

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL Y TECNOLOGÍA DE CARNES**

**ESTIMACIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA RUMINAL, EN
VACAS LECHERAS A PASTOREO PRIMAVERAL, CON SUPLEMENTACIÓN DE
DOS TIPOS DE CONCENTRADOS ENERGÉTICOS**

Memoria de Título presentada como parte de
los requisitos para optar al TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.

SVEN MICHAEL HEIN SCHUETZ

VALDIVIA – CHILE

2005

**Esta Memoria de Título está dedicada a
mi querida Burschenschaft Vulkania.**

PROFESOR PATROCINANTE **Dr. Rubén Pulido F.**
M.V.; Mg.Sc.; Ph.D.
Nombre Firma

PROFESOR COPATROCINANTE **Dr. Patricio Orellana B.**
M.V.; Mg.Sc.
Nombre Firma

PROFESORES CALIFICADORES **Dr. Marcelo Hervé A.**
M.V.; M.V.Sc.; Ph.D.
Nombre Firma

Dr. Gastón Valenzuela J.
M.V.; M.V.Sc.
Nombre Firma

FECHA DE APROBACIÓN: 19. de Abril de 2005

ÍNDICE

CAPÍTULO	PÁGINA
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
5. RESULTADOS.....	23
6. DISCUSIÓN.....	28
7. BIBLIOGRAFÍA.....	35

1. RESUMEN

El propósito del presente ensayo fue estimar la síntesis de proteína microbiana ruminal y el rendimiento microbiano en vacas lecheras a pastoreo primaveral, suplementadas con dos tipos de concentrados, formulados en base a diferente fuente de carbohidratos.

El experimento tuvo una duración de 45 días. Se utilizaron 18 vacas Frisón Negro, las que al inicio del ensayo, presentaban en promedio una producción de leche de 29,6 l/día, un peso vivo de 512 kg y se encontraban finalizando su segundo mes de lactancia.

Los tratamientos fueron: pastoreo, más 6 kg diarios de concentrado en base fibra digestible (CF, coseta seca de remolacha) y pastoreo, más 6 kg diarios de almidón, como cebada (CA). Los últimos dos días de cada semana, se obtuvieron 2 muestras de orina por vaca al día, con posterioridad a ambos ordeños. En la orina se determinó la concentración de creatinina, ácido úrico y alantoína, con el fin de calcular la excreción de derivados de purinas, purinas absorbidas y aporte de nitrógeno microbiano, para estimar la proteína microbiana digestible.

Para los tratamientos TCA y TCF la síntesis estimada de proteína microbiana diaria fue de 1576,3 y 1514,3 g respectivamente ($p>0,05$; s.e.m.=12,8) y la síntesis de nitrógeno microbiano por kg de materia seca ingerida, fue en promedio de 15,31 y 14,02 g respectivamente ($p>0,05$; sem=1,85), considerando una ingesta promedio de 17,1 y 17,6 kg/MS al día respectivamente.

En base a los antecedentes y resultados del presente ensayo, se concluye que ambos tipos de carbohidratos no afectan la síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras a pastoreo.

Palabras claves: Derivados de purinas, proteína metabolizable, cebada, coseta seca de remolacha, vacas lecheras.

2. SUMMARY

EFFECT OF THE SUPPLEMENTATION WITH TWO SOURCES OF CARBOHYDRATE IN THE CONCENTRATES, ON MICROBIAL PROTEIN YIELD IN GRAZING DAIRY COWS IN SPRING.

One experiment was carried out to evaluate the microbial protein yield and synthesis efficiency with supplementation of two sources of carbohydrate (fibrous and starchy) for lactating dairy cows on spring pastures. 18 Friesian cows yielding 29,6 kg/d were assigned to a completely randomized design for 45 days. The treatments included: grazing plus 6 kg/d of sugar beet pulp-based concentrate (HFC) and grazing plus 6 kg/d of cereal-based concentrate (HSC). The cows were supplemented twice a day and managed under a strip grazing system on pasture, consisting mainly of perennial rye grass.

To estimate microbial protein synthesis and microbial yields per kg/DMI, urine samples were collected from each dairy cow twice a day after milking, during two days of every single week of the 45 day experimental period, for determination of creatinine, uric acid and allantoin. The daily excretion levels of these purine derivatives, absorbed purines and microbial nitrogen supply, were used to calculate the contribution of digestible microbial protein.

In this experiment the daily microbial protein synthesis were 1576,3 g for HSC and 1514,3 g (s.e.m.=12,8) and microbial yields per kg/DMI of 15,31 and 14,02 g respectively (s.e.m.=12,8).

The results suggest that carbohydrate source did not affect significantly the synthesis of ruminal microbial protein in dairy cows on this experiment.

Key words: purine derivatives, metabolizable protein, barley, sugar beet pulp, dairy cows.

3. INTRODUCCIÓN

Chile cuenta con una superficie aproximada de 75,4 millones de hectáreas, de las cuales 5.047.324 hectáreas son de uso agrícola o pecuario y de las cuáles sólo el 17% son destinadas a la producción de leche (Balocchi 1999^a). La Décima Región de Chile cuenta con una superficie de 1.350.000 hectáreas de praderas, de las cuales el 90% son permanentes (Chile 1997), destinando al rubro lechero más de 563.000 hectáreas de superficie (Latrille 1998), las que corresponden aproximadamente al 11% de las hectáreas de uso agrícola de Chile. Esto tiene gran importancia debido al significativo desarrollo de sistemas de producción animal basados en el pastoreo (Teuber 2001).

A su vez, el VI Censo Nacional Agropecuario determinó que la Décima Región presenta una población de 380.000 vacas lecheras, de un total nacional de alrededor de 620.000, lo que corresponde al 61,5% del total de vacas lecheras del país (Chile 1997), demostrando la preponderancia de este rubro económico en esta región de Chile, al igual que sus auspiciosas perspectivas de desarrollo, sustentadas en el sostenido crecimiento del sector lechero nacional en los últimos 15 años. El mencionado crecimiento se debió principalmente al mejoramiento genético, mediante la introducción de toros de la raza Holstein y el uso de la inseminación artificial, a la implementación de mejores programas nutricionales y a inversiones realizadas en el ámbito del desarrollo predial (Balocchi y col. 2002).

3.1. RECURSOS ALIMENTICIOS DEL GANADO LECHERO

3.1.1. La pradera como base alimenticia

En el sur de Chile los sistemas de producción de leche basan su alimentación fundamentalmente en el pastoreo directo de praderas permanentes, dependiendo su nivel productivo, del número y productividad de los animales, y del consumo y calidad del forraje disponible (Pulido 1999).

El uso de praderas para la producción de leche resulta una buena alternativa para la alimentación animal, debido a que es una fuente barata de nutrientes (Peyraud y Delaby 2001). Balocchi (1999^b) señala, que la característica principal de los sistemas lecheros desarrollados en la Décima Región y sus ventajas comparativas con respecto a otras zonas del país, es el uso del pastoreo como método de alimentación prioritario del ganado.

La producción anual de sus praderas varía entre 4 toneladas de materia seca por año en praderas no fertilizadas, hasta 12 toneladas de materia seca por hectárea en condiciones de fertilización completa (Balocchi 1998). Este es sin duda el alimento más económico para los rumiantes y se debe utilizar al máximo en las raciones (Jahn 1996). Los sistemas de pastoreo eficientes se caracterizan por una alta producción de leche por unidad de superficie, mientras

que los sistemas a confinamiento son caracterizados por una alta producción por vaca (Clark y Kanneganti 1998).

3.1.2. La estacionalidad como limitante en los sistemas pastoriles

Diferentes estudios nacionales indican que en primavera la producción de leche en vacas alimentadas exclusivamente en base a pastoreo de praderas permanentes, es de 20 a 24,5 kg de leche al día (Lanuza 1988; Beck y Pessot 1992), aunque sean sostenibles solamente por un periodo corto de tiempo, cercano a los 2 o 3 meses (Anrique y Balocchi 1993). Sin embargo, la producción de leche basada en el pastoreo presenta gran variabilidad, ya que depende del potencial productivo de los animales, y de la disponibilidad y calidad de la pradera (Holmes 1989).

Leaver (1985) sugiere que vacas de alta producción sólo a pastoreo pueden consumir hasta el 3,25% de su peso vivo, aunque muchas veces las demandas nutricionales no pueden ser cubiertas sólo por pradera. Por su parte, Mayne y Wright (1988) estimaron que si no existe limitante en la calidad y cantidad del forraje, el consumo de materia seca podría ser de 3,5% de su peso vivo.

Según Muller (1999), los mayores requerimientos nutricionales de las vacas de alta producción no siempre pueden ser satisfechos sólo con la pradera, debido a que los nutrientes que ésta aporta varían durante el año, tanto en calidad como en cantidad. La disponibilidad es mayor en primavera (39%) y en verano (29%), seguido por un período de producción media en otoño (25%) y de baja disponibilidad en invierno (6%). Esto significa que hay épocas de alimentación insuficiente para los animales, lo que no permite satisfacer los requerimientos nutricionales de vacas lecheras de alta producción (Leaver 1985; Holden y col. 1994). Pulido (1997) señala, que las praderas bien manejadas entregan un alimento de gran calidad para las vacas lecheras, pero que son incapaces de sustentar un alto nivel de producción de leche. Indica además, que animales de mayor producción consumen sólo entre 0.2 y 0.4 % de materia seca adicional de forraje por cada kilogramo de incremento en la producción de leche, pudiendo aumentar de esa forma el balance nutricional negativo. Durante la primavera el aporte de proteína cruda del forraje es alto, en cambio el aporte de energía metabolizable es medio y el de la fibra cruda es bajo (Ruiz 1997). En las otras estaciones del año la variabilidad en producción y calidad de la pradera, dada por la baja disponibilidad en invierno y la madurez del forraje en verano, no permite satisfacer los requerimientos nutricionales de las vacas de alta producción láctea (Leaver 1985; Holden y col. 1994).

La composición nutritiva de estas praderas manejadas bajo pastoreo poseen un promedio de 20 a 25 % de proteína cruda y 2,8 Mcal de EM por kg/MS, constituido además por un 35 a 40 % de fibra detergente neutro (Muller 1999), composición que según Anrique (1990) alcanza para lograr una producción láctea de 24 litros por vaca al día, solamente a pastoreo. Otros estudios han llegado a concluir que la pradera es capaz de soportar producciones de hasta 30 litros por vaca al día en las primeras etapas de su lactancia (Arriagada-Jordan y Holmes 1986).

3.1.3. Uso estratégico de alimentos suplementarios

La marcada estacionalidad en el crecimiento de las praderas hace recomendable el realizar un balance forrajero anual, el cual debe contemplar varias estrategias que permitan suplir dicho inconveniente mediante suplementación dietaria.

En los sistemas productivos, la meta principal de la suplementación es la de maximizar el rendimiento por unidad animal y por unidad de superficie destinada a la producción. Las estrategias apropiadas para suplementar vacas de alta producción, requieren de la comprensión de los efectos de los diferentes tipos de suplementos sobre el consumo de materia seca, del desempeño animal y de la digestión ruminal, además de proveer los nutrientes que cubran las deficiencias nutricionales de la pradera, teniendo en cuenta los requerimientos de los animales, según su estado fisiológico y condición corporal. Las mayores respuestas a la suplementación, pueden ser encontradas en las vacas de alto mérito genético, debido a que estas destinan la mayor parte de los nutrientes suplementados a la producción de leche y una menor proporción a la mantención o recuperación de la condición corporal, en relación las vacas de reducido mérito genético (Kellaway y Porta 1993).

En general existen dos estrategias de suplementación. La primera considera el uso de forrajes conservados o la utilización de cultivos suplementarios (Balocchi 1998). La otra estrategia consiste en el uso de un alimento concentrado, alto en energía, (Mc Gilloway y Mayne 1996), ya que ésta es la primera limitante nutricional para vacas de alta producción mantenidas a pastoreo (Kolver y Muller 1998). Por lo tanto, para sobrepasar el límite máximo en producción impuesto por la pradera, se requiere la provisión de un alimento concentrado con un alto nivel energético (Mc Gilloway y Mayne 1996).

Es conocido que la suplementación energética no siempre tiene el efecto esperado, existiendo otros factores limitantes tales como los carbohidratos estructurales y no estructurales, el nivel de materia seca y la cantidad y tipo de proteína presente. Todos éstos actuarían solos o asociados al aporte de energía (Kellaway y Porta 1993; Peyraud y col. 1997; Muller 1999). Según Peyraud y Delaby (2001), los objetivos principales de la suplementación en vacas de alto rendimiento lechero, es el aumento en el consumo de energía junto al de materia seca total. Kellaway y Porta (1993) agregan como objetivos de la suplementación, el incrementar la producción por unidad animal, aumentar la carga animal y producción de leche por unidad de superficie, mejorar la eficiencia en el uso de la pradera a través de mayores cargas animales, mantener o aumentar la condición corporal de los animales y mejorar los índices reproductivos, lograr una mayor persistencia de las lactancias, e incrementar la cantidad de proteína láctea.

Bajo el esquema económico en que se desempeñan actualmente las lecherías del sur de Chile, tomando en consideración que el costo por kilogramo (kg) de materia seca (MS) de forraje es significativamente menor que el costo por kg de MS de concentrado (Balocchi 1999^b), la suplementación con este último, debería ser utilizada solamente en forma estratégica, con el propósito de suplir el déficit de MS, EM y de nutrientes específicos, así como aumentar los niveles de producción por sobre los obtenibles exclusivamente a pastoreo y

de esta manera poder ofrecer una dieta balanceada, manteniendo una ración de bajo costo (Pulido 1997).

No obstante, al suplementar las vacas a pastoreo, el consumo de pradera decrece, lo que es definido como tasa de sustitución (Kellaway y Porta 1993). Rearte (1997) señala, que el uso de suplemento conlleva invariablemente a un efecto de sustitución de forraje por concentrado, por lo que la eficiencia de la suplementación dependerá de varios factores, tales como cantidad suplementada, cantidad de pradera ofrecida, digestibilidad de la pradera, propiedades físicas y químicas del concentrado y etapa de lactancia. La cantidad de pradera ofrecida por vaca al día, es el factor que tiene mayor efecto en la tasa de sustitución (Bargo y col. 2002). Es aceptado que la tasa de sustitución es el principal factor que contribuye en la variación de la producción de leche (Thomas y col. 1991).

Bargo y col. (2002) indican, que bajas tasas de sustitución producen mayor producción de leche por kilogramo de suplemento. Dixon y Stockdale (1999) señalan, que la tasa de sustitución es menor cuando la ingesta de energía es menor a los requerimientos de la vaca. Por lo tanto, una baja tasa de sustitución y una alta respuesta productiva son esperables en vacas lecheras de alto merito genético, encontrándose mayores respuestas a la suplementación debido a su alto potencial genético de ingesta y producción de leche, y baja utilización de energía proveniente del concentrado para su mantenimiento o recuperación de su condición corporal (Kellaway y Porta 1993).

3.1.4 El uso de concentrados

Los alimentos suplementarios consideran los concentrados proteicos y energéticos, los cuales son usados en forma estratégica debido a su alto costo. Por su parte, entre los alimentos energéticos es posible señalar los granos de cereales, subproductos de la industria molinera, subproductos de la industria cervecera, subproductos de la industria azucarera, aceites y grasas (Cañas 1998). Los alimentos proteicos se clasifican según su fuente de origen, en alimentos de origen animal, origen vegetal y nitrógeno no proteico.

Es esperable, que la inclusión de concentrados en la dieta incremente la digestión total de esta, debido a que los concentrados poseen una mayor digestibilidad que la pradera. Sin embargo, es posible que la interacción entre la digestión de concentrado y la pradera reduzca la digestión de la fibra, dado a que los carbohidratos altamente fermentables del concentrado pueden disminuir el pH por incremento de los microorganismos aminolíticos y lactogénicos, en desmedro de los celulolíticos, reduciendo consiguientemente la tasa de digestión de la fibra de la pradera y por lo tanto del consumo de materia seca de ésta (Dixon y Stockdale 1999). Mc Gilloway y Mayne (1996) postulan a que la disminución del tiempo de pastoreo y rumia, producto de la ingesta de concentrados, es otro factor gravitante en la menor digestión de fibra.

Una ventaja adicional de la suplementación con concentrado, es que incrementa la producción de proteína en la leche y la concentración de glucosa en el plasma. También disminuye la concentración de nitrógeno ureico en el plasma sanguíneo y en la leche,

sugiriendo que la suplementación con concentrado incrementa la eficiencia de utilización del nitrógeno dietario (Bargo y col. 2002).

Al determinar los niveles de concentrado a utilizar, se deben considerar el precio de la leche y el precio relativo del concentrado. Así es que en situaciones en que los precios de leche son bajos, los sistemas de producción basados en forrajes y bajos niveles de concentrado pasan a ser los más rentables para el productor. Sin embargo, con mayores precios de leche, se justifica elevar los niveles de concentrado y utilizar forrajeras de mayor nivel productivo. Por otra parte, cuando el precio relativo del concentrado es bajo, se puede utilizar mayores niveles de este para elevar los niveles productivos por unidad animal, permitiendo de esta manera aumentar la carga animal, con el consiguiente incremento de la producción de leche por hectárea (Jahn 1996).

Para determinar la cantidad de proteína que es necesario aportar en la dieta de los bovinos, se debe considerar los requerimientos de proteína degradable del rumen y los requerimientos de aminoácidos o proteína metabolizable para la mantención, crecimiento, preñez y lactancia de estos animales (Webster 1993).

Se han realizado diversos estudios comparando concentrados energéticos de origen fibroso con otros amiláceos, en la alimentación de vacas lecheras en pastoreo, debido a que las fuentes de almidón son las utilizadas en forma mas amplia. En promedio, se ha determinado que los concentrados fibrosos aumentan ligeramente el consumo de MS de la pradera, pero con una gran variación entre estudios. La producción de leche se reduce ligeramente cuando los suplementos fibrosos reemplazan a los suplementos amiláceos, pero nuevamente el rango de variación es grande (Delahoy col. 2003). La mayoría de los estudios no reporta cambios en el porcentaje de grasa en la leche.

3.2. LA PROTEINA MICROBIANA RUMINAL

La proteína es el nutriente más costoso y limitado para animales de alta producción (Van Kessel y Russel 1995). Sin embargo, los rumiantes tienen la ventaja de no requerir proteína de calidad específica, ya que los microorganismos del rumen digieren las proteínas del alimento y sustancias simples, como urea y otras fuentes de nitrógeno no proteico (NNP), convirtiéndolos en proteína bacteriana de excelente calidad (Cañas 1998). Por lo tanto, la proteína que escapa a la degradación ruminal es más cara que la proteína microbiana, por lo que la eficiencia de la producción de proteína microbiana tiene mayor impacto en la producción animal (Van Kessel y Russel 1995).

La estimación o cuantificación del contenido de proteína microbiana ruminal es un área importante en el estudio de la nutrición proteica de los rumiantes (Valadares y col. 1999), ya que permite predecir el aporte proteico del ambiente ruminal al intestino delgado, con el fin de corregir problemas en la dieta y utilizar de mejor forma el nitrógeno que entregan los forrajes y las fuentes de proteína de mayor costo económico (Dewhurst y col. 2000). La obtención de datos sobre la síntesis de proteína microbiana ha sido lenta, principalmente por el hecho de

que los métodos establecidos son en exceso trabajosos, requieren de mucho tiempo o de animales preparados quirúrgicamente (Stangassinger y col. 1995; Vagnoni y col. 1997). Investigaciones recientes, confirman la relación entre producción de proteína microbiana y la excreción de derivados de purinas (Pérez y col. 1997).

3.2.1. Origen y síntesis de proteína microbiana

La proteína metabolizable se define como la proteína total digestible (aminoácidos) disponible para el metabolismo del animal, después de que el alimento ha sufrido el proceso de digestión y de absorción a nivel del tracto gastrointestinal. Esta proteína está compuesta por proteína microbiana (PMC) digestible y proteína dietaria no degradable (AFRC 1995). La proteína microbiana digestible se origina de la actividad metabólica y replicación de los microorganismos ruminales, los cuales sintetizan proteína a partir de la energía fermentable presente en el alimento y de los aminoácidos o nitrógeno no proteico (NNP), originados de la degradación de la proteína dietaria a nivel ruminal (AFRC 1995).

La cantidad de proteína de los forrajes que es degradada en el rumen, varía entre un 30% para las proteínas menos solubles, hasta un 80% para la mayoría de las raciones. Durante su paso por el rumen, gran parte de ella es degradada hasta aminoácidos, los cuales darán finalmente origen a los ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono y amoníaco (Bondi 1988). El amoníaco es utilizado por los microorganismos ruminales al disponer de suficiente energía para la síntesis de proteína microbiana (Maynard y col. 1988). Bajo condiciones normales al menos el 70% de la proteína microbiana es sintetizada a partir de amoníaco (Webster 1993). Parte de este, al ser liberado en el rumen, no puede ser fijado por los microorganismos, por lo que es absorbido por la mucosa ruminal y llevado por la sangre hasta el hígado, donde es transformado en urea. La mayor parte de ésta última es excretada por la orina, con un consiguiente gasto energético para el animal. La otra fracción de urea, significativamente menor, es excretada en la leche de vacas lactantes (Maynard y col. 1988).

La cantidad de proteína microbiana sintetizada en el rumen, proteína no degradable en el rumen y proteína de origen endógeno que alcanza el duodeno, determinan la cantidad de aminoácidos disponibles para la absorción intestinal (Vérité y Peyraud 1989; Madsen y col. 1995; NRC 2001). Estos aminoácidos son utilizados para sintetizar proteínas que participan en el crecimiento de tejido, en la producción de proteína láctea y en el metabolismo normal (Bondi 1988).

Se ha señalado que dos tercios a tres cuartos de los aminoácidos absorbidos por el rumiante derivan de la proteína microbiana (Dewhurst y col. 2000). Existen trabajos de investigación recientes que indican que la proteína microbiana responde en promedio, por el 59% de la proteína que llega al intestino delgado (Clark y col. 1992), lo que denota la importancia de los mecanismos de síntesis proteica bacteriana y de los factores relacionados con ésta (Nocek y Russel 1988), siendo considerada la fuente proteica primaria para vacas lactantes (Muller 1996). De esta proteína microbiana el 25% corresponde a ácidos nucleicos, los cuales no pueden ser utilizados por el rumiante para la síntesis de tejidos, leche, etc. (AFRC 1995; Smith y Mc Allan 1970), por lo que son transformados en el hígado a derivados

de purina y luego eliminados por la orina (Tamminga y Chen 2000). Por lo tanto el 75% de la proteína microbiana corresponde a proteína microbiana verdadera, en forma de proteínas, péptidos y aminoácidos libres, de los cuales el 85% es digestible a nivel intestinal. De este modo el 63,8% de la proteína microbiana total (PMCT) corresponde a proteína microbiana digestible (PMCD) (AFRC 1993).

3.2.2. Factores que afectan la síntesis de proteína microbiana

La disponibilidad ruminal de energía y N, junto con el nivel de consumo de alimento por parte del animal, son los factores nutricionales que más limitan el crecimiento microbiano (Clark y col. 1992). Según Valadares Filho (1995), los carbohidratos constituyen la principal fuente de energía para los microorganismos ruminales comparados con los lípidos o la proteína bruta. Esta última puede contribuir como fuente energética, vía fermentación de los esqueletos de carbono derivados de la deaminación de aminoácidos, aunque esta no sea su función principal en el rumen. Los lípidos prácticamente no son fuente de energía para los microorganismos.

La energía fermentable en el rumen es necesaria para que la fracción de la proteína dietaria degradable ruminalmente y el nitrógeno no proteico, sean eficientemente utilizados por los microorganismos del rumen, tanto para su crecimiento, como para la síntesis de sus proteínas constituyentes (AFRC 1995). Por lo tanto los concentrados energéticos se presentan como una fuente adicional de energía a ser considerada en la dieta de rumiantes. La energía para la síntesis de proteína microbiana proviene principalmente de los carbohidratos dietéticos, cuya fuente puede afectar el crecimiento microbiano. Clark y col. (1992) verificaron que la alteración de la relación voluminoso/concentrado en la dieta podría influir el crecimiento microbiano, a raíz de la variación de energía. Dependiendo del tipo de carbohidrato que contengan los concentrados, ya sean estos en base a almidón o fibra digestible, variaría la velocidad de fermentación en el rumen (Meijs 1986; Kibon y Holmes 1984) y por consiguiente la cantidad de proteína microbiana sintetizada (Webster 1993).

Evaluaciones preliminares sugieren que el uso de un concentrado rico en fibra digestible podría aumentar el pH del rumen, facilitando la síntesis de proteína microbiana y aumentando la producción de leche (Muller 1996). Según Sniffen y Robinson (1987), si los carbohidratos no estructurales estuvieran en alta proporción en la ración y el pH fuera mantenido, los microorganismos fermentadores de este sustrato crecerían rápidamente, resultando en un aumento de la población microbiana. El uso de la coseta de remolacha en estos concentrados sería una excelente fuente de energía metabolizable, la que provendría mayormente de la fibra digestible, por lo que fermentaría más lentamente en el rumen, sincronizando mejor con las necesidades de los microorganismos ruminales (Webster 1993).

Por otro lado, si se acumulara el ácido láctico, ocurrirá una disminución de pH con la consiguiente alteración de la ecología microbiana y del consumo de materia seca (Sniffen y Robinson 1987). Los concentrados amiláceos por su rápida fermentación en el rumen, promueven un incremento en la acidéz de éste, por acumulo de ácido láctico y altas tasas de sustitución de forraje por concentrado, por lo que es esperable un efecto negativo en el

funcionamiento ruminal (Webster 1993), pero acompañado de una mayor respuesta en los niveles de producción láctea (Thomas y col. 1991).

Rearte (1997) señala que el suplemento, cualquiera que este fuere, sólo modificaría el ambiente ruminal al ser una fracción mayoritaria y significativa del consumo total de materia seca. De esta manera parecería que el tipo de carbohidrato en el suplemento podría ser un factor muy importante a considerar para optimizar la suplementación dietaria, el funcionamiento ruminal, el consumo de materia seca total y por ende la respuesta productiva de los animales a pastoreo (Leaver 1985; Peyraud y col. 1997).

Tasas más rápidas de crecimiento asociadas a un pasaje mas rápido de microorganismos hacia el intestino delgado, pueden reducir el reciclaje de energía y N en el rúmen, decreciendo la lisis celular, disminuyendo así los requisitos de mantención de los microorganismos, incrementando consecuentemente la disponibilidad de nutrientes para crecimiento microbiano (Clark y col. 1992). Otro factor a ser considerado en la síntesis de PMC es el grado de sincronización de los aportes de N y de sustratos que aporten energía para los microorganismos del rumen, debido a que influye en la utilización de la proteína degradable en el rumen y aumenta los niveles productivos del animal (Kolver y Muller 1998). Por lo tanto, en vacas lecheras de sistemas pastoriles, se requiere el aporte de un suplemento como una fuente de energía adicional a la pradera y de alta disponibilidad en el rumen, para así mejorar la utilización de los altos niveles de proteína degradable de la pradera y de esa manera estimular la síntesis de proteína microbiana (Muller 1999). Sin embargo, en un estudio realizado por Kolver y Muller (1998), no se logró aumentar la producción de leche al sincronizar la degradación de los carbohidratos y el N de la pradera vía suplementación energética. Esto señalaría que es necesario seguir evaluando el efecto de la suplementación de vacas a pastoreo, no considerando el aporte de energía sino que el tipo de carbohidrato que aporta ésta (Muller 1999). Según Kellaway y Porta (1993), para la síntesis de 8-11 g de proteína microbiana se necesita 1 megajoule (MJ) de energía metabolizable de origen no graso. Esta proporción se incrementa con la ingesta de alimentos de mejor calidad.

3.2.3. Los derivados de purinas

Las exigencias o demandas proteicas de los rumiantes son atendidas mediante absorción intestinal de aminoácidos provenientes principalmente de la proteína microbiana sintetizada en el rumen y de la proteína dietética no degradada en el rumen (Valadares Filho 1995). Las purinas son absorbidas prontamente como nucleótidos y bases libres en el lumen del intestino delgado (Stangassinger y col. 1995). Las bases púricas de los ácidos nucleicos microbianos, al ser metabolizados, constituyen la principal fuente de los derivados de purinas urinarios (DPe), y sólo una pequeña fracción proviene de los ácidos nucleicos de los tejidos (Tamminga y Chen 2000).

La excreción urinaria de derivados de purinas (DPe) en rumiantes puede ser usada para estimar el flujo intestinal de proteína microbiana, una vez que la excreción endógena de derivados de purinas (DP) y la relación cuantitativa entre la excreción de derivados de purinas y la absorción de purinas, hayan sido determinadas previamente (Chen y col. 1996). La

excreción de derivados de purinas está directamente relacionada con la absorción de las mismas y con el conocimiento de la relación entre nitrógeno (N) purínico y el N total en la masa microbiana. La absorción de N microbiano puede ser calculada a partir de la cantidad de purina absorbida, que es estimada por intermedio de la excreción urinaria de derivados de purinas (Chen y col. 1990; Verbic y col. 1990; Chen y Gomes 1992).

Es importante destacar que la extensión de esta degradación enzimática determina los niveles de disponibilidad metabólica de las purinas a ser utilizadas posteriormente por los animales (Stangassinger y col. 1995). Los derivados de purinas excretados en la orina de rumiantes incluyen alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina (Fujihara y col. 1987). Sin embargo, solamente se ha encontrado alantoína y ácido úrico en cantidades significativas en la orina de los bovinos. Xantina e hipoxantina no se encuentran presentes en cantidades significativas en la orina de los bovinos, al estar sujetas a la degradación de una amplia variedad de enzimas específicas como guanina deaminasa, adenosina deaminasa y xantina oxidasa, durante su paso por la mucosa intestinal. (Chen y col. 1990; Verbic y col. 1990; Chen y Gomes 1992; Stangassinger y col. 1995). Por intermedio de la alta actividad de xantina oxidasa, enzima clave en la degradación de las purinas, tanto en la sangre como en los tejidos, la hipoxantina y xantina son convertidas a ácido úrico, siendo este último degradado a alantoína por la acción de la uricasa, previo a su excreción por la orina (Chen y Gomes 1992; Lehninger 1995). La xantina e hipoxantina como tal, no están disponibles para ser utilizadas por el tejido animal (Verbic y col. 1990). Consecuentemente la alantoína es el DP más importante en los bovinos (Bargo y col. 2002), encontrándose entre un rango descrito para vacas de 89 a 97% (Giesecke y col. 1994; Gonda y col. 1996; Vagnoni y col. 1997).

La principal vía de eliminación de los DP es la vía urinaria. Sin embargo algunos de los DP en la sangre también pueden ser eliminados por vía digestiva (vía saliva o a través de la pared intestinal) y por la glándula mamaria a través de la leche. Una vez que el ácido úrico y la alantoína son secretados dentro del intestino delgado, ya no pueden volver a ser reabsorbidos por el organismo (Chen y Gomes 1992). La cantidad de derivados de purinas eliminados por la vía no renal es función de la concentración plasmática de DP, siendo proporcional a la cantidad de DP que entra a la sangre. Su eliminación se efectúa a una tasa constante de clearance, de cerca de 30% a la hora (Chen y Gomes 1992).

Para obtener la totalidad de los DP (alantoína y ácido úrico) excretados diariamente, se requiere la recolección diaria total de orina. Pero para hacerla aplicable a condiciones de animales a pastoreo es posible sacar muestras puntuales de orina, ya que la producción de DP es constante durante el día (Chen y col 1992) y la dilución de la orina se puede corregir mediante la concentración de la muestra urinaria con un marcador (Orellana y col. 1998).

La creatinina, producto final de la degradación de la fosfocreatinina, puede ser usada como un marcador interno en éste método (Gonda 1995), ya que cumple con los requisitos de ser excretada en forma constante por la orina y de ser independiente, tanto del consumo de alimento como de la producción (Orellana y col. 1998). Según Brody (1945), es excretada en proporción al peso vivo ($N\text{-Creatinina (mg/día)} = 12,7 PV^{0,896}$) dentro de un amplio rango de pesos (0,02 a 800 kg de peso vivo). Antoniewicz y col. (1981) determinaron que la excreción

diaria de creatinina (CT) y alantoína (A) en ovejas fue suficientemente constante como para predecir la excreción diaria de alantoína a partir de la razón A/CT de la orina (concentración de A en muestras puntuales), con una alta correlación entre los valores medidos en la orina total (CV = 13,3%). La razón A/CT puede ser corregida por el peso metabólico para facilitar la comparación entre animales (Chen y col 1992).

Para calcular la excreción diaria total de DP se utiliza la siguiente ecuación (Tamminga y Chen 2000):

$$Y = (0,385 W^{0,75}) + 0,85 X$$

Donde:

- Y : Excreción diaria total de DP (mmol/día -1).
 W^{0,75} : Peso metabólico corporal.
 X : Absorción de purinas exógenos (mmol/día -1).

El estado fisiológico, como en el caso de una lactancia, es otro factor que influye en la concentración de DP excretados en la orina, ya que esta no es constante a lo largo de toda la lactancia. En etapas tempranas de la lactancia la proporción de bases púricas recuperadas en la orina (0.44 ± 0.063), tiende a ser significativamente menor que en la lactancia tardía (Gonzalez-Ronquillo y col. 2003). No existe información clara disponible sobre el efecto del estado fisiológico en el metabolismo de los DP. Puede que la diferencia entre estados de lactancia se relacione con una baja eficiencia en la absorción. Si la lactancia afectase a las enzimas involucradas en el metabolismo de las purinas, se podría explicar el cambio en la eficiencia de la absorción y metabolismo, o alternativamente la distribución entre la vía renal y la no renal (Johnson y col. 1998; Gonzalez-Ronquillo y col. 2003).

Al utilizar la excreción diaria de los derivados de purinas como índice para calcular la cantidad de purinas de origen exógeno absorbidas por el animal, se requiere corregir la contribución de DP de origen endógeno (Chen y Gomes 1992).

3.4.2. Contribución endógena a la excreción de derivados de purinas

En la orina de los bovinos, tanto las purinas endógenas como las exógenas poseen una composición similar, de aproximadamente 85% de alantoína y 15% de ácido úrico. La fracción endógena proviene de los ácidos nucleicos de los tejidos. Su magnitud no es constante entre especies (Chen y col. 1990; Orellana Boero y col. 2001), ni dentro de una misma especie (Liang y col. 1994) y no se sabe si es afectada por la producción o por el estado fisiológico de los animales (Gonzalez-Ronquillo y col. 2003). Lo que está claro, es que la excreción endógena se relaciona directamente con el peso metabólico de los animales, por lo que al aumentar éste, la excreción endógena también se incrementa (Chen y col. 1992). En el bovino la excreción endógena de DP es de alrededor de 385 micromoles por cada kg de peso metabólico ($\mu\text{mol/kg PV}^{0,75}$) al día y se sugiere, que el coeficiente de recuperación de los DP

endógenos es de 0.85, cuando la recolección no es completa, debido a las pérdidas en el plasma por vía no renal (Verbic y col. 1990). La excreción endógena de DP por kg de peso metabólico, es tres veces mayor en los bovinos que en los ovinos (530 y 150 $\mu\text{mol/kg PV}^{0.75}$ por día, respectivamente). Esta diferencia entre ovinos y bovinos, se debe a que los tejidos en el bovino poseen una alta actividad de xantina oxidasa (Chen y Gomes 1992). Según Chen y col. (1996), la diferencia en el metabolismo de las purinas ha establecido, que ovinos y *Bos taurus* difieren en cuanto al nivel de excreción endógena de purinas y en la habilidad de utilizar las purinas de origen exógeno. Entonces la excreción de DP provee una medida de la cantidad de ácidos nucleicos microbianos absorbidos por el duodeno y por lo tanto, de la síntesis de PMC en los rumiantes (Rys y col. 1975; Chen y col. 1991).

3.3. MÉTODOS DE ESTIMACIÓN DE LA PROTEÍNA MICROBIANA RUMINAL

La medición del contenido de proteína microbiana ruminal es un área importante en el estudio de la nutrición proteica de los rumiantes (Valadares y col. 1999), ya que permite predecir cuanta proteína aporta el ambiente ruminal al intestino delgado, con el fin de corregir problemas en la dieta y utilizar de mejor forma el N que entregan los forrajes y las fuentes de proteína de mayor costo económico (Dewhurst y col. 2000).

Existen diversas técnicas para estimar la síntesis de proteína microbiana, entre las que se encuentran:

- Técnica “in vitro”, la cual pretende simular las condiciones del rumen (Cañas 1998), incubando una muestra de alimento con licor buffer ruminal (Miller 1982).
- Técnica “in situ”, que permite estimar la concentración de proteína degradable ruminal (Coblentz y col. 1999), incubando alimento en bolsas que se introducen en el rumen (Hvelplund y Weisbjerg 2000).
- Técnica “in vivo”, que mide la proteína microbiana producida en el rumen y la proteína dietaria que se escapa de la degradación ruminal (AFRC 1993), usando animales con cánulas ruminales y/o duodenales (Valadares y col. 1999).

Las técnicas que utilizan animales vivos, tienen la desventaja de ser invasivas, costosas, tediosas y sujetas a error (Tamminga y Chen 2000). Debido a la gran importancia que ha adquirido el bienestar animal en estos últimos años, se ha desarrollado el método no invasivo de cuantificación de la excreción urinaria de los DP. Como ventajas de utilizar este método no invasivo de cuantificación de la excreción urinaria de los DP, destaca el hecho de que es más simple y económica, debido a que no se requiere realizar procesos quirúrgicos en los animales y sólo se requiere contar con instrumental de laboratorio como un espectrofotómetro ultravioleta o un cromatógrafo (Tamminga y Chen 2000).

Investigaciones recientes confirman la relación entre la producción de proteína microbiana y la excreción de derivados de purinas (DP) (Pérez y col. 1997). Lo anterior nos permite utilizar a los DP como indicadores en la estimación de la síntesis de proteína microbiana ruminal (Chen y col. 1996).

3.4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS DE LA MEMORIA DE TÍTULO

Los objetivos de esta memoria de título son, el estimar la síntesis de proteína microbiana retículo-ruminal, como a su vez el rendimiento microbiano mediante la determinación de derivados de purinas (DP) excretados por la orina en vacas lecheras a pastoreo primaveral y suplementadas con dos tipos de concentrados, formulados con diferentes fuentes de carbohidratos.

La hipótesis que se plantea es que el tipo de carbohidrato ofrecido en el concentrado, como suplemento a vacas en pastoreo primaveral, no afecta la síntesis de proteína microbiana.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL EXPERIMENTAL

4.1.1. Predio experimental y duración del ensayo

El presente ensayo se efectuó en el predio experimental de “Vista Alegre”, de propiedad de la Universidad Austral de Chile, ubicado a la altura del kilómetro 8 del acceso norte a la ciudad de Valdivia, Provincia de Valdivia, Décima Región de los Lagos, Chile.

Geográficamente el predio se encuentra ubicado entre los paralelos 39°47'46” y 39°48'54” de latitud sur y los meridianos 73°13'13” y 73°12'24” longitud oeste, a una altura promedio de 12 metros sobre el nivel del mar.

El ensayo de campo, se llevó a cabo entre el 26 de septiembre y el 9 de noviembre del año 2003, con una duración de 45 días. La recolección de datos y muestreos se efectuaron entre el 6 de octubre y el 9 de noviembre inclusive, abarcando 5 semanas. El periodo pre-experimental tuvo una duración de 10 días. En éste se formaron y homogenizaron los grupos, con el fin de adaptar a ambos grupos de animales a las condiciones de manejo y ambientales del predio, así como a su respectiva dieta.

4.1.2. Animales

Se utilizaron 18 vacas multíparas, del genotipo Frisón Negro, provenientes de los predios experimentales “Santa Rosa”, Vista Alegre” y “Punahue”, pertenecientes al rebaño lechero de la Universidad Austral de Chile. Las vacas fueron identificadas en forma individual, por medio de su respectivo número de autocrotal, asignado en su predio de origen, siendo seleccionadas de acuerdo a su época de parto o días de lactancia, número de partos, producción láctea, condición corporal inicial y peso vivo. La media y la desviación estándar de cada uno de los caracteres de selección mencionados para el rebaño, al inicio de la fase experimental de campo, fueron de $52,3 \pm 14,4$ días postparto; $4,06 \pm 1,7$ lactancias; producción láctea de $29,6 \pm 3,7$ litros al día, condición corporal inicial de $2,33 \pm 0,4$ en la escala de 5 puntos y $512,1 \pm 50,8$ kg de peso vivo. La producción de leche inicial fue la variable principal utilizada para formar los grupos.

4.1.3. Alimentos

4.1.3.1. Praderas. Para el ensayo de campo, se utilizaron 8,5 hectáreas de pradera permanente mejorada, en estado fenológico correspondiente a inicios de primavera, fertilizadas y uniformes en su composición botánica, edad y manejo. Estas fueron subdivididas en 6 potreros de aproximadamente 1,4 hectáreas cada uno, los cuales se encontraban entre 350 y 550 metros de distancia de la sala de ordeño. Previamente a ser utilizados en el ensayo, habían sido

rezagados desde el día primero de agosto del 2003, con la finalidad de contar con una adecuada disponibilidad, así como homogeneidad del forraje.

4.1.3.2. Concentrados. Las vacas fueron suplementadas con dos tipos de concentrados energéticos peletizados, de similar composición nutricional, variando la fuente de sus carbohidratos constituyentes. El primero (concentrado A), que era de tipo amiláceo, estaba compuesto en un 93% por grano de cebada, 5% de afrecho de soya y 2% de melaza. El segundo (concentrado F), era del tipo fibroso, componiéndose en un 86,5% de coseta seca de remolacha, 11,5% de soya y 2% de melaza. Ambos concentrados poseían en promedio 3.1 megacalorías (Mcal) de energía metabolizable (EM) como mínimo y un 11.9 % de proteína cruda, en base a materia seca.

4.1.3.3. Sales minerales y agua. Se ofrecieron sales minerales para vacas lecheras de alta producción (VETERSAL®, vaca lechera alta producción, Veterquímica S.A.) y agua de bebida, a libre disposición, durante todo el periodo que constituyó el ensayo y el periodo de adaptación previo.

4.1.4. Envases colectores para orina

Se usaron frascos de plástico estéril de 50 ml, para almacenamiento de las muestras de orina. Un frasco de recolección de orina de 500 ml, sin contenido, y una jeringa de 10ml para medición y transferencia del volumen de orina requerido.

4.1.5. Romana

La romana utilizada, poseía una capacidad para 1500 kg y presentaba un margen de error en su lectura, de alrededor de 1 kg, encontrándose instalada a un costado de la sala de ordeño del predio.

4.1.6. Cerco eléctrico móvil

El cerco eléctrico móvil fue utilizado para delimitar el área de pastoreo de cada grupo y restringir la superficie a ser pastoreada, según la disponibilidad de forraje.

4.1.7. Plato para medición de disponibilidad de materia seca en pradera

Se utilizó un plato marca JENQUIP® (Filip's folding plate pasture meter, New Zealand), para determinar la disponibilidad de materia seca en el potrero y calcular la superficie a ofrecer (franja) a los animales. Además sirvió para estimar el residuo dejado por los animales y calcular su consumo.

4.2. MÉTODO EXPERIMENTAL

4.2.1. Tratamientos

Las 18 vacas fueron distribuidas en dos grupos de 9 cada uno, utilizándose un diseño experimental aleatorio, en el cual los animales permanecieron con el mismo tratamiento por todo el periodo.

Los tratamientos fueron:

- El tratamiento 1 (T.C.F.), a pastoreo y con suplementación de 6 kg de “concentrado F (fibroso)”, distribuido en dos raciones de 3 kg al día.
- El tratamiento 2 (T.C.A.), a pastoreo y con suplementación de 6 kg de “concentrado A (amiláceo)”, distribuido en dos raciones de 3 kg al día.

4.2.2. Manejo y alimentación de los animales

El manejo de los animales se efectuó en dos grupos separados, de acuerdo al tratamiento asignado a cada uno.

La pradera, fue ofrecida mediante un sistema de pastoreo rotativo en franjas, determinado por las características de la pradera (materia seca, disponibilidad y altura), y reguladas diariamente por medio de un cerco eléctrico móvil. Se establecieron dos franjas de pastoreo por grupo al día. El ancho de estas, fue adecuado al crecimiento de la pradera, ofreciendo un mínimo de 35 kg de materia seca por vaca al día y considerando una altura de residuo igual o mayor a 10 cm, evitando con ello, que la altura de la pradera fuera una limitante en el consumo. Para ello se midió diariamente la disponibilidad de la pradera, con el plato mencionado en el apartado 6.4.6., estableciendo las áreas de pastoreo (franjas) y delimitándolas con cerco eléctrico. Posteriormente cada franja pastoreada en ambos tratamientos era medida, para estimar el residuo dejado por los animales, tras alrededor de 8 horas de pastoreo, en cada una de ellas. Las mediciones por franja, constaban de 100 muestras obtenidas al azar, al desplazarse en zig-zag a través del potrero. La ecuación de calibración del plato se modificó semanalmente, debido al cambio fenológico y nutricional que presentan las praderas en esta época.

El concentrado, el cual era pesado previamente en una balanza electrónica, envasando la cantidad de 3 kg de cada tipo, por bolsa plástica, previamente rotulada con el número de la vaca, según el tratamiento correspondiente, era ofrecido en comederos individuales durante la ordeña.

Las sales minerales para vacas lecheras de alta producción, fueron entregadas a libre disposición de los animales, en el patio de espera de la sala de ordeño, durante todo el periodo que constituyó el ensayo.

El agua de bebida, también fue entregada a libre disposición de las vacas. De esta se dispuso en el patio de espera de la sala de ordeño y en el potrero, mediante el uso de bebederos móviles.

4.2.3. Muestreos y análisis de los alimentos

Las muestras de pradera y de concentrado, fueron recolectadas al inicio y durante cada periodo de muestreo del ensayo, siendo analizadas por el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Austral de Chile, para determinar su materia seca (MS), cenizas totales (CT), proteína cruda (PC) y fibra detergente neutro (FDN), y la energía metabolizable (EM), se estimó por regresión a partir del valor D, determinado in vitro, según la ecuación de Garrido y Mann (1981).

4.2.4. Pesaje y estimación de la condición corporal

Los pesajes y la estimación de la condición corporal, se efectuaron semanalmente, con posterioridad a la ordeña matinal, el último día de cada tiempo de muestra, registrando el peso individual de cada animal comprometido en el ensayo. La estimación de la condición corporal, fue realizada por dos personas simultáneamente, en base a criterios previamente definidos, establecidos en una escala de 1 al 5, correspondiendo el primer número a una menor y el segundo, a una mayor condición corporal.

4.2.5. Recolección de muestras de orina

Las muestras de orina fueron obtenidas durante 2 días consecutivos, al finalizar cada una de las 5 semanas del periodo experimental, recolectándose dos muestras diarias por vaca. El método de obtención de la orina, fue por estimulación vulvar, desechándose las primeras micciones y captándose las sucesivas en el frasco colector. Mediante el uso de una jeringa, se transferían 9 ml de orina desde el frasco colector a un frasco estéril, homogenizándose ésta con 1 ml de ácido sulfúrico al 10 %, previamente incorporado al frasco. Inmediatamente después, las muestras eran almacenadas en un congelador, a una temperatura de -20 °C.

Al finalizar el ensayo y previo al envío de las muestras al Departamento de Bromatología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción, para determinación de derivados de purinas (DP), las 4 muestras obtenidas, en los 2 días sucesivos de cada periodo de muestreo (semanal), fueron descongeladas y homogenizadas, para ser transferidas a un nuevo frasco estéril. Las muestras finalmente remitidas para su análisis, correspondieron a 5 por cada vaca utilizada en el ensayo.

4.2.6. Análisis de las muestras de orina

En el Departamento de Bromatología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción, se cuantificó (mmol/l) la concentración de creatinina, ácido úrico y alantoína, presentes en cada una de las muestras remitidas, en forma individual. Para la cuantificación de los derivados de purinas mencionados, se utilizó la técnica de Cromatografía Líquida de Alta

Resolución (HPLC), descrita por Resines y col. (1992), usando un cromatógrafo marca Hitachi, modelo L-500, con una bomba programable 655A-11, un detector UV 655 A, acoplado a un integrador D-2000 y una columna LiChroSpher 100-RP18 5 μm (244 x 4 mm).

4.2.7. Cuantificación de los derivados de purina en la orina y estimación de las variables de interés a analizar

4.2.7.1. Determinación de la concentración de los derivados de purina en las muestras de orina obtenidas (mmol/l). Se obtuvo sumando las concentraciones de alantoína (mmol/l) y ácido úrico (mmol/l), obtenidas tal como es descrito en el punto 6.5.5.

4.2.7.2. Estimación de la concentración individual de derivados de purina. Las concentraciones de alantoína y ácido úrico excretados en la orina al día, en mmol por día, se determinaron mediante las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned} A \text{ (mmol/día)} &= A \text{ (mmol/l)} \times VO \\ AU \text{ (mmol/día)} &= AU \text{ (mmol/l)} \times VO \end{aligned}$$

Donde:

A (mmol/l) : Concentración molar de alantoína / litro de orina.
AU (mmol/l) : Concentración molar de ácido úrico / litro de orina.

Por su parte, el volumen urinario (VO), fue estimado a través de la siguiente fórmula:

$$VO / (CT/CO)$$

Donde:

VO : Representa el volumen de orina estimado (l) (Al-Khalidi y Chaglassian, 1965).
CT : Representa la creatinina total excretada en el día (mg).
CO : Representa la concentración de creatinina en la muestra de orina (mg/l).

La excreción diaria de creatinina en la orina (CV), fue calculada de la siguiente forma (mmol/día):

$$CT / (PV \times C)$$

Donde:

CT : Representa la creatinina total excretada en el día (mg).
PV : Es el peso vivo (kg).
C : Es una constante que equivale a una excreción de creatinina de 26mg/kg de PV (Lindberg 1989).

4.2.7.3. Cálculo de la excreción diaria de los derivados de purina (DPe). Este parámetro fue determinado al sumar la excreción diaria de alantoína (mmol/día) con la excreción diaria de ácido úrico (mmol/día).

4.2.7.4. Determinación del índice purínico. La excreción diaria de derivados de purinas en la orina, corregida por el peso metabólico de los animales al momento de obtener la muestra, y a su vez la dilución de la muestra de orina, corregida por la creatinina, fue calculada por medio de la siguiente fórmula (Sánchez 2003):

$$IP = \frac{DPe \times PV^{0,75}}{CT}$$

Donde:

- IP : Representa el índice purínico.
- DPe : Representa la excreción diaria de derivados de purinas en la orina (mmol/día).
- CT : Representa la excreción diaria de creatinina en la orina (mmol/día).
- PV^{0,75} : Representa el peso metabólico del animal.

4.2.7.5. Estimación de la absorción diaria de purinas (PA). La absorción diaria de purinas provenientes de ácidos nucleicos microbianos, fue calculada en base a las excreciones diarias de los derivados de purinas (DPe), por medio de la ecuación citada por Chen y Gomes (1992):

$$PA = \frac{DPe - (0,385 \times PV^{0,75})}{0,85}$$

Donde:

- PA : Representa a las purinas absorbidas al día (mmol/día).
- DPe : Representa la estimación de la excreción diaria de los derivados de purinas (mmol/día).
- 0,85 : Representa al factor de recuperación como DP de las purinas absorbidas.
- (0,385 x PV^{0,75}) : Representa la contribución endógena de DP en mmol/kilo de peso metabólico.

4.2.7.6. Estimación del aporte de nitrógeno de los microorganismos del retículo-rumen (NM). Se calculó utilizando la fórmula descrita por Chen y Gomes (1992):

$$NM = \frac{PA \times 70}{0,83 \times 0,116 \times 1000}$$

Donde:

- NM : Representa el nitrógeno microbiano (g/día).
- PA : Representa a las purinas absorbidas (mmol/día).
- 70 : Representa el contenido de nitrógeno en las purinas (mg N/mmol).
- 0,83 : Representa el factor de digestibilidad de las purinas.
- 0,116 : Representa la tasa de nitrógeno en las purinas, dividida por el nitrógeno total de los microorganismos del retículo-rumen (11,6 / 100).

4.2.7.7. Estimación del rendimiento microbiano (NM/MS). Se obtuvo a partir del NM producido por unidad de alimento consumido, expresado como NM producido por kg de materia seca ingerida (MSI) (Chen y col. 1992b).

4.2.7.8. Estimación de la proteína microbiana total (PMCT). La proteína microbiana total se estimó mediante la siguiente fórmula:

$$PMCT = NM \times 6,25$$

Donde:

- PMCT : Representa a la proteína microbiana total (g/día).
- NM : Representa el aporte de Nitrógeno microbiano (g/día).
- 6,25 : Representa el contenido de nitrógeno de las proteínas.

4.2.7.9. Estimación de la proteína microbiana digestible (PMCD). La proteína microbiana digestible se estimó por medio de la siguiente fórmula:

$$PMCD = PMCT \times 0,6375$$

Donde:

- PMCD : Representa a la proteína microbiana digestible (g/día).
- PMCT : Representa a la proteína microbiana total (g/día).
- 0,6375 : Representa a la fracción de PMCT digestible, obtenida mediante la multiplicación del contenido de proteína de los microorganismos del rumen (0,75) y porcentaje de digestibilidad de la misma (0,85) (AFRC 1993).

4.2.8. Diseño experimental

El diseño experimental utilizado, fue completamente aleatorio, utilizando medidas repetidas.

4.2.9. Análisis estadístico de los resultados

El análisis estadístico y presentación de los datos y resultados, se realizó mediante una descripción estadística, basada en parámetros de posición y dispersión (media de mínimos cuadrados y desviación estándar), utilizando el método estadístico de análisis de varianza (ANDEVA), el cual se efectuó aplicando un nivel de significancia de 5%. Se analizaron las variables de alantoína, ácido úrico, DP, DPe, PA, NM, NM/MSI, PMCT y PMCD. La prueba que se utilizó para comparar diferencias entre los tratamientos fue la Prueba de Tukey.

Los datos de estas variables fueron analizados usando el programa estadístico Minitab, 1998, mediante el siguiente modelo lineal general:

$$Y_{ijkl} = u + T_i + C_{ij} + P_k + TP_{ij} + e_{ijkl}$$

Donde:

- Y_{ijkl} : Representa la m-ésima medición, realizada en el i-ésimo cuadrado, del j-ésimo período, en el i-ésimo tratamiento, del k-ésimo muestreo, dentro del j-ésimo período.
- u : Representa el intercepto.
- T_i : Representa el efecto fijo del i-ésimo tratamiento ($i = 1,2$).
- C_{ij} : Representa el efecto de la vaca j, anidada en el tratamiento i.
- P_k : Representa el efecto fijo del tiempo de muestreo k ($k = 1,2$).
- TP_{ij} : Representa el efecto fijo de la interacción entre el tratamiento i y el tiempo de muestreo.
- e_{ijkl} : Representa el efecto residual aleatorio $\sim N(0, \sigma^2)$.

5. RESULTADOS

5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DIGESTIBILIDAD DE LOS ALIMENTOS

5.1.1. Composición química de la pradera

En el primer cuadro se presenta la composición químico-nutricional de la pradera. Los valores corresponden al promedio del ensayo y desviación estándar de los muestreos semanales, obtenidos a nivel de suelo (ofrecida) y a la altura media del residuo dejado por las vacas (consumidas) durante el ensayo. Ambos datos se exponen separadamente, dado el abundante residuo remanente, producto de la baja presión de pastoreo.

Cuadro 1. Composición química y digestibilidad promedio de la pradera, consumida por las vacas durante el ensayo y expresadas en base a materia seca (MS).

Componentes	Pradera Unidad	Ofrecida		Consumida	
		Prom.	d.s.	Prom.	d.s.
Materia seca (MS)		15,5	1,44	11,8	0,18
Energía metabolizable (Mcal/kg MS)		2,6	0,15	2,8	0,08
Fibra detergente neutro (FDN)		54,0	4,40	52,1	4,40
Fibra detergente ácida (FDA)		30,1	2,53	26,0	0,44
Proteína cruda (PB)		20,8	2,29	25,1	0,04
Cenizas totales (CT)		11,0	1,74	9,3	1,13
Digestibilidad (D)		72,5	4,59	77,6	2,64

5.1.2. Composición química de los dos tipos de concentrados energéticos

En el segundo cuadro, se presenta la composición química del concentrado CF (coseta seca de remolacha como base, con afrecho de soja) y del concentrado CA (cebada como base, con afrecho de soja), aportados durante el ensayo.

Cuadro 2. Composición química de ambos tipos de concentrados energéticos, en base a materia seca (MS), utilizados en ambos tratamientos durante el ensayo.

Composición	Alimentos concentrados	
	CA	CF
Materia seca (MS)	88,2	88,9
Energía metabolizable (Mcal/kg MS)	3,14	3,15
Fibra detergente neutra (FDN)	28,1	37,9
Fibra detergente ácida (FDA)	6,3	23,3
Extracto etéreo (EE)	1,8	1,6
Proteína cruda (PB)	12,1	11,5
Cenizas totales (CT)	2,5	6,9
Digestibilidad (D)	88,0	88,3

Se puede observar que los valores de la materia seca (MS), de la energía metabolizable (EM) y de la proteína cruda (PC), no difieren sustancialmente entre ambos concentrados. Por su parte, el contenido de fibra (FDN y FDA) es menor en el concentrado amiláceo (CA), que en el concentrado fibroso (CF).

Las muestras de pradera y de concentrado, fueron analizadas por el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Austral de Chile y las estimaciones de consumo aportadas por Hinostroza (2004), quien evaluó estos parámetros paralelamente al desarrollo de la presente investigación.

5.2. NIVEL DE EXCRECIÓN DE LOS DERIVADOS DE PURINAS

5.2.1. Excreción diaria de ácido úrico (AU), alantoína (A) y la suma de la excreción de ambos (DPe), expresada como media de mínimos cuadrados.

En el tercer cuadro, se exponen los niveles de ácido úrico, alantoína y la suma de la excreción de ambos por la orina expresados como derivados de purinas excretados (DPe), en mmol/día, estimándose la producción diaria de orina a partir de la excreción total de creatinina al día, expresada en miligramos (mg), y la concentración de creatinina en la muestra de orina respectiva (mg/l).

Cuadro 3. Excreción diaria de derivados de purina (ácido úrico y alantoína), en vacas lecheras en pastoreo primaveral, suplementadas con dos fuentes diferentes de carbohidratos en el concentrado.

		TCA	TCF	s.e.m.
AU	(mmol/día)	22,8 ^a	16,2 ^a	5,78
A	(mmol/día)	335,3 ^a	332,4 ^a	2,23
DPe	(mmol/día)	358,1 ^a	348,6 ^a	5,53

Letras iguales en una fila indican diferencias no significativas ($p>0,05$).
s.e.m.= error estándar de la media

Se puede observar que entre ambos tratamientos no existen diferencias significativas ($p>0,05$).

5.2.2. Índice purínico

En el gráfico 1 se expone la excreción diaria de derivados de purinas (DP), como media por grupos, corregida según el peso metabólico animal y la dilución de la orina mediante el indicador de creatinina.

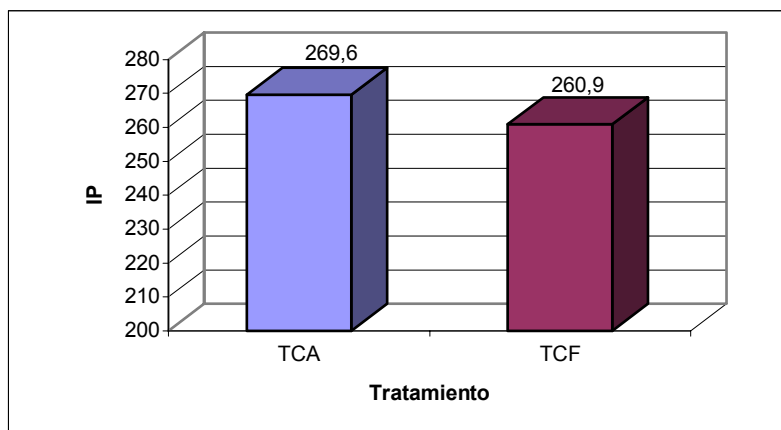


Gráfico 1. Índice purínico en vacas lecheras en pastoreo primaveral, suplementadas con dos tipos de concentrados energéticos.

Los índices purínicos para los tratamientos TCA y TCF, fueron 269,6 y 260,9 respectivamente, con un error estándar de la media de 49,47. La diferencia numérica en la excreción diaria de DP en la orina, por peso metabólico animal, evidenciada entre el tratamiento con suplementación de concentrado amiláceo y el tratamiento de concentrado fibroso no son significativas ($p > 0,05$).

5.2.3. Estimación de la excreción diaria de derivados de purinas y de las purinas absorbidas (PA)

En el gráfico 2, se presentan los niveles de derivados de purinas urinarios (DPe) y de las purinas absorbidas (PA), estimadas a partir de DPe, para ambos tratamientos y expresados en mmoles/día.

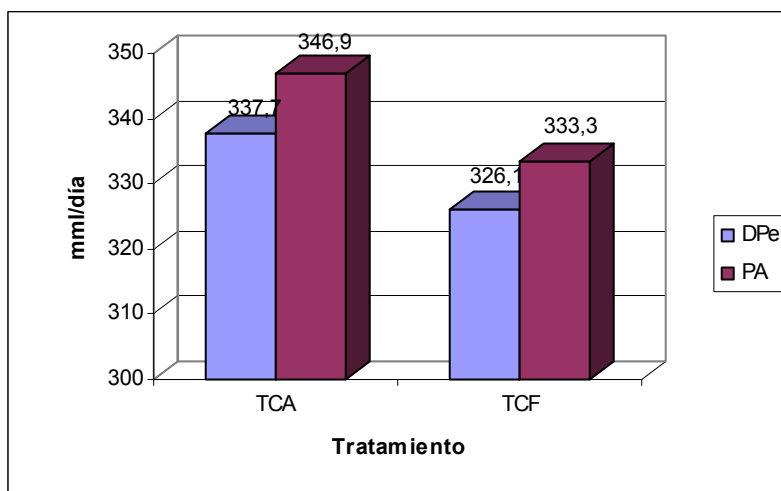


Gráfico 2. Excreción diaria de derivados de purinas y purinas absorbidas, estimados en vacas lecheras sometidas a pastoreo primaveral y suplementadas con dos tipos de carbohidratos en el concentrado.

Se observa que en los tratamientos TCA y TCF, los valores de PA fueron 346,9 y 333,3 mmol/día respectivamente. El error estándar de la media de las purinas absorbidas, fue de 5,99. Los valores de DPe fueron de 337,7 y 326,1 para los tratamientos TCA y TCF. Ambas variables tienden a ser numéricamente mayores en el tratamiento con concentrado amiláceo, sin embargo, no existen diferencias significativas ($p>0,05$).

5.3. APORTE DE NITRÓGENO MICROBIANO

5.3.1. Síntesis de nitrógeno microbiano

La cantidad de nitrógeno microbiano (NM) expresado en g/vaca/día, producida por vaca al día según el tratamiento y estimada a partir de PA, se expone gráficamente en el gráfico 3.

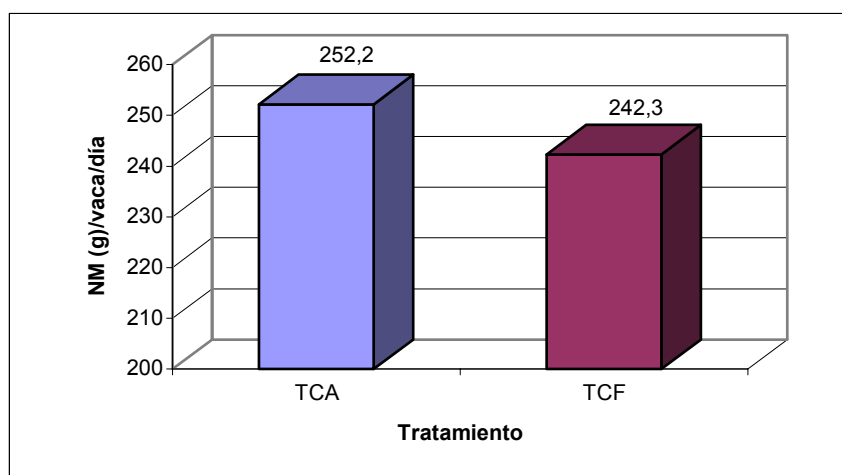


Gráfico 3. Estimación de la síntesis diaria de nitrógeno microbiano en vacas lecheras en pastoreo primaveral, suplementadas con dos tipos de carbohidratos en el concentrado.

En este gráfico, se observa una producción de NM para el tratamiento TSA de 252,2 g/día y para el tratamiento TCF de 242,3 g/día, con un error estándar de la media de 5,11. Estos valores muestran un aumento en la síntesis de nitrógeno microbiano desde el tratamiento a base de pradera al tratamiento con concentrado a base de almidón, no obstante, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$).

5.3.2. Rendimiento microbiano

En el gráfico 4 se muestra la cantidad de NM (g) producida por kg de materia seca ingerida (MSI) al día, estimada a partir de la síntesis diaria de NM, según tratamiento.

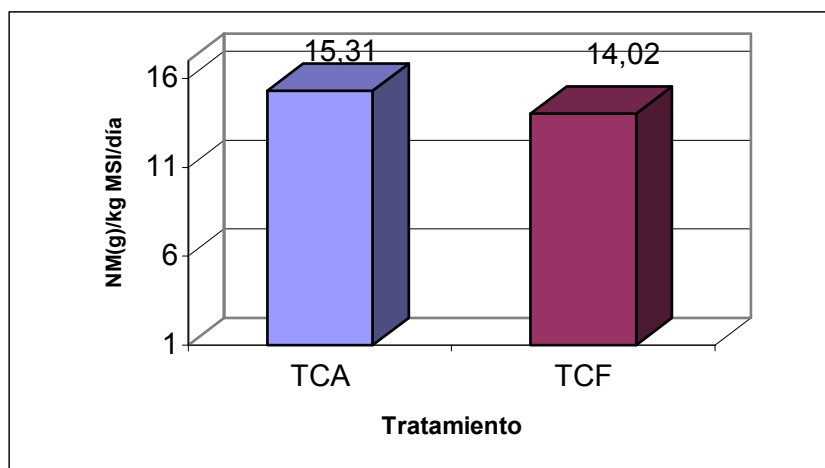


Gráfico 4. Rendimiento microbiano estimado (g NM/kg MSI/día), en vacas lecheras en pastoreo primaveral suplementadas con dos tipos de carbohidratos en el concentrado.

Los valores obtenidos para los tratamientos TCA y TCF fueron de 15,31 y 14,02 g/kg MSI respectivamente, con un error estándar de la media de 1,85. Estos datos denotan que el mayor rendimiento microbiano obtenido al aportar concentrado en base a cebada, al compararlo con el rendimiento del TCF, no fue significativo ($p > 0,05$).

5.4. SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA

En el cuadro 4, se presenta la cantidad de proteína microbiana total (PMCT) (g/día), estimada a partir de la síntesis diaria de NM y la cantidad de proteína microbiana digestible (PMCD) (g/día), estimada a partir de la PMCT producido, según tratamiento.

Cuadro 4. Producción estimada de PMCT y de PMCD, en vacas lecheras en pastoreo primaveral suplementadas con dos tipos de carbohidratos en el concentrado.

	TCA	TCF	s.e.m.
PMCT (g/día)	1576,3 ^a	1514,3 ^a	12,78
PMCD (g/día)	1004,9 ^a	965,4 ^a	10,20

Letras iguales en una fila indican diferencias no significativas ($p > 0,05$).

Del cuadro 4, se desprende que los valores de ambas variables tendieron a aumentar por efecto de la suplementación con concentrado CF y CA, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$).

6. DISCUSIÓN

6.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ALIMENTOS

6.1.1. Composición química de la pradera

Para Clark y Kanneganti (1998), una pradera con un buen manejo debe presentar características tales como 18 a 25% de proteína cruda (PC), 40 a 55% FDN, 18 a 24% de materia seca (MS) y 2,5 a 2,9 Mcal de energía metabolizable (EM) por kg de MS. Según Anrique y col. (1995), en la “Décima Región de los Lagos” de Chile, la pradera permanente fertilizada presenta durante la primavera una composición química promedio de 17,8% de PC, 23,4% de fibra cruda, 15,2% de MS y valores de EM de 2,55 Mcal por kg de MS.

La pradera utilizada en este ensayo, figura en los rangos descritos por Clark y Kanneganti (1998) para los indicadores nutricionales anteriormente mencionados y por sobre los valores de referencia mencionados por Anrique y col. (1995), con la sola excepción del porcentaje de materia seca por kilogramo de forraje verde, el cual se encontraba por debajo del rango o nivel indicado.

La energía metabolizable promedio de la pradera, medida a la altura del residuo dejado por los animales, fue de 2,80 Mcal/kg de MS, cifra idéntica a la obtenida por Felmer (2003), pero mayor a la encontrada por Fernández (1999), la cual fue de 2,53 Mcal/kg de MS. Estos autores realizaron ensayos en el mismo predio de “Vista Alegre” y en fechas similares.

Los niveles promedio de proteína bruta encontrada fueron de 25,1%, que al igual que la energía metabolizable, fueron altos en comparación con otros trabajos como los de Felmer (2003) y Fernandez (1999), quienes obtuvieron 20,6 y 20,5% respectivamente, similares entre ellos pero menores que los obtenidos en el presente ensayo.

La FDN de la pradera fue de 52,1%, siendo superior a los valores encontrados por Fernandez (1999) con 49,2% y por Felmer (2003) con 46,8%, ubicándose en el rango descrito como aceptable, propuesto por Clark y Kanneganti (1998).

Las características de la pradera utilizada durante el ensayo, evidenciaron mayores porcentajes de materia seca, proteína cruda y de energía metabolizable, al comparárseles con lo reportado por Anrique y col. (1995), para praderas de similares características. Kolver y Muller (1998), y Holden y col. (1995) señalan, que los forrajes frescos como el utilizado en este ensayo, poseen una proteína cruda de rápida y extensa degradación en el rumen, lo que junto a la gran cantidad de energía en la dieta, permitirían una alta síntesis de proteína microbiana y una mayor producción de leche.

Se puede apreciar en el cuadro 1, que la calidad de la pradera ofrecida es menor que la de la pradera consumida, debido a la gran oferta y baja carga animal asignada a la pradera,

permitiendo al animal seleccionar un mejor alimento. La carga animal promedio del periodo, correspondió a 3,5 animales por hectárea, resultando muy similar a la señalada por Felmer (2003). La presión de pastoreo promedio diario fue de 36,7 kg de MS/vaca/día, encontrándose sobre el nivel mínimo óptimo para un máximo consumo de alimento, planteándose inicialmente como objetivo un consumo mínimo de 35 kg MS/vaca/día. Lo anterior incidió en un mayor residuo diario remanente en la pradera, con posterioridad al pastoreo, por la alternativa otorgada a los animales de seleccionar el forraje de mejor calidad a lo largo de todo el ensayo. Según Hinostroza (2004), que trabajó paralelamente con el mismo grupo de animales del presente experimento, la disponibilidad y residuo promedio de la pradera fueron de 2.749 y 1.535 kg MS/ha respectivamente, correspondiendo a una altura de 26,4 y 11,7 cm. Esta altura de residuo nos indica que el consumo de pradera estaría en los niveles máximos para vacas lecheras a pastoreo, según lo descrito por Phillips (1993), quién considera siete centímetros como altura crítica de pastoreo, o sea, que la altura no sea una limitante para maximizar el consumo de materia seca.

La eficiencia de utilización de este ensayo alcanzó solo el 43,7% (Hinostroza 2004), siendo levemente superior al lo señalado por Felmer (2003), quien alcanzó un 37% de utilización de pradera, estando ambos ensayos en bajos niveles de utilización de la pradera. Mayne y Mc Gilloway (1996) señalan, que niveles inferiores al 50% son de baja eficiencia de pastoreo, los cuáles son característicos en este tipo de ensayos, en donde se trata de no limitar el consumo de los animales en pastoreo, para que ellos puedan expresar su máxima capacidad de consumo.

La calidad de la pradera se debió, junto al manejo de fertilización de éstas, principalmente a las condiciones ambientales particulares, presentadas previo y durante la fase experimental de campo. Las precipitaciones fueron en promedio de aproximadamente 5,8 mm/día, pluviosidad promedio significativamente mayor a un año normal. Las temperaturas mínimas y máximas promedio durante el periodo de ensayo, fueron de 7,2 °C y 16,9 °C respectivamente, siendo levemente superiores a la media de los últimos 40 años (Hinostroza 2004). Las anteriores condiciones fueron muy favorables para el desarrollo de la masa foliar de la pradera, disponiéndose consecuentemente de una gran cantidad de materia seca por hectárea para el ensayo.

6.1.2. Composición química de los concentrados

Ambos concentrados mostraron, en su composición química promedio, valores similares de MS, PC y EM, sin embargo, difieren fuertemente en su contenido de FDN (cuadro n°2). Es así como el concentrado a base de fibra posee 9,8% más de FDN que el concentrado a base de almidón. Esto se debe a que la coqueta de remolacha contiene un mayor porcentaje de fibra cruda en comparación a la cebada (Anrique 1995), siendo esta fibra de alta digestibilidad por su bajo contenido de lignina (Miller 1979), lo cual contribuye a que la celulosa y hemicelulosa sean de fácil degradación (Anrique, 1989). La digestibilidad para el CA y el CF, fueron respectivamente de 88,3% y 88,0% (Hinostroza 2004).

Por otra parte, el contenido de PC y EM de ambos concentrados están, según Kellaway y Porta (1993), dentro de los niveles adecuados para vacas lecheras de alta producción (25 a 35 l/día). El NRC (1989) indica, que los requerimientos nutritivos sugeridos para una vaca de peso vivo promedio de 550 kg, con una producción promedio de leche de 32 l/día y que cursa su segunda lactancia, son de 17,3 kg MS/día, 17% de PC, 2,89 Mcal/kg de MS y 25% de FDN. En este ensayo, los requerimientos nutricionales de las vacas lecheras fueron cubiertos por ambos tratamientos otorgados, incluso fueron superiores a los requerimientos propuestos por el NRC (1989), en especial los aportes de PC, sumado el consumo de pradera y concentrado.

En una revisión bibliográfica hecha por Bargo y col. (2002), señalan que en general la suplementación con concentrados fibrosos, produce una mayor respuesta en el consumo de pradera que los concentrados ricos en almidón, pero los estudios realizados sobre el tema sólo sirven para mostrar una tendencia y no para poder sacar conclusiones categóricas en favor de uno o de otro tipo de concentrado.

Entre los dos tratamientos, el basado en suplemento energético de tipo fibroso (TCF), fue el que presentó un mayor consumo total, aunque no fue estadísticamente diferente al tratamiento con concentrado amiláceo. El TCF presentó una mayor tasa de sustitución, alcanzando los 0,68 kg de MS de pradera/kg MS de concentrado y el que fue de sólo 0,59 para el tratamiento con suplemento amiláceo (Hinostroza 2004), ubicándose dentro de los rangos descritos por Kellaway y Porta (1993), quienes señalan que las tasas de sustitución en condiciones similares fluctúan entre 0,3 y 0,9 kilos de pradera por kg de concentrado, situación esperable en este tipo de ensayos, en los que se utiliza una baja presión de pastoreo.

Los resultados obtenidos en este ensayo difieren de los de Meijs (1986), y Kellaway y Porta (1993), quienes encontraron mayores tasas de sustitución en los concentrados altos en almidón, al ser comparados con los fibrosos. Kellaway y Porta (1993) señalan, que la tasa de sustitución se ve incrementada con la cantidad de concentrado consumida. Sin embargo, Peyraud y Delaby (2001) estiman, que en rangos de 2 a 6 kg MS/día de concentrado, no existe un efecto de sustitución consistente y definido, ya que intervienen muchas variables sobre éste.

6.2. SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA RUMINAL

6.2.1. Nivel de excreción de los derivados de purinas (DPe)

Las mediciones de excreción diaria de DP urinarios (DPe) constituyen un indicador para estimar la síntesis de proteína microbiana (Orellana-Boero y col. 2001), la cual depende de la concentración de DP en la orina, originados de purinas exógenas y endógenas (Chen y col. 1992^b), de la concentración de creatinina y del peso vivo del animal (Faichney y col. 1995). Por otra parte, la síntesis de proteína microbiana también depende de la cantidad y tipo de nutrientes disponibles en la dieta, así como de su sincronía en el rumen (AFRC, 1995).

Al analizar los DPe generados en ambos tratamientos, se observa que al suplementar con concentrado formulado en base a cebada se presentan niveles mayores de éstos, que al

usar concentrado a base de coseta de remolacha. Los valores de DPe obtenidos en el presente ensayo fueron de 337,7 para TCA y 326,1 para TCF, fueron levemente mayores a los obtenidos por Orellana y col. (1998), quienes obtuvieron valores máximos de alrededor de 290 mmol al día, con una dieta diferente, basada en ensilaje de maíz, heno de alfalfa, coseta de remolacha y concentrado. Ambos registros contrastan con los datos obtenidos por Strauch (2003), que señala valores de 235,9 y 222,3 respectivamente, para condiciones muy semejantes al presente ensayo. Sin embargo, son mayores a los reportados por Köpfer (2001), quien informa de valores de DPe, que oscilan entre 118,7 y 133 mmol/día, en un ensayo realizado con vacas lecheras sometidas a tratamientos basados principalmente en ensilaje de ballica, paja tratada con hidróxido de sodio y concentrado. Las bajas concentraciones de DP encontrados en la orina por Köpfer (2001) y Strauch (2003), pudieron deberse a que las vacas utilizadas se encontraban en la etapa inicial de su lactancia, lo que coincidiría con lo señalado por Gonzalez-Ronquillo y col. (2003), quienes observaron que durante esta etapa la proporción de bases púricas recuperadas en la orina eran significativamente menores que en la lactancia tardía. Sin embargo, no se establecieron diferencias significativas entre los tratamientos, lo que indica que el tipo de carbohidratos en el concentrado, no habría influido significativamente en la excreción urinaria de DP.

Las concentraciones urinarias de alantoína en la orina fueron de 14,5 y 11,6 mmol/l para TCA y TCF respectivamente. Por su parte Delahoy y col. (2003), determinaron niveles de ésta de 14,9 y 15,4 mmol/l, para animales a pradera y suplementados con maíz molido y fibra, como la coseta de remolacha. Sayers y col. (2003) encontraron valores de 37,2 y 32 mmol de alantoína por litro de orina, en animales a pradera y suplementados con 5 kg diarios de concentrado a base de almidón y fibra respectivamente. Bajo similares condiciones del presente experimento, Strauch (2003) determinó bajos niveles de alantoína, que fluctuaron entre 6,1 y 7,3 mmol/l para los dos tratamientos mencionados y animales exclusivamente a pradera.

6.2.2. Índice purínico (IP)

El índice purínico relaciona los DP con la creatinina (CT), utilizando esta última como un indicador de la excreción total de derivados de purinas urinarios (DPe), utilizando muestras puntuales de orina, evitando con ello la recolección total de las micciones producidas en el día por cada animal (Gonda 1995). Para el presente ensayo, se determinaron niveles de 269,6 y 260,9 para el TCA y el TCF, considerando un consumo promedio de 17,1 y 17,6 kg/MS por día por cada grupo respectivo. Strauch (2003) calculó un índice de 214,8 para el TCA y 202,4 para el TCF, estimando Felmer (2003) valores de 23,5 y 21,5 kg de MS para cada tratamiento, en el mismo experimento. En otro estudio efectuado por Sánchez (2003), se reportaron valores de IP de 275 y 204 para vacas con consumos de 21 y 18 kg de MS diarios. Lo anterior indica, que los valores de IP calculados en este ensayo son mayores a los reportados por Strauch (2003) y Sánchez (2003).

6.2.3. Síntesis de nitrógeno microbiano (NM)

La síntesis de nitrógeno microbiano diario (gráfico 3) no presentó diferencias entre TCA que el TCF ($p > 0,05$). El valor obtenido para ambos grupos fue de 252,2 y 242,3 g NM/día respectivamente. El NRC (1985) establece niveles de entre 9 a 410 g de NM/día, con un promedio de 150 g de NM/día, los que varían según la dieta ingerida, por lo cual sólo se harían comparables entre tratamientos distintos, bajo condiciones de un mismo ensayo. Köpfer (2001) y Strauch (2003), bajo condiciones experimentales muy similares, presentaron valores promedios de 48,2 g de NM/día para el primero y 154,2 g de NM/día para el segundo, estableciéndose que en el presente ensayo se produjo mayor cantidad de NM. Chen y col. (1992^b) reportaron valores de 71,3 y 84,7g de NM al día.

6.2.4. Rendimiento microbiano

Para comparar los valores de aporte de nitrógeno microbiano se utilizó el rendimiento microbiano, que relaciona la producción de NM/kg de materia seca ingerida (gráfico 4). No se encontraron diferencias entre TCA y TCF ($p > 0,05$). En el ensayo de Strauch (2004), realizado en el mismo predio y bajo similares condiciones, se obtuvo valores entre 7,1 y 7,3 g NM/kg MS/día, comparables con los obtenidos por Orellana y col. (1998), que reportaron valores entre 9,5 y 11,6 g NM/kg MS/día, en vacas Holstein Friesian, que consumían una dieta a base de paja de trigo y trébol blanco con ballica. Ninguno de los ensayos anteriores presentó diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$).

En relación a los resultados de nitrógeno microbiano y rendimiento microbiano anteriormente discutidos, se evidenció que la suplementación con concentrado amiláceo mostró un tendencia a ser mas eficiente que la suplementación con concentrado fibroso, ya que posee una mayor producción de NM/kg de MSI/día y menor consumo de materia seca. Esto se puede deber a la disponibilidad alta de carbohidratos fermentables, que favorecen la síntesis de proteínas en los microorganismos ruminales. Sin embargo, no presenta una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$).

La producción de leche en ambos tratamientos, no mostró diferencia significativa ($P > 0,05$), lo que coincide con lo descrito por Sayers y col. (1999), que no encontró ningún efecto en la producción de leche comparando vacas suplementadas con un concentrado fibroso, versus uno amiláceo.

Wittwer y col. (1993), consideran que la concentración de urea en leche sería un buen indicador de la relación energía/proteína de la dieta. Daetz (2004) al trabajar simultáneamente con el mismo rebaño experimental, analizó la concentración de urea en la leche y encontró que el TCA presentó una concentración significativamente menor de urea en la leche ($P < 0,05$), al compararlo con el TCF. Lo anterior concuerda con lo reportado por Delahoy y col. (2003), los que mencionan que el concentrado basado en almidón, disminuye la concentración de urea en la leche, lo que sugeriría que las vacas alimentadas con este concentrado utilizarían mejor el N disponible en la dieta, que las vacas suplementadas con concentrados fibrosos. Por otro lado, Twigg y Van Gils (1988) señalan, que los carbohidratos estructurales presentes en la coseta de remolacha, aunque altamente digestibles por sus niveles de pectinas, no están inmediatamente

disponibles para ser incorporados dentro de la proteína microbiana, produciendo una asincronía entre la tasa de digestión de la fuente de carbohidratos y de la proteína de la pradera. Esto llevaría a aumentar la producción de urea, efecto que no se observó en el presente experimento.

Sin embargo ambos tratamientos se encontraron por sobre las de concentraciones de urea en la leche (427 y 447 mg/lt, según Daetz 2005) descritas como normales por Wittwer y col (2003), quienes reportaron, que valores en leche superiores a 420 mg/lt son elevados, evidenciando una situación en que el contenido de proteína en el rumen, es elevado en relación a la disponibilidad de energía. Según Wittwer (1996), la alta concentración de urea en leche se puede explicar por el alto contenido de proteína en la pradera durante la primavera, de 25,1% de PB, estación en la cual generalmente se registran los valores de urea más altos en leche. Los concentrados utilizados contenían valores de proteína cercanos al 12% (cuadro 2). En el presente experimento no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) en la excreción de urea por litro de leche, al utilizar diferentes fuentes de carbohidratos en los concentrados, lo que sugiere que los diferentes carbohidratos en la dieta no mejoran la utilización del nitrógeno ruminal (Daetz 2004).

Pareciera ser que la alta cantidad de N aportada en los diferentes tratamientos no pudo ser utilizada eficientemente por los microorganismos ruminales. Esto se podría deber a que la energía, aunque mayor a los requerimientos para vacas con las características de este ensayo, no fue suficiente para que los microorganismos utilizaran eficientemente la gran cantidad de N proveniente de la pradera, del concentrado o del catabolismo corporal. También podría explicarse por una asincronía entre la degradación de la fuente de carbohidratos y la proteína en el tratamiento con concentrado a base de fibra y a una baja de pH ruminal al utilizar el tratamiento con concentrado a base de almidón

Los valores de proteína microbiana total (PMCT) y los de proteína microbiana digestible (PMCD), obtenidos en ambos tratamientos (cuadro 4), fueron más altos en los animales suplementados con concentrados a base de cebada que en los que consumieron concentrado a base de coseta de remolacha. Según Rearte (1997), el suplemento, cualquiera que este sea, sólo modificaría el ambiente ruminal al tener un efecto mayoritario y significativo en el consumo total de MS, lo cual para Peyraud (1997) se daría con una suplementación mayor al 40% en base a materia seca y que según Hinostroza (2004), para el presente experimento fue menor al 25%. Ambos tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$).

El aporte calculado de PMCD en el ensayo fue de 1004,9 g/día para el TCA y 965,4 g/día para el TCF. Según AFRC (1993), los requerimientos de proteína metabólica corresponden aproximadamente a 1786 g/día para vacas lecheras similares a las utilizadas en el ensayo. Al comparar estos valores con los requerimientos, se pudo apreciar que los valores de proteína microbiana digestible no coinciden con los señalados por Dewhurst y col. (2000), quienes mencionan que entre 66 y 75% derivan de la proteína microbiana (PMC). La estimación porcentual para la PMCD en el presente ensayo, es de aproximadamente un 55%, lo que indica se encuentran por debajo de lo afirmado por Dewhurst y col. (2000). Podría

influir el exceso de nitrógeno ruminal, que genera cantidades importantes de amoníaco que se transforman a urea. Twigg y Van Gils (1988) consideran que esta transformación implica un gasto energético, lo que disminuiría la energía disponible para la actividad microbiana ruminal. Otra razón sería la rápida fermentación del almidón y de la coqueta, que puede conducir también a una disminución del pH del rumen, afectando su equilibrio y funcionalidad (Webster, 1993), lo que conduciría a una disminución de la síntesis de PMC. Todos estos factores, a la vez de disminuir la PMC, aumentan la excreción de urea por la leche, tema discutido anteriormente.

En un estudio realizado por Orellana y col. (1998), los valores de PMCD obtenidos fueron de 157 g/día al aportar una dieta de paja de trigo más trébol blanco con ballica, y de 844,2 g/día al aportar ensilaje de maíz, heno de alfalfa coqueta de remolacha y concentrado, siendo estos menores a los obtenidos en este ensayo. Esto demostraría que dietas más balanceadas nutritivamente, producen un mayor nivel de PMCD.

Para el presente ensayo debe considerarse que el que las diferencias no hayan sido estadísticamente significativas entre los tratamientos, puede deberse a que la toma de muestras puntuales de orina, en perjuicio de la recolección total de la orina, haya influido en una menor sensibilidad del método utilizado (Tamminga y Chen 2000). Por lo tanto, la estimación de la síntesis de proteína microbiana, basada en la excreción urinaria de DP, no debiera ser utilizada como un valor absoluto, sino que como un valor comparativo entre tratamientos (Tamminga y Chen, 2000).

6.3. CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente ensayo se obtuvieron de acuerdo a los objetivos de estimar la síntesis de proteína microbiana rumino-reticular y el rendimiento microbiano en vacas lecheras a pastoreo y con suplementación de dos tipos de concentrados, formulados en base a diferentes fuentes de carbohidratos.

1. La síntesis de proteína microbiana rumino, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos con pastoreo más concentrado energético en base fibrosa (TCF) y el concentrado energético amiláceo (TCA).
2. Bajo estas condiciones experimentales, el rendimiento microbiano no presentó diferencias significativas entre tratamientos.
3. Bajo las condiciones experimentales expuestas, la selección de un concentrado energético de similares características nutricionales, debe basarse en su costo más que en sus constituyentes.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agricultural and Food Research Council (AFRC). 1993. Energy and protein requirements of ruminants. En: *An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to nutrients*. CAB International. Wallingford, UK.

Agricultural and Food Research Council (AFRC). 1995. Energy and protein requirements of ruminants. En: *An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to nutrients*. CAB International. Cambridge, UK.

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. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Al-Khalidi U, Chaglassian T. 1965. The species distribution of xanthine oxidase. *Biochem J* 97, 318-320.

Anrique R. 1989. Manual de utilización de subproductos de remolacha en alimentación de ganado. Industria Azucarera Nacional Sociedad Anónima (IANSa). Santiago, Chile.

Anrique R. 1990. Potencial de producción de la pradera en vacas lecheras. *Curso de postgrado. Producción intensiva de leche*, capítulo 1. Colegio Médico Veterinario de Chile. Osorno, pp: 53-59.

Anrique R, Balocchi O. 1993. Atributos de la pradera que afectan el consumo y producción de animales en pastoreo. Sociedad Chilena de Producción Animal (SOCHIPA). Serie Simposios y Compendios 1, 23-32.

Anrique R, Valderrama X, Fuchslocher R. 1995. Composición de alimentos para ganado en la zona sur. Facultad de Ciencias Agrarias. Instituto de Producción Animal. FIA-Universidad Austral de Chile.

Arriagada-Jordan CM, Holmes W. 1986. The effect of cereal concentrate supplementation on the digestibility of herbage based diets for lactating dairy cows. *J Agric Sci Camb* 106, 581-592.

Antoniewicz AM, Heinemann W, Hanks EM. 1981. Effect of level of feed intake and body mass on allantoin excretion and the allantoin to creatinine ratio in the urine of sheep. *Rokz Nauk Zoot* 8, 49-65.

- Balocchi O. 1993. Manejo del pastoreo en vacas lecheras. En: Latrille L. (ed). Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp 99-131. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Balocchi O. 1998. Praderas y Recursos Forrajeros en el sur de Chile. En: Amtmann, Mujica y Vera. *Pequeña Agricultura en la Región de Los Lagos*. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Balocchi O. 1999^a. Recursos forrajeros utilizados en producción de leche. En: Latrille L. (ed). Producción Animal. Facultad de Ciencias Agrarias. Pp 186-214. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Balocchi O. 1999^b. Recursos forrajeros más utilizados. *Agroanálisis*. 184, 37-40.
- Balocchi O, Pulido R, Fernandez J. 2002. Comportamiento de vacas lecheras en pastoreo con y sin suplementación con concentrado. *Agricultura Técnica* 62, 87-98.
- Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J Dairy Sci* 85, 1777-1792.
- Beck A, Pessot R. 1992. Producción de leche en praderas permanentes durante la primavera. *Agro Sur* 20, 39-34.
- Bondi A. 1988. Nutrición Animal. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Brody S. 1945. Bioenergetics and growth. Reinhold Publishing Corporation. New York, USA.
- Cañas R. 1998. Alimentación y nutrición animal. 2^a Edición Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.
- Chen XB, Chen YK, Franklin M, Orskov ER, Shand WJ. 1992^a. The effect of feed intake and body weight on purine derivatives excretion and microbial protein supply in sheep. *J Anim Sci* 70, 1534-1542.
- Chen XB, Gomes MJ. 1992. Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives. En: International feed resources unit. *An overview of the technical details*. Rowwett Research Institute. Bucksburn Aberdeen, UK.
- Chen XB, Grubic G, Orskov ER, Osuji P. 1992. Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. *Anim Prod* 55, 185-191.

Chen XB, Hovell FD, Orskov ER. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants: effect of exogenous nucleic acid supply on purine derivative excretion by sheep. *Br J Nutr* 63, 131-142.

Chen XB, Orskov ER, Hovell FD. 1991. The use of purine derivatives as a measure of microbial protein supply in ruminants. Proceedings of the 6th international symposium on protein metabolism and nutrition. 2, 67-70.

Chen XB, Samaraweera L, Kyle DL y col. 1996. Urinary excretion of purine derivatives and tissue xantine oxidase activity in buffaloes with special reference to differences between buffaloes and *Bos taurus* cattle. *Br J Nut* 75,317-407.

Chile. 1997. Instituto Nacional de Estadística (INE). VI Censo Nacional Agropecuario. Chile.

Clark DA y Kanneganti VR. 1998. Grazing management systems for dairy cattle. En: Cherney JH y Cherney DJR. (eds). *Grass for Dairy Cattle*. Pp. 331. CAB International. Oxon, U.K.

Clark JH, Klusmeyer TH, Cameron MR. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J Dairy Sci* 75, 2304-2323.

Coblentz W, Abdelgadir I, Cochrane R, Fritz J, Fick W, Olson K, Turner J. 1999. Degradability of forage proteins by In Situ and In Vitro enzymatic methods. *J Dairy Sci* 82, 343-354.

Daetz R. 2004. Efecto de dos tipos de carbohidratos en el concentrado, sobre la producción y composición de la leche, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile

Delahoy JE, Muller LD, Bargo F, Cassidy TW, Holden LA. 2003. Supplemental Carbohydrate Sources for Lactating Dairy Cows on Pasture. *J Dairy Sci*. 86, 906-915.

Dewhurst R, Davies D, Merry R. 2000. Microbial protein supply from the rumen. *Anim Sci Technol* 85, 1-20.

Dixon RM, Stockdale CR. 1999. Associative effects between forages and grains consequences for feed utilization. *Austr J Agr Res* 50, 757-773.

Faichney G, Welch R, Brown G. 1995. Prediction of the excretion of allantoin and total purine derivatives by sheep from the creatinine coefficient. *J Dairy Sci Camb* 125, 425-428.

Felmer EF. 2003. Comportamiento ingestivo de vacas lecheras en pastoreo primaveral suplementadas con dos fuentes de carbohidratos. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Fernández J. 1999. Comportamiento ingestivo de vacas lecheras en pastoreo con y sin suplementación con concentrados. *Tesis de licenciatura*, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Fujihara T, ER Orskov, PJ Reeds, DJ Kyle. 1987. The effect of protein infusion on urinary excretion of purine derivatives in ruminants nourished by intragastric nutrition. *J Agric Sci Camb* 109, 7-12.

Funaba M, Kensuke K, Tsunenori I y col. 1997. Duodenal flow of microbial nitrogen estimated from urinary excretion of purine derivatives in calves alter early weaning. *J Anim Sci*, 75, 1965-1973.

Garrido O, Mann E. 1981. Composición química, digestibilidad y valor energético de una pradera permanente de pastoreo a través del año. *Tesis de licenciatura*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Giesecke D, Ehrenreich L, Stangassinger M, Ahrens F. 1994. Mammary and renal excretion of purine metabolites in relation to energy intake and milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 77, 2376-2381.

Gonda HL. 1995. Nutritional status of ruminants determined from excretion and concentration of metabolites in body fluids. *Ph.D. Diss.* Department of Animal Nutrition and Management, Swedish Univ. of Agricultural Sciences.

Gonda HL, Emanuelson M, Murphy M. 1996. The effect of roughage to concentrate ratio in the diet on nitrogen and purine metabolism in dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 64, 27-42.

Gonzalez-Ronquillo M, Balcells J, Guada JA, Vicente F. 2003. Purine derivative excretion in dairy cows: endogenous excretion and the effect of exogenous nucleic acid supply. *J Dairy Sci* 86, 1282-1291.

Hinostroza G. 2004. Efecto del tipo de carbohidrato en el concentrado sobre el consumo y comportamiento ingestivo, en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Tesis de licenciatura*, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Holden LA, Muller LD, Varga GA, Hillard PJ. 1994. Ruminant digestion and duodenal nutrient flows in dairy cows consuming grass pasture, hay or silage. *J Dairy Sci* 77, 3034-3042.

Holden LA, Muller LD, Lykos T, Cassidy TW. 1995. Effect of corn silage supplementation on intake and milk production in cows grazing grass pasture. *J Dairy Sci* 78, 154-160.

Holmes W. 1989. Grass. Its production and utilization. Oxford Blackwell Publications. London, England.

Hvelplund T, Weisbjerg MR. 2000. In situ techniques for estimation of protein degradability and postrumen availability. En: Givens D, Owen E, Axford R, Omed H. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. Pp 268-271. CABI Publishing. Wallingford, UK.

Jahn BE. 1996. La pradera en los sistemas de leche bovina. En: Ruiz, I. Praderas para Chile. 2º Ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Santiago, Chile.

Johnson LM, Harrison H, Riley RE. 1998. Estimation of the flow of microbial nitrogen to duodenum using urinary uric acid or allantoin. *J Dairy Sci* 81, 2408-2420.

Jonkers JS, Kohn RA, Erdman RA. 1999. Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows feed according to National Research Council recommendations. *J Dairy Sci* 82, 1261-1273.

Kellaway R, Porta S. 1993. Feeding concentrates supplements for dairy cows. Dairy Research and Development Corporation. Victoria-Department of Agriculture. Melbourne, Australia.

Kibon A, Holmes W. 1984. Supplementary feeding of forage and concentrate to dairy cows at pasture. *Anim Prod* 42, 462-463.

Kolver ES., Muller LD. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J Dairy Sci* 81, 1403-1411.

Köpfer A. 2001. Síntesis de proteína microbiana en vacas lecheras alimentadas con ensilaje de pradera y paja de trigo tratada con hidróxido de sodio. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile

Lanuza F. 1988. Utilización de concentrados en vacas lecheras a pastoreo. *Investigación y proceso agropecuario* 8, 20-23.

Latrille L. 1998. Producción de leche. En: Amtmann, Mujica y Vera. Pequeña Agricultura en la Región de Los Lagos. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

Leaver JD. 1985. Milk production from grazed temperate grassland. *J Dairy Res* 52, 313-344.

Liang JB, Matsumoto M, Young BA. 1994. Purine derivative excretion and ruminal microbial yield in Malaysian cattle and swamp buffalo. *Anim Feed Sci Technol* 47, 189-199.

Lindberg J. 1989. Nitrogen metabolism and urinary excretion of purines in goat kids. *Br J Nutr* 61, 39-321.

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. 1995. Principios de bioquímica 2ª edición, Pp 893. Savier, Sao Paulo, Brasil.

- Madsen J, Hvelplund T, Weisbjerg MR, Bertilsson J, Olsson I, Spörndly R, Harstad OM, Volden H, Tuori M, Varvikko T, Huhtanen P, Olafsson BL. 1995. The AAT/PBV protein evaluation system for ruminants. *J Agric Sci* 19.
- Maynard L, Loosli L, Hintz H, Warner R. 1988. *Nutrición animal*, 7ª ed. Mc Graw-Hill. México DF, México.
- Mayne CS, Wright IA. 1988. Herbage intake and utilization by grazing dairy cows. En: Grarnsworthy PC (eds). *Nutrition and Lactation in the dairy cow*. Pp 280-293. Butterworths, London, England.
- Mc Gilloway DA, Mayne CS. 1996. The importance of grass availability for the high genetic merit dairy cow. *Adv Ani Nutr* 8, 135-169.
- Meijs JA. 1986. Concentrate supplementation of grazing dairy cows. Effect of concentrate composition on herbage and milk production. *Grass Forage Sci* 41, 229-235.
- Miller W. 1979. *Dairy cattle feeding and nutrition*. Academy Press. New York, USA.
- Miller E. 1982. Methods of assessing proteins for ruminants, including laboratory methods. En: Miller E, Pike I, Vanes A. *Protein contribution of feedstuffs for ruminants*. Butterworths, Cambridge, England.
- Moscardini S, Wright TC, Luimes PH y col. 1998. Effects of rumen undegradable protein and feed intake on purine derivative and urea nitrogen, comparison with predictions from Cornell Net Carbohydrate and protein system. *J Dairy Sci* 81, 2421-2329.
- Muller L. 1996. Managing and feeding high merit cows at pasture. En: British Grassland Society Winter Meeting. *Grass & Forage for Cattle of High Genetic Merit*. Great Malvern, Great Britain.
- Muller L. 1999. Management of pasture and feeding program for high genetic merit cows grazing temperate pastures. En: Latrille L. *Producción Animal*. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- National Research Council, (NRC). 1985. *Ruminant nitrogen usage*. National Academy Science, Washington DC, USA.
- National Research Council, (NRC). 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cows*. 6th Revised Edition. National Academy Press, Washington DC, USA.
- National Research Council, (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Edition National Academy Press, Washington DC, USA.

- Nocek JE, Russel JB. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J Dairy Sci* 71, 2070-2107.
- Nsahlai IV, Osuji PO, Umunna NN. 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. *Anim Feed Sci Tech* 85: 223-238.
- Orellana P, Mendoza Q, Scory M. 1998. Relaciones entre excreción urinaria de derivados de purinas y creatinina con el consumo de alimento en vacas de lechería. *Arch Med Vet* 30, 75-83.
- Orellana Boero P, Balcells J, Martín-Orúe SM, Guada JA. 2001. Excretion of purine derivatives in cows: endogenous contribution and recovery of exogenous purine bases. *Livest Prod Sci* 68, 243-250.
- Perez JF, Balcells J, Guada JA y col. 1997. Determination of ruminal microbial-nitrogen production in sheep. *Br J Nut*, 75,699-709.
- Peyraud JL, Delaby L, Delagarte R 1997. Quantitative approach of dairy cows at grazing. Some recent developments. XXIII Reunión Anual Sociedad Chilena de Producción Animal (SOCHIPA), Valdivia, Chile.
- Peyraud JL, Delaby L. 2001. Ideal concentrate feeds for grazing dairy cows responses to supplementation in interaction with grazing management and grass quality. En: Garnsworthy PC, Wiseman J (ed). *Recent Advances in Animal Nutrition*, Pp 203 Nottingham University Press, UK.
- Phillips CJ, Leaver JD. 1985. Supplementary feeding of forage to grazing dairy cows, offering hay to dairy cows at high and low stocking rates. *Grass and Forages Science* 40, 183-192.
- Pulido R. 1997. Interaction of pasture conditions, concentrate supplementation and milk yield level in relation to dairy cow performance and behaviour. *Ph.D. Thesis*, University of London.
- Pulido R. 1999. Avances en nutrición de la vaca lechera. Consideraciones para una suplementación estratégica en vacas lecheras a pastoreo. IV Jornada Chilena de Buiatría. pp. 51-60
- Rearte D. 1997. Sistemas de producción de leche basados en praderas permanentes. Serie de simposios y compendios. Sociedad Chilena de Producción Animal (SOCHIPA) 5, 38-51.
- Resines J, Arin M, Diez M, 1992. Determination of creatinine and purine derivatives in ruminant's urine by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Of Chrom* 607, 199-202.

Ruiz I. 1997. Conceptos generales del rol de la pradera en la producción de leche. En: Serie de Simposios y Compendios. Sociedad Chilena de Producción Animal (SOCHIPA). 5, 13-37.

Rys R, Antoniewitz A, Maciejewicz J. 1975. Allantoin in urine as an index of microbial protein in the rumen. In Tracer studies on non-protein nitrogen in ruminants, 2nd Edition. IAEA, Viena, Austria.

Sánchez M. 2003. Relación de los derivados de purinas séricos y urinarios en vacas de lechería con diferentes niveles de consumo. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción.

Sayers HJ, Mayne CS, Bartram CG. 2003. The effect of level and type of supplement offered to grazing dairy cows on herbage intake, animal performance and rumen fermentation characteristics. *Anim Sci* 76, 439-454.

Smith R, McAllan A. 1970. Nucleic acid metabolism in the ruminant. *Br J Nutr* 24, 545-556.

Sniffen CJ, Robinson PH. 1987. Microbial growth and flow as influenced by dietary manipulations. *J Dairy Sci* 70, 425-441.

Stangassinger M, Chen XB, Lindberg JE y col. 1995. Metabolism of purines in relation to microbial production. *Proceedings of the Eight International Symposium on Ruminant Physiology*. Pp 387-406. Stuttgart, Germany.

Strauch M. 2003. Estimación de la síntesis de proteína microbiana y rendimiento microbiano en vacas lecheras a pastoreo, con y sin suplementación con dos concentrados con diferentes fuentes de carbohidratos. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Tamminga S, Chen X. 2000. Animal-based techniques for the estimation of protein value of forages En: Givens, D., Owen E, Axford R, Omed H. *Forage evaluation in ruminant nutrition*. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Teuber N. 2001. Énfasis en el establecimiento de praderas permanentes. En: Seminario de praderas. *Hacia un nuevo estilo productivo*. Serie de actas N° 09. Pp 15-20. Instituto de Investigación Agropecuaria (INIA), Chile.

Thomas C, Reeve A, Fisher GEJ. 1991. Milk from Grass. 2nd Edition, Billingham Press Limited, Cleveland, UK.

Twigg JR., Van Gils LGM. 1988. Practical aspects of feeding protein to dairy cows. En: Haresign W y Cole DJA, (Eds). *Recent developments in ruminant nutrition 2*. Butterworth, London, England.

Vagnoni DB, Broderick GA. 1997. Effects of supplementation of energy or ruminally undegraded protein to lactating cows fed alfalfa hay or silage. *J Dairy Sci* 80(8), 1703-1712.

Vagnoni DB, Broderick GA, Clayton MK, Hatfield RD. 1997. Excretion of purine derivatives by Holstein cows abomasally infused with incremental amount of purines. *J Dairy Sci* 8, 1695-1702.

Valadares Filho SC. 1995. Eficiencia de síntese de proteína microbiana, degradação ruminal e digestibilidade intestinal da proteína bruta, em bovinos. *Anais*. pp. 355-388.

Valadares R, Broderick G, Valadares S, Clayton K. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J Dairy Sci* 82, 2686-2696.

Van Kessel JS, Russel JB. 1995. Energy spilling and the role of ruminally degraded protein in bacterial growth efficiency. *Cornell Nutrition Conference for feed Manufacturers*. Cornell University, Ithaca, NY.

Verbic J, McLeod X, Orskov E. 1990. Excretion of purine derivatives by ruminants. Effect of microbial nucleic acid infusion on purine derivative excretion by steers. *J Agric Sci* 114, 243-248.

Vérité R, Peyraud JL. 1989. Protein: the PDI System. En: Jarrige R. Ruminant Nutrition. *Recommended Allowances and Feed Tables*. INRA, Paris, France.

Webster A. 1993. Understanding the dairy cow. Blackwell Science, 2nd Edition. Bodmin, Cornwall, UK.

Wittwer F. 1996. Diagnóstico de desbalances de energía y proteínas mediante el análisis de muestras de leche y su impacto productivo en rebaños lecheros. III *Seminario "Aspectos Técnicos y Perspectivas de la Producción de Leche"*. Osorno, Chile, pp. 71-84.

Wittwer F, Reyes JM, Opitz H, Contreras PA, Böhmwald H. 1993. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalances nutricionales. *Arch Med Vet* 25, 165-172.

8. AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profunda gratitud hacia mi profesor patrocinante Dr. Rubén Pulido, por la ayuda prestada para la concreción de esta Memoria de Título.

Deseo agradecer a la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), que a través de su Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT), otorgó el financiamiento para la realización del presente ensayo.

Agradezco a todos los Académicos y Funcionarios de la Universidad Austral de Chile, por entregarme la formación y conocimientos necesarios para alcanzar esta última etapa de mi formación como Médico Veterinario.

Doy gracias a mis padres, hermanas y sobrinos, por su apoyo y cariño incommensurable, quienes son y han sido la motivación y sustento de mi vida.

Finalmente quiero expresar mi mayor gratitud a mi querida Burschenschaft Vulkanía y a cada uno de sus miembros, por haber sido mi hogar en Valdivia, por ser un bastión de ideales, valores y principios, y por ser una familia, mi familia, de leales hermanos para toda una vida.