UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA DE GRADUADOS



Estimación de la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Magister en Ciencias, mención Producción Animal.

Sergio Andrés Berndt Riffo

Valdivia - Chile 2005

Rubén Pulido F. Med. Vet., Mg. Sci., Ph. D. Instituto de Ciencia Animal y Tecnología de Carnes Facultad de Ciencias Veterinarias **PROFESOR COPATROCINANTE:** Daniel Alomar C. Ing. Agr., Mg. Sci. Instituto de Producción Animal Facultad de Ciencias Agrarias PROFESOR INFORMANTE: René Anrique G. Ing. Agr., Mg. Sci., Ph. D. Instituto de Producción Animal

PROFESOR PATROCINANTE:

Valdivia, Fecha del Examen de Grado: 28 de Abril de 2005.

Facultad de Ciencias Agrarias

DECLARACION

Yo, Sergio Andrés Berndt Riffo, declaro que soy el autor del presente trabajo, que lo he realizado en su integridad y no lo he publicado para obtener otros Grados o Títulos.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mí gratitud a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en el desarrollo de la presente Tesis:

A mí profesor patrocinante, Sr. Rubén Pulido, por la preocupación y constante apoyo, por su buena disposición y la confianza depositada en mí.

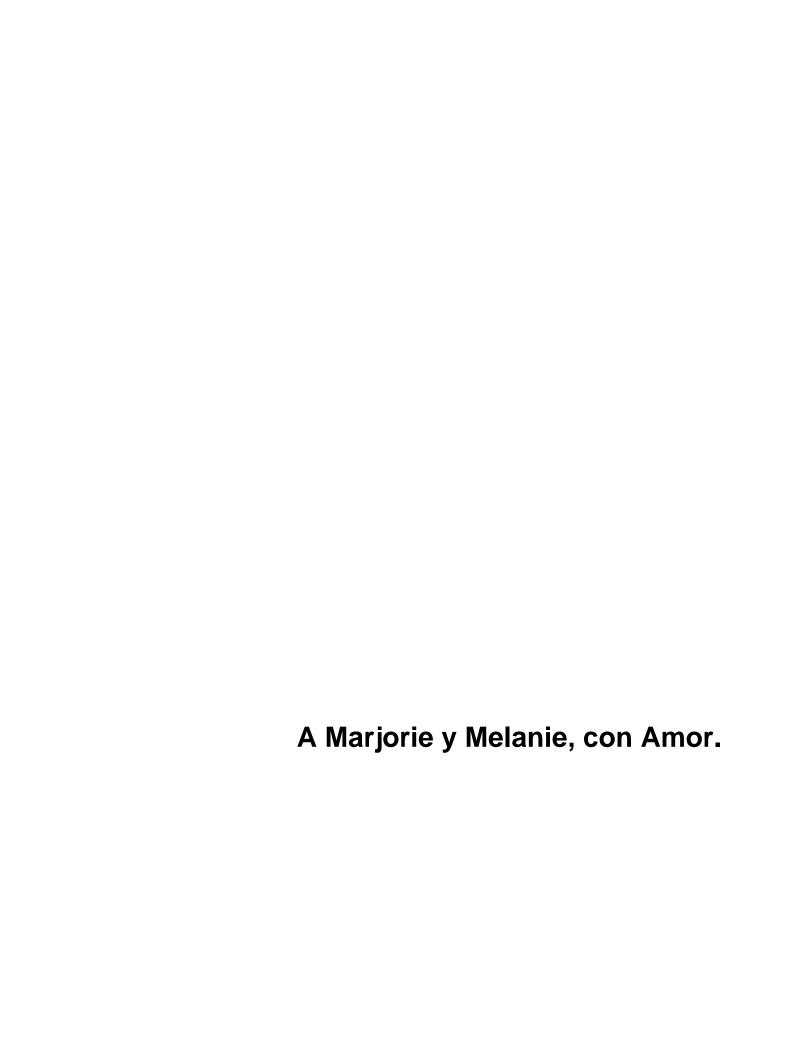
A mí profesor copatrocinante, Sr. Daniel Alomar, y a mí profesor informante, Sr. René Anrique, por los valiosos aportes hechos en la revisión de la Tesis, por todo lo compartido en las numerosas ayudantías realizadas en conjunto, y especialmente por su amistad.

Al Sr. Oscar Balocchi, por la rapidez en la corrección de forma del escrito, y por todos los consejos y el apoyo brindado durante estos años de estudio.

Al FONDECYT, por aportar los recursos para el desarrollo experimental de mí Tesis.

A NESTLE Chile, por entregarme la Beca que me permitió realizar el Programa de Magister en Ciencias mención Producción Animal.

A todos los docentes de la Universidad Austral de Chile que participaron en mí formación académica, por entregarme con generosidad las herramientas para continuar desarrollando la enseñanza e investigación en producción animal, para el progreso de nuestra patria.



INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
1	INTRODUCCION	1
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1	Descripción de la producción de leche en la zona sur	3
2.2	Nutrición de vacas lecheras en pastoreo	4
2.3	Metodologías para la estimación de la síntesis de proteína	
	microbiana en rumiantes	9
2.4	Síntesis de proteína microbiana ruminal	10
2.4.1	Generación de proteína microbiana	10
2.4.2	Metabolismo de los derivados de purina	11
2.4.3	Aporte endógeno a la excreción de derivados de purina	13
2.4.4	Metodología de estimación de la excreción de derivados de	
	purina	14
3	MATERIAL Y METODO	15
3.1	Financiamiento de la Tesis	15
3.2	Ubicación geográfica	15
3.3	Trabajo experimental	15
3.3.1	Materiales	15
3.3.1.1	Animales	15
3.3.1.2	Pradera	16
3.3.1.3	Concentrados	16
3.3.1.4	Materiales para la manipulación del concentrado	17

Capítulo		Página
3.3.1.5	Agua y sales minerales	17
3.3.1.6	Materiales para la toma de muestras de orina	17
3.3.1.7	Balanza para medir el peso vivo del ganado	17
3.3.1.8	Condiciones meteorológicas	17
3.3.2	Metodología	17
3.3.2.1	Esquema de trabajo	17
3.3.2.2	Consumo de materia seca	19
3.3.2.3	Manejo del pastoreo	20
3.3.2.4	Control de peso vivo y condición corporal de las vacas	20
3.3.2.5	Toma de muestras de pradera y de concentrados	21
3.3.2.6	Análisis químicos de muestras de pradera y concentrados	21
3.3.2.7	Toma de muestras de orina	22
3.3.2.8	Análisis químicos de las muestras de orina	23
3.3.2.9	Cálculos hechos a partir de los análisis de muestras de orina	23
3.3.2.9.1	Estimación de la excreción diaria de derivados de purina	23
3.3.2.9.2	Concentración de derivados de purina en la muestra de orina	24
3.3.2.9.3	Cuantificación de la excreción diaria de derivados de purina	24
3.3.2.9.4	Indice purínico	25
3.3.2.9.5	Estimación de la absorción diaria de purinas	25
3.3.2.9.6	Aporte de nitrógeno microbiano	26
3.3.2.9.7	Rendimiento microbiano	26
3.3.2.9.8	Proteína microbiana total	26
3.3.2.9.9	Proteína microbiana digestible	27
3.3.2.10	Diseño experimental	27
3.3.2.11	Análisis estadístico	27
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	31
4.1	Composición nutricional de los alimentos	31

Capítulo		Página
4.1.1	Pradera	31
4.1.2	Concentrados	33
4.2	Medición de parámetros generales	34
4.2.1	Consumo de materia seca	34
4.2.2	Cambio de peso vivo y condición corporal	36
4.3	Excreción de derivados de purina	36
4.3.1	Medición de la excreción de alantoína y ácido úrico	36
4.3.2	Excreción diaria de derivados de purina y purinas absorbidas	37
4.3.3	Indice purínico	37
4.4	Metabolismo del nitrógeno a nivel ruminal	38
4.4.1	Nitrógeno microbiano y rendimiento microbiano	38
4.5	Síntesis de proteína microbiana en el rumen	38
4.5.1	Proteína microbiana total y proteína microbiana digestible	38
4.6	Análisis de los resultados obtenidos respecto a la síntesis de	
	proteína microbiana ruminal	39
4.7	Variaciones entre parámetros estimados a través del tiempo	42
5	CONCLUSIONES	47
6	RESUMEN	48
7	SUMMARY	50
8	BIBLIOGRAFIA	52
	ANEXOS	79

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Indicadores globales de la importancia de la zona sur en	
	producción de leche (% del total nacional)	3
2	Características de las vacas seleccionadas al inicio del trabajo)
	experimental	16
3	Criterios para la formación de los grupos de vacas al inicio del	
	trabajo experimental	18
4	Análisis químicos en muestras de pradera y concentrados	22
5	Composición química promedio de la pradera utilizada, base	
	materia seca	31
6	Composición botánica de la pradera utilizada (%)	32
7	Precipitaciones y temperaturas ambientales durante el período)
	experimental y valores históricos (promedios)	32
8	Composición química de los concentrados utilizados, base	
	materia seca	33
9	Excreción de alantoína y ácido úrico, medidas en vacas	
	lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación	
	con concentrado	36
10	Excreción de derivados de purina y estimación de la absorción	1
	diaria de purinas, medidas en vacas lecheras en pastoreo	
	primaveral, con y sin suplementación con concentrado	37
11	Indice purínico, medido en vacas lecheras en pastoreo	
	primaveral, con v sin suplementación con concentrado	37

Cuadro		Página
12	Producción de nitrógeno microbiano y rendimiento microbiano,	
	estimados en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin	
	suplementación con concentrado	38
13	Proteína microbiana total y proteína microbiana digestible,	
	estimadas en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin	
	suplementación con concentrado	39

INDICE DE GRAFICOS

Grafico	P	agına
1	Promedio y desviación estándar del rendimiento microbiano,	
	estimado a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo	
	primaveral, con y sin suplementación con concentrado	44
2	Promedio y desviación estándar de la producción de proteína	
	microbiana total, estimada a través del tiempo, en vacas lechera	S
	en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con	
	concentrado	45
3	Promedio y desviación estándar de la producción de proteína	
	microbiana digestible, estimada a través del tiempo, en vacas	
	lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación	
	con concentrado	46

INDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina	
1	Producción de materia seca de una pradera de la zona sur	4	
2	Variación de proteína y energía en una pradera de la zona sur	. 5	

INDICE DE ANEXOS

Anexo	Pá	gina
1	Consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TSP	80
2	Consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TCA	80
3	Consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TCF	81
4	Promedio y desviación estándar de la excreción diaria de	
	alantoína (A), medida en diferentes períodos de tiempo,	
	en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin	
	suplementación con concentrado	82
5	Promedio y desviación estándar de la excreción diaria de ácido	
	úrico (AU), medida en diferentes períodos de tiempo, en	
	vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación	
	con concentrado	83
6	Promedio y desviación estándar de la excreción diaria de derivad	os
	de purina (DPE), medida en diferentes períodos de tiempo, en	
	vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación	
	con concentrado	84
7	Promedio y desviación estándar de la estimación de la	
	absorción diaria de purinas (PA), medida en diferentes períodos	
	de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con	
	y sin suplementación con concentrado	85
8	Promedio y desviación estándar del índice purínico (IP), medido	
	en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en	
	pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado	86

Anexo	Pa	ágina
9	Promedio y desviación estándar del aporte diario de	
	nitrógeno microbiano (NM), medido en diferentes períodos de	
	tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con	
	y sin suplementación con concentrado	87
10	Excreción diaria de alantoína, medida en diferentes períodos	
	de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral,	
	con y sin suplementación con concentrado (mmol/día)	88
11	Excreción diaria de ácido úrico, medida en diferentes períodos	
	de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin	
	suplementación con concentrado (mmol/día)	88
12	Excreción diaria de derivados de purina, medida en diferentes	
	períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral,	
	con y sin suplementación con concentrado (mmol/día)	88
13	Estimación de la absorción diaria de purinas, medida en	
	diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo	
	primaveral, con y sin suplementación con concentrado (mmol/día	a) 89
14	Indice purínico, medido en diferentes períodos de tiempo, en vac	as
	lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con	
	concentrado	89
15	Aporte diario de nitrógeno microbiano, medido en diferentes	
	períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral,	
	con y sin suplementación con concentrado (g/día)	89
16	Rendimiento microbiano, estimado a través del tiempo, en vacas	
	lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con	
	concentrado (g NM/kg MS Ingerida)	90
17	Producción de proteína microbiana total, estimada a través del	
	tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin	
	suplementación con concentrado (g/día)	90

Anexo	Р	ágina
18	Producción de proteína microbiana digestible, estimada a través	
	del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con	
	y sin suplementación con concentrado (g/día)	90

1 INTRODUCCION

En la zona sur de Chile el tipo de explotación ganadera más relevante corresponde a la producción de leche. Solamente en la Décima Región se encuentran las mayores cantidades de productores y de vacas lecheras, además de la mayor superficie agrícola destinada a éste rubro pecuario, siendo la Región que más leche le aporta al país.

La producción láctea de la zona sur se sustenta mayoritariamente en la utilización y aprovechamiento adecuado de praderas de tipo permanente. La estacionalidad de la producción pratense hace imprescindible el desarrollo de estrategias de alimentación que permitan potenciar el uso eficiente de éste recurso como fuente principal de nutrientes.

El avance genético de los planteles lecheros ha hecho imprescindible racionalizar las técnicas de alimentación, para cumplir con requerimientos nutricionales cada vez más elevados. Dentro de dicho escenario es de primordial importancia poder generar raciones balanceadas en forma óptima para aportar, en cantidad y calidad suficiente, los nutrientes requeridos.

En lecherías con vacas de alta producción, basadas en el pastoreo de praderas permanentes, tradicionalmente se ha considerado a la energía como la principal limitante para la producción. Sin embargo en la actualidad se ha comenzado a revisar esta postura, bajo antecedentes de que si bien la proteína cruda y/o el nitrógeno total de la dieta no son limitantes, sí lo podría ser el contenido de proteína generada por los microorganismos ruminales, por su importancia como aportadores de aminoácidos esenciales para la vaca lechera.

Por consiguiente, es de gran relevancia poder generar información acerca de la producción de proteína microbiana, y analizar su relación con la nutrición de vacas lecheras, ya sea en pastoreo exclusivo, ó con aportes de suplementos de tipo concentrados energéticos, para así poder tener una visión más completa y documentada respecto de éste tema de notoria importancia productiva y económica.

Considerando los antecedentes previamente mencionados se proponen la siguiente hipótesis y objetivos:

Hipótesis:

 La suplementación con concentrados energéticos, basados en almidón o en fibra digestible, no incrementa la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras en pastoreo primaveral.

Objetivos:

Evaluar el efecto de la suplementación con concentrados energéticos de diferentes fuentes de carbohidratos (base almidón o base fibra digestible), en vacas lecheras en pastoreo primaveral, sobre:

- La síntesis de proteína microbiana total (PMCT).
- La síntesis de proteína microbiana digestible (PMCD).
- El rendimiento microbiano (RM).

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Descripción de la producción de leche en la zona sur.

La zona sur es el área de mayor importancia en cuanto a producción láctea, concentrando el 77% de la producción nacional, generada por el 88% de los productores del país (ANRIQUE, 1999). En el Cuadro 1 se aprecia la relevancia de dicha zona dentro del territorio nacional respecto a éste rubro pecuario, el cual, según RUIZ (1997) y KLEIN (1998), se ha transformado en un proceso productivo cada vez más intensivo y competitivo.

CUADRO 1 Indicadores globales de la importancia de la zona sur en producción de leche (% del total nacional).

	X Región	IX Región	Total zona sur
Productores	81	7	88
Vacas	62	12	74
Producción	64	13	77
Superficie	67	13	80

FUENTE: ANRIQUE (1999).

Debido a las condiciones climáticas imperantes en el sur de Chile, existe una marcada estacionalidad en la producción de las praderas permanentes, donde la mayor cantidad de forraje se obtiene en primavera, representando hasta un 50-60% del total anual. Esta situación se aprecia en la Figura 1. Dichas praderas son el principal recurso alimenticio de la ganadería presente en la zona (PICHARD, 1993; KLEIN, 1995; RUIZ, 1996; TEUBER y DUMONT, 1996; AGUILA, 1997 y BALOCCHI, 1999).

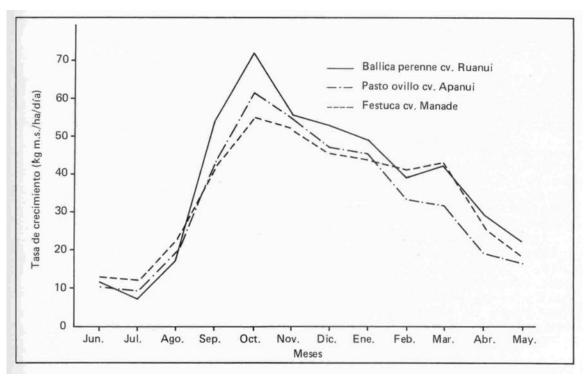


FIGURA 1 Producción de materia seca de una pradera de la zona sur.

FUENTE: TEUBER (1996).

En la zona sur, las explotaciones lecheras basan la alimentación del ganado en el pastoreo directo de las praderas (BECK y PESSOT, 1992; BALOCCHI, 1999 y PULIDO et al., 2001), debido a que esta metodología representa el costo más barato de alimentar a las vacas, indistinto de su nivel productivo (BALOCCHI, 1999 y PULIDO et al., 1999).

2.2 Nutrición de vacas lecheras en pastoreo.

Cuando se pretende maximizar la producción de leche de vacas en pastoreo se deben considerar dos factores importantes: el contenido nutricional de la pradera y su disponibilidad (HODGSON, 1995 y WILKINS, 2000).

El valor de la pradera como alimento se evalúa con la relación entre el consumo efectivo de materia seca y los nutrientes contenidos en ésta (PARSONS y CHAPMAN, 1998; STEHR, 1998 y BEEVER <u>et al.</u>, 2000).

Según señalan LEAVER (1985); MINSON (1990); SATTER <u>et al.</u> (1999); TAMMINGA y HOF (2000) y BEEVER y SHINGFIELD (2003), el aporte de nutrientes de una pradera puede ser extremadamente variable, y así lo corroboran ANRIQUE y BALOCCHI (1993) y ANRIQUE <u>et al.</u> (1995), para la realidad nacional. La proteína y energía son las principales limitantes desde el punto de vista productivo, debido a su marcada estacionalidad a través del año (Figura 2).

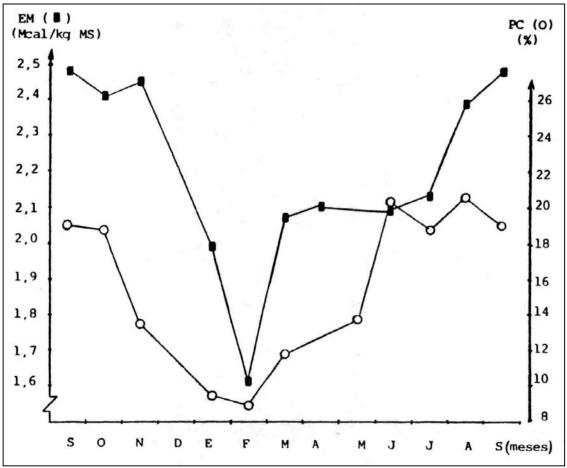


FIGURA 2 Variación de proteína y energía en una pradera de la zona sur. FUENTE: ANRIQUE y BALOCCHI (1993) y ANRIQUE et al. (1995).

Las praderas permanentes del sur de Chile se caracterizan por tener una alta proporción de gramíneas y bajos contenidos de leguminosas (ALOMAR, 1992 y BALOCCHI y OLIVARES, 1992). En estas mismas praderas, cuando el manejo es el adecuado, se pueden alcanzar, en la primavera, niveles de proteína cruda de sobre 18-20% y valores de energía metabolizable de entre 2,5-2,6 Mcal/kg MS (ANRIQUE et al., 1995).

En primavera, la producción de leche de vacas que pastorean en forma exclusiva, puede generar resultados muy variables (BULL, 2001a), de entre 20-25 kg de leche/vaca/día (BECK y PESSOT, 1992), hasta 30 ó más kg de leche/vaca/día (MULLER, 1999), pero hay que considerar dichos valores con cautela, ya que la producción láctea en éste período está altamente influenciada por muchos factores y sus combinaciones, como la disponibilidad de forraje por animal, la calidad de éste, así como el potencial genético del rebaño (JENNINGS y HOLMES, 1984; LEAVER, 1985; PEYRAUD et al., 1997 y BULL, 2001a).

MULLER (1999), señala que considerando la variabilidad composicional botánica y la estacionalidad presente en las praderas de tipo permanente, es difícil poder satisfacer las necesidades nutricionales de vacas lecheras de alta producción solo con pastoreo, porque ellas requieren dietas muy bien balanceadas para satisfacer sus requerimientos diarios, los cuales son, en base a materia seca: 16-18% de proteína cruda, sobre 35% de carbohidratos no estructurales y una concentración energética de aproximadamente 2,8-2,9 Mcal de energía metabolizable por kg de materia seca consumida.

Como complemento al uso directo de la pradera permanente existen numerosas alternativas de recursos forrajeros, como cultivos suplementarios, henos y ensilajes (AGUILA, 1997 y BALOCCHI, 1999), que pueden apoyar estratégicamente la producción láctea (KLEIN, 1998).

ALOMAR (1999), describe para lecherías del país una gran cantidad de recursos no forrajeros y sus principales aportes nutricionales, entre los que se encuentran los empleados en el presente trabajo experimental: grano de cebada (energético), coseta seca de remolacha (energético), afrecho de soja (proteico) y melaza (energético).

ANRIQUE (1988); ANRIQUE (1989); PULIDO (1999); PULIDO et al. (1999); HUNTINGTON (2001a); HUNTINGTON (2001b) y PULIDO et al. (2001), indican que dentro de los recursos no forrajeros surge la alternativa de utilizar algún suplemento energético, basado en carbohidratos no estructurales (almidón), fibra altamente digestible (coseta de remolacha), ó bajo condiciones muy controladas, algunos tipos de grasas, que puedan mejorar la utilización de los contenidos elevados y altamente degradables de proteína de las praderas primaverales.

Es un hecho conocido que en vacas lecheras que pastorean en primavera, la suplementación con concentrados energéticos, de diferentes orígenes, no siempre genera el efecto esperado sobre la producción láctea, lo cual sugiere que la energía no sería el único factor limitante, y que el contenido de carbohidratos (estructurales y no estructurales), el nivel de materia seca, y la cantidad y calidad de la proteína presente, también participarían, en conjunto y de manera preponderante, en la nutrición del ganado lechero bajo dichas condiciones (LANUZA, 1996; LATRILLE, 1996; PEYRAUD <u>et al., 1997; CLARK y KANNEGANTI, 1998; MULLER, 1999 y MAYNE et al., 2000</u>).

Además, es sabido que la proteína cruda del forraje no limitaría *per se* la producción de leche (puede exceder a 25% en praderas tiernas primaverales), pero sí podría estar influyendo fuertemente a la sincronización a nivel ruminal de proteína y energía, afectando la producción de proteína de origen microbiano (ANRIQUE, 1990; ANRIQUE, 1993; MOORE y HATFIELD,

1994; PATERSON <u>et al.</u>, 1994; REARTE, 1997; AFRC, 1998; MULLER y FALES, 1998; BARGO <u>et al.</u>, 2002 y AGUILERA, 2003).

Las praderas permanentes primaverales poseen proteínas que son altamente degradables en el rumen (70-80%), así una buena sincronización con la energía es fundamental para poder aprovechar este nitrógeno disponible, en la generación maximizada, en cantidad y calidad, de proteína microbiana (WEBSTER, 1993; AFRC, 1996 y HVELPLUND y WEISBJERG, 2000).

La sincronización de proteína y energía es importante, porque permite convertir proteínas de la pradera, generalmente de baja o mediana calidad, o nitrógeno no proteico, en proteína microbiana de mejor calidad aminoacídica, aunque esta situación no siempre ocurre (ARAMBEL <u>et al., 1982; CLARK et al., 1992; WEBSTER, 1993; OLDHAM, 1994; VAN SOEST, 1994; AFRC, 1996; OLDHAM, 1996 y DEWHURST et al., 2000).</u>

Como lo comentan ARRIAGA-JORDAN y HOLMES (1986); CLARK et al. (1992); DOVE (1996); FIRKINS (1996); FICK y CLARK (1998); DEWHURST et al. (2000) y MORRISON (2000), aun quedan importantes interrogantes respecto a la nutrición del ganado lechero en pastoreo. Por ejemplo, cómo, cuándo y con qué alimentos suplementar, para lograr maximizar la síntesis de proteína microbiana a nivel ruminal. Se debe poner énfasis en el tipo de carbohidrato entregado y la forma como éste aporta su energía. Incluso se puede plantear que en determinados casos la suplementación no sería necesaria ó no generaría beneficios manifiestos, respecto del pastoreo exclusivo en praderas de alta calidad.

2.3 Metodologías para la estimación de la síntesis de proteína microbiana en rumiantes.

Existen diversas metodologías para lograr estimar la composición químico-nutricional, calidad y metabolismo interno de las proteínas contenidas en los alimentos consumidos por rumiantes (ORSKOV y MACLEOD, 1982a; BRODERICK, 1994; BEEVER, 1996; BRODERICK y COCHRAN, 2000; CHERNEY, 2000; GIVENS <u>et al.</u>, 2000; TAMMINGA y CHEN, 2000 y BULL, 2001b).

Las técnicas que utilizan animales vivos posibilitan la medición de la proteína microbiana producida a nivel ruminal, lo que permite calcular cuál es la producción de proteína microbiana efectiva (WEBSTER, 1992 y AFRC, 1996) y además, se puede ponderar cuánto es el pasaje ruminal de proteína no degradada desde los alimentos de la dieta al intestino (SANTOS et al., 1998).

Para determinar la proteína microbiana se pueden utilizar diversos métodos, que emplean marcadores microbianos (BRODERICK y MERCHEN, 1992), y que normalmente son complicados y poco concordantes con la preocupación actual por el bienestar animal, destacando el uso de cánulas postruminales y de animales fistulados (MILLER, 1982; COCHRAN y GALYEAN, 1994; WEISS, 1994; VAGNONI <u>et al.</u>, 1997; NOZIERE y MICHALET-DOREAU, 2000; ORSKOV, 2000; PULIDO y LEAVER, 2000 y TAMMINGA y CHEN, 2000).

Como una alternativa de gran precisión y utilidad, no invasiva, éticamente adecuada y concordante con los derechos de los animales, se ha desarrollado el método de la cuantificación diaria de la excreción urinaria de los derivados de purina (creatinina, ácido úrico y alantoína), los que permiten calcular la producción de proteína microbiana por fórmulas que emplean dichas cuantificaciones (VERCOE, 1976; ANTONIEWICZ y PISULEWSKI, 1982; ZINN

y OWENS, 1986; FUJIHARA <u>et al.</u>, 1987; CHEN <u>et al.</u>, 1990a; CHEN <u>et al.</u>, 1990b; CHEN <u>et al.</u>, 1990c; BALCELLS <u>et al.</u>, 1991; CHEN y GOMES, 1992; SUSMEL <u>et al.</u>, 1994; PEREZ <u>et al.</u>, 1996; GONDA y LINDBERG, 1997; SHINGFIELD y OFFER, 1998a; KAHN y NOLAN, 2000 y TAMMINGA y CHEN, 2000).

Esta metodología es recomendada por numerosos autores, que la han utilizado con un alto nivel de confiabilidad y repetitividad en diversos experimentos, ya sea con colección total de orina o a través de la toma de muestras puntuales, en diferentes especies de rumiantes, especialmente bovinos y ovinos (VERBIC <u>et al.</u>, 1990; FAICHNEY <u>et al.</u>, 1995; SHINGFIELD y OFFER, 1998b; NSAHLAI <u>et al.</u>, 2000 y TIMMERMANS <u>et al.</u>, 2000).

2.4 Síntesis de proteína microbiana ruminal.

2.4.1 Generación de proteína microbiana. Como lo indican AFRC (1996) y OLDHAM (1996), la proteína metabolizable se define como el total de proteína verdadera digestible (aminoácidos) utilizable por el ganado lechero para su metabolismo, después de la digestión y absorción del alimento en el tracto digestivo. Posee dos componentes: proteína verdadera microbiana digestible (sintetizada por los microorganismos del rumen) y proteína del alimento que no fue degradada a nivel ruminal pero sí es digestible en el intestino delgado.

La síntesis de proteína microbiana en el rumen se ve afectada por numerosos factores de los alimentos y de los animales. Es conocido que el tipo y cantidad de nutrientes utilizables de la ración, así como la sincronización de la liberación de dichos nutrientes en el rumen, afectan a la magnitud de la síntesis microbiana. Actualmente es muy dificil o imposible poder cuantificar a cabalidad todos estos efectos, pero sí se pueden considerar algunos factores relevantes (AFRC, 1996): (a) el aporte de energía a los microorganismos; (b) el aporte de

nitrógeno a los microorganismos; (c) el nivel de alimentación de los animales; y (d) el ritmo de paso del alimento por el rumen, determinado por el nivel de alimentación.

La proteína microbiana se genera de la actividad de los microorganismos ruminales, los cuales la sintetizan utilizando la energía fermentable que se encuentra presente en los alimentos consumidos, junto con los aminoácidos y/o nitrógeno no proteico, producto de la degradación de las proteínas dietarias (WEBSTER, 1992 y AFRC, 1996). Representa la fuente proteica más importante para el metabolismo de la vaca lechera (WEBSTER, 1993).

Según WEBSTER (1992) y AFRC (1996), de la proteína microbiana total (PMCT), un 25% se transforma en ácidos nucleicos, los cuales no pueden ser aprovechados como fuente alimentaria para los rumiantes. Así, solo un 75% de la PMCT corresponde a proteína microbiana verdadera, y de ésta solo un 85% es digestible a nivel intestinal. Por consiguiente, un 63,75% de la PMCT es realmente digestible y corresponde a la proteína microbiana digestible (PMCD).

La población microbiana ruminal provee una considerable cantidad de aminoácidos, entre el 50-59% del total de todos los que llegan a estar disponibles para ser absorbidos en el intestino delgado. Así, es determinante poder comprender y controlar la síntesis microbiana de proteína, como una forma de optimizar los sistemas lecheros actuales (MERCHEN y BOURQUIN, 1994; STERN et al., 1994; DIJKSTRA et al., 1998; OLDICK et al., 1999 y DEWHURST et al., 2000).

2.4.2 Metabolismo de los derivados de purina. En rumiantes, los derivados de purina excretados en la orina se producen de la degradación de bases

púricas, las que principalmente son de origen exógeno, y solo una pequeña fracción es endógena (MCALLAN y SMITH, 1973).

Los derivados de purina de origen exógeno provienen mayoritariamente de la degradación de bases púricas, a nivel hepático e intestinal, de ácidos nucleicos de los microorganismos ruminales absorbidos (SMITH y MCALLAN, 1970; MCALLAN y SMITH, 1973 y VERBIC et al., 1990). Además, solo una reducida fracción de derivados de purina exógenos proviene de bases púricas del alimento (MCALLAN y SMITH, 1973; CHEN et al., 1990b y VERBIC et al., 1990).

Por su parte, los derivados de purina de origen endógeno provienen de purinas catalizadas en todas las zonas tisulares del organismo animal (MCALLAN y SMITH, 1973 y VERBIC <u>et al.</u>, 1990).

SHINGFIELD y OFFER (1998b), indican que la excreción de derivados urinarios de purina se ha propuesto como un índice del aporte de proteínas de los microorganismos ruminales hacia el intestino delgado, y citan a Topps y Elliot (1965), como los pioneros de dicha metodología.

El uso de la técnica de la excreción de derivados urinarios de purina asume que las purinas que llegan al duodeno son esencialmente de origen microbiano (SHINGFIELD y OFFER, 1998b), con las excepciones señaladas por MCALLAN y SMITH (1973); CHEN <u>et al.</u> (1990b) y VERBIC <u>et al.</u> (1990).

Este método considera que los derivados de purina son un conjunto de sustancias químicas (alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina), que cuantitativamente pueden ser recuperados en la orina (FUJIHARA <u>et al., 1987; CHEN et al., 1990b; SUSMEL et al., 1994 y SHINGFIELD y OFFER, 1998b).</u>

Dicha excreción de estos compuestos en la orina, se relaciona cuantitativamente con la cantidad de purinas absorbidas, y por consiguiente con la cantidad de proteína microbiana que está siendo absorbida por el rumiante (CHEN et al., 1990b). En la orina de bovinos se han encontrado solamente alantoína y ácido úrico, correspondiendo a la alantoína ampliamente el mayor volumen de excreción (MCALLAN y SMITH, 1973; FUJIHARA et al., 1987 y CHEN et al., 1990b).

Se ha demostrado que la excreción diaria de derivados de purina está directamente relacionada con las purinas exógenas (CHEN et al., 1990a; VERBIC et al., 1990 y BALCELLS et al., 1991) y que los ácidos nucleicos dietarios no aportan su presencia por ser degradados en el fluido ruminal (SMITH y MCALLAN, 1970). Así mismo, CHEN et al. (1990b) y VERBIC et al. (1990), han determinado que la excreción de derivados de purina está linealmente correlacionada con la proteína microbiana y la absorción diaria está directamente relacionada con la excreción diaria.

SHINGFIELD y OFFER (1998b), han identificado que existen varias posibles fuentes de error en el método de los derivados de purina, debido a variaciones en: (a) contenido de purina de los microorganismos ruminales, (b) purinas del alimento que escapan a la degradación ruminal, (c) excreción endógena de derivados de purina y (d) distribución variable de derivados de purina entre distintos órganos corporales, como la glándula mamaria, hígado y tracto digestivo.

2.4.3 Aporte endógeno a la excreción de derivados de purina. La fracción endógena se origina en los ácidos nucleicos a nivel tisular. Su valor no es comparable entre especies (CHEN <u>et al.</u>, 1990b y ORELLANA <u>et al.</u>, 2001), ni dentro de una misma especie (LIANG <u>et al.</u>, 2004), y no se maneja suficiente

información como para saber si está afectada por el nivel productivo y/o por el estado fisiológico de los animales (GONZALEZ-RONQUILLO et al., 2003).

Según indican CHEN <u>et al</u>. (1992a), la excreción endógena está relacionada con el peso metabólico del ganado. Así, cuando éste se ve incrementado, también genera similar efecto en dicha excreción endógena.

En bovinos se ha estimado que la excreción endógena de derivados de purina es de 385 micromoles por kg de peso metabólico al día (μ mol/kg PV^{0,75}), y se sugiere que el coeficiente de recuperación de los derivados de purina endógenos es de 0,85 considerando que la recolección nunca es completa, porque hay pérdidas por diferentes vías metabólicas (VERBIC <u>et al.</u>, 1990).

2.4.4 Metodología de estimación de la excreción de derivados de purina. La metodología, de terreno, laboratorio y de cálculos secuenciales vía fórmulas, se explica detalladamente, y apoyada por la correspondiente bibliografía, en el Material y Método del presente trabajo de Tesis.

3 MATERIAL Y METODO

3.1 Financiamiento de la Tesis.

La presente Tesis se desarrolló como parte del proyecto Fondecyt Nº1030331.

3.2 Ubicación geográfica.

La parte experimental se realizó en la estación experimental "Vista Alegre" de la Universidad Austral de Chile, ubicada a 6 kilómetros al norte de la ciudad de Valdivia, Provincia de Valdivia, Décima Región, Chile. Geográficamente el predio se localiza entre los paralelos 39º47`46`` y 39º48`54`` de latitud sur y los meridianos 73º13`13`` y 73º12`24`` de longitud oeste, a una altura promedio de doce metros sobre el nivel del mar.

3.3 Trabajo experimental.

El ensayo tuvo una duración de 45 días, realizándose entre el 22 de septiembre y el 5 de noviembre del año 2003.

3.3.1 Materiales.

3.3.1.1 Animales. Se utilizaron 27 vacas lecheras multíparas, del genotipo Frisón Negro Chileno, seleccionadas de los rebaños de los predios "Santa Rosa", "Vista Alegre" y "Punahue", pertenecientes a la Universidad Austral de Chile. Los criterios para su selección dentro de dichos rebaños fueron la época

de parto (primavera), número de lactancias, producción de leche, peso vivo y días en lactancia al inicio del período experimental, como se ve en el Cuadro 2.

CUADRO 2 Características de las vacas seleccionadas al inicio del trabajo experimental.

Variable	Promedio	d.e.*
Días en lactancia	61	15
Número de lactancias	3,83	1,83
Producción de leche (l/día)	29,36	3,68
Peso vivo (kg)	512,2	50,8

^{*} d.e. = desviación estándar del promedio.

3.3.1.2 Pradera. Se emplearon 8,5 hectáreas de pradera permanente mejorada (siete potreros de aproximadamente 1,2 há cada uno). Esta superficie se subdividió según los tratamientos, con cerco eléctrico, para realizar un pastoreo rotativo en franjas. Las mediciones de disponibilidad de pradera se realizaron con un plato medidor de praderas marca Jenquip® (filip`s folding plate pasture meter, New Zealand).

La distancia del área de pastoreo respecto de la sala de ordeño correspondió a aproximadamente 600 metros.

- 3.3.1.3 Concentrados. Se utilizaron dos tipos de concentrados, ambos peletizados, con similar composición química base materia seca (energía metabolizable = 3,1 Mcal/Kg MS y proteína cruda = 11,5%), pero con diferentes tipos de fuente de carbohidratos (almidón y fibra digestible respectivamente):
- Concentrado base almidón (CA): 2% de melaza, 5% de afrecho de soja y 93% de grano de cebada.
- Concentrado base fibra (CF): 2% de melaza, 11,5% de afrecho de soja y 86.5% de coseta seca de remolacha.

3.3.1.4 Materiales para la manipulación del concentrado. Balanza electrónica de alta sensibilidad (con seis decimales); bolsas plásticas y lápiz de tinta para la identificación de las bolsas.

3.3.1.5 Agua y sales minerales. Se suministró agua en los potreros de pastoreo y en el corral de espera de la sala de ordeño, a libre disposición. De similar forma se ofrecieron las sales minerales (VETERSAL®, Vaca Lechera de Alta Producción, Veterquímica S.A.).

3.3.1.6 Materiales para la toma de muestras de orina. Se usaron frascos plásticos estériles, de 100 ml, para la recolección vulvar directa de orina y frascos plásticos estériles, de 30 ml, para almacenar la orina recolectada, los cuales contenían 1 ml de ácido sulfúrico (en solución al 10%).

3.3.1.7 Balanza para medir el peso vivo del ganado. El peso vivo se midió individualmente para cada vaca, con una balanza mecánica para 1.500 kg, con una sensibilidad mínima de 1 kg.

3.3.1.8 Condiciones meteorológicas. La Estación Meteorológica Isla Teja, del Instituto de Geociencias, perteneciente a la Universidad Austral de Chile, proporcionó la información del nivel de pluviometría y de las temperaturas promedio durante todo el período experimental.

3.3.2 Metodología.

3.3.2.1 Esquema de trabajo.

Tratamientos:

Tratamiento solo pastoreo (TSP): vacas en pastoreo, sin consumo de concentrado.

- Tratamiento pastoreo más CA (**TCA**): vacas en pastoreo, con un consumo del CA de 6 kg/día, parcializado en dos partes iguales (3 kg/ordeño).
- ➤ Tratamiento pastoreo más CF (**TCF**): vacas en pastoreo, con un consumo del CF de 6 kg/día, parcializado en dos partes iguales (3 kg/ordeño).

Período:

Período continuo de tiempo de 45 días: desde el 22 de septiembre hasta el 5 de noviembre del año 2003.

Subdivisión del período:

- Etapa pre-experimental (día 1 al 10): período de adaptación a la dieta.
- Etapa experimental (día 11 al 45): período en que se hicieron mediciones y se tomaron las muestras.

Grupos de vacas:

Al inicio del experimento se generaron tres grupos de nueve vacas cada uno. Los criterios empleados para la formación de los grupos fueron: producción láctea, número de lactancias, peso vivo y días postparto, todos evaluados al inicio del ensayo (Cuadro 3).

CUADRO 3 Criterios para la formación de los grupos de vacas al inicio del trabajo experimental.

Variable	TSP		TCA		TCF	
	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
Producción láctea inicial (I/día)	28,8	3,70	27,9	4,10	31,3	2,55
Número de lactancias	3,22	1,99	3,56	1,33	4,56	2,01
Peso vivo (kg)	512,4	45,7	510,0	56,5	514,1	55,7
Días postparto al inicio del ensayo	67	15,7	58	11,5	61	17,4

3.3.2.2 Consumo de materia seca. La estimación del consumo de materia seca la realizó HINOSTROZA (2004), utilizando óxido de cromo como marcador indigestible.

Según HINOSTROZA (2004), las vacas, a través de un aparato lanza bolos, se les introdujo individualmente una cápsula de liberación controlada de óxido de cromo, una sola vez durante el ensayo, siendo entregados 1,7 g/día. Transcurridos siete días del suministro de las cápsulas se realizó semanalmente la recolección de muestras fecales frescas, directamente del recto, en forma manual, después de cada ordeño (dos muestras/vaca/día). Dichas muestras fueron congeladas y luego analizadas químicamente (RYMER, 2000).

El consumo individual de forraje se midió mediante la técnica de producción fecal/digestibilidad de la dieta, según la metodología propuesta y descrita por LE DU y PENNING (1982). Aquí se emplearon las siguientes fórmulas:

Producción Fecal (kg/día) = (Cromo total liberado, en g/día)/(Cromo en las fecas, en g/kg) (3,1)

Consumo de MS (kg/día) = (Producción Fecal, en kg/día)/(1-Digestibilidad de la dieta) (3,2)

La digestibilidad se midió a través de la metodología propuesta por Tilley y Terry (1963), citados por GOERING y VAN SOEST (1972), denominada digestibilidad *in vitro* con uso de licor ruminal.

El consumo de concentrado se midió por la diferencia entre lo entregado menos lo no consumido (rechazos y/o pérdidas).

3.3.2.3 Manejo del pastoreo. Las vacas del ensayo se mantuvieron separadas en grupos de pastoreo según tratamiento, en una superficie variable de acuerdo a la disponibilidad de pradera requerida por cada animal. Para ello se utilizó un cerco eléctrico móvil, el cual se adecuó según el crecimiento de la pradera para generar franjas que permitieran tener una disponibilidad de 35 kg MS/vaca/día (HODGSON, 1990 y HODGSON, 1998).

La disponibilidad de pradera, al ingresar y salir de cada franja, se ponderó utilizando un plato medidor de praderas marca Jenquip® (filip`s folding plate pasture meter, New Zealand), el cual mide la relación entre la altura y densidad de la cubierta pratense (HODGSON, 1990).

Se realizaron, cada dos a tres días, una serie de mediciones en zigzag con el plato en el sector postpastoreado y prepastoreado de la superficie asignada a las vacas de cada tratamiento, para obtener la cantidad de materia seca en kg que quedó como residuo en el sector recién terminado de pastorear y para determinar la cantidad de pradera en kg a ofrecer en la franja siguiente, respectivamente. En cada caso se realizaron entre 100 y 150 mediciones con el plato, y la ecuación de calibración del instrumento se fue modificando según el nivel de crecimiento de la pradera (PEYRAUD y COMERON, 1997).

El ancho de cada franja se adaptó al crecimiento pratense, con alturas de residuo iguales o superiores a 10 cm, para que dichas alturas no limitaran las posibilidades reales físicas de consumo del ganado (HODGSON, 1990).

Cada franja se pastoreó, en la práctica, por un período de aproximadamente doce horas.

3.3.2.4 Control de peso vivo y condición corporal de las vacas. El peso vivo fue determinado una vez por semana, después del ordeño de la mañana, durante

todo el ensayo. Conjuntamente se midió la condición corporal, en escala de puntaje de 0 a 5 (emaciada a obesa, respectivamente) según la metodología para bovinos descrita por Lowman et al. (1976), citados por ALOMAR (1994).

3.3.2.5 Toma de muestras de pradera y de concentrados. La pradera, para ser analizada químicamente, fue muestreada al azar, semanalmente, durante todo el ensayo. Los cortes se efectuaron a ras de suelo. Además, se realizó un corte simulando la altura de talaje realizado por el ganado, al cual se le denominó "pradera consumida".

La caracterización de la composición botánica de la pradera se realizó obteniendo cuatro muestras de 0,5 m² en cada uno de los potreros del ensayo. Aquí se cortó, en cada caso, el material vegetal aéreo a ras de suelo. Posteriormente se separaron las especies de las muestras en gramíneas forrajeras, leguminosas forrajeras y malezas (principalmente especies de hoja ancha). Luego estas se secaron separadamente en un horno, a 60°C por 48 horas, para obtener la materia seca parcial. Finalmente, se pesaron las tres categorías separadas y se midió su contribución según el peso de la materia seca aportada por cada una al total.

En el caso de los concentrados, estos se muestrearon separadamente y al azar, desde varios sacos diferentes, para generar una sola muestra compuesta final, del experimento completo, para cada uno de ellos.

3.3.2.6 Análisis químicos de muestras de pradera y concentrados. A la pradera y concentrados se les realizaron diversos análisis, en el Laboratorio de Nutrición del Instituto de Producción Animal, perteneciente a la Universidad Austral de Chile, los cuales se detallan en el Cuadro 4.

CUADRO 4 Análisis químicos en muestras de pradera y concentrados.

Parámetro	Unidad	Método	Referencia
Materia seca	%	Horno de ventilación forzada a 60°C	ASSOCIATION
(MS)		por 48 horas y estufa a 105°C por 12	OF OFFICIAL
		horas	ANALYTICAL
			CHEMISTS
			(AOAC) (1996)
Cenizas totales	% de MS	Calcinación en mufla a 550-600°C por	AOAC (1996)
(CT)		5 horas	
Proteína cruda (PC)	% de MS	Micro Kjeldhal (nitrógeno * 6,25)	BATEMAN (1970)
Fibra cruda (FC)	% de MS	Digestión ácida y alcalina	AOAC (1996)
Fibra detergente ácido	% de MS	Digestión con detergente ácido	AOAC (1996)
(FDA)			
Fibra detergente neutro	% de MS	Digestión con detergente neutro	VAN SOEST <u>et</u>
(FDN)			<u>al</u> . (1991)
Valor "D"	% de MOD	Digestibilidad in vitro con licor ruminal	GOERING y VAN
	en MS	(Tilley y Terry, 1963 modificado)	SOEST (1972)
Energía metabolizable	Mcal/kg de	Regresión a partir del valor "D"	GARRIDO y
(EM)	MS	(EM = 0,279 + 0,0325 * D%)	MANN (1981)
Extracto etéreo (EE)	% de MS	Análisis proximal	AOAC (1970)

3.3.2.7 Toma de muestras de orina. Durante toda la etapa experimental, semanalmente se eligieron tres días consecutivos, en los cuales se tomaron dos muestras de orina/vaca/día. Esto se efectuó después de cada rutina de ordeño.

Se procedió a lavar el genital externo de cada vaca y luego se realizó una estimulación directa de la vulva y de la región perineal, para provocar el reflejo de la micción. Los primeros chorros se obviaron, por posible contaminación. La orina obtenida en recipientes estériles fue traspasada a frascos de plástico también estériles, utilizando jeringas nuevas, generando una mezcla de 9 ml de orina con 1 ml de ácido sulfúrico (en solución al 10%). Luego las muestras fueron congeladas y almacenadas en un freezer, a -20°C.

El objetivo de utilizar 1 ml de ácido sulfúrico, en solución al 10%, es el de mantener el pH de la orina en valores inferiores a 3,0 y evitar la proliferación de agentes bacterianos potencialmente destructores de los derivados de purina presentes en cada muestra recolectada (AGRICULTURAL DEVELOPMENT AND ADVISORY SERVICE, 1985; BALCELLS <u>et al.</u>, 1992 y CHEN y GOMES, 1992).

3.3.2.8 Análisis químicos de las muestras de orina. Una vez finalizado el ensayo, las muestras de orina se enviaron para su análisis al Departamento de Bromatología de la Facultad de Farmacia, en la Universidad de Concepción. Aquí se procedió a cuantificar las concentraciones de creatinina, ácido úrico y alantoína (mmol/l).

La técnica analítica se encuentra descrita por RESINES <u>et al.</u> (1992), donde la cuantificación empleada corresponde a la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (PIANI <u>et al.</u>, 2004), utilizando un cromatógrafo Hitachi L-500 con bomba programable 655A-11, además de un detector UV 655 A acoplado a un integrador D-2000 y una columna LiChroSpher 100-RP18 5 μm (244x4 mm).

3.3.2.9 Cálculos hechos a partir de los análisis químicos de muestras de orina.

3.3.2.9.1 Estimación de la excreción diaria de derivados de purina. Se procedió a realizar el cálculo de la cantidad de alantoína y ácido úrico excretados en la orina, en mmol/día, de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$A (mmol/día) = A (mmol/l) \times VO$$
(3,3)

$$AU (mmol/día) = AU (mmol/l) \times VO$$
 (3,4)

Donde:

A (mmol/l): concentración molar de alantoína por litro de orina.

AU (mmol/l): concentración molar de ácido úrico por litro de orina.

VO: volumen urinario estimado, el cual, según AL-KHALIDI y CHAGLASSIAN (1965) se calcula de la siguiente manera:

$$VO = CT/CO \tag{3.5}$$

Donde:

CT: creatinina total excretada por día (mg).

CO: concentración de creatinina en la muestra de orina (mg/l).

La CT se calcula, según Brody (1964), citado por LINDBERG (1989), como:

$$CT = PV \times C \tag{3,6}$$

Donde:

PV: peso vivo (kg).

C: constante que corresponde a una excreción de creatinina de 26,0 mg/kg PV.

3.3.2.9.2 Concentración de los derivados de purina (DP) en la muestra de orina (mmol/l). La concentración de DP en la muestra de orina se obtiene a través de la suma de la concentración de alantoína (mmol/l) y ácido úrico (mmol/l).

3.3.2.9.3 Cuantificación de la excreción diaria de derivados de purina (DPE). Se estima a través de la fórmula citada por FAICHNEY <u>et al</u>. (1995):

$$DPE = ((DP \times (PV \times K_{CT}))/113,12)/CT$$
 (3,7)

Donde:

DPE: excreción diaria de derivados de purina (mmol/día).

DP: concentración de los derivados de purina en la muestra de orina (mmol/l).

PV: peso vivo (kg).

CT: concentración de creatinina en la muestra de orina (mmol/l).

 K_{CT} : coeficiente de excreción diario de creatinina (mg/día) = 113 x PV^{-0,25}, valor propuesto por ORSKOV y MACLEOD (1982b) y CHEN et al. (1992a).

113,12: peso molecular de la creatinina.

3.3.2.9.4 Indice purínico (IP). La excreción diaria de derivados de purina en la orina, corregida por el peso metabólico del ganado, y la dilución de la muestra de orina corregida por la creatinina, se calculó según SANCHEZ (2003) como:

$$IP = ((DPE) / (CT \times PV^{0.75}))/100$$
 (3,8)

Donde:

IP: índice purínico.

DPE: excreción diaria de derivados de purina (mmol/día).

CT: creatinina excretada en la orina por día (mmol/día).

PV^{0,75}: peso metabólico del ganado.

100: valor para llevar el índice purínico a coeficiente.

3.3.2.9.5 Estimación de la absorción diaria de purinas (PA). La absorción diaria de purinas provenientes de los ácidos nucleicos microbianos se calculó según la ecuación citada por CHEN y GOMES (1992):

$$PA = (DPE - (0.385 \times PV^{0.75}))/0.85$$
 (3.9)

Donde:

PA: purinas absorbidas por día (mmol/día).

DPE: excreción diaria de derivados de purina (mmol/día).

 $(0,385 \times PV^{0,75})$: aporte endógeno de derivados de purina (mmol/kg de peso metabólico).

0,85: factor de recuperación de las purinas absorbidas.

3.3.2.9.6 Aporte de nitrógeno microbiano (NM). Se calcula según la ecuación citada por CHEN y GOMES (1992):

$$NM = (PA \times 70)/(0.83 \times 0.116 \times 1000)$$
 (3.10)

Donde:

NM: nitrógeno microbiano (gramos/día).

PA: purinas absorbidas (mmol/día).

70: contenido de nitrógeno en las purinas (mg N/mmol).

0,83: factor de digestibilidad de las purinas.

0,116: tasa de nitrógeno de las purinas (nitrógeno total en los microorganismos ruminales, expresado por la razón 11,6/100).

1000: factor de corrección de mg a gramos.

3.3.2.9.7 Rendimiento microbiano (RM). Se obtiene a partir del nitrógeno microbiano (NM) producido por unidad de alimento consumido, expresado en éste caso como gramos de NM producido por cada kg de materia seca ingerida (MSI) (CHEN <u>et al.</u>, 1992b).

3.3.2.9.8 Proteína microbiana total (PMCT). Como establecen VAN SOEST (1994); POND <u>et al.</u>, (1995); MCDONALD <u>et al.</u>, (1999) y BEEVER y MOULD (2000), se reconoce que las proteínas tienen un 16% de nitrógeno en promedio (valor teórico), por lo tanto se aplica la siguiente fórmula:

$$PMCT = NM \times 6,25 \tag{3,11}$$

Donde:

PMCT: proteína microbiana total (gramos/día).

NM: nitrógeno microbiano (gramos/día).

6,25: coeficiente estándar del contenido de nitrógeno de las proteínas (100/16).

3.3.2.9.9 Proteína microbiana digestible (PMCD). Se calculó con la siguiente fórmula:

$$PMCD = PMCT \times 0,6375 \tag{3,12}$$

Donde:

PMCD: proteína microbiana digestible (gramos/día).

PMCT: proteína microbiana total (gramos/día).

0,6375: según AFRC (1996), es el porcentaje de la PMCT que es digestible, obtenido a partir de la multiplicación del contenido de proteína de los microorganismos ruminales (0,75) y el porcentaje de digestibilidad de estos (0,85).

3.3.2.10 Diseño experimental. El modelo de análisis de los datos aplicado se denomina de medidas repetidas. Este modelo se consideró debido a que existen mediciones a través del tiempo dentro de cada una de las vacas del experimento (KUEHL, 2001).

3.3.2.11 Análisis estadístico. El modelo de medidas repetidas se aplicó para alantoína (mmol/día), ácido úrico (mmol/día) y excreción diaria de derivados de purina (DPE) (mmol/día); índice purínico (IP); purinas absorbidas (PA) (mmol/día); nitrógeno microbiano (NM) (g/día), rendimiento microbiano (g NM producido/kg MS ingerida); proteína microbiana total (g/día) y proteína microbiana digestible (g/día).

Los datos de los parámetros antes mencionados se analizaron utilizando el programa estadístico computacional "SAS System for Windows v 6.12", considerando que la ecuación del modelo es la siguiente:

$$\mathbf{y}_{ijk} = \mu + \alpha_i + \mathbf{d}_{ik} + \beta_i + (\alpha \beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$
(3.13)

Donde:

y : respuesta.

 μ : media general.

 α : efecto de los tratamientos.

d: error aleatorio de las vacas dentro de los tratamientos.

 β : efecto de la medición en el tiempo.

 $(\alpha\beta)$: int *eracción* entre los tratamientos y el tiempo.

 ε_{iik} : error residual.

i:1,2,3. (tratamientos).

j:1,2,3,4. (mediciones en el tiempo).

k:1,2,3,4,5,6,7,8,9. (vacas por tratamiento).

Para poder aplicar éste modelo a través de un análisis de varianza univariado, basado en el diseño de parcelas divididas, se debe cumplir con la condición de Huynh-Feldt, la cual está basada en la matriz de varianzas y covarianzas de las mediciones repetidas, las cuales no se deben correlacionar y tener varianza iguales. Para evaluar lo anterior se utiliza el test ó prueba de Mauchly (KUEHL, 2001).

Como lo indica KUEHL (2001), el resultado de la prueba de Mauchly se interpreta a partir del valor de p obtenido, si éste resultado es mayor a 0,05 se acepta que las observaciones cumplen con la condición de Huynh-Feldt, por lo tanto se puede realizar un análisis de varianza tradicional.

En caso de que el valor de p de la prueba de Mauchly sea inferior a 0,05 implica que la condición de Huynh-Feldt no se cumple y entonces se debe utilizar el ajuste de los resultados obtenidos en el caso anterior a través del método de Greenhouse-Geisser (KUEHL, 2001).

KUEHL (2001), señala que el método de Greenhouse-Geisser establece calcular un parámetro denominado épsilon (nivel de riesgo) y es éste valor el que se utiliza para dividir a los grados de libertad del análisis tradicional obteniéndose un nuevo valor de p.

Cuando se realiza un modelo de medidas repetidas se evalúa el efecto del tiempo y la interacción entre el factor (tratamiento) y el tiempo; el análisis de varianza depende de los supuestos evaluados por la prueba de Mauchly. Cuando se quiere observar el efecto del tratamiento o del factor tiempo dentro de sus niveles, se debe ver si dicho efecto es o no significativo. Si es significativo, el procedimiento a seguir corresponde a un análisis denominado de formulación de contrastes, que significa plantear una combinación lineal de las medias de acuerdo al objetivo deseado (KUEHL, 2001).

En el presente experimento, respecto de las diferencias entre las mediciones a través del tiempo, se aplicó la siguiente ecuación, propuesta por KUEHL (2001):

$$(\mu 1 + \mu 2 + \mu 3)/3 = \mu 4 \tag{3.14}$$

Donde:

 μ 1; μ 2; μ 3; μ 4: promedios de cada repetición dentro de cada tratamiento.

La fórmula significa que el promedio de las tres primeras repeticiones es el mismo que para la cuarta repetición (KUEHL, 2001).

KUEHL (2001), indica que se debe realizar un ajuste para lograr la ortogonalidad de los coeficientes:

$$H_0$$
: $-(\mu 1 + \mu 2 + \mu 3) + 3\mu 4 = 0$ (3,15)

$$H_1$$
: $-(\mu 1 + \mu 2 + \mu 3) + 3\mu 4 \neq 0$ (3,16)

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

4.1 Composición nutricional de los alimentos.

A la pradera y concentrados del ensayo se les realizaron diversos análisis químico-nutricionales, para poder tener una referencia definida de sus aportes a la alimentación del ganado lechero.

4.1.1 Pradera. En el Cuadro 5 se muestra la composición nutricional promedio de la pradera utilizada, en base a materia seca.

CUADRO 5 Composición química promedio de la pradera utilizada, base materia seca.

Parámetro	Promedio	d.e.
MS (%)	15,6	1,4
CT (%)	10,9	1,7
PC (%)	20,8	2,3
EM (Mcal/kg MS)	2,61	0,15
FDA (%)	30,1	2,5
FDN (%)	52,1	4,4

Los contenidos de nutrientes y fracciones analíticas corresponden a valores levemente superiores a los indicados por ANRIQUE et al. (1995), para praderas de similares características, de la Provincia de Valdivia, especialmente en cuanto a los niveles de proteína cruda y energía metabolizable.

La composición botánica de las praderas ocupadas en el pastoreo experimental se presentan en el Cuadro 6, donde se aprecia un amplio dominio

de las gramíneas de carácter forrajero, situación que según ALOMAR (1992) y BALOCCHI y OLIVARES (1992), es característica de la zona sur. Las malezas encontradas fueron mayoritariamente del grupo de las denominadas de hoja ancha.

CUADRO 6 Composición botánica de la pradera utilizada (%).

	Promedio
Gramíneas	72,75
Leguminosas	4,75
Malezas	22,5
Total	100,0

El crecimiento de la pradera se vio afectado positivamente por condiciones climáticas correspondientes a un año atípico. Esta situación se observa en el Cuadro 7, donde las temperaturas ambientales y especialmente las precipitaciones, son superiores al promedio histórico, lo que provoca mayores tasas de crecimiento diarias de la pradera (LEAVER, 1985; MINSON, 1990; ANRIQUE y BALOCCHI, 1993; BALOCCHI, 1993 y MULLER y FALES, 1998).

CUADRO 7 Precipitaciones y temperaturas ambientales durante el período experimental y valores históricos (promedios).

Mes	Precipitación (mm)		Temperaturas (°C)	
	2003	Histórico	2003	Histórico
Septiembre	269,4	189,1	10,0	9,6
Octubre	183,1	149,7	11,6	11,7
Noviembre	164,4	104,5	14,3	13,8

FUENTE: 1 INSTITUTO DE GEOCIENCIAS (2003).

¹ INSTITUTO DE GEOCIENCIAS. 2003. Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

4.1.2 Concentrados. En el Cuadro 8 se indica la composición nutricional promedio tanto del concentrado base almidón (**CA**) como del base fibra digestible (**CF**), ambos expresados respecto de su contenido de materia seca.

CUADRO 8 Composición química de los concentrados utilizados, base materia seca *.

Parámetro	CA	CF
MS (%)	88,2	88,9
CT (%)	2,5	6,9
PC (%)	12,1	11,5
EM (Mcal/kg MS)	3,14	3,15
FC (%)	4,7	17,2
FDA (%)	6,3	23,3
FDN (%)	28,1	37,9
EE (%)	1,8	1,6

^{*} Toma de muestras realizada el 1 de noviembre de 2003.

Se observa que el concentrado **CA** posee un leve mayor contenido de proteína, pero que ambos tienen valores energéticos muy similares. El contenido de fibra es muy superior en el concentrado **CF**, con la característica de que ésta es de alta digestibilidad (ANRIQUE, 1988 y ANRIQUE, 1989).

BARGO <u>et al</u>. (2002), señalan que la utilización de concentrados disminuye los niveles de nitrógeno ureico en la leche y en el plasma sanguíneo, lo cual sugiere que dicha suplementación mejoraría la eficiencia de utilización del nitrógeno de la dieta.

En relación a los dos tipos de concentrados empleados en el presente experimento, es pertinente recordar algunos ensayos previos. MULLER (1999), sugiere que la utilización de un concentrado rico en fibra altamente digestible podría aumentar el pH del rumen, facilitar la síntesis de proteína microbiana y

generar mayores producciones lácteas. El uso de coseta seca de remolacha en concentrados es una manera muy apropiada de aportar energía metabolizable a la ración total, la que se deriva principalmente de la fibra digestible, la cual fermenta lentamente en el rumen, sincronizando mejor con los requerimientos de los microorganismos ruminales (ANRIQUE, 1989 y WEBSTER, 1993).

Respecto a los concentrados basados en almidón, éstos se caracterizan por una rápida fermentación en el rumen, por lo que consumos masivos provocarían que el pH ruminal disminuya bruscamente. Además, se han reportado altas tasas de sustitución de forraje por concentrado, por lo que sería esperable un efecto poco favorable respecto del metabolismo ruminal (WEBSTER, 1993), pero que no necesariamente disminuye la producción de leche (VAN SOEST, 1994).

MULLER (1999), citando los resultados de un experimento realizado por Kolver y Muller (1998), en el cual no se logró aumentar la producción de leche, al sincronizar la degradación de los carbohidratos de concentrados con el nitrógeno aportado por la pradera, indica que es necesario y fundamental poder seguir evaluando el efecto, desde diferentes ángulos, de la suplementación de vacas lecheras en pastoreo, considerando más el tipo de carbohidrato aportado que la cantidad misma de energía entregada.

4.2 Medición de parámetros generales.

4.2.1 Consumo de materia seca. En los Anexos 1, 2 y 3 se presentan los datos respecto del consumo de materia seca de las vacas, según cada tratamiento, ya sea en pastoreo exclusivo o en combinaciones de pastoreo más los concentrados energéticos del experimento.

El consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TSP fue muy variable, con extremos de entre 11,70 y 19,40 Kg MS/vaca/día, y un valor promedio de 14,21 Kg MS/vaca/día, cifra que puede ser considerada normal (LEAVER, 1985), para las características productivas y genéticas, además del estado o momento de la curva de lactancia en que las vacas del experimento se encontraban.

La suplementación con concentrados energéticos en vacas en pastoreo produjo un aumento del consumo total diario. Los valores promedio fueron, para el concentrado base almidón, de 17,04 Kg MS/vaca/día (extremos de 10,27 y 21,86 Kg MS/vaca/día), y para el concentrado fibroso, de 17,62 Kg MS/vaca/día (extremos de 14,65 y 20,81 Kg MS/vaca/día). Estos valores fueron superiores a los de la pradera pastoreada en forma exclusiva.

Sin embargo, REARTE (1997) y BARGO et al. (2002), opinan que el uso de concentrados implica invariablemente un efecto de sustitución, del forraje por el suplemento, por lo cual la eficiencia de ésta práctica dependerá de un conjunto de factores, entre los que se pueden mencionar a la cantidad de concentrado ofrecido, propiedades físicas y químicas de los concentrados, cantidad de pradera ofrecida (disponibilidad en Kg MS/vaca/día), digestibilidad de los alimentos entregados, y etapa de la lactancia en la cual se encuentren las vacas.

La suplementación con los concentrados energéticos incrementó ampliamente el consumo diario de materia seca total en relación al peso vivo de las vacas, respecto de las que pastoreaban en forma exclusiva (promedios de 2,77%; 3,36% y 3,45% para TSP, TCA y TCF, respectivamente).

4.2.2 Cambio de peso vivo y condición corporal.

La variación del peso vivo y de la condición corporal de las vacas, según tratamientos, indica que la situación fue poco definida en los tres casos estudiados: cambio de peso vivo, en kg/día, de 0,72; 0,99 y 0,98 para TSP, TCA y TCF, respectivamente; y cambio diario de condición corporal de -0,002; 0,0030 y 0,0210 para TSP, TCA y TCF, respectivamente. Mayor información respecto a éstos parámetros se puede encontrar en DAETZ (2004).

4.3 Excreción de derivados de purina.

4.3.1 Medición de la excreción de alantoína (A) y ácido úrico (AU). En el Cuadro 9 se observa la cantidad diaria, presente en la orina, de los derivados de purina que se midieron durante el ensayo.

CUADRO 9 Excreción de alantoína (A) y ácido úrico (AU), medidas en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

	TSP	TCA	TCF
A (mmol/día)	234,3	266,9	281,6
AU (mmol/día)	22,2	29,9	30,7

Por filas, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).

Tanto para la alantoína, el derivado de purina de mayor presencia en cantidad dentro la orina, como para el ácido úrico, los valores obtenidos, respectivamente, en los tratamientos estudiados (TSP, TCA y TCF) fueron estadísticamente iguales. Esta situación predispone a pensar que los cálculos posteriores, de otros parámetros en estudio, probablemente sigan un comportamiento similar al descrito.

4.3.2 Excreción diaria de derivados de purina (DPE) y purinas absorbidas (PA). En el Cuadro 10 se presenta la excreción de derivados de purina (DPE) y la estimación de la absorción diaria de purinas (PA), medidas en el experimento, no existiendo diferencias entre los tratamientos, respectivamente.

CUADRO 10 Excreción de derivados de purina (DPE) y estimación de la absorción diaria de purinas (PA), medidas en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

	TSP	TCA	TCF
DPE (mmol/día)	233,3	268,1	282,9
PA (mmol/día)	225,1	265,3	282,8

Por filas, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).

4.3.3 Indice purínico (IP). En el Cuadro 11 se muestra que la excreción diaria de derivados de purina, corregida por el peso metabólico del ganado lechero y la dilución de la muestra de orina asociada al contenido de creatinina, fue similar en los tres tratamientos estudiados (está expresado como coeficiente).

CUADRO 11 Indice purínico (IP), medido en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

	TSP	TCA	TCF
IP	1,9	2,1	2,3

No se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).

4.4 Metabolismo del nitrógeno a nivel ruminal.

4.4.1 Nitrógeno microbiano (NM) y rendimiento microbiano (RM).

El Cuadro 12 contiene información de la producción de nitrógeno microbiano y el rendimiento de éste respecto a la cantidad de alimento que las vacas fueron capaces de ingerir.

CUADRO 12 Producción de nitrógeno microbiano (NM) y rendimiento microbiano (RM), estimados en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

	TSP	TCA	TCF
NM (g/día)	163,7	192,9	205,6
RM (g NM/kg MS Ingerida)	11,6	11,4	11,8

Por filas, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).

En relación al nitrógeno que entregan los microorganismos ruminales, éste está directamente ligado a la absorción de purinas exógenas absorbidas a nivel intestinal. La generación de NM, en gramos/día, no manifestó diferencias entre el pastoreo de la pradera permanente sola y la suplementación de ésta.

El rendimiento microbiano, a pesar de la gran variabilidad en el consumo diario de alimentos entre los tratamientos estudiados (ver en Anexos 1, 2 y 3), tampoco fue diferente desde un punto de vista estadístico.

4.5 Síntesis de proteína microbiana en el rumen.

4.5.1 Proteína microbiana total (PMCT) y proteína microbiana digestible (PMCD). La producción de proteína microbiana, por acción del intrincado

mecanismo de reacciones bioquímicas que ocurren en el rumen, representa el objetivo central y fundamento de haber realizado el presente ensayo.

En el Cuadro 13 se puede apreciar que tanto para la proteína microbiana total como para la proteína microbiana digestible, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos analizados, respectivamente.

CUADRO 13 Proteína microbiana total (PMCT) y proteína microbiana digestible (PMCD), estimadas en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

	TSP	TCA	TCF
PMCT (g/día)	1022,9	1205,7	1284,9
PMCD (g/día)	652,1	768,6	819,1

Por filas, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).

Es posible que el haber utilizado el método de tomar muestras puntuales de orina, en vez de haber hecho una recolección total de ella, situación que con vacas en pastoreo es extremadamente complicada, haya afectado los resultados, ya que dicha técnica posee una menor sensibilidad que el método de recolección total (CHEN y GOMES, 1992; FAICHNEY et al., 1995 y SHINGFIELD y OFFER, 1998b).

4.6 Análisis de los resultados obtenidos respecto a la síntesis de proteína microbiana ruminal.

Actualmente diversos investigadores están trabajando en todo el mundo para aprovechar las ventajas del uso de los derivados de purina, en diferentes

especies (bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y en varios tipos de camélidos), e incluso usando tecnologías como la FT-NIR, pero lamentablemente existe poca información que compare y evalúe el efecto de los concentrados energéticos, basados en almidón y/o fibra altamente digestible, específicamente en vacas lecheras que basen su dieta en el pastoreo de especies forrajeras de clima templado (PUCHALA y KULASEK, 1992; JOHNSON et al., 1998; KÖPFER et al., 2001; BALCELLS et al., 2004; CETINKAYA et al., 2004; CHEN et al., 2004; GUEROUALI et al., 2004; MAKKAR, 2004; NOLAN y KAHN, 2004; POSHIWA et al., 2004; PRASITKUSOL et al., 2004; SOEJONO et al., 2004 y SUSMEL et al., 2004).

ORELLANA <u>et al.</u> (2004a) afirman que la incorporación de niveles elevados de concentrados energéticos (15 kg/vaca/día), produce que la eficiencia de utilización del nitrógeno de los alimentos, para generar microorganismos ruminales y en consecuencia poder maximizar la producción de proteína microbiana total y digestible, se reduzca, siendo cuantitativamente inferior a resultados obtenidos en vacas lecheras alimentadas exclusivamente con praderas de alta calidad u otros forrajes verdes.

ORELLANA <u>et al.</u> (2004b), mejoraron algunos índices bioquímicos y productivos en vacas lecheras, utilizando niveles crecientes de concentrado (0%, 16%, 33%), e incluso llegando a más de un 50% de la ración total.

En el presente ensayo los niveles de incorporación de concentrado, de 6 kg por vaca al día, fueron considerablemente inferiores a los señalados por ORELLANA <u>et al</u>. (2004a) y ORELLANA <u>et al</u>. (2004b). Esto podría explicar por qué nunca se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados, para proteína microbiana total, proteína microbiana digestible y rendimiento microbiano.

REARTE (1997), opina que indistinto del tipo de suplemento utilizado, éste solo modificaría el ambiente ruminal en los casos en que su presencia sea mayoritaria y significativa dentro del consumo total de materia seca por día. Con éste criterio se podría señalar que aparentemente el tipo de carbohidrato del concentrado podría ser un factor muy importante a considerar para optimizar la suplementación en pastoreo, el funcionamiento ruminal, el consumo de materia seca total y la respuesta en producción de leche basada en praderas.

HOOVER y STOKES (1991); PEREZ <u>et al</u>. (1998) y SANNES <u>et al</u>. (2002), enfatizan la importancia del uso de suplementos, pero no enfocan el problema entre la relación del pastoreo de praderas permanentes versus el uso de concentrados energéticos con diferentes tipos de carbohidratos. Se destaca nuevamente que faltan más antecedentes respecto a éste tema.

De la literatura revisada respecto de la síntesis de proteína microbiana a nivel ruminal, queda la opinión de que los numerosos factores involucrados en dicho proceso aun no son comprendidos a cabalidad, y esto impide un manejo del proceso técnico, para lograr optimizar la producción de leche, que es el fin último de todo esfuerzo investigativo respecto al presente tema.

CHEN y GOMES (1992); AFRC (1996); LATRILLE (1996); MULLER (1999); DEWHURST et al. (2000) y CHEN y ORSKOV (2004), señalan que la cantidad y tipo de nutrientes disponibles en la ración aportada, la sincronización de todos los elementos presentes en dicha dieta a nivel ruminal (no solo proteína y energía, aunque parecerían ser los parámetros más preponderantes, sino también, por ejemplo, el nivel de carbohidratos estructurales y no estructurales, minerales, etc.), así como el nivel de alimentación del animal, el flujo de alimentos por el tracto digestivo, su plano nutricional, e inclusive, el mérito genético de las vacas, afectarían a la síntesis de proteína ruminal, en

una intrincada combinación de interrelaciones, muy dificiles de cuantificar y manejar.

4.7 Variaciones entre parámetros estimados a través del tiempo.

Aunque no era un objetivo de éste estudio, el modelo estadístico aplicado para analizar los datos experimentales, denominado de medidas repetidas, permitió constatar que las mediciones, en los cuatro períodos consecutivos de tiempo dentro del período experimental, manifestaron diferencias, las que se pueden observar en los Gráficos 1 al 3 para los parámetros principales en estudio (RM, PMCT, PMCD) y en los Anexos 4 al 9 para el resto de los casos analizados.

A cada vaca, individualmente, se le tomó un conjunto de muestras de orina por semana, las cuales se fusionaron en una muestra compuesta única, representativa de dicha semana. Este proceso se realizó durante cuatro semanas consecutivas (se les denominó repeticiones R1, R2, R3 y R4).

Para cada parámetro estudiado se calculó el promedio y la desviación estándar, dentro de cada tratamiento, para cada una de las repeticiones en el tiempo. En los Anexos 10 al 18, se pueden revisar en detalle todos los valores correspondientes a lo indicado.

Se realizó, según lo especificado por KUEHL (2001), un análisis denominado de formulación de contrastes, para comparar los promedios de las repeticiones.

Se llegó a la conclusión de que en todos los casos, excepto en el del ácido úrico, los promedios individuales de R1, R2 y R3 son iguales estadísticamente entre sí e inferiores al promedio de R4. Además, se determinó

que el promedio en conjunto de R1, R2 y R3 fue inferior estadísticamente al promedio de R4 solo.

En el caso del ácido úrico, no se presentaron diferencias entre las cuatro mediciones en el tiempo.

Se puede especular que la etapa pre-experimental (10 días), que correspondió al período de adaptación a la dieta, fue demasiado breve, pero numerosos autores como HERRERA-SALDAÑA <u>et al.</u> (1990) y ORELLANA <u>et al.</u> (1998) han señalado que éste tiempo es más que suficiente. Sin embargo, en otros experimentos (KÖPFER, 2001 y STRAUCH, 2003) se usaron períodos de adaptación a la dieta mucho más largos, de cerca de dos semanas, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en la producción de proteína microbiana entre los tratamientos evaluados, aunque en ninguno de los casos se analizó específicamente el efecto del tiempo.

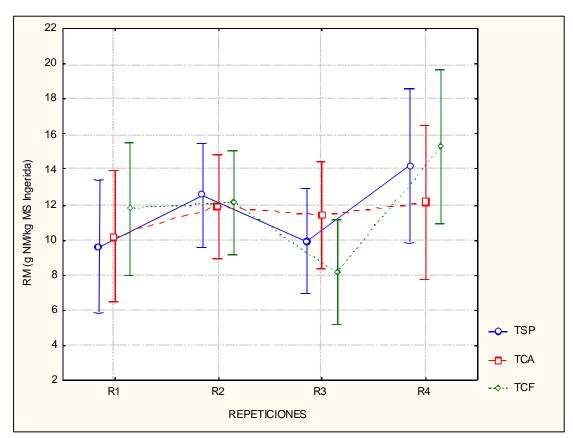


GRAFICO 1 Promedio y desviación estándar del rendimiento microbiano (RM), estimado a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

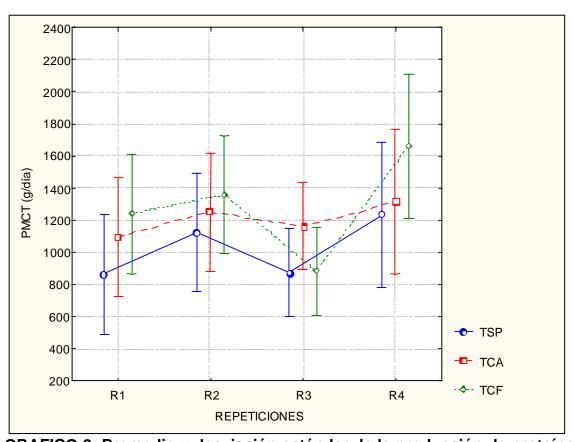


GRAFICO 2 Promedio y desviación estándar de la producción de proteína microbiana total (PMCT), estimada a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

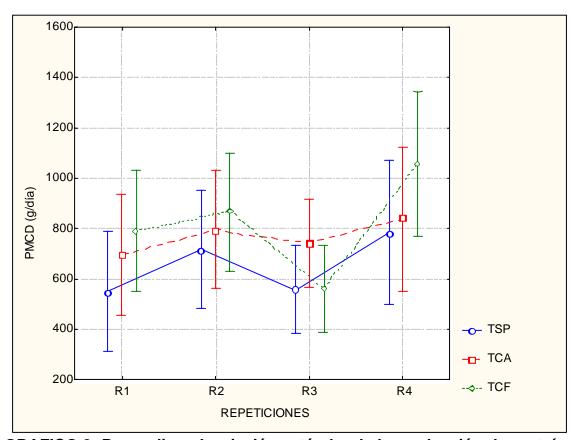


GRAFICO 3 Promedio y desviación estándar de la producción de proteína microbiana digestible (PMCD), estimada a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.

5 CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el experimento realizado, se plantean las siguientes conclusiones:

Respecto de la Hipótesis:

 Se acepta, ya que se demostró que "La suplementación con concentrados energéticos, basados en almidón o en fibra digestible, no incrementa la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras en pastoreo primaveral".

Respecto de los Objetivos:

En vacas lecheras en pastoreo primaveral, sin suplementación y suplementadas con concentrados energéticos de diferentes fuentes de carbohidratos (base almidón o base fibra digestible), se demostró que:

- La síntesis de proteína microbiana total (PMCT) no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).
- La síntesis de proteína microbiana digestible (PMCD) no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos estudiados (p>0,05).
- El rendimiento microbiano (RM) no manifestó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos analizados (p>0,05).

6 RESUMEN

El ensayo tuvo una duración de 45 días, realizándose entre el 22 de septiembre y el 5 de noviembre del año 2003, en la estación experimental "Vista Alegre" de la Universidad Austral de Chile, ubicada en la Provincia de Valdivia, Chile.

La hipótesis planteada fue que "La suplementación con concentrados energéticos, basados en almidón o en fibra digestible, no incrementa la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras en pastoreo primaveral". Los objetivos propuestos fueron "Evaluar la síntesis de proteína microbiana, total y digestible; y el rendimiento microbiano; en vacas lecheras en pastoreo primaveral, sin suplementación y suplementadas con concentrados energéticos de diferentes fuentes de carbohidratos (base almidón o base fibra digestible)".

Se usaron 27 vacas lecheras multíparas, de genotipo Frisón Negro Chileno, seleccionadas por época de parto, número de lactancias, producción de leche, peso vivo y días en lactancia. Se formaron tres grupos de nueve vacas, que se asignaron al azar a los siguientes tratamientos: (a) **TSP**: pastoreo, sin consumo de concentrado; (b) **TCA**: pastoreo, más un consumo de 6 kg/día de concentrado base almidón (2% de melaza, 5% de afrecho de soja y 93% de grano de cebada); y (c) **TCF**: pastoreo, más un consumo de 6 kg/día de concentrado base fibra digestible (2% de melaza, 11,5% de afrecho de soja y 86,5% de coseta seca de remolacha). El pastoreo rotativo en franjas permitió tener una disponibilidad mínima de 35 kg de MS/vaca/día. Los concentrados fueron de una composición química aproximadamente similar, base MS (EM=3,1 Mcal/kg de MS y PC=11,5%).

La estimación del consumo de MS de pradera se realizó utilizando óxido de cromo como marcador indigestible. El consumo de concentrado se midió por diferencia, entre el entregado menos el no consumido ó rechazado.

Durante la etapa experimental, semanalmente se eligieron tres días consecutivos, donde se tomaron dos muestras de orina/vaca/día, después de cada ordeño. En las muestras se procedió a cuantificar las concentraciones de alantoína y ácido úrico, con las que se estimaron la proteína microbiana total (PMCT), la proteína microbiana digestible (PMCD) y el rendimiento microbiano (RM). El modelo de análisis estadístico aplicado a los datos fue el de medidas repetidas.

Los valores promedio obtenidos de PMCT (g/día) para TSP, TCA y TCF respectivamente fueron 1022,9; 1205,7 y 1284,9. Los valores promedio obtenidos de PMCD (g/día) para TSP, TCA y TCF respectivamente fueron 652,1; 768,6 y 819,1. En el caso del RM (g NM/kg MS Ingerida), también en promedio, se obtuvieron para TSP, TCA y TCF respectivamente 11,6; 11,4 y 11,8.

De acuerdo con los resultados experimentales obtenidos se concluye que la hipótesis propuesta fue aceptada. En cuanto a la evaluación de la síntesis de proteína microbiana, total y digestible; y del rendimiento microbiano; en vacas lecheras en pastoreo primaveral, sin suplementación y suplementadas con concentrados energéticos de diferentes fuentes de carbohidratos (base almidón o base fibra digestible), no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos estudiados en ninguno de los casos (p>0,05).

7 SUMMARY

An experiment was carried out for forty five days (September 22 to November 5, 2003) in the "Vista Alegre" research station, at the Austral University of Chile, located in the Province of Valdivia, Chile.

The hypothesis of the study was "The supplementation with energetic concentrates, based on starch or digestible fiber, don't increase the microbial protein synthesis in spring grazing milk cows". The objectives were to evaluate the total and digestible microbial protein synthesis and the microbial yield in spring grazing milk cows, with or without supplementation of energetic concentrates from different sources of carbohydrates (based on starch or digestible fiber).

Twenty-seven multiparous cows from the Chilean black Friesian genotype, selected for calving moment, lactation's number, milk production, live weight and lactating days were used. Three groups, each of nine cows, were established, and randomly assigned to the following treatments: (a) **TSP**: only grazing; (b) **TCA**: grazing plus 6 kg/day of starch based concentrate (molasses 2%, soybean meal 5%, barley grain 93%); and (c) **TCF**: grazing plus 6 kg/day of digestible fiber based concentrate (molasses 2%, soybean meal 11.5%, sugar beet pulp 86.5%). The rotational grazed allowed a minim disponibility of 35 kg of dry matter/cow/day. The average chemical composition of the concentrates was similar, based on dry matter. The metabolizable energy and crude protein were 3.1 Mcal/kg and 11.5%, respectively.

The estimation of the grass dry matter intake was made using a chromic oxide as an indigestible marker. The concentrate intake was evaluated through the relation between the amount of concentrate given to the cows minus the rejected or not consumed concentrate.

Two spot urine samples/cow/day were collected weekly and in three consecutive days, and always after the milking routine. Allantoin and uric acid concentrations were measured in the samples. The total microbial protein (PMCT), the digestible microbial protein (PMCD) and the microbial yield (RM), were estimated through these parameters. A repeat measurement method was applicated as statistical analysis model.

The average values of PMCT (g/day) for TSP, TCA and TCF were 1022.9, 1205.7 and 1284.9 respectively. The average values of PMCD (g/day) for TSP, TCA and TCF were 652.1, 768.6 and 819.1 respectively. The average values of RM (g MN/kg DMI) for TSP, TCA and TCF were 11.6, 11.4 and 11.8 respectively.

According to the results were obtained in this experiment the conclusions was that the proposed hypothesis was accepted. Related to the total and digestible microbial protein synthesis and the microbial yield in spring grazing milk cows, without supplementation or supplemented with energetic concentrates from different sources of carbohydrates (based on starch or digestible fiber), there was not significant differences between the treatments (p>0.05).

8 BIBLIOGRAFIA

- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). 1996.

 Necesidades energéticas y proteicas de los rumiantes. Manual de consulta preparado por el Comité Técnico sobre respuestas a los nutrientes del AFRC. Traducido por Sanz, R. Acribia. Zaragoza, España. 175 p.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL (AFRC). 1998. Response in the yield of milk constituents to the intake of nutrients by dairy cows. AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients, Report No 11. Cab International. Wallingford, UK. 96 p.
- AGRICULTURAL DEVELOPMENT AND ADVISORY SERVICE. 1985. The analysis of agricultural materials. 3^a ed. Reference book 427. London, UK. 248 p.
- AGUILA, H. 1997. Pastos y empastadas. 8^a ed. Universitaria. Santiago, Chile. 314 p.
- AGUILERA, P. 2003. Efecto de la suplementación con dos tipos diferentes de carbohidratos en el concentrado sobre la respuesta productiva, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Tesis Lic. Med. Vet. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. 32 p.
- AL-KHALIDI, U. A. S. y CHAGLASSIAN, T. H. 1965. The species distribution of xanthine oxidase. Biochemical Journal 97: 318-320.

- ALOMAR, D. 1992. Valor nutritivo de las leguminosas forrajeras. <u>In</u>: Latrille, L. y Balocchi, O. (eds.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-16. Valdivia, Chile. pp: 154-172.
- ALOMAR, D. 1994. La condición corporal como herramienta de manejo en bovinos y ovinos. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-18. Valdivia, Chile. pp: 294-319.
- ALOMAR, D. 1999. Recursos no forrajeros para la producción de leche. <u>In:</u> Anrique, R.; Latrille, L.; Balocchi, O.; Alomar, D.; Moreira, V.; Smith, R.; Pinochet, D. y Vargas, G. Competitividad de la producción lechera nacional (tomo I). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 115-148.
- ANRIQUE, R. 1988. Rol de la fibra digestible en alimentación de rumiantes. <u>In:</u> Alomar, D. (ed.) Avances en Nutrición Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-13. Valdivia, Chile. pp: 25-39.
- ANRIQUE, R. 1989. Manual de utilización de subproductos de remolacha en alimentación de ganado. Iansa, Industria Azucarera Nacional S. A. y Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Valdivia, Chile. 50 p.

- ANRIQUE, R. 1990. Sincronización de los aportes ruminales de proteína y energía: fundamentos y posibles efectos en la alimentación práctica. <u>In:</u>
 Latrille, L. (ed.) Avances en Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-14. Valdivia, Chile. pp: 240-260.
- ANRIQUE, R. 1993. Bases para la alimentación de la vaca lechera de alta producción en pastoreo. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-17. Valdivia, Chile. pp: 211-234.
- ANRIQUE, R. y BALOCCHI, O. 1993. Aspectos que determinan la respuesta a la suplementación de animales en pastoreo. <u>In</u>: Dumont, J. C. (ed.) Simposio: utilización de praderas a pastoreo. Sociedad Chilena de Producción Animal. Serie simposios y compendios, volumen 1. Chile. pp: 33-50.
- ANRIQUE, R.; VALDERRAMA, X. y FUCHSLOCHER, R. 1995. Composición de alimentos para el ganado en la zona sur. Fundación Fondo de Investigación Agropecuaria, Ministerio de Agricultura. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Valdivia, Chile. 56 p.
- ANRIQUE, R. 1999. Descripción del Chile lechero. In: Anrique, R.; Latrille, L.; Balocchi, O.; Alomar, D.; Moreira, V.; Smith, R.; Pinochet, D. y Vargas, G. Competitividad de la producción lechera nacional (tomo I). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 1-28.

- ANTONIEWICZ, A. M. y PISULEWSKI, P. M. 1982. Measurement of endogenous allantoin excretion in sheep urine. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 98: 221-223.
- ARAMBEL, M. J.; BARTLEY, E. E.; DUFVA, G. S.; NAGARAJA, T. G. y DAYTON, A. D. 1982. Effect of diet on amino and nucleic acids of rumen bacteria and protozoa. Journal of Dairy Science (USA.) 65 (11): 2095-2101.
- ARRIAGA-JORDAN, C. M. y HOLMES, W. 1986. The effect of concentrate supplementation on high-yielding dairy cows under two systems of grazing. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 107: 453-461.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1970. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 11^a ed. Washington, D. C., USA. 1015 p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 1996. Official methods of analysis of AOAC International. 16^a ed. Washington, D. C., USA. p. irr.
- BALCELLS, J.; GUADA, J. A.; CASTRILLO, C. y GASA, J. 1991. Urinary excretion of allantoin and allantoin precursors by sheep after different rates of purine infusion into the duodenum. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 116: 309-317.
- BALCELLS, J.; GUADA, J. A.; PEIRÓ, J. M. y PARKER, D. S. 1992. Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography 575: 153-157.

- BALCELLS, J.; VICENTE, F.; ORELLANA-BOERO, P.; MARTIN-ORUE, S. y GONZALEZ-RONQUILLO, M. 2004. Effect of physiological status on endogenous excretion of purine derivatives in cattle. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 32-41.
- BALOCCHI, O. y OLIVARES, J. 1992. Leguminosas en praderas permanentes.

 In: Latrille, L. y Balocchi, O. (eds.) Producción Animal. Universidad

 Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción

 Animal. Serie B-16. Valdivia, Chile. pp: 33-58.
- BALOCCHI, O. 1993. Manejo del pastoreo en vacas lecheras. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-17. Valdivia, Chile. pp: 99-131.
- BALOCCHI, O. 1999. Recursos forrajeros utilizados en producción de leche. <u>In:</u>
 Anrique, R.; Latrille, L.; Balocchi, O.; Alomar, D.; Moreira, V.; Smith, R.;
 Pinochet, D. y Vargas, G. Competitividad de la producción lechera nacional (tomo I). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. pp: 29-74.
- BARGO, F.; MULLER, L. D.; DELAHOY, J. E. y CASSIDY, T. W. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. Journal of Dairy Science (USA.) 85 (7): 1777-1792.

- BATEMAN, J. V. 1970. Nutrición animal: manual de métodos analíticos. Centro Regional de Ayuda Técnica, Agencia para el Desarrollo Internacional. México. 468 p.
- BECK, A. y PESSOT, R. 1992. Producción de leche en praderas permanentes durante la primavera. Agro Sur (Chile) 20 (1): 34-39.
- BEEVER, D. E. 1996. Characterisation of forages: appraisal of current practice and future opportunities. <u>In</u>: Garnsworthy, P. C. y Cole, D. J. A. (eds.) Recent developments in ruminant nutrition III. Nottingham University Press. Nottingham, UK. pp: 113-127.
- BEEVER, D. E. y MOULD, F. L. 2000. Forage evaluation for efficient ruminant livestock production. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 15-42.
- BEEVER, D. E.; OFFER, N. y GILL, M. 2000. The feeding value of grass and grass products. <u>In</u>: Hopkins, A. (ed.) Grass: its production and utilization. 3^a ed. Blackwell Science. UK. pp: 140-195.
- BEEVER, D. E. y SHINGFIELD, K. J. 2003. Recent advances in the nutrition of ruminant livestock. <u>In</u>: Romero, O. y Pulido, R. (eds.) Eficiencia biológica de sistemas pecuarios y desafíos futuros para nuevos mercados. Sociedad Chilena de Producción Animal. Serie simposios y compendios, volumen 9. Chile. pp: 55-96.

- BRODERICK, G. A. y MERCHEN, N. R. 1992. Markers for quantifying microbial protein synthesis in the rumen. Journal of Dairy Science (USA.) 75 (9): 2618-2632.
- BRODERICK, G. A. 1994. Quantifying forage protein quality. <u>In</u>: Fahey, G. C. (ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp: 200-228.
- BRODERICK, G. A. y COCHRAN, R. C. 2000. *In vitro* and *in situ* methods for estimating digestibility with reference to protein degradability. <u>In:</u> Theodorou, M. K. y France, J. (eds.) Feeding systems and feed evaluation models. Cab International. Wallingford, UK. pp: 53-85.
- BULL, L. S. 2001a. Production limits for ruminants on forages. <u>In</u>: García, F. y Cretton, P. (eds.) Simposio internacional en producción animal y medio ambiente. Sociedad Chilena de Producción Animal, XXVI Reunión Anual. Santiago, Chile. pp: 300-311.
- BULL, L. S. 2001b. Ruminant protein nutrition: basics and application. <u>In:</u> García, F. y Cretton, P. (eds.) Simposio internacional en producción animal y medio ambiente. Sociedad Chilena de Producción Animal, XXVI Reunión Anual. Santiago, Chile. pp: 207-215.
- CETINKAYA, N.; YAMAN, S.; OZDEMIR, H.; GUCUS, A. I.; OZCAN, H. y SOGUT, A. 2004. Evaluation of the use of purine derivatives:creatinine ratio in spot urine samples as an index of microbial protein supply in Yerli Kara crossbred cattle. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 86-94.

- CHEN, X. B.; ORSKOV, E. R. y HOVELL, F. D. 1990a. Excretion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. British Journal of Nutrition (UK.) 63: 121-129.
- CHEN, X. B.; HOVELL, F. D.; ORSKOV, E. R. y BROWN, D. S. 1990b. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. British Journal of Nutrition (UK.) 63: 131-142.
- CHEN, X. B.; HOVELL, F. D. y ORSKOV, E. R. 1990c. Excretion of purine derivatives by ruminants: recycling of allantoin into the rumen via saliva and its fate in the gut. British Journal of Nutrition (UK.) 63: 197-205.
- CHEN, X. B. y GOMES, M. J. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of the technical details. International Feed Resources Unit. Rowett Research Institute, Bucksburn Aberdeen AB2 9SB, UK. Occasional publication. 21 p.
- CHEN, X. B.; CHEN, Y. K.; FRANKLIN, M. F.; ORSKOV, E. R. y SHAND, W. J. 1992a. The effect of feed intake and body weight on purine derivative excretion and microbial protein supply in sheep. Journal of Animal Science (USA.) 70: 1534-1542.
- CHEN, X. B.; GRUBIC, G.; ORSKOV, E. R. y OSUJI, P. 1992b. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. Animal Production (UK.) 55: 185-191.

- CHEN, X. B.; JAYASURIYA, M. C. N. y MAKKAR, H. P. S. 2004. Measurement and application of purine derivatives:creatinine ratio in spot urine samples of ruminants. In: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 167-179.
- CHEN, X. B. y ORSKOV, E. R. 2004. Research on urinary excretion of purine derivatives in ruminants: past, present and future. In: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 180-210.
- CHERNEY, D. J. R. 2000. Characterization of forages by chemical analysis. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 281-300.
- CLARK, J. H.; KLUSMEYER, T. H. y CAMERON, M. R. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. Journal of Dairy Science (USA.) 75 (8): 2304-2323.
- CLARK, D. A. y KANNEGANTI, V. R. 1998. Grazing management systems for dairy cattle. <u>In</u>: Cherney, J. H. y Cherney, D. J. R. (eds.) Grass for dairy cattle. Cab International. Wallingford, UK. pp: 311-334.
- COCHRAN, R. C. y GALYEAN, M. L. 1994. Measurement of *in vivo* forage digestion by ruminants. <u>In</u>: Fahey, G. C. (ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp: 613-643.

- DAETZ, R. 2004. Respuesta productiva de vacas lecheras en pastoreo primaveral, suplementadas con concentrados con distintas fuentes de carbohidratos. Tesis Lic. Med. Vet. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. 26 p.
- DEWHURST, R. J.; DAVIES, D. R. y MERRY, R. J. 2000. Microbial protein supply from the rumen. Animal Feed Science and Technology 85: 1-21.
- DIJKSTRA, J.; FRANCE, J. y DAVIES, D. R. 1998. Different mathematical approaches to estimating microbial protein supply in ruminants. Journal of Dairy Science (USA.) 81 (12): 3370-3384.
- DOVE, H. 1996. The ruminant, the rumen and the pasture resource: nutrient interactions in the grazing animal. <u>In</u>: Hodgson, J. y Illius, A. W. (eds.) The ecology and management of grazing systems. Cab International. Wallingford, UK. pp: 219-246.
- FAICHNEY, G. J.; WELCH, R. J. y BROWN, G. H. 1995. Prediction of the excretion of allantoin and total purine derivatives by sheep from the "creatinine coefficient". Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 125: 425-428.
- FICK, G. W. y CLARK, E. A. 1998. The future of grass for dairy cattle. <u>In:</u> Cherney, J. H. y Cherney, D. J. R. (eds.) Grass for dairy cattle. Cab International. Wallingford, UK. pp: 1-22.
- FIRKINS, J. L. 1996. Maximizing microbial protein synthesis in the rumen. Journal of Nutrition (USA.) 126: 1347S-1354S.

- FUJIHARA, T.; ORSKOV, E. R.; REEDS, P. J. y KYLE, D. J. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 109: 7-12.
- GARRIDO, O. y MANN, E. 1981. Composición química, digestibilidad y valor energético de una pradera permanente de pastoreo a través del año. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 59 p.
- GIVENS, D. I.; OWEN, E. y ADESOGAN, A. T. 2000. Current procedures, future requirements and the need for standardization. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 449-474.
- GOERING, H. K. y VAN SOEST, P. J. 1972. Análisis de fibra de forrajes. Traducido por Pezo, D. Universidad Nacional Agraria La Molina, Programa de Forrajes. Boletín nº 10. Lima, Perú. 41 p.
- GONDA, H. L. y LINDBERG, J. E. 1997. Effect of diet on milk allantoin and its relationship with urinary allantoin in dairy cows. Journal of Dairy Science (USA.) 80 (2): 364-373.
- GONZALEZ-RONQUILLO, M.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. y VICENTE, F. 2003. Purine derivative excretion in dairy cows: endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. Journal of Dairy Science (USA.) 86: 1282-1291.

- GUEROUALI, A.; ELGASS, Y. y BALCELLS, J. 2004. Urinary excretion of purine derivatives and its utilization as an index of microbial protein synthesis in the fore-stomach of the camel. In: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 131-139.
- HERRERA-SALDAÑA, R.; GOMEZ-ALARCON, R.; TORABI, M. y HUBER, J. T. 1990. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. Journal of Dairy Science (USA.) 73: 142-148.
- HINOSTROZA, A. 2004. Efecto del tipo de carbohidrato en el concentrado sobre el consumo y comportamiento ingestivo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Tesis Lic. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 65 p.
- HODGSON, J. 1990. Grazing management: science into practice. Longman Handbooks in Agriculture. Essex, UK. 203 p.
- HODGSON, J. 1995. Producción de leche en base a praderas. <u>In</u>: Sociedad Chilena de Buiatría, II Jornadas Chilenas de Buiatría. Osorno, Chile. pp: 75-87.
- HODGSON, J. 1998. Pasture management for dairy cows. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-21. Valdivia, Chile. pp: 90-104.

- HOOVER, W. H. y STOKES, S. R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. Journal of Dairy Science (USA.) 74 (10): 3630-3644.
- HUNTINGTON, G. B. 2001a. Almidón en la alimentación de rumiantes. <u>In:</u> García, F. y Cretton, P. (eds.) Simposio internacional en producción animal y medio ambiente. Sociedad Chilena de Producción Animal, XXVI Reunión Anual. Santiago, Chile. pp: 94-104.
- HUNTINGTON, G. B. 2001b. Las grasas en regímenes alimenticios para rumiantes. <u>In</u>: García, F. y Cretton, P. (eds.) Simposio internacional en producción animal y medio ambiente. Sociedad Chilena de Producción Animal, XXVI Reunión Anual. Santiago, Chile. pp: 216-226.
- HVELPLUND, T. y WEISBJERG, M. R. 2000. *In situ* techniques for the estimation of protein degradability and postrumen availability. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 233-258.
- JENNINGS, P. G. y HOLMES, W. 1984. Supplementary feeding of dairy cows on continuously stocked pasture. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 103: 161-170.
- JOHNSON, L. M.; HARRISON, J. H. y RILEY, R. E. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using urinary uric acid or allantoin. Journal of Dairy Science (USA.) 81 (9): 2408-2420.
- KAHN, L. P. y NOLAN, J. V. 2000. Kinetics of allantoin metabolism in sheep. British Journal of Nutrition (UK.) 84: 629-634.

- KLEIN, F. 1995. La intensificación de la producción de leche en los sistemas pastoriles del sur de Chile. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-19. Valdivia, Chile. pp: 99-109.
- KLEIN, F. 1998. Sistema intensivo de producción de leche para la Décima Región de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Remehue. Boletín técnico nº 250. 8 p.
- KÖPFER, A. 2001. Síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras alimentadas con ensilaje de pradera y paja de trigo tratada con hidróxido de sodio. Tesis Lic. Med. Vet. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. 46 p.
- KÖPFER, A.; PULIDO, R.; ORELLANA, P.; MARTINEZ, E. y LATRILLE, L. 2001. Síntesis de nitrógeno microbiano en vacas lecheras alimentadas con ensilaje de pradera y paja de trigo tratada con álcali. <u>In</u>: García, F. y Cretton, P. (eds.) Libro de resúmenes. Sociedad Chilena de Producción Animal, XXVI Reunión Anual. Santiago, Chile. pp: 370-371.
- KUEHL, R. O. 2001. Diseño de experimentos: principios estadísticos de diseño y análisis de investigación. 2ª ed. Traducido por González, M. Thomson and Learning. México. 667 p.
- LANUZA, F. 1996. Requerimientos de suplementación para vacas lecheras a pastoreo. <u>In</u>: Lanuza, F. y Bortolameolli, G. (eds.) III Seminario "Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche". Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue nº 64. pp: 53-69.

- LATRILLE, L. 1996. Nuevos conceptos en la alimentación de vacas lecheras. <u>In:</u>
 Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile,
 Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie
 B-20. Valdivia, Chile. pp: 1-21.
- LEAVER, J. D. 1985. Milk production from grazed temperate grassland. Journal of Dairy Research (UK.) 52: 313-344.
- LE DU, Y. L. P. y PENNING, P. D. 1982. Animal based techniques for estimating herbage intake. <u>In</u>: Leaver, J. D. (ed.) Herbage intake handbook. British Grassland Society. pp: 37-76.
- LIANG, J. B.; PIMPA, O.; BALCELLS, J.; JELAN, Z. A. y ABDULLAH, N. 2004. An overview on the use of urinary purine derivatives excretion as a method for estimation of rumen microbial protein production in swamp buffaloes and zebu cattle. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 42-55.
- LINDBERG, J. E. 1989. Nitrogen metabolism and urinary excretion of purines in goat kids. British Journal of Nutrition (UK.) 61: 39-321.
- MAKKAR, H. P. S. 2004. Development, standardization and validation of nuclear based technologies for estimating microbial protein supply in ruminant livestock for improving productivity. In: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 1-13.

- MAYNE, C. S.; WRIGHT, I. A. y FISHER, G. E. J. 2000. Grassland management under grazing and animal response. <u>In</u>: Hopkins, A. (ed.) Grass: its production and utilization. 3^a ed. Blackwell Science. UK. pp: 247-291.
- MCALLAN, A. y SMITH, R. 1973. Degradation of nucleic acids in the rumen. British Journal of Nutrition (UK.) 29: 331-345.
- MCDONALD, P.; EDWARDS, R. A.; GREENHALGH, J. F. D. y MORGAN, C. A. 1999. Nutrición animal. 5^a ed. Traducido por Sanz, R. Acribia. Zaragoza, España. 576 p.
- MERCHEN, N. R. y BOURQUIN, L. D. 1994. Processes of digestion and factors influencing digestion of forage-based diets by ruminants. <u>In</u>: Fahey, G. C. (ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp: 564-612.
- MILLER, E. L. 1982. Methods of assessing proteins for ruminants, including laboratory methods. <u>In</u>: Miller, E. L. y Pike, I. H. (eds.) Protein contribution of feedstuffs for ruminants: application to feed formulation. Butterworth Scientific. London, UK. pp: 18-35.
- MINSON, D. J. 1990. Forage in ruminant nutrition. Academic Press. USA. 483 p.
- MOORE, K. J. y HATFIELD, R. D. 1994. Carbohydrates and forage quality. <u>In:</u> Fahey, G. C. (ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp: 229-280.

- MORRISON, M. 2000. The microbial ecology and physiology of ruminal nitrogen metabolism. <u>In</u>: Cronjé, P. B. (ed.) Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction. Cab International. Wallingford, UK. pp: 99-114.
- MULLER, L. D. y FALES, S. L. 1998. Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. <u>In</u>: Cherney, J. H. y Cherney, D. J. R. (eds.) Grass for dairy cattle. Cab International. Wallingford, UK. pp: 335-350.
- MULLER, L. D. 1999. Management of pastures and the feeding program for high genetic merit cows grazing temperate pastures. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-22. Valdivia, Chile. pp: 20-35.
- NOLAN, J. V. y KAHN, L. P. 2004. The use of urinary excretion of purine metabolites as an index of microbial protein supply in ruminants. In: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 15-27.
- NOZIERE, P. y MICHALET-DOREAU, B. 2000. *In sacco* methods. <u>In</u>: D'Mello, J. P. F. (ed.) Farm animal metabolism and nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 233-253.
- NSAHLAI, I. V.; OSUJI, P. O. y UMUNNA, N. N. 2000. Effect of form and of quality of feed on the concentrations of purine derivatives in urinary spot samples, daily microbial N supply and predictability of intake. Animal Feed Science and Technology 85: 223-238.

- OLDHAM, J. D. 1994. Amino acid nutrition of the dairy cow. <u>In</u>: D´Mello, J. P. F. (ed.) Amino acids in farm animal nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 351-375.
- OLDHAM, J. D. 1996. Protein requirement systems for ruminants. <u>In</u>: Phillips, C. J. C. (ed.) Progress in dairy science. Cab International. Wallingford, UK. pp: 3-27.
- OLDICK, B. S.; FIRKINS, J. L. y ST-PIERRE, N. R. 1999. Estimation of microbial nitrogen flow to the duodenum of cattle based on dry matter intake and diet composition. Journal of Dairy Science (USA.) 82 (7): 1497-1511.
- ORELLANA, P.; MENDOZA, N. y SCORI, M. 1998. Relaciones entre la excreción urinaria de derivados de purinas y creatinina con el consumo de alimento en vacas de lechería. Archivos de Medicina Veterinaria (Chile) 30 (1): 75-83.
- ORELLANA, P.; BALCELLS, J.; MARTIN-ORUE, S. M. y GUADA, J. A. 2001. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. Livestock Production Science 68: 243-250.
- ORELLANA, P.; VENEGAS, M.; PULIDO, R. y WITTWER, F. 2004a. Eficiencia de utilización del nitrógeno dietario en vacas en lactación en pastoreo solo o suplementadas con dos tipos de concentrado. <u>In</u>: Hazard, S. y Romero, O. (eds.) Libro de resúmenes. Sociedad Chilena de Producción Animal, XXIX Reunión Anual. Villarrica, Chile. pp: 81-82.

- ORELLANA, P.; PULIDO, R.; BRIONES, M. y SARABIA, A. 2004b. Purine derivatives/creatinine ratio as an index of microbial protein synthesis in lactating Holstein cows. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 123-130.
- ORSKOV, E. R. y MACLEOD, N. A. 1982a. Validation and application of new principles of protein evaluation for ruminants. <u>In</u>: Miller, E. L. y Pike, I. H. (eds.) Protein contribution of feedstuffs for ruminants: application to feed formulation. Butterworth Scientific. London, UK. pp: 76-85.
- ORSKOV, E. R. y MACLEOD, N. A. 1982b. The determination of the minimal nitrogen excretion in steers and dairy cows and its physiological and practical implications. British Journal of Nutrition (UK.) 47: 625-636.
- ORSKOV, E. R. 2000. The *in situ* technique for the estimation of forage degradability in ruminants. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 175-188.
- PARSONS, A. J. y CHAPMAN, D. F. 1998. Principles of grass growth and pasture utilization. <u>In</u>: Cherney, J. H. y Cherney, D. J. R. (eds.) Grass for dairy cattle. Cab International. Wallingford, UK. pp: 283-309.
- PATERSON, J. A.; BELYEA, R. L.; BOWMAN, J. P.; KERLEY, M. S. y WILLIAMS, J. E. 1994. The impact of forage quality and supplementation regimen on ruminant animal intake and performance. <u>In</u>: Fahey, G. C. (ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp: 59-114.

- PEREZ, J. F.; BALCELLS, J.; GUADA, J. A. y CASTRILLO, C. 1996.

 Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using ¹⁵N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. British Journal of Nutrition (UK.) 75: 699-709.
- PEREZ, J. F.; BALCELLS, J.; CEBRIAN, J. A. y MARTIN-ORUE, S. M. 1998. Excretion of endogenous and exogenous purine derivatives in sheep: effect of increased concentrate intake. British Journal of Nutrition (UK.) 79: 237-240.
- PEYRAUD, J. L. y COMERON, E. A. 1997. Techniques for measuring herbage intake of grazing ruminants: a review. <u>In</u>: Latrille, L. y Chahin, G. (eds.) Mesa redonda: producción de leche en base a praderas. Sociedad Chilena de Producción Animal. Serie simposios y compendios, volumen 5. Chile. pp: 94-129.
- PEYRAUD, J. L.; DELABY, L. y DELAGARDE, R. 1997. Quantitative approach of dairy cows nutrition at grazing: some recent developments. <u>In</u>: Latrille, L. y Chahin, G. (eds.) Mesa redonda: producción de leche en base a praderas. Sociedad Chilena de Producción Animal. Serie simposios y compendios, volumen 5. Chile. pp: 60-93.
- PIANI, B.; FABRO, C. y SUSMEL, P. 2004. Measurement of purine derivatives and creatinine in urine by HPLC. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 149-159.

- PICHARD, G. 1993. Recursos forrajeros complementarios en los sistemas de producción animal en base a praderas. <u>In</u>: Latrille, L. (ed.) Producción Animal. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Producción Animal. Serie B-17. Valdivia, Chile. pp: 295-326.
- POND, W. G.; CHURCH, D. C. y POND, K. R. 1995. Basic animal nutrition and feeding. 4^a ed. Wiley. USA. 615 p.
- POSHIWA, X.; NGONGONI, N. T.; MANYUCHI, B.; CHAKOMA, C. y TIGERE, A. 2004. The effect of plane of nutrition on the urinary purine derivative excretion in sheep and goats. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 140-148.
- PRASITKUSOL, P.; ORSKOV, E. R. y CHEN, X. B. 2004. Some aspects of recovery of (¹⁴C)-allantoin in the urine of sheep. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 28-31.
- PUCHALA, R. y KULASEK, G. W. 1992. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and urinary excretion of purine derivatives. Canadian Journal of Animal Science (Canadá) 72: 821-830.
- PULIDO, R. 1999. Avances en nutrición de la vaca lechera: consideraciones para una suplementación estratégica en vacas lecheras a pastoreo. <u>In:</u> Sociedad Chilena de Buiatría, IV Jornadas Chilenas de Buiatría. Osorno, Chile. pp: 51-60.

- PULIDO, R.; CERDA, M. y STEHR, W. 1999. Efecto del nivel y tipo de concentrado sobre el comportamiento productivo de vacas lecheras en pastoreo primaveral. Archivos de Medicina Veterinaria (Chile) 31 (2): 177-187.
- PULIDO, R. y LEAVER, J. D. 2000. Degradabilidad ruminal del forraje disponible en la pradera y del aparentemente consumido por vacas lecheras. Pesquisa Agropecuaria Brasileira (Brasil) 35 (5): 1003-1009.
- PULIDO, R. G.; BALOCCHI, O. y FERNANDEZ, J. 2001. Efecto del nivel de producción de leche sobre el comportamiento ingestivo en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Archivos de Medicina Veterinaria (Chile) 33 (2): 137-144.
- REARTE, D. 1997. Sistemas de producción de leche basados en praderas permanentes. <u>In</u>: Latrille, L. y Chahin, G. (eds.) Mesa redonda: producción de leche en base a praderas. Sociedad Chilena de Producción Animal. Serie simposios y compendios, volumen 5. Chile. pp: 38-59.
- RESINES, J. A.; ARIN, M. J. y DIEZ, M. T. 1992. Determination of creatinine and purine derivatives in ruminants' urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography 607: 199-202.
- RUIZ, I. 1996. La pradera como alimento para el ganado. <u>In</u>: Ruiz, I. (ed.) Praderas para Chile. 2ª ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. pp: 17-25.

- RUIZ, I. 1997. Conceptos generales sobre el rol de la pradera en la producción de leche. <u>In</u>: Latrille, L. y Chahin, G. (eds.) Mesa redonda: producción de leche en base a praderas. Sociedad Chilena de Producción Animal. Serie simposios y compendios, volumen 5. Chile. pp: 13-37.
- RYMER, C. 2000. The measurement of forage digestibility *in vivo*. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 113-134.
- SANCHEZ, M. 2003. Relación de los derivados de purinas séricos y urinarios en vacas de lechería con diferentes niveles de consumo. Tesis Lic. Med. Vet. Chillán. Universidad de Concepción, Facultad de Medicina Veterinaria.
- SANNES, R. A.; MESSMAN, M. A. y VAGNONI, D. B. 2002. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. Journal of Dairy Science (USA.) 85 (4): 900-908.
- SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C. B. y HUBER, J. T. 1998. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. Journal of Dairy Science (USA.) 81 (12): 3182-3213.
- SATTER, L. D.; JUNG, H. G.; VAN VUUREN, A. M. y ENGELS, F. M. 1999. Challenges in the nutrition of high-producing ruminants. In: Jung, H. G. y Fahey, G. C. (eds.) Nutritional ecology of herbivores. Proceedings of the Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores. American Society of Animal Science. San Antonio, Texas, USA. pp: 609-646.

- SHINGFIELD, K. J. y OFFER, N. W. 1998a. Evaluation of milk allantoin excretion as an index of microbial protein supply in lactating dairy cows. Animal Science (UK.) 67: 371-385.
- SHINGFIELD, K. J. y OFFER, N. W. 1998b. Evaluation of the spot urine sampling technique to assess urinary purine derivative excretion in lactating dairy cows. Animal Science (UK.) 66: 557-568.
- SMITH, R. y MCALLAN, A. 1970. Nucleic acid metabolism in the ruminant. British Journal of Nutrition (UK.) 24: 545-556.
- SOEJONO, M.; YUSIATI, L. M.; BACHRUDIN, Z.; BUDHI, S. P. S.; WIDYOBROTO, B. P. y UTOMO, R. 2004. Flow of nucleic acids from the rumen and recovery of purine derivatives in the urine of cattle and buffaloes. <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 69-74.
- STEHR, W. 1998. Alimentación de vacas lecheras en el primer tercio de la lactancia y su efecto en la reproducción. <u>In</u>: Jahn, E. (ed.) Seminario internacional: manejo reproductivo de vacas lecheras de alta producción. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Quilamapu. Serie Quilamapu nº 95. Los Angeles, Chile. pp: 36-42.
- STERN, M. D.; VARGA, G. A.; CLARK, J. H.; FIRKINS, J. L.; HUBER, J. T. y PALMQUIST, D. L. 1994. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science (USA.) 77 (9): 2762-2786.

- STRAUCH, M. 2003. Efecto de la suplementación con dos tipos de carbohidratos en el concentrado sobre la síntesis de proteína microbiana, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. Tesis Lic. Med. Vet. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. 38 p.
- SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTTA, E.; SPANGHERO, M. y MILLS, C. R. 1994. The effect of energy and protein intake on the excretion of purine derivatives. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 123: 257-265.
- SUSMEL, P.; PIANI, B.; TOSO, B. y STEFANON, B. 2004. Prediction of purine derivatives, creatinine and total nitrogen concentrations in urine by ftnear-infrared reflectance spectroscopy (FT-NIR). <u>In</u>: Makkar, H. P. S. y Chen, X. B. (eds.) Estimation of microbial protein supply in ruminants using urinary purine derivatives. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. pp: 160-166.
- TAMMINGA, S. y CHEN, X. B. 2000. Animal-based techniques for the estimation of protein value of forages. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 215-231.
- TAMMINGA, S. y HOF, G. 2000. Feeding systems for dairy cows. <u>In:</u> Theodorou, M. K. y France, J. (eds.) Feeding systems and feed evaluation models. Cab International. Wallingford, UK. pp: 109-127.
- TEUBER, N. 1996. La pradera en el llano longitudinal de la X Región (Valdivia-Chiloé). <u>In</u>: Ruiz, I. (ed.) Praderas para Chile. 2^a ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile. pp: 535-544.

- TEUBER, N. y DUMONT, J. C. 1996. Atributos de la pradera para la alimentación del rebaño lechero. <u>In</u>: Lanuza, F. y Bortolameolli, G. (eds.) III Seminario "Aspectos técnicos y perspectivas de la producción de leche". Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Remehue. Serie Remehue nº 64. pp: 3-21.
- TIMMERMANS, S. J.; JOHNSON, L. M.; HARRISON, J. H. y DAVIDSON, D. 2000. Estimation of the flow of microbial nitrogen to the duodenum using milk uric acid or allantoin. Journal of Dairy Science (USA.) 83 (6): 1286-1299.
- VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K. y HATFIELD, R. D. 1997. Excretion of purine derivatives by holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. Journal of Dairy Science (USA.) 80 (8): 1695-1702.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B. y LEWIS, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science (USA.) 74 (10): 3583-3597.
- VAN SOEST, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2^a ed. Cornell University Press. USA. 476 p.
- VERBIC, J.; CHEN, X. B.; MACLEOD, N. A. y ORSKOV, E. R. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 114: 243-248.

- VERCOE, J. E. 1976. Urinary allantoin excretion and digestible dry-matter intake in cattle and buffalo. Journal of Agricultural Science, Cambridge (UK.) 86: 613-615.
- WEBSTER, A. J. F. 1992. The metabolizable protein system for ruminants. <u>In:</u> Garnsworthy, P. C.; Haresign, W. y Cole, D. J. A. (eds.) Recent advances in animal nutrition. Butterworth-Heinemann. Nottingham, UK. pp: 93-110.
- WEBSTER, A. J. F. 1993. Understanding the dairy cow. 2^a ed. Blackwell Science. Oxford, UK. 382 p.
- WEISS, W. P. 1994. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods.

 <u>In:</u> Fahey, G. C. (ed.) Forage quality, evaluation, and utilization. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, USA. pp: 644-681.
- WILKINS, R. J. 2000. Forages and their role in animal systems. <u>In</u>: Givens, D. I.; Owen, E.; Axford, R. F. E. y Omed, H. M. (eds.) Forage evaluation in ruminant nutrition. Cab International. Wallingford, UK. pp: 1-14.
- ZINN, R. A. y OWENS, F. N. 1986. A rapid procedure for purine measurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. Canadian Journal of Animal Science (Canadá) 66: 157-166.



ANEXO 1 Consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TSP.

Const	umo Prade	ra	Consum	o Concent	rado	Cons	sumo Tota	
Kg N	/IS/vaca/dí	a	Kg N	IS/vaca/dí	a	Kg №	IS/vaca/día	1
Medida	Medida	Promedio	Medida	Medida	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
Nº 1	Nº 2	1	Nº 1	Nº 2	2	1	2	Final
15,34	15,17	15,25	0,00	0,00	0,00	15,34	15,17	15,25
16,16	13,36	14,76	0,00	0,00	0,00	16,16	13,36	14,76
16,16	11,94	14,05	0,00	0,00	0,00	16,16	11,94	14,05
13,00	10,39	11,70	0,00	0,00	0,00	13,00	10,39	11,70
12,21	11,69	11,95	0,00	0,00	0,00	12,21	11,69	11,95
13,29	11,00	12,15	0,00	0,00	0,00	13,29	11,00	12,15
17,09	16,04	16,56	0,00	0,00	0,00	17,09	16,04	16,56
13,29	25,51	19,40	0,00	0,00	0,00	13,29	25,51	19,40
11,96	12,20	12,08	0,00	0,00	0,00	11,96	12,20	12,08

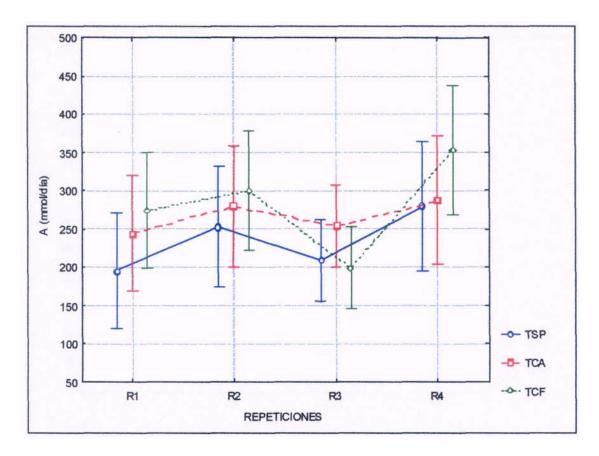
ANEXO 2 Consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TCA.

Cons	umo Prade	era	Consum	o Concent	trado	Cons	sumo Tota	1
Kg N	/IS/vaca/di	a	Kg N	IS/vaca/dí	a	Kg N	S/vaca/día	a
Medida	Medida	Promedio	Medida	Medida	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
Nº 1	Nº 2	1	Nº 1	Nº 2	2	1	2	Final
16,64	13,76	15,20	5,29	5,29	5,29	21,93	19,05	20,49
13,23	11,01	12,12	1,85	3,27	2,56	15,08	14,28	14,68
12,46	10,66	11,56	4,77	5,29	5,03	17,23	15,95	16,59
12,80	9,30	11,05	5,29	5,29	5,29	18,09	14,59	16,34
18,84	14,30	16,57	5,29	5,29	5,29	24,13	19,59	21,86
15,39	11,43	13,41	5,29	5,29	5,29	20,68	16,72	18,70
10,11	14,88	12,49	5,29	5,29	5,29	15,40	20,17	17,78
10,79	11,85	11,32	5,29	5,29	5,29	16,08	17,14	16,61
6,57	3,67	5,12	5,29	5,01	5,15	11,86	8,68	10,27

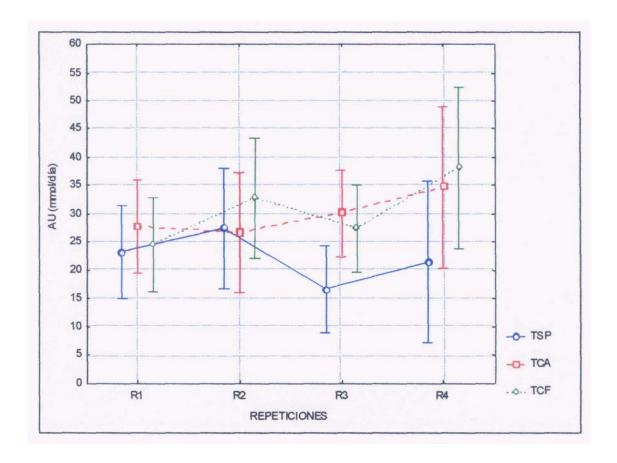
ANEXO 3 Consumo de materia seca de las vacas del tratamiento TCF.

Const	umo Prade	era	Consum	o Concent	trado	Cons	sumo Tota	I	
Kg N	/IS/vaca/dí	а	Kg N	1S/vaca/di	a	Kg MS/vaca/día			
Medida	Medida	Promedio	Medida	Medida	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio	
Nº 1	Nº 2	1	N º 1	Nº 2	2	1	2	Final	
12,39	16,17	14,28	5,33	5,33	5,33	17,72	21,51	19,62	
11,24	8,71	9,98	4,91	5,33	5,12	16,15	14,05	15,10	
16,69	12,78	14,73	5,33	5,33	5,33	22,02	18,11	20,07	
13,30	10,31	11,80	5,33	5,33	5,33	18,63	15,64	17,14	
15,43	12,78	14,10	5,33	5,33	5,33	20,76	18,11	19,44	
10,46	8,16	9,31	5,33	5,33	5,33	15,80	13,49	14,65	
10,13	9,31	9,72	5,33	5,33	5,33	15,46	14,64	15,05	
12,83	9,96	11,40	5,33	5,33	5,33	18,17	15,29	16,73	
17,57	15,52	16,55	3,19	5,33	4,26	20,76	20,86	20,81	

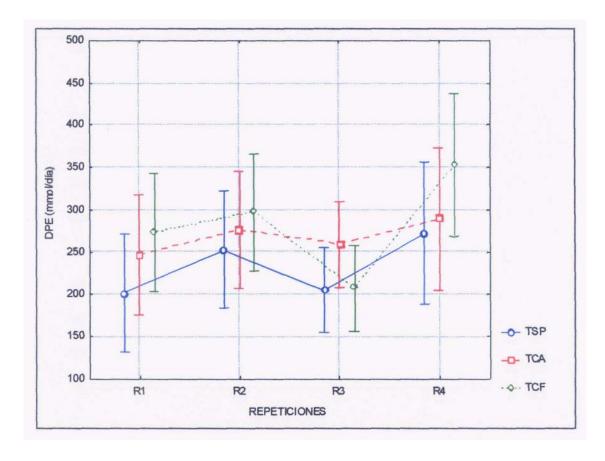
ANEXO 4 Promedio y desviación estándar de la excreción diaria de alantoína (A), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.



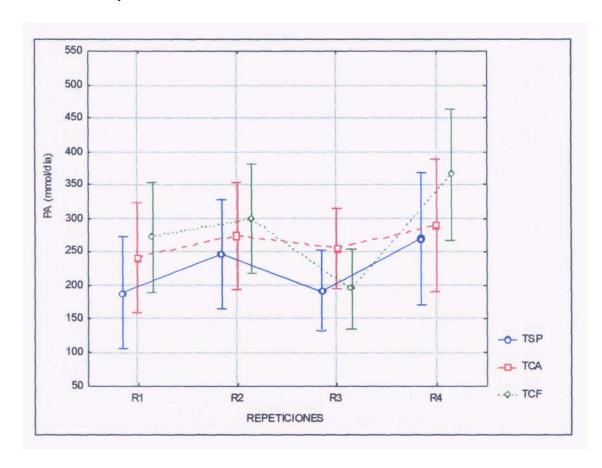
ANEXO 5 Promedio y desviación estándar de la excreción diaria de ácido úrico (AU), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.



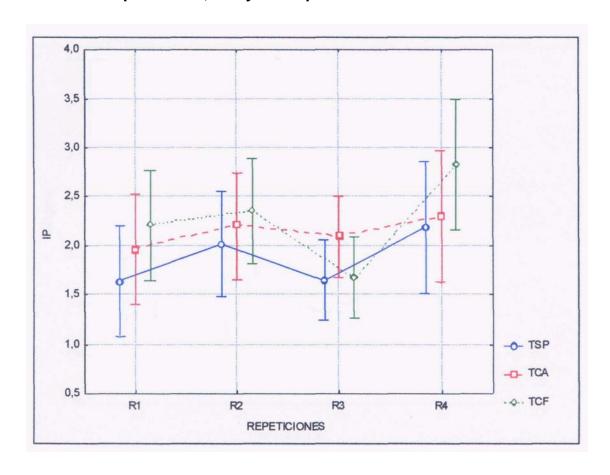
ANEXO 6 Promedio y desviación estándar de la excreción diaria de derivados de purina (DPE), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.



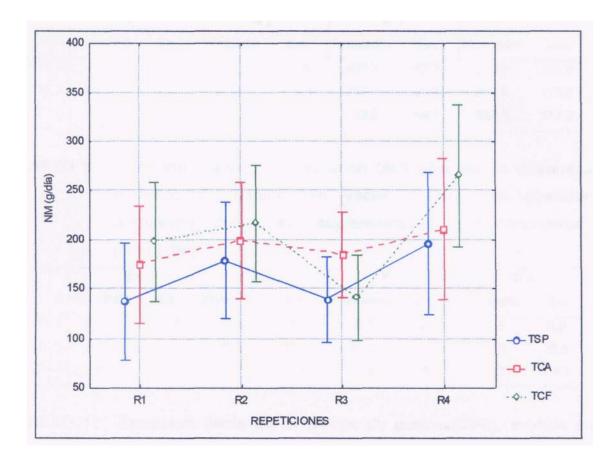
ANEXO 7 Promedio y desviación estándar de la estimación de la absorción diaria de purinas (PA), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementacion con concentrado.



ANEXO 8 Promedio y desviación estándar del índice purínico (IP), medido en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.



ANEXO 9 Promedio y desviación estándar del aporte diario de nitrógeno microbiano (NM), medido en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado.



ANEXO 10 Excreción diaria de alantoína (A), medida en diferentes periodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (mmol/día).

		R 1		R 2		R 3		R 4	
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	196,0	62,5	252,2	85,8	209,3	82,2	279,5	101,6
TCA	9	245,5	118,3	279,7	114,4	254,5	85,9	287,8	115,2
TCF	9	274,8	133,8	299,7	137,0	199,5	64,1	352,5	147,2

ANEXO 11 Excreción diaria de ácido úrico (AU), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (mmol/día).

	R1		R 2	R 2			R 4		
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	23,3	12,7	27,5	15,9	16,7	13,1	21,5	9,0
TCA	9	27,7	10,2	26,8	15,6	30,2	9,9	34,8	25,1
TCF	9	24,6	13,0	32,7	14,8	27,5	10,4	38,2	24,1

ANEXO 12 Excreción diaria de derivados de purina (DPE), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (mmol/día).

	1	R1		R 2		R 3		R 4	
TSP	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	201,9	63,9	253,0	85,3	205,5	70,6	272,8	93,5
TCA	9	246,8	106,9	276,5	103,2	259,4	82,3	289,6	114,4
TCF	9	273,6	126,6	297,4	113,3	207,1	66,4	353,5	152,2

ANEXO 13 Estimación de la absorción diaria de purinas (PA), medida en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (mmol/día).

		R1		R 2		R 3		R 4	
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	189,7	75,6	247,3	100,3	192,6	82,2	270,8	110,5
TCA	9	241,0	122,9	274,6	121,4	256,0	97,1	289,8	133,2
TCF	9	272,7	149,8	299,0	129,9	194,0	80,7	365,4	179,5

ANEXO 14 índice purínico (IP), medido en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (expresado en coeficiente).

		R1		R 2		R 3		R 4	
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	1,6	0,5	2,0	0,7	1,7	0,6	2,2	8,0
TCA	9	2,0	0,8	2,2	0,8	2,1	0,7	2,3	0,9
TCF	9	2,2	1,0	2,4	8,0	1,7	0,6	2,8	1,2

ANEXO 15 Aporte diario de nitrógeno microbiano (NM), medido en diferentes períodos de tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (g/día).

		R 1		R 2	R 2			R 4	
TSE	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	137,9	54,9	179,8	72,9	140,0	59,8	196,9	80,4
TCA	9	175,2	89,4	199,7	88,3	186,1	70,6	210,7	96,8
TCF	9	198,2	108,9	217,4	94,5	141,0	58,6	265,6	130,5

ANEXO 16 Rendimiento microbiano (RM), estimado a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (g NM/kg MS Ingerida).

	R1		R 2	R 2			R 4		
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	9,6	3,4	12,5	3,4	9,9	3,7	14,2	6,5
TCA	9	10,2	4,3	11,9	5,1	11,4	5,6	12,1	4,8
TCF	9	11,8	7,7	12,1	4,2	8,2	3,5	15,3	7,7

ANEXO 17 Producción de proteína microbiana total (PMCT), estimada a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (g/día).

		R1		R2		R 3		R 4	
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	861,9	343,4	1123,9	455,6	875,2	373,6	1230,6	502,2
TCA	9	1094,9	558,6	1247,9	551,7	1163,2	441,4	1316,6	605,2
TCF	9	1239,0	680,8	1358,8	590,4	881,4	366,5	1660,3	815,9

ANEXO 18 Producción de proteína microbiana digestible (PMCD), estimada a través del tiempo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado (g/día).

		R 1		R 2	R 2		3	R 4	
	N	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.	Promedio	d.e.
TSP	9	549,5	218,9	716,5	290,5	558,0	238,2	784,5	320,2
TCA	9	698,0	356,1	795,5	351,7	741,5	281,4	839,4	385,8
TCF	9	789,9	434,0	866,2	376,4	561,9	233,7	1058,4	520,1

CURRICULUM VITAE

Sergio Andrés Berndt Riffo nació en la ciudad de Puerto Montt, el 18 de octubre de 1969. Ingresó al colegio San Mateo de Osorno, donde cursó la enseñanza básica entre 1976-1983 y la enseñanza media entre 1984-1987.

Entre 1988-1991 trabajó en forma particular, vinculado a la ganadería. En 1992 ingresó a estudiar Agronomía, en la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile. Egresó en 1999, con mención en Producción Animal, obteniendo el Grado Académico de Licenciado en Agronomía. Su Tesis la realizó en el tema "Composición nutricional y calidad de ensilajes de la zona sur". Durante el año 2002 se titula de Ingeniero Agrónomo, con distinción.

En el año 2001, luego de haber recibido una beca otorgada por Nestlé Chile, inicia estudios de postgrado en la Universidad Austral de Chile, en el programa de Magister en Ciencias, mención Producción Animal. Durante el año 2002 egresa del plan de estudios, y posteriormente desarrolla su Tesis en el tema "Estimación de la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras en pastoreo primaveral, con y sin suplementación con concentrado".

Durante sus años como estudiante de pre y postgrado realiza una docena de ayudantías, en el área de producción y nutrición animal, canalizando así su vocación por la enseñanza. Además es socio activo de la Sociedad Chilena de Producción Animal, donde ha presentado diversos trabajos de investigación, y miembro del Colegio de Ingenieros Agrónomos de Ñuble.

En agosto de 2003 es contratado por la Universidad de Concepción, donde se desempeña actualmente como docente e investigador del Departamento de Producción Animal, en la Facultad de Agronomía, Campus Chillán.