1987), cit. por Latrille (1993), en donde se demostró la importancia del forraje sobre la composición de la leche, enfatizando particularmente la importancia de la estructura física, así las vacas que gastaban más tiempo en masticar por Kg. de materia seca ingerida eran también las que tenían el menor porcentaje de materia grasa en leche. Otra razón es la mencionada por Latrille (1999), en donde una deficiencia de proteína en la ración puede bajar el consumo voluntario y deprimir la digestibilidad de la fibra y por esa razón afectar el porcentaje de grasa de la leche.

8.5. Peso vivo y condición corporal.

Las diferencias en los cambios de peso vivo y condición corporal no fueron significativos ($p < 0,05$), siendo los tres tratamientos similares para las dos variables, por lo que posiblemente la alimentación de un ensilaje con hongo endófito o la concentración de las toxinas no fue la suficiente para afectar el peso vivo y condición corporal de los animales.

En relación al peso vivo de los animales durante el ensayo, pertenecientes a los tres tratamientos, este fue disminuyendo gradualmente junto con la producción de leche. Así nos encontramos con una irregularidad en el comportamiento normal de la curva de peso, en donde el peso vivo va en aumento a mediados y finales de la lactancia (Anexo 10).

Siebold (1986), menciona que los animales experimentan gastos de energía extra debido especialmente a factores de clima (alta humedad y viento). Tanto el nivel de comodidad con que el animal es manejado y las condiciones adversas del clima, determinan una capacidad de respuesta de los animales especialmente en eficiencia de conversión. Si no están disponibles cantidades suficientes de alimento, el animal moviliza sus depósitos de energía, tales como la grasa y el músculo para mantener la temperatura corporal y por lo tanto pierde peso (Radostiits y col., 1994).

Señala Ramirez (1994), que como consecuencia inmediata a una subalimentación energética hay una baja en la producción con movilización de las reservas corporales del tejido graso de las vacas lecheras.

En cuanto al efecto del hongo endófito en animales que consumen praderas de ballicas con endófito, no se conoce si el efecto dominante de éste en el cambio del peso vivo se debe a un efecto directo de las toxinas en el animal, o es un efecto secundario en la reducción del consumo por baja palatabilidad o por una reducción del apetito vía efectos neuroquímicos (Fletcher, 1993). Tampoco se han llevado a cabo mediciones de consumo de forraje conservado de praderas de ballicas con y sin endófito, que permitan determinar efectos en el cambio del peso vivo de los animales

En otros ensayos se describen reducciones de la ganancia de peso vivo en animales que pastorean praderas de ballicas con endófito y en ausencia de la presentación clínica del temblor de las ballicas, sugiriendo un efecto directo de las toxinas sobre la ganancia de peso (Fletcher y col. 1984, Eerens y col. 1992, cit. por Fletcher, 1993). Se sabe de las mediciones de los alcaloides, que paxilina y peramina son los dos metabolitos más rápidamente translocables, y los más fuertemente correlacionados con cambios de peso vivo, aunque también ergovalina y lolitrem B se correlacionan significativamente (Fletcher y Sutherland 1993, cit. por Fletcher, 1993). Sin embargo, el mismo autor menciona que en casos severos del temblor de las ballicas, el consumo se reduce debido a la disminución de la habilidad de pastoreo, el que puede agregarse a los efectos tóxicos.

8.6. Consumo de alimentos.

El consumo voluntario de los ensilajes es uno de los factores fundamentales que determinan el valor nutritivo de los forrajes para producción de leche. Existen numerosos factores que lo afectan, agrupándose en aquellos inherentes al animal mismo (producción de leche, peso, gestación etc.); los que son propios del alimento (digestibilidad, materia seca, etc.), los de clima y finalmente aquellos de manejo en que el hombre influye (técnica de alimentación, suplementación con concentrados, forma física del alimento, tiempo de acceso, etc.). Para el caso de forrajes ensilados, se agrega además el proceso de fermentación, que puede ser determinante de la cantidad de ensilaje que las vacas consumen (Lanuzza, 1989). Bines (1983), por otro lado, considera que los factores más importantes que afectan el consumo del alimento en las vacas son el tamaño corporal y la producción de leche del animal, la composición y forma física de la dieta y el tiempo acceso al alimento.

Al análisis estadístico se presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) en donde el tratamiento III alcanzó un menor consumo de kg. /mv en relación a los tratamientos I y II que resultaron con consumos similares (cuadro 7). El consumo menor de materia seca, obtenido por las vacas del tratamiento III, se debe, a que el ensilaje consumido por los animales presenta un menor porcentaje de digestibilidad, según Ekern y Vikmo (1983), menciona que esto representa un reflejo de madurez de la planta, en donde los componentes estructurales, la fracción madura de la pared celular, son lentamente fermentados, permaneciendo más tiempo en retículo-rumen, disminuyendo el consumo voluntario de los animales. Los mismos autores afirman que el consumo de materia seca de ensilado está correlacionado positivamente con el contenido de materia seca, el cual aumenta con la madurez.

Los valores de los rechazos de ensilaje, para los tratamientos I, II y III fueron de 8,7%, 9,0% y 9,8% (Cuadro 8) respectivamente, lo que nos indica que la dieta fue ofrecida ad libitum a los animales. Estos valores de rechazo están dentro de los rangos mencionados por Wilson y Mc Carrick (1967), cit. por Minson (1990), que van de un 5% -10% del forraje ofrecido.

Las dietas correspondientes a cada uno de los tratamientos fueron formuladas y balanceadas inicialmente para suplir los requerimientos de mantención y producción de vacas de 550 kg. de peso vivo, con 23 lts. de producción promedio y con más de 60 días de lactancia, estado en que se encontraban las vacas a inicios del ensayo experimental. Cabe mencionar que una de las restricciones que imponía el balance de esta dieta era la inclusión no mayor de 3,0 kg. de MS de concentrados y sales minerales, que serviría para lograr un balance proteico entre las raciones y para maximizar el consumo del forraje conservado y de esta forma poder determinar las diferencias de nivel productivo que se provocarían entre los diferentes tratamientos.

Con esta formulación se pasó de una dieta alta en energía y proteína, con un potencial productivo sobre 23 litros a una dieta basada principalmente en forraje voluminoso, conteniendo sobre un 80% de forraje fresco, lo que limita naturalmente la ingesta total de materia seca y la concentración de nutrientes.

Elizalde (1994), menciona que en todos los sistemas de producción animal, el límite en el consumo de nutrientes está dado por el consumo voluntario que haga el animal. En el caso de los rumiantes, el uso de forrajes voluminosos está estrictamente limitado por aspectos del consumo voluntario.

La biología del consumo voluntario es compleja, pero está claro que interactúan factores relacionados con el animal, el alimento y el medio ambiente (Faverdin, 1985 cit. por Elizalde, 1994). En dietas constituidas principalmente por forrajes el consumo voluntario está limitado, en gran parte, por la capacidad del retículo - rumen y por la tasa de desaparición del forraje consumido en este órgano (Campling 1970, cit. por Ekern y Vik-mo, 1983).

Desmarquilly y Dulphy cit. por Gordon (1989), afirman que el consumo voluntario de ensilaje es menor al consumo del mismo forraje en fresco o en forma de heno. Los factores más importantes que determinan el nivel del consumo de materia seca son el peso vivo del animal, la digestibilidad de forraje, y para el caso de ensilajes, además afecta la calidad la fermentación y el tamaño de picado del material, (Wilkinson 1985, cit. por Siebald, 1994).

Desde el punto de vista del animal, existen factores fisiológicos que limitan el consumo de forraje, existiendo evidencias experimentales que indican que el consumo depende del volumen del forraje consumido y del efecto de llenado ejercido por las partículas del alimento presente en el retículo - rumen, influenciado por la tasa de degradación de la materia seca y la reducción en el tamaño de partícula por

los microorganismos del rumen. El volumen ocupado por el forraje esta determinado por el contenido de pared celular (Seoane y Gervais, cit. por Cuevas, 2000)

En resultados de varios ensayos con vacas en lactancia, Conrad y col. (1964), cit. por Ekern y Vik-mo (1983), observaron relaciones características entre valor nutritivo y consumo de dietas altas en forrajes conservados, en donde el consumo de materia seca digerible pareció estable a digestibilidades de la materia seca superiores a 67%, por debajo de ese nivel el consumo de materia seca evidentemente estuvo determinado por factores físicos asociados con el llenado y el espacio del tracto digestivo. Esto es comparable con lo que sucede con el tratamiento III, que teniendo una digestibilidad menor a los otros dos tratamientos, presentó un menor consumo y por ende una menor producción.

Como consideración final, se puede mencionar que en la actualidad en nuestro país, permanecen aún importantes aspectos por clarificar, en el conocimiento de las interacciones “ endófito - pasto - animal” sobre la salud del ganado y sobre los sistemas de producción de leche y carne bovina.

8.7. Conclusiones.

Bajo las condiciones del ensayo realizado y de acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que la hipótesis planteada se rechaza en atención a que:

La alimentación de vacas lecheras con ensilajes de praderas de ballicas con hongo endófito (*N.lolii*), no provocó la presentación clínica del síndrome tremorgénico correspondiente al cuadro denominado “temblor de las ballicas”.

La actividad sérica de las enzimas CK, GGT y AST, de los animales que consumieron ensilajes de ballicas con endófitos, estuvieron dentro de los rangos de referencia.

La producción y composición de la leche y el consumo del alimento en el grupo con ensilaje cosechado tardíamente se afectó probablemente por la menor calidad nutritiva de este.

El peso vivo y la condición corporal no se afectó por el consumo de los ensilajes de ballica con endófito.

9.- BIBLIOGRAFIA

- AGUILERA, A. 1990. Ficha Entomológica para la novena región de la Araucanía. *Listronotus bonariensis* (Kuschel). IPA Carillanca 9(2): 27-28.
- AGUILERA, A., G. MARÍN. 1994. El gorgojo o taladro del tallo de las ballicas en la IX región de la Araucanía. IPA Carillanca 13(2): 19-22.
- BAECHLER, E. 1995. Efecto de la nutrición - alimentación sobre la composición láctea. Seminario de leche bovina. Col. Med. Vet.de Chile. Osorno , Chile. pp. 122-150.
- BINES, J. 1983. Consumo voluntario de alimentos. Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster,h. AGT editor. México.
- BUTENDIECK, N., O. ROMERO, S. HAZARD, P. MARDONES., R. GALDAMES. 1994. Caída del consumo de producción de leche en vacas alimentadas con *Lolium perenne* con *Acremonium lolii*. Agricultura Técnica. (Chile) 54 (1): 1-6.
- CASTLE, M., J. WATSON. 1976. Silage and milk production. A comparison between barley and grundnut cake as supplements to silage of digestibility. J. Bri.Grass. Soc..31:191-195.
- CHEEKE, P. 1998. Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants. Daniville, illinois. 2nd ed. Interstate Publishers, Inc.
- CISTERNAS, E., A. TORRES. 1997. Gorgojo Argentino de las ballicas: Antecedentes biológicos daños e incidencias en praderas. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. INIA -Remehue, (Boletín Técnico 242).
- CISTERNAS, E. 1999. Gorgojo argentino de las ballicas. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Centro Regional de Investigación Remehue Serie Remehue N°74.(Boletín Informativo 7).
- CISTERNAS, E. 2001. Complejo Gorgojo de las Ballicas-Endófito, en la producción bovina. Seminario Praderas "Hacia un nuevo estilo productivo". INIA, Remehue. Osorno, Chile. (Serie Actas N° 9).
- CONTRERAS, P. 1998. Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. Arch. Med. Vet. 30(2)17-27.

- CORBELLINI, C. 1997. Parámetros de calidad de leche y factores que la modifican. Hoard's Dairyman, en español. pp. 39-41.
- CLARK, D., E. THOM, C. WAUGH. 1996. Milk production from pastures and pasture silage with different levels of endophyte infection. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production 56:292-296.
- CROSGROVE, G., C. ANDERSON, R. MAINLAND, C. UNDERS, D. HUME. 1993. Fungal endophyte level and strain effects on pasture and cattle live weight gain pp. 106-110. Proceedings of the second International Symposium on Acremonium/Grass Interactions.
- CROSGROVE, G., C. ANDERSON, T. BERQUIST. 1996. Fungal endophyte effects on intake, health and live weight gain of grazing cattle. Proceedings of the New Zealand grassland association 57:43-48.
- CUEVAS, E. 2000. Predicción del consumo de materia seca de vacas lecheras con alimentación basada en ensilajes de corte directo. Tesis Ing. Agr. Universidad Austral de Chile, Fac. Cien. Agra. Inst. Prod. Ani. Valdivia, Chile.
- DI MENNA, M., P. MORTIMER, R. PRESTIDGE, A. HAWKES, J. SPROSEN. 1992. Lolitrem B. concentrations, counts of Acremonium lolii hyphae, and the incidence of ryegrass staggers in lambs on plots of A.lolii – infected perennial ryegrass. N. Z. J. Agric. Res. 35:211-217.
- DUMONT, J. 1994. Análisis y composición química de los ensilajes. II Seminario "Producción y utilización de ensilajes de praderas para agricultores de la zona sur" INIA -Remehue, (Serie Remehue 52).
- DULPHY, J., C. DEMARQUILLAY, J. ANDRIEU. 1981. Intake of grass silage by dairy cows and its potential to meet requirements of maintenance and milk production feeding value. Proceedings of the XVI international grassland congress:held at Lexington, Kentucky, USA.edited by J. Allan Smith and Virgil W. Hays. Boulder, Colo. : Westview Press, 1983. pp.702-703.
- EASTON, H. 1999. A background to endophytes. Dairy Farming Annual. Ed. Massey University, N. Z. pp.17-28.
- EKERN, A., L. VIK-MO. 1983. Forrajes conservados como alimento para vacas lecheras. Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster, h. AGT editor. México.
- ELIZALDE, H., F. KLEIN. 1989. Elaboración de ensilajes de alta calidad. INIA - Remehue. (Boletín técnico 146).

- ELIZALDE, H. 1994. El valor nutritivo de los ensilajes. II Seminario "Producción y utilización de ensilajes de praderas para agricultores de la zona sur" INIA-Remehue, (Serie Remehue 52).
- FAMILTON, A., L. FLETCHER, D. POWNALL. 1995. Endophytic fungi in grasses and their effect on livestock. Proceedings 25th sheep and beef cattle seminar. Massey University, New Zealand. pp.160-173.
- FLETCHER, L., C. HARVEY. 1981. An association of a lolium endophyte with ryegrass staggers. N. Z. Vet. J. 29: 185-186.
- FLETCHER, L. 1993. Grazing ryegrass/endophyte associations and their effect on animal health and performance. Proceedings of the second international symposium on Acremonium /grass interactions. Ed. Hume, Latch & Easton. Palmerston North, N. Z. pp.115-120.
- FLETCHER, L., B. SUTHERLAND, C. FLETCHER. 1999. The impact of endophyte on the health and productivity of sheep grazing ryegrass-based pastures. Ryegrass Endophyte: an essential New Zealand symbiosis. Grassland Research and Practice series Nº 7 (69-75). Editors D.R. Woodfield and C. Matthew Published by New Zealand Grassland Association.
- GALDAMES, R. 1993. La presencia del hongo endófito, de la ballica. IPA Carillanca (Informe Técnico12).
- GALDAMES, R. 1995. El hongo endófito de la festuca, *Acremonium coenophialum* Morgan-Jones & Gams, y su incidencia en el sur de Chile. Agri. Téc., Chile 55 (1): 67-70.
- GALLAGHER, R., E. WHITE, P. MORTIMER. 1981. Ryegrass staggers; Isolation of potent neurotoxins lolitrem A and lolitrem B from staggers producing pastures. N.Z. Vet. 29: 189-190.
- GORDON, F. 1989. The principles of making and stoking high quality, high intake silage. Silage for milk production. Ed. Mayne, C.S. British Grassland Society.
- GUARDA, J. 1996. Relaciones entre producción, contenido de grasa, proteínas y sólidos totales de la leche de vaquillas y vacas suplementadas con concentrados de diferente contenido energético. Tesis M.V. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Valdivia, Chile.
- JANET, F. 1997. Significance of endophyte toxicoses and current practices in dealing with the problem in Australia and New Zealand *Neotyphodium* /Grass Interactions, edited by Bacon and Hill. Plenum Press, New York. pp.389-393.

- KEOGH, R., B. TAPPER , R. FLETCHER. 1996. Distributions of the fungal endophyte *Acremonium lolii* , and of the alkaloids lolitrem B and peramina, within perennial ryegrass. N. Z. Jour. Agr. Res. 39:121 -127.
- KLEIN, F., 1994. Utilización de ensilajes para vacas lecheras. II Seminario "Producción y utilización de ensilajes de praderas para agricultores de la zona sur" INIA -Remehue, (Serie Remehue 52).
- KAUFMANN, W. 1983. Utilización de la proteína.(69-83). Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster,h. AGT editor. México.
- LANE, G., B. TAPPER, E. DAVIES, D. HUME, G. LATCH, D. BARKER, H. EASTON, M. ROLSTON. 1997. Effect of growth condition on alcaloid concentrations in perennial ryegrass naturally infected with endophyte p.p. 179-182. Neotyphodium/Grass Interactions. Eds. Bacon, C.W., Hill, N.S.Plenum Press, New York & London.
- LANUZA, F. 1989. Estrategias de alimentación invernal del rebaño lechero. "Seminario aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. INIA - Remehue, (Serie Remehue 10).
- LANUZA, F., A. TORRES, E. CISTERNAS, C. URIBE, L. ANGULO, M. VILLAGRA . 1998. Efecto del consumo de praderas permanentes con ballica *Yatsyn 1* con y sin endófito *A.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de terneras en crecimiento a pastoreo. Resumen XXIII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán-Chile, INIA-Quilamapu. pp. 11-13.
- LANUZA, F., A. TORRES, E. CISTERNAS, C. URIBE, M. VILLAGRA. 1999. Efecto del consumo de praderas permanentes compuestas por ballicas *Yatsyn 1* con y sin endófito *N.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de vacas lecheras a pastoreo. Primera temporada. Resumen XXIV Reunión Anual SOCHIPA A.G., Temuco - Chile, Universidad Católica de Temuco. pp. 13-14.
- LANUZA, F., A.TORRES, E. CISTERNAS. 2000. El Endófito de las Ballicas y la Producción de leche. INIA Tierra Adentro.35:42-44.
- LANUZA, F. 2001. Complejo Gorgojo de las Ballicas - Endófito, en la producción bovina. Seminario Praderas "Hacia un nuevo estilo productivo". INIA - Remehue, Osorno, Chile. (Serie Actas 9).
- LATCH, G., M. CHRISTENSEN. 1982. Ryegrass endophyte, incidence and control. N. Z. Jour. Agric. Res. 25:443-448.

- LATCH, G., W. HUNT, D. MUSGRAVE. 1985. Endophytic fungi effect growth of perennial ryegrass. N. Z. Jour. Agric. Res. 28:165-168.
- LATRILLE, L., 1993. El valor nutritivo de la leche bovina y factores que alteran su composición. Producción animal. Universidad Austral de Chile. Fac. de Cien. Agra. Inst. de Prod. Ani. pp. 27 -56.
- LATRILLE, L., 1999. Calidad composicional de la leche. Producción Animal. Editor Luis Latrille U.A.CH. Fac. Cien. Agra. Inst. de Prod. Ani. pp. 215-236.
- NICHOLSON, S. 1989. Tremorgenic syndromes in livestock. Vet. Cli. of Nor. Ame. : Food Ani. Prac. 5(2): 291-300.
- MAY, B. 1993. Larvae of Curculionoidea (Insecta:Coleoptera):a sytematic overview. Number 28,Lincoln,cantebury, New Zealand. Fauna of New Zealand Ko te Aitanga Pepeke o Aotearoa 28:61 -62.
- MC DONALD, E. 1981. The biochemistry of silage. Edit. John Wiley y Sons. England.
- MC DONALD, P., A. HENDERSON, S. HERON. 1991. The biochemistry of silage. Chalcombe puplications. 2^o ed.
- MC CALLUM, D., N.TOMSON. 1994. The effect of dfferent perennial ryegrass cultivars on dairy animal performance. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production 54:87-90.
- MC LEAY, L., B. SMITH. 1999. Effects of the mycotoxins lolitrem B and paxiline on gastrointestinal smooth muscle, the cardiovascular and respiratory systems, and temperature in sheep. Ryegrass Endophyte: an essential New Zealand symbiosis. Grassland Research and Practice series N° 7 (6975). Editors D.R. Woodfield and C. Matthew Published by New Zealand Grassland Association.
- MINSON, D. 1990. Forage in rumiant nutrition.1ed. Academic Press,Inc. St. Lucia, Queensland, Australia.
- OLDHAM, J., J. SUTTON. 1983. Composición de la leche y la vaca de alta producción. Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Broster,h. AGT editor. México.
- PINTO, M., E. CARRASCO, B. FRASER, A. LETELIER, P. DÖRNER. 1998. Composición química de la leche cruda y sus variaciones a nivel de silos en plantas lecheras de la VII, IX y X Regiones de Chile. Parte I.

- Macrocomponentes. U. A. de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias Agrosur 26(2) 97-109.
- PORTER, J. 1995. Analysis of Endophyte Toxins: Fescue and Other Grasses Toxic to Livestock. *J. Anim. Sci.*73:871-880.
- PRADO, E. 1991. Artrópodos y sus enemigos naturales asociados a plantas cultivadas en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. (Boletín Técnico 169).
- PRESTIDGE, A., M. BARKER, P. POTTINGER. 1991. The economic cost of argentine stem weevil in pastures in New Zealand. *Proceedings 44th N.Z. Weed and Pest Control Conference.* pp.165 – 170.
- PRESTIDGE, A. 1993. Causes and control of perennial ryegrass staggers in new zealand. *Agric. Ecosystems Environ.*44:283-300.
- PRESTIDGE, A., E. THOM. 1994. Facts about endophyte. *Proceedings 46th Ruakura Farmers` s Conference.* pp: 54-59.
- RADOSTITS, O., D. BLOOD, C.GAY. 1994. *Veterinary Medicine.* 8° ed. Bailliere Tindall, London.
- RAMIREZ, C. 1994. Factores nutricionales y composición láctea. Seminario “ leche de calidad, tarea de todos” Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología. Chile. pp. 1-24.
- ROLANDO, R. 1985. Efecto de la alimentación sobre los componentes de la leche. Univ. de Chile. Fac. de Cienc. Agra. y Forest. Depart. de Produc. Ani. Circular de extensión 1).
- SANTIBAÑEZ, F., P. PANTOJA. 1996. Medición de urea en leche a través del control lechero. *Informativo Cooprinsem. (COOPRinforma 33).*
- SAS INSTITUTE INC. 1993. *Sas user`s guide. Statistics, Version 6.03 Edition.* SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SIEBALD, E., M. GOIC, F. ELIZALDE, K. MATZNER. 1986. Efecto del tipo de corral en la engorda de novillos. *Agricultura técnica , Chile, 46(2) :161-164.*
- SIEBALD, E. 1994. Utilización de ensilaje para producción de carne. II Seminario “ Producción y utilización de ensilajes de praderas para agricultores de la zona sur” (Serie Remehue 52).

- THOM, E., A. CLARK, A. PRESTIDGE, H. CLARKSON , D. WAUGH. 1994. Ryegrass endophyte cow health and milk solids production for the 1993/94 season. Proceedings of the N.Z. Grassland. Ass. 56:259-264.
- THOM, E., A. CLARK, D. WAUGH , J. MC CABE, T. VAN VUGHT, L. KOCH. 1997. Effects of ryegrass endophyte and different white clover levels in pasture on milk production from dairy cows .Proceedings of 3rd International Symposium on Neotyphodium/grass Interactions Eds. Bacon and Hill 443-445.
- THOMAS, C., A. REEVE, G. FISCHER. 1991. Milk from Grass. ICI- SAC- IGER. pp.112.
- TORRES, B. A. 1996. “Los endófitos (Acremonium sp) y su incidencia en la ganadería de la zona sur”. Prod. Animal 1996, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. pp.51-63.
- VALENTINE, B., D. BARSTH , D. CARROL. 1993. Production and composition of milk by dairy cattle grazing high and low endophyte cultivar of perennial ryegrass . Proceedings. of the 2th International Symposium of Acremonium/Grass Interactions : 138-141.
- WILDMAN, E., G. JONES, P. WAGNER , R. BOMAN. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. J. Dairy Sci. 65:495-501.
- WITTWER, F. 1996. Diagnósticos de desbalances de energía y proteínas mediante el análisis de muestras de leche y su impacto productivo en rebaños lecheros, 3er. Seminario, “Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche. (Serie Remehue 64).
- WITTWER, F. 2000. Valores Referenciales de constituyentes bioquímicos sanguíneos en animales domésticos. Laboratorio Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Valdivia ,Chile.

ANEXOS

Anexos 1, 2 y 3.- Balance de la dietas con el análisis composicional de los alimentos al inicio del ensayo.

Anexo 1.-

BALANCE DIETA TRATAMIENTO I									
Especificaciones	Nº partos	Días leche	Peso Vivo	Leche día	Grasa %				
Animal	3	77	550	23.0	3.5				
Requerimientos diarios	CONS. MS max. (kg)	PC (kg)	PND (kg)	EM (Mcal)	FDA min (%)	FC	Ca (gr)	P (gr)	Mg (gr)
Mantención		0.386		15.25			22.00	16.00	10.00
Producción		1.93		26.45			68.31	42.09	15.87
Corrección cambio peso				-2.3					
1. Total Requerimientos	16.69	2.32	0.868	39.40	21.00	17.00	90.31	58.09	25.87
Aportes de la dieta									
2. Aporte forrajes	12.60	1.97	0.37	32.00	4.65	4.85	68.04	34.02	20.16
3. Aporte suplemento	3.03	0.62	0.27	8.17	0.23	0.19	46.17	39.21	14.06
4. Total ración (2+3)	15.63	2.59	0.64	40.18	31.19	32.26	114.21	73.23	34.22
5. Diferencial (4-1)	-1.06	0.27	-0.23	0.78	10.19	15.26	23.90	15.14	8.35
Diferencial (%)	-6.34	11.79	-26.03	1.97	48.54	89.76	26.47	26.06	32.26

Anexo 2.-

BALANCE DIETA TRATAMIENTO II									
Especificaciones	Nº partos	Días leche	Peso Vivo	Leche día	Grasa %				
Animal	3	77	550	23.0	3.5				
Requerimientos diarios	CONS. MS max. (kg)	PC (kg)	PND (kg)	EM (Mcal)	FDA min (%)	FC	Ca (gr)	P (gr)	Mg (gr)
Mantención		0.386		15.25			22.00	16.00	10.00
Producción		1.93		26.45			68.31	42.09	15.87
Corrección cambio peso				-2.3					
1. Total Requerimientos	16.69	2.32	0.868	39.40	21.00	17.00	90.31	58.09	25.87
Aportes de la dieta									
2. Aporte forrajes	12.75	1.58	0.30	32.26	5.25	4.91	56.10	29.33	16.58
3. Aporte suplemento	3.06	0.98	0.40	8.20	0.26	0.21	56.75	48.80	15.99
4. Total ración (2+3)	15.81	2.56	0.70	40.46	34.88	32.41	112.85	78.13	32.57
5. Diferencial (4-1)	-0.88	0.25	-0.17	1.06	13.88	15.41	22.54	20.04	6.70
Diferencial (%)	-5.26	10.75	-19.29	2.69	66.11	90.67	24.96	34.50	25.88

Anexo 3.-

BALANCE DIETA TRATAMIENTO III									
Especificaciones	Nº partos	Días leche	Peso Vivo	Leche día	Grasa %				
Animal	3	77	550	23.0	3.5				
Requerimientos diarios	CONS. MS max. (kg)	PC (kg)	PND (kg)	EM (Mcal)	FDA min (%)	FC	Ca (gr)	P (gr)	Mg (gr)
Mantención		0.386		15.25			22.00	16.00	10.00
Producción		1.93		26.45			68.31	42.09	15.87
Corrección cambio peso				-2.3					
1. Total Requerimientos	16.69	2.32	0.868	39.40	21.00	17.00	90.31	58.09	25.87
Aportes de la dieta									
2. Aporte forrajes	13.73	1.54	0.35	31.57	6.18	5.52	67.25	39.80	35.69
3. Aporte suplemento	3.04	0.99	0.40	8.12	0.26	0.21	57.13	49.07	16.03
4. Total ración (2+3)	16.76	2.53	0.76	39.69	38.45	34.21	124.38	88.87	51.71
5. Diferencial (4-1)	0.07	0.22	-0.11	0.29	17.45	17.21	34.07	30.78	25.84
Diferencial (%)	0.43	9.31	-12.78	0.73	83.11	101.23	37.72	52.99	99.90

Anexos 4, 5 y 6.- Balance de las dietas con el análisis composicional de los alimentos a fines del ensayo.

Anexo 4.-

BALANCE DIETA TRATAMIENTO I									
Especificaciones	Nº partos	Días leche	Peso Vivo	Leche día	Grasa %				
Animal	3	77	550	23.0	3.5				
Requerimientos diarios	CONS. MS max. (kg)	PC (kg)	PND (kg)	EM (Mcal)	FDA min (%)	FC	Ca (gr)	P (gr)	Mg (gr)
Mantención		0.386		15.25			22.00	16.00	10.00
Producción		1.93		26.45			68.31	42.09	15.87
Corrección cambio peso				-2.3					
1. Total Requerimientos	16.69	2.32	0.868	39.40	21.00	17.00	90.31	58.09	25.87
Aportes de la dieta									
2. Aporte forrajes	11.78	1.72	0.33	29.80	4.35	4.54	58.88	34.15	18.84
3. Aporte suplemento	3.03	0.62	0.27	8.17	0.23	0.19	46.17	39.21	14.06
4. Total ración (2+3)	14.81	2.34	0.60	37.97	30.88	31.91	105.06	73.36	32.90
5. Diferencial (4-1)	-1.88	0.03	-0.27	-1.43	9.88	14.91	14.75	15.27	7.03
Diferencial (%)	-11.27	1.16	-31.42	-3.64	47.03	87.71	16.33	26.29	27.17

Anexo 5.

BALANCE DIETA TRATAMIENTO II									
Especificaciones	Nº partos	Días leche	Peso Vivo	Leche día	Grasa %				
Animal	3	77	550	23.0	3.5				
Requerimientos diarios	CONS. MS max. (kg)	PC (kg)	PND (kg)	EM (Mcal)	FDA min (%)	FC	Ca (gr)	P (gr)	Mg (gr)
Mantención		0.386		15.25			22.00	16.00	10.00
Producción		1.93		26.45			68.31	42.09	15.87
Corrección cambio peso				-2.3					
1. Total Requerimientos	16.69	2.32	0.868	39.40	21.00	17.00	90.31	58.09	25.87
Aportes de la dieta									
2. Aporte forrajes	11.33	1.56	0.30	30.13	4.67	4.36	55.50	30.58	16.99
3. Aporte suplemento	3.12	0.99	0.40	8.38	0.27	0.22	56.79	49.01	16.06
4. Total ración (2+3)	14.45	2.55	0.70	38.51	34.14	31.70	112.29	79.59	33.05
5. Diferencial (4-1)	-2.24	0.24	-0.17	-0.89	13.14	14.70	21.98	21.50	7.18
Diferencial (%)	-13.42	10.26	-19.30	-2.26	62.58	86.48	24.34	37.01	27.77

Anexo 6.

BALANCE DIETA TRATAMIENTO III									
Especificaciones	Nº partos	Días leche	Peso Vivo	Leche día	Grasa %				
Animal	3	77	550	23.0	3.5				
Requerimientos diarios	CONS. MS max. (kg)	PC (kg)	PND (kg)	EM (Mcal)	FDA min (%)	FC	Ca (gr)	P (gr)	Mg (gr)
Mantención		0.386		15.25			22.00	16.00	10.00
Producción		1.93		26.45			68.31	42.09	15.87
Corrección cambio peso				-2.3					
1. Total Requerimientos	16.69	2.32	0.868	39.40	21.00	17.00	90.31	58.09	25.87
Aportes de la dieta									
2. Aporte forrajes	10.76	1.03	0.24	24.86	4.85	4.33	55.96	30.13	19.37
3. Aporte suplemento	3.08	1.00	0.41	8.17	0.26	0.21	61.19	51.66	17.08
4. Total ración (2+3)	13.84	2.03	0.64	33.03	36.94	32.83	117.15	81.79	36.45
5. Diferencial (4-1)	-2.85	-0.28	-0.22	-6.37	15.94	15.83	26.84	23.70	10.58
Diferencial (%)	-17.08	-12.15	-25.80	-16.16	75.88	93.09	29.72	40.80	40.90

Anexo 7.- Análisis composicional de ensilajes de ballicas, con y sin hongo endófito utilizados en el balance de las raciones, para tres grupos de vacas estabuladas (Información aportada por el Laboratorio de Bromatología de la Estación Experimental - Remehue).

IDENTIFICACION	M.S. (%)	P.T. (%)	V "D" (%)	E.M. (Mcal/Kg)	EE (%)	pH	N-NH3 (% N2 Total)	P (%)	Ca (%)	Mg (%)
ENSILAJES										
S/E T- 1	16.8	15.6	69.7	2.54		4.19	9.3	0.27	0.54	0.16
C/E T- 2	17.0	12.4	69.3	2.53		3.94	10.4	0.23	0.44	0.13
C/E T- 3	17.7	11.1	62.8	2.32		4.31	10.3	0.27	0.54	0.19

Anexo 8.- Análisis composicional de ensilajes de ballicas, con y sin hongo endófito utilizados en la alimentación invernal, para tres grupos de vacas estabuladas (Información aportada por el Laboratorio de Bromatología de la Estación Experimental - Remehue).

	M.S. (%)	P.T. (%)	V "D" (%)	E.M. (Mcal/Kg)	EE (%)	pH	N-NH3 (% N2 Total)	P (%)	Ca (%)	Mg (%)
ENSILAJES										
S/E T- 1 Junio	15,5	13,5	70,2	2,56	-	4,26	4,7	0,29	0,54	0,18
S/E T- 1 Julio	16,8	14,9	69,9	2,55	-	4,47	6,0	0,34	0,58	0,19
S/E T- 1 Agosto	16,0	14,5	67,9	2,49	-	4,54	7,0	0,30	0,52	0,17
S/E T- 1 Septiembre	18,4	15,5	69,1	2,53	-	4,71	5,0	0,22	0,35	0,12
promedio	16,7	14,6	69,3	2,53	-	4,50	5,7	0,29	0,50	0,16
C/E T- 2 Junio	16,1	13,6	72,5	2,64	-	3,90	4,2	0,29	0,52	0,17
C/E T- 2 Julio	15,3	14,1	74,4	2,70	-	4,28	5,8	0,28	0,53	0,16
C/E T- 2 Agosto	16,3	14,2	73,2	2,66	-	4,28	7,6	0,30	0,58	0,18
C/E T- 2 Septiembre	17,5	13,5	72,5	2,64	-	4,22	6,7	0,22	0,35	0,11
promedio	16,3	13,8	73,2	2,66	-	4,17	6,1	0,27	0,49	0,15
C/E T- 3 Junio	18,5	9,9	61,9	2,29	-	4,34	4,4	0,29	0,57	0,20
C/E T- 3 Julio	19,0	9,1	63,7	2,35	-	4,38	5,5	0,25	0,53	0,18
C/E T- 3 Agosto	19,4	9,3	64,4	2,37	-	4,37	6,3	0,32	0,45	0,16
C/E T- 3 Septiembre	19,8	10,1	60,3	2,24	-	4,23	2,1	0,28	0,51	0,18
promedio	19,2	9,6	62,6	2,31	-	4,33	4,59	0,28	0,52	0,18
CONCENTRADOS										
Cebada Falla	87,6	10,9	81,5	2,93	2,1		-	-	-	-
Nucleo Proteico	87,9	41,0	80,0	2,88	4,1		-	-	-	-

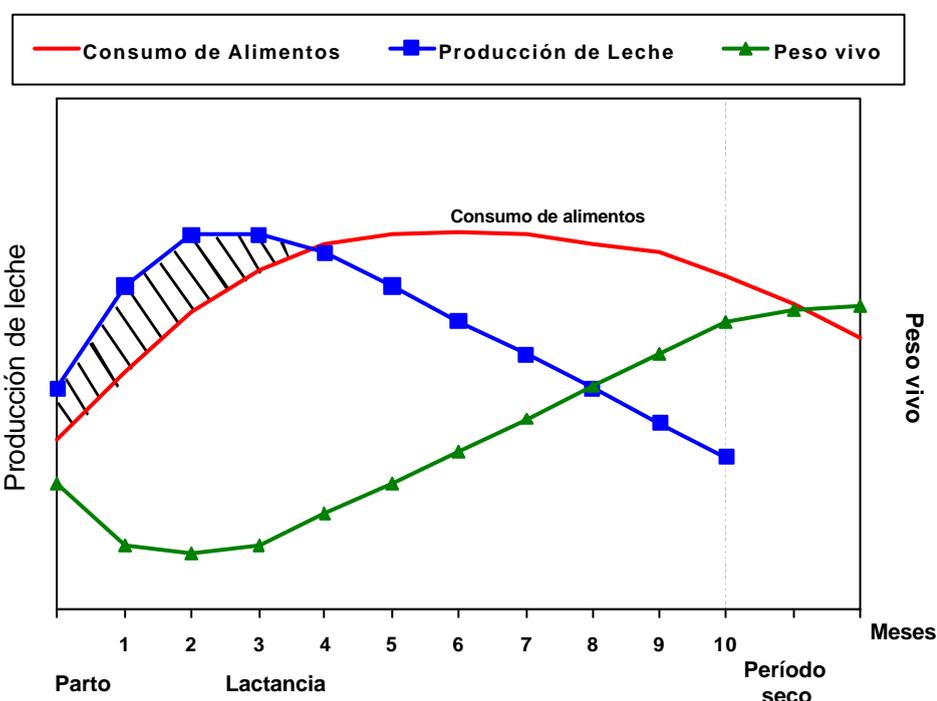
Anexo 9.- Composición química de ensilajes de ballica con y sin trébol de la zona sur según dos fuentes .

	MS (%)	PT (%)	E. Metab. Mcal/Kg.MS	PH	N – NH3 (% del Total)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)
E. Ballica/ Trébol (a)	20,0	11,2	2,47	5,30	-	-	-	-
n =	4	4	1	2	-	-	-	-
E. Ballica (b)	23,0	12,1	2,35	4,02	8,9	0,72	0,25	0,21
n =	51	51	50	41	48	19	19	14

(a) Composición de alimentos para el ganado en la zona sur. UACH - FIA

(b) Laboratorio Bromatología Estación Experimental Remehue

Anexo 10.- Curva de evolución del consumo de alimentos, peso vivo y producción de leche en un ciclo normal de vacas lecheras.



Balance energía	Negativo	Equilibrio	Positivo	Equilibrio
-----------------	----------	------------	----------	------------

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme fuerzas para cumplir otra meta en mi vida.

A mi profesor patrocinante, DR. Oscar Araya, por su apoyo y sus conocimientos entregados, por su buena disposición, dedicación y por su participación en mi formación como profesional.

Durante el desarrollo de la presente tesis realizada en el INIA-Remehue, Osorno, he recibido el apoyo de numerosas personas a las que quisiera expresar aquí mi gratitud, así como a la Institución por facilitarme las condiciones para desarrollar este trabajo.

A él DR. Francisco Lanuza, copatrocinante y Director del proyecto, por su colaboración y apoyo entregado, por sus ideas y experiencias compartidas.

A mi profesor colaborador, DR. Héctor Uribe, por su ayuda y participación en forma importante en el diseño experimental y en el posterior análisis estadístico.

A Carlos Uribe, por su participación en el desarrollo experimental, por su colaboración en la elaboración de este trabajo, por sus consejos, por su ayuda, por su apoyo y por su Amistad.

Al personal de la lechería, por su buena disposición y colaboración, que me facilitó el desarrollo de la parte experimental del trabajo.

A Paulo, mi pololo por su aliento y comprensión.

A mis tres hermosas sobrinas, ya que muchas de las horas aquí invertidas se las he robado a ellas.

A mi Familia y amigos, por su interés en el desarrollo de la tesis.

A mí mamá Ester, por su cariño, preocupación y buenos deseos en las actividades que realizo.

Hago extensivo mi mas sincero agradecimiento a todas aquellas personas que me brindaron su ayuda, en las muchas particularidades del trabajo realizado.

Finalmente, estas últimas palabras de la tesis quiero dedicarlas a MAMÁ y PAPÁ, a quienes DIOS me ha dado la gracia de tenerlos, por su amor, por sus consejos y palabras de aliento, por sus cuidados y desvelos, por ser padres bondadosos, por enseñarme a luchar, por estar siempre a mi lado, por ser modelos en mi vida, por su preocupación durante el desarrollo de este trabajo, que DIOS los bendiga y proteja, los quiere su nenita.

NELLY.