

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DEL GLICEROL CRUDO COMO FUENTE DE  
ENERGÍA EN LA SUPLEMENTACIÓN DE BOVINOS DE  
LECHE EN FASE DE RECRÍA Y EN LACTACIÓN**

**por**

**Juan Pablo Marchelli Craviotto**

TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Magister opción ciencia  
animal.

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2014

Tesis aprobada por el tribunal integrado por (título nombre), (título nombre), y (título nombre), el (día) de (mes) de (año). Autor/a: Juan Pablo Marchelli. Director/a (Ing. Agr. (PhD) Pablo Chilibroste).

*(Esta página es optativa)*

(Dedico este trabajo a ...)

## **AGRADECIMIENTOS**

(Usar letra tamaño 12, interlineado 1,5, aquí y en el resto de la tesis)

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
SUMMARY.....	VII
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u>.....</b>	<b>1</b>
<b>2. <u>EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE GRANO DE MAÍZ POR GLICEROL CRUDO SOBRE EL CONSUMO, PATRÓN DE FERMENTACIÓN RUMINAL Y AUMENTO DE PESO VIVO DE TERNERAS HOLANDO</u> ....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. <u>SUMMARY</u>.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. <u>RESUMEN</u>.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. <u>INTRODUCCIÓN</u>.....</b>	<b>6</b>
<b>2.4. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>.....</b>	<b>8</b>
<b>2.4.1. <u>Animales, tratamientos diseño experimental</u>.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4.2. <u>Alimentos y dietas</u>.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.3. <u>Medidas, muestreos y cálculos</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.1 <u>Peso vivo y consumo de alimentos</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.2 <u>Consumo de alimentos</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.3 <u>Características de la fermentación</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3.4 <u>Cinética de degradación In situ</u>.....</b>	<b>13</b>
<b>2.4.5. <u>Análisis estadístico</u>.....</b>	<b>14</b>
<b>2.5. <u>RESULTADOS</u>.....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.1. <u>Composición química de la dieta</u>.....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.2. <u>Ganancia diaria, consumo de materia seca, balance de energía y proteína metabolizable</u>.....</b>	<b>15</b>
<b>2.5.3. <u>Composición química de la dieta</u> .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5.4 <u>Consumo</u> .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5.5. <u>Características de la fermentación ruminal</u>.....</b>	<b>17</b>
<b>2.6. <u>DISCUSIÓN</u>.....</b>	<b>21</b>
<b>2.7. <u>CONCLUSIONES</u>.....</b>	<b>26</b>

<b><u>3. EFECTO DE NIVELES CRECIENTES DE GLICEROL CRUDO EN LA DIETA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN VACAS HOLANDO</u></b> .....	<b>27</b>
<b>3.1. SUMMARY</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2. RESUMEN</b> .....	<b>29</b>
<b>3.3. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>30</b>
<b>3.4. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
<b>3.4.1. <u>Animales, diseño experimental y manejo</u></b> .....	<b>32</b>
<b>3.4.2. <u>Dieta</u></b> .....	<b>33</b>
<b>3.4.3. <u>Determinaciones</u></b> .....	<b>34</b>
<b>3.4.3.1 Producción y composición de leche</b> .....	<b>34</b>
<b>3.4.3.2 Peso vivo y condición corporal</b> .....	<b>34</b>
<b>3.4.3.3 Consumo en corrales</b> .....	<b>34</b>
<b>3.4.3.4 Comportamiento ingestivo</b> .....	<b>35</b>
<b>3.4.3.5 Disponibilidad de forraje</b> .....	<b>36</b>
<b>3.4.4. <u>Análisis químicos</u></b> .....	<b>36</b>
<b>3.4.5 <u>Cálculos</u></b> .....	<b>37</b>
<b>3.4.6. <u>Análisis estadístico</u></b> .....	<b>38</b>
<b>3.5. RESULTADOS</b> .....	<b>39</b>
<b>3.5.1. <u>Producción de leche y composición</u></b> .....	<b>39</b>
<b>3.5.2. <u>Peso vivo y condición corporal</u></b> .....	<b>42</b>
<b>3.5.3. <u>Consumo y balance</u></b> .....	<b>43</b>
<b>3.5.4. <u>Comportamiento ingestivo en pastoreo</u></b> .....	<b>44</b>
<b>3.6 DISCUSIÓN</b> .....	<b>45</b>
<b>3.6.1. <u>Producción de leche y composición</u></b> .....	<b>45</b>
<b>3.6.2. <u>Peso vivo y condición</u></b> .....	<b>47</b>
<b>3.6.3. <u>Comportamiento ingestivo en pastoreo</u></b> .....	<b>47</b>
<b>3.7. CONCLUSIONES</b> .....	<b>48</b>
<b>4. <u>DISCUSION GENERAL</u></b> .....	<b>49</b>
<b>5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u></b> .....	<b>52</b>

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el impacto de integrar al glicerol crudo como fuente de energía en la suplementación de animales Holando en crecimiento y en lactación. La estrategia de investigación involucró la ejecución secuencial de 3 experimentos. En el primero (Exp.1) se evaluó la ganancia de peso de terneras Holando (n=24) suplementadas con activadores de la fermentación ruminal (AFR) con maíz grano o glicerol crudo como fuente de energía, en el segundo (Exp.2) los efectos sobre el consumo de materia seca (CMS) y fermentación ruminal de los suplementos utilizados en el Exp.1 en vacas secas fistuladas (n=3) y tercero (Exp.3) un trabajo en el que se adicionaron niveles crecientes de glicerol crudo en la alimentación de vacas lecheras (n=24) en pastoreo suplementadas con una dieta parcial mezclada (DPM). En el Exp.1 24 terneras ( $181 \pm 14,2$ kg) Holando en un diseño completamente aleatorizado y 3 vacas secas (Exp.2) en un diseño experimental de cuadrado latino 3x3 se asignaron a los siguientes tratamientos: C = Control ensilaje de sorgo (ES *ad lib*) Exp. 1 y heno de moha (*ad lib*) Exp. 2; CAFRM = C + AFR en base a maíz (9 Exp1 o 10 Exp2 g. Kg PV<sup>-1</sup>); CAFRG = C + AFR en base a glicerol crudo (9 Exp1 o 10 Exp2 g. Kg PV<sup>-1</sup>). En el Exp.1 el CMS de ES no difirió estadísticamente ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos ( $4,7$  Kg.MS.día<sup>-1</sup>). La GMD (kg.día<sup>-1</sup>) fue superior ( $P < 0,05$ ) para los tratamientos CAFRG ( $0,59 \pm 0,057$ ) y CAFRM ( $0,52 \pm 0,057$ ) respecto a C ( $0,18 \pm 0,057$ ). En el Exp. 2 el CMS de la dieta base así como el pH ruminal no registró diferencias ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos. La concentración de NH<sub>3</sub> y la tasa de degradabilidad de la MO incrementó ( $P < 0,05$ ) con la suplementación CAFRM y CAFRG respecto al C. En el Exp.3 se estudio el efecto de la inclusión 0 litros/animal/día (C), 0,5 litros/animal/día (T0.5), 1 litro/animal/día (T1), y 1,5 litros/animal/día (T1.5) en la dieta de vacas Holando en lactancia temprana, sobre las variables productivas. No existieron diferencias significativas en producción de leche, producción de sólidos, CC y proporción de tiempo dedicada al pastoreo entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ). Se concluye que la inclusión del glicerol en niveles del 5-7% de la MS de la dieta no afectó el desempeño ni la eficiencia en animales en crecimiento y lactación. **Palabras clave:** Glicerol, Animales Holando, Desempeño animal, Consumo de Materia Seca, patrón de fermentación ruminal

## **CRUDE GLYCEROL EVALUATION AS A SOURCE OF ENERGY SUPPLEMENTATION IN DAIRY COW REARING AND LACTATION PERIOD**

### **SUMMARY**

The objective of this research was to evaluate the impact of integrating the crude glycerol as a source of energy supplementation of Holstein animals growing and lactating. The research strategy involved the sequential execution of 3 experiments. In the first (Exp.1) weight gain of Holstein calves (n = 24) supplemented with activators of ruminal fermentation (AFR) grain corn or crude glycerol as an energy source was assessed, in the second (Exp.2 ) effects on dry matter intake (DMI) and ruminal fermentation of the supplements used in the Exp.1 in fistulated dry cows (n = 3) and third (Exp.3) a work in which increasing levels of crude glycerol were added in feeding dairy cows (n = 24) on pasture supplemented with a partial mixed diet (DPM). In Exp.1 24 heifers ( $181 \pm 14.2$  kg) Holstein in a completely randomized design and 3 dry cows (Exp.2) in an experimental 3x3 Latin square design to the following treatments were assigned C = Control sorghum silage (SS ad lib) Exp 1 and moha hay (ad lib) Exp 2; CAFRM = C + AFR based on corn (9 Expl1 or 10 Exp.2 g kg PV<sup>-1</sup>); CAFRG = C + AFR based on crude glycerol (9 Expl1 or 10 Exp.2 g kg PV<sup>-1</sup>). The DMI SS did not differ statistically ( $P > 0.05$ ) between treatments ( $4.7$  Kg.MS.dia-1). ADG (kg day-1) was higher ( $P < 0.05$ ) for CAFRG ( $0.59 \pm 0.057$ ) and CAFRM ( $0.52 \pm 0.057$ ) treatments compared to C ( $0.18 \pm 0.057$ ). In Exp 2 CMS based diet and the ruminal pH No differences ( $P > 0.05$ ) between treatments. NH<sub>3</sub> concentration and the rate of degradability of OM increased ( $P < 0.05$ ) with supplementation CAFRG CAFRM and respect to C. In the study Exp.3 is the effect of the inclusion 0 liters / animal / day (C ), 0.5 liters / animal / day (T0.5), 1 liter / animal / day (T1), and 1.5 liters / animal / day (T1.5) in the diet of Holstein cows in early lactation, on productive variables. There were no significant differences in milk production, production of solid, CC and proportion of time spent grazing between the treatments ( $P > 0.05$ ). It is concluded that the inclusion of glycerol at levels of 5-7% of dietary DM did not affect the performance or efficiency in growing animals and lactating. **Keywords:** glycerol, Holando Animals, animal performance, dry matter intake, rumen fermentation pattern.

## 1. INTRODUCCIÓN

En Uruguay, los sistemas de producción de leche han experimentado un proceso sostenido de “intensificación” en los últimos años (Hernández, 2008), que responde al crecimiento sostenido de la producción de carne y leche en un marco de reducción del área disponible para esas actividades, consecuencia de la fuerte expansión de los cultivos de cereales y oleaginosos (Methol, 2010). La intensificación de la producción lechera ha llevado a un uso cada vez más alto de concentrado en la alimentación de las vacas lecheras (Chilibroste, 2011). Con la suplementación se procura aumentar el número de animales por unidad de superficie y mejorar la performance individual de los animales, lo cual incide sobre el nivel de productividad. En el caso de los concentrados, el 92% del volumen total suministrado es adquirido fuera del predio (Hernández, 2009).

En este sentido los sistemas intensivos de producción animal exploran permanentemente alternativas para disminuir los costos de alimentación. La inclusión de subproductos industriales constituye una oportunidad única desde esta perspectiva, sustituyendo fuentes demandadas por la nutrición humana (ej. granos de maíz y trigo) por fuentes de energía que provienen de los procesos industriales y que no tienen cabida en la nutrición humana (Chilibroste, 2012)

Una industria que tiene perspectivas de desarrollo en el Uruguay y en la región es la de producción de biodiesel. Esta industria se encuentra en una etapa de desarrollo importante marcado por el aumento de la oferta y la demanda, apoyadas por políticas públicas destinadas a promover la producción y consumo. La producción de cada tonelada de biodiesel deja como residuo cien kilos de glicerol crudo. Dadas las expectativas de producción de biodiesel en el país, se espera la existencia de excedentes de glicerol crudo que podría generar dificultades de colocación (Informe final, Comisión de Biocombustibles 2005).



En este contexto, en donde se espera un incremento tanto en la producción de glicerol como en la necesidad de un concentrado energético sustituto para la producción lechera, es que se analiza la factibilidad de introducir el glicerol en las dietas de los animales (Chung et al., 2007). Hasta el momento diferentes autores han reportado que es posible sustituir el maíz por glicerol en la alimentación, sin efectos adversos en relación al desempeño y consumo en vacas lecheras (Carvalho et al., 2011; DeFrain et al., 2004; Donkin et al., 2009) o en ganado de carne (Parsons et al., 2010; Ramos y Kerley 2012).

En el país se ha comenzado a utilizar en la sustitución del maíz como fuente energética, en la formulación de suplementos energéticos-proteicos activadores de la fermentación ruminal (AFR) (Iriñiz et al., 2011a; 2011b). Los AFR tienen la capacidad de actuar como estimulantes biológicos al favorecer el metabolismo ruminal, a través del suministro a los microorganismos de nutrientes esenciales para su crecimiento, que derivan en una mejora en la degradación de partículas fibrosas de baja y media calidad (Chilibroste, 2012). Es factible lograr mejores o similares resultados productivos y a menores costos que con la suplementación tradicional de concentrados energéticos/proteicos cuando se aplicaron sobre dietas basadas en forrajes con elevados niveles de fibra (Galina et al., 1999; Ortiz et al., 2002; Pineda, 2004).

También se ha estudiado la inclusión del glicerol como un posible ingrediente con funciones energéticas en dietas de vacas lechera tanto al inicio de la lactancia (Bodarski et al., 2005; Ogborn , 2006 ;Chung et al.,2007 ; Wang et al., 2008 ; Donkin et al., 2009) como en lactancia media (Khalili et al., 1997 ,Echeverria et al., 2010).

A pesar del creciente interés en la incorporación del glicerol crudo en la alimentación de rumiantes ya sea en remplazo de otras fuentes energéticas así como su adición en la dieta, son escasos los trabajos que evalúan la performance productiva y el patrón de fermentación resultante de la incorporación de glicerol

crudo en la dieta de animales en pastoreo y/o con alta proporción de fibra, sistemas dominantes de alimentación en el país.

El objetivo de esta investigación es evaluar el impacto de incluir glicerol crudo como fuente de energía en la suplementación de animales Holando en crecimiento y en lactación. La estrategia de investigación involucró la ejecución secuencial de 3 experimentos realizados en la Estación Experimental Mario A. Cassinoni, (EEMAC) Ruta 3 Km. 363, Facultad de Agronomía, Dpto. de Paysandú (30° de latitud Sur). En el primero se evaluó la ganancia de peso de terneras Holando suplementadas con activadores de la fermentación ruminal con maíz grano o glicerol crudo como fuente de energía, en el segundo los efectos sobre el consumo de materia seca y fermentación ruminal de los suplementos utilizados en el experimento 1 y en el tercero se realizó un trabajo de carácter exploratorio en el que se adicionaron niveles crecientes de glicerol crudo en la alimentación de vacas lecheras en pastoreo suplementadas con una dieta parcial mezclada (DTM).

La estructura central de la tesis consiste en dos artículos científicos, el primer artículo, titulado “*Efecto de la sustitución de grano de maíz por glicerol crudo sobre el consumo, patrón de fermentación ruminal y aumento de peso vivo de terneras Holando*” constituye el segundo capítulo de esta tesis. Este primer artículo se enviara a la revista argentina de producción animal (AAPA) El segundo artículo se titula “*Efecto de niveles crecientes de glicerol crudo en la dieta sobre parámetros productivos en vacas Holando*” y constituye el tercer capítulo. Este segundo artículo no se enviara a publicación. Por último en el capítulo 4 se presenta una discusión general de la problemática planteada.

## **2. EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE GRANO DE MAÍZ POR GLICEROL CRUDO SOBRE EL CONSUMO, PATRÓN DE FERMENTACIÓN RUMINAL Y AUMENTO DE PESO VIVO DE TERNERAS HOLANDO**

### **2.1. SUMMARY**

The effect of supplementation of rumen fermentation promoters (AFR) with different energy source corn or crude glycerol on dry matter intake (DMI), fermentation pattern and average daily gain (ADG) was studied in calves Holstein consuming sorghum silage (SS) as a source of forage in two experiments. In Exp.1 were used 24 Holstein (181±14,2kg) calves assigned in a completely randomized to the following treatments: C = Control (SS *ad libitum*); CAFRM = C + AFR based on corn (9g. Kg BW<sup>-1</sup>). CAFRG = C + AFR based on crude glycerol (9g. Kg BW<sup>-1</sup>). The DMI of SS did not differ statistically ( $P > 0.05$ ) between treatments (4.7 Kg.MS.day<sup>-1</sup>). The ADG (kg. day<sup>-1</sup>) was higher ( $P < 0.05$ ) for CAFRG (0.59 ± 0.057) and CAFRM (0.52 ± 0.057) treatments compared to C (0.18 ± 0.057). In Exp. 2 the effect of the AFR used in Exp.1 of the DMI and the fermentation ruminal was evaluated on diet based moha hay. Three ruminally cannulated Holstein (464±45,1kg) were used in a 3×3 Latin square arrangement of treatments C = Control ( moha hay *ad libitum*); CAFRM = C + AFRM (10 g. Kg BW<sup>-1</sup>); CAFRG = C + AFRG (10 g. BW<sup>-1</sup>). Rumen fermentation was assessed through the pH, NH<sub>3</sub>, VFA and in situ digestion kinetics of DM, OM and NDF hay moha. The DMI-basal diet and the ruminal pH no registration differences ( $P > 0.05$ ) between treatments. NH<sub>3</sub> concentration was increased ( $P < 0.05$ ) with supplementation CAFRG and CAFRM respect to C. The total VFA concentration was higher ( $P < 0.05$ ) in the CAFRG treatment, compared to C but did not differ between CAFRG and CAFRM treatments. The in situ disappearance of DM, OM and NDF did not differ between treatments after 96 hours of incubation ( $P > 0.05$ ). The in situ disappearance kinetics of different fractions were adjusted to the model proposed by Ørskov and MC Donald  $d = a + (b(1 - e^{-ct}))$ . Digestion rate (c) of the MO (%h<sup>-1</sup>) increases with CAFRM (4.15% h<sup>-1</sup>), CAFRG (3.95% h<sup>-1</sup>) supplementation compared to control (1.65% h<sup>-1</sup>) ( $P < 0.05$ ). Effective NDF degradability ( $a + [bc / (c + kp)]$  Kp = 2% h<sup>-1</sup>) of CAFRG (51.2%) and CAFRM

(51.7%) were higher ( $P < 0.05$ ) to C (45.9%). The results indicate AFR corn or glycerol supplementation improved the weight gain of calves. The substitution of corn by crude glycerol had no adverse effect on the CMS, fermentation and forage degradation of basal diet.

Keywords: Holstein calves, crude glycerol, ruminal fermentation promoters, dry matter intake, rumen fermentation pattern

## 2.2. RESUMEN

Se estudio el efecto de la suplementación con activadores de la fermentación (AFR) con diferentes fuente de energía maíz o glicerol crudo sobre el consumo de materia seca (CMS), el patrón de fermentación y la ganancia media diaria de peso (GMD) en terneras Holando consumiendo ensilaje de sorgo (ES) como fuente de forraje en dos experimentos. En el Exp.1 fueron utilizadas 24 terneras ( $181 \pm 14,2\text{kg}$ ) Holando asignadas en un diseño completamente aleatorizado a los siguientes tratamientos: C = Control (ES *ad libitum*); CAFRM = C + AFR en base a maíz ( $9 \text{ g. Kg PV}^{-1}$ ); CAFRG = C + AFR en base a glicerol crudo ( $9 \text{ g. Kg PV}^{-1}$ ). El CMS de ES no difirió estadísticamente ( $P > 0,05$ ) entre tratamientos ( $4,7 \text{ Kg.MS.dia}^{-1}$ ). La GMD ( $\text{kg. dia}^{-1}$ ) fue superior ( $P < 0,05$ ) para los tratamientos CAFRG ( $0,59 \pm 0,057$ ) y CAFRM ( $0,52 \pm 0,057$ ) respecto a C ( $0,18 \pm 0,057$ ). En el Exp. 2 se evaluó el efecto de los AFR empleados en el Exp. 1 sobre el CMS y la fermentación ruminal en una dieta en base a heno de moha. Se emplearon tres vacas ( $464 \pm 45,1\text{kg}$ ) Holando con cánulas ruminales fijas en un diseño experimental de cuadrado latino  $3 \times 3$  de los siguientes tratamientos C = Control (heno de moha *ad libitum*); CAFRM = C + AFM a razón de  $10 \text{ g. Kg PV}^{-1}$ ; CAFRG = C + AFR a razón de  $10 \text{ g. Kg PV}^{-1}$ . La fermentación ruminal fue valorada, a través del pH,  $\text{NH}_3$ , AGV y la cinética de degradabilidad in situ de la MS, MO y FDN del heno de moha. El CMS de la dieta base así como el pH ruminal no registró diferencias ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos. La concentración de  $\text{NH}_3$  incrementó ( $P < 0,05$ ) con la suplementación CAFRM y CAFRG respecto al C. La concentración total de AGV fue mayor ( $P < 0,05$ ) en el tratamiento CAFRG, respecto al C pero no difirieron entre los tratamientos CAFRM y CAFRG. La desaparición in

situ de la MS, MO y FDN no difirió entre los tratamientos a las 96 horas de incubación ( $P>0,05$ ). La cinética de degradabilidad in situ de las diferentes fracciones fueron ajustadas al modelo propuesto por Ørskov y Mc Donald  $d = a + b(1 - e^{-ct})$ . La tasa de degradabilidad (c) de la MO ( $\%h^{-1}$ ) se incrementó con la suplementación CAFRM ( $4,15\%h^{-1}$ ), CAFRG ( $3,95\%h^{-1}$ ) respecto al C ( $1,65\% h^{-1}$ ) ( $P<0,05$ ). La degradabilidad efectiva de la FDN ( $a+[bc/(c+kp)] Kp= 2\% h^{-1}$ ) de los CAFRG (51,2%) y CAFRM (51,7%) fueron mayores ( $P<0,05$ ) al C (45,9%). Los AFR ya sea con maíz o glicerol como fuente de energía mejoraron la ganancia de peso de terneras Holando en crecimiento con ensilaje de sorgo de planta entera como fuente de fibra. La sustitución del maíz por el glicerol crudo en los AFR no tuvo efectos significativos sobre el CMS, fermentación y degradación de la dieta base.

Palabras clave: Terneras Holando, Glicerol, Activador ruminal, Consumo de Materia Seca, patrón de fermentación ruminal

### 2.3. INTRODUCCION

La importancia de la nutrición y manejo de las terneras de reemplazo es comúnmente subestimada en los sistemas lecheros y las pérdidas productivas asociadas a las bajas tasas de crecimiento no son plenamente reconocidas (Moss, 1993). En los sistemas lecheros en Uruguay las categorías de reemplazo reciben menor atención que el rodeo en producción, resultando en una edad promedio al primer servicio de 30.5 meses (INML, 2012). En general las terneras son alimentadas con dietas con forrajes de baja calidad, los cuales determinan un bajo consumo de MS y baja extracción de nutrientes debido a sus altos contenidos en fibra y bajos niveles de energía y proteína (Moody et al., 2007). Un mejor balance nutricional de estas dietas considerando los requerimientos de proteína y energía de las terneras en crecimiento se traducirá en un crecimiento más eficiente, menor edad al primer parto y aumentos de los beneficios para el productor (Muller y Botha, 2000).

Las dietas con altos niveles de fibra pueden ser mejor aprovechadas por el animal joven si se provee un adecuado suministro de nutrientes al ecosistema ruminal, principalmente de energía y nitrógeno (Leng, 1990). La complementación de estas dietas con algunos elementos tales como azúcares simples de fácil fermentación (melaza, almidón o granos de cereales), proteínas naturales además de diversas fuentes de nitrógeno no proteico (NNP) permitiría un incremento en su consumo como resultado de una mejora en la tasa de digestión y pasaje del forraje dentro del rumen (Elías, 1983). En la literatura se reportan diversos estudios que valoran los efectos de una mezcla compleja catalítica (activadores) que incorporan estos elementos (Puga et al., 1998; Galina et al. 1999; Ortiz et al., 2002; Galina et al., 2003; Pineda, 2004; Rodrigues et al., 2012). Se define como activador o catalizador a un suplemento que acelera la fermentación ruminal y no supera el 30% de la MS de inclusión en la dieta (Preston, 1995). La suplementación con activadores de la fermentación ruminal (AFR) ha logrado mejores o similares resultados productivos y a menores costos que la suplementación con concentrados energéticos/proteicos tradicionales cuando se aplicaron sobre dietas basadas en forrajes con elevados niveles de fibra a nivel internacional (Galina et al., 1999; Ortiz et al., 2002; Pineda, 2004) y a nivel nacional (Iriñiz et al., 2011a; 2011b). Un componente importante de estos activadores son los hidratos de carbono fermentables aportados por granos de cereales como el maíz.

Ante el aumento de los precios y la reducción de la disponibilidad de maíz para la alimentación animal, se ha iniciado la búsqueda de fuentes alternativas de energía para la alimentación (Abo El -Nor et al., 2010). El glicerol crudo es un subproducto de la trans-esterificación del aceite en la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos durante el proceso de producción de biodiesel (Thompson y He, 2006). Se espera un crecimiento a nivel mundial de la industria del biodiesel lo que aumentara la disponibilidad y la promoción de precios favorables para el glicerol crudo (Wang et al., 2009). En Uruguay se prevé para el 2014 la producción de 10000 toneladas anuales de glicerol crudo (Chilibroste, 2012). El glicerol posee una concentración de energía neta de lactación de 1.98 a 2.29 Mcal / kg que es

aproximadamente igual a la energía contenida en el almidón de maíz además de poseer distintas propiedades que lo hacen un buen candidato para ser utilizado en la dieta de los rumiantes (Schröder y Südekum, 1999).

Hasta el momento diferentes autores han reportado que la sustitución de maíz con glicerol no tuvo efectos adversos en relación al desempeño y consumo en vacas lecheras (Carvalho et al., 2011; DeFrain et al., 2004; Donkin et al., 2009) o en ganado de carne (Parsons et al., 2010; Ramos y Kerley 2012). Los trabajos que han estudiado el efecto de sustituir fuentes de almidón con glicerol crudo sobre el patrón de fermentación han reportado fundamentalmente un aumento en la proporción de propiónico (C3) y butírico (C4) a expensas del acético (C2) (Carvalho et al., 2011; DeFrain et al., 2004; Kass et al., 2012). Se debe destacar que la investigación disponible se ha centrado en la sustitución del maíz en la formulación de dietas totalmente mezcladas o TMR según sus siglas en inglés para animales lactantes, existiendo poca información sobre la sustitución de maíz por glicerol crudo en la suplementación de animales en crecimiento alimentados con dietas de menor calidad. El objetivo del presente trabajo fue, analizar el efecto de la complementación con AFR con maíz (AFRM) o glicerol crudo (AFRG) como fuente de energía sobre el CMS, parámetros de la fermentación ruminal y la ganancia de peso vivo de terneras Holando.

## **2.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizaron dos experimentos en la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” (E.E.M.A.C.), Facultad de Agronomía, Paysandú, Uruguay, durante el período de 25 octubre a 21 diciembre de 2010 (Exp. 1) y durante el periodo 16 mayo a 16 julio de 2011 (Exp. 2) . En el Exp. 1. se determinó el CMS y la ganancia de peso de terneras Holando suplementadas con activadores de la fermentación ruminal con maíz grano o glicerol crudo como fuente de energía, mientras que en el Exp. 2 se analizó el efecto de los AFR empleados en el Exp. 1 sobre el CMS y la fermentación

ruminal. El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de Uruguay (CHEA – UdelaR).

#### **2.4.1. Animales, diseño experimental, tratamientos y manejo**

##### **Exp. I: consumo de materia seca y ganancia de peso de terneras Holando**

Se utilizaron veinticuatro terneras Holando con un promedio de  $6,8 \pm 0,40$  meses de edad y  $181 \pm 14,2$  kg de peso vivo (PV) en un diseño de bloques completos al azar. Las terneras fueron bloqueadas por peso vivo inicial (PVI) y aleatoriamente asignadas a uno de los siguientes tratamientos: C = Control (ensilaje de sorgo planta entera (ES) y un núcleo mineral-vitamínico); CAFRM = C + activador de la fermentación ruminal con maíz a razón de  $9 \text{ g. Kg PV}^{-1}$ ; CAFRG = C + activador de la fermentación ruminal con glicerol a razón de  $9 \text{ g. Kg PV}^{-1}$ . La duración del primer experimento fue de 58 días, de los cuales los primeros 15 días correspondieron al período de adaptación de los animales a los tratamientos, y los restantes 43 días al período de determinaciones.

Los animales permanecieron durante todo el período en corrales individuales de  $20 \text{ m}^2$ , con piso de tierra y techo que cubría aproximadamente un tercio del corral. Cada corral tenía un bebedero y comederos individuales para el núcleo mineral-vitamínico (Bovigold®), el ensilaje y los AFR.

La alimentación fue suministrada en su totalidad en la mañana (9:00 am). El ES fue suministrado al *ad libitum* con un rechazo entre 10 y 15% del alimento ofrecido y la mezcla de minerales y vitaminas se ofrecieron a voluntad mientras que los AFR se suministraron a razón de  $9 \text{ g/kg}$  de PV. La oferta de los AFR se corrigió luego de cada pesada en función de la evolución del PV. El alimento ofrecido se pesó diariamente y los rechazos se retiraron y pesaron previo a ofrecer la nueva alimentación



## **Exp. II: estudio de los efectos sobre el CMS y parámetros de la fermentación ruminal**

El efecto de la suplementación con los AFR sobre el CMS y parámetros de la fermentación se evaluó en un diseño experimental cuadrado latino 3 x 3, para comparar los tratamientos C = Control (heno de moha *ad libitum* y un núcleo mineral-vitamínico); CAFRM = C + activador de la fermentación ruminal con maíz a razón de 10 g. Kg PV<sup>-1</sup>; CAFRG = C + activador de la fermentación ruminal con glicerol a razón de 10 g. Kg PV<sup>-1</sup>, en tres períodos de 17 días donde los 10 primeros días fueron de adaptación a la dieta y los siete días restantes correspondieron al periodo de determinaciones. Se utilizaron tres vacas fistuladas secas con un PV promedio de 464 ± 45,1 Kg y una condición corporal (CC) promedio de 2,9 ± 0,28. El heno de moha se ofreció *ad libitum* dos veces al día (09.00 y 15.00 h) y los AFR una vez al día (09:00 h). Las vacas permanecieron durante todo el experimento en corrales de piso de tierra de 40 m<sup>2</sup> con techo que cubría aproximadamente un tercio del corral, donde tenían acceso a voluntad al agua y sales minerales. Los animales se pesaron al inicio y al final de cada período.

### **2.4.2. Alimentos y dietas**

Muestras de los distintos alimentos fueron colectadas una vez por semana, secadas en estufa a 60°C por 48h y molidas utilizando una malla de 2-mm en molino Wiley (Standard Model No 3, Arthur H. Thomas Co Philadelphia) realizándose una muestra compuesta por periodo. Posteriormente fueron enviados al laboratorio de Nutrición Animal, de la Facultad de Agronomía (UdelaR) para analizar su contenido de MS, cenizas y N, según los métodos 167.03, 942.05 y 984.13 de AOAC (1990), respectivamente. Los contenidos  ${}_a\text{FDN}_{\text{mo}}$  y  $\text{FDA}_{\text{mo}}$  se determinaron secuencialmente (Van Soest et al., 1991), utilizando un analizador de fibra ANKOM200 (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY, USA). Los contenidos de fibra son expresados sin cenizas residuales.

Las fuentes de forraje utilizadas fueron ES (Exp. 1) y heno de moha (Exp. 2). La composición química del forraje fue de 290, 907, 70, 744, 455 y 790, 890, 50,700 y 420 g/kg de MS, MO, PC (proteína cruda),  ${}_a\text{FDN}_{\text{mo}}$  y  $\text{FDA}_{\text{mo}}$  (fibra detergente acida) para ES y heno de moha, respectivamente. Para la estimación de los aportes energéticos de los alimentos se sustituyeron los valores de análisis de la composición química del ES y heno de moha (MS, PC, FDN y FDA) en los valores default de la lista del software NRC (2001). La energía metabolizable estimada para el ES fue de 1.84 Mcal/kgMS mientras para el heno fue de 1.93 Mcal/kgMS.

Las dietas completas consumidas presentaron una relación forraje: concentrado 75:25 y 66:33 para el Exp.1 y Exp.2 respectivamente.

Los ingredientes y composición química de los AFR se presentan en el cuadro 1.

**Cuadro 1.** Ingredientes y composición química g/kg MS ( $\pm$ DS) de los suplementos activadores de la fermentación ruminal con maíz (AFRM) o glicerol (AFRG) como fuente de energía.

Componentes	Suplementos	
	AFRM	AFRG
<b>Ingredientes</b> ( g/kg)		
Pulido de arroz	320	320
Maíz molido	210	....
Glicerol <sup>1</sup>	....	210
Harina de trigo	161	161
Expeler de girasol	180	180
Melaza	48	48
Urea	48	48
Minerales	14	14
Sulfato de amonio	17	17
Composición química (g/kg MS)		
MS	880 $\pm$ 10	895 $\pm$ 2
MO	921 $\pm$ 9	918 $\pm$ 5
PC	324 $\pm$ 11	294 $\pm$ 21
${}_a\text{FDN}_{\text{mo}}$	219 $\pm$ 15	183 $\pm$ 15
$\text{FDA}_{\text{mo}}$	96 $\pm$ 10	91 $\pm$ 13
Extracto etéreo	80 $\pm$ 7	39 $\pm$ 8
EM (Mcal/kgMS) <sup>2</sup>	2,7	2,6

<sup>1</sup>Glicerol usado en suplementos contiene 78% glicerol, 11.5% sales, 5% agua, y 3.5% metanol. <sup>2</sup>Estimado por NRC 2001, EM estimada para el glicerol y el maíz molido fue 3 y 3.15 Mcal/kg en base al software del NRC (2001).

### **2.4.3 Medidas, muestreos y cálculos**

#### **Exp. 1**

##### **2.4.3.1 Peso vivo y consumo de alimentos.**

Los animales se pesaron al inicio del experimento y luego cada 14 días siempre con 12 horas de ayuno previo. Diariamente se determinó el consumo como la diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado.

#### **Exp.2**

##### **2.4.3.2 Consumo de alimentos**

Diariamente se determinó el consumo como la diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado

##### **2.4.3.3 Características de la fermentación**

Para la determinación de los parámetros de la fermentación ruminal se tomaron muestras de líquido ruminal desde el saco ventral del rumen mediante el empleo de vacío. Las extracciones se realizaron a las 0, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 horas luego de ofrecida la alimentación de la mañana repitiéndose durante dos días en cada periodo. En cada muestreo se extrajo una muestra de líquido ruminal y el mismo fue filtrado a través de un tela doble de lienzo (quesería). El pH fue inmediatamente medido usando un phmetro (Oakton Acorn® pH 6 Portable pH Meter, Oakton Instruments, Vernon Hills, IL).

Una muestra de 20 ml del líquido ruminal fue preservada agregándose un mililitro de ácido orto fosfórico (85%) para la determinación de AGV y a otros 5 ml se le agrego 5 ml de ácido clorhídrico (0,1N) para la posterior determinación de NH<sub>3</sub>. Las muestras fueron inmediatamente guardadas y congeladas a -20 °C para su posterior análisis. Los AGV fueron analizados en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Agronomía en Buenos Aires (UBA) por cromatografía gaseosa con un (Equipo Konik 5000B con automuestreador Robokrom GC) y utilizando la técnica descrita por Friggens et al. (1998). La concentración NH<sub>3</sub> en el líquido ruminal fue determinada en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Agronomía (UdelaR) mediante un destilador de Kjeldhal empleando la técnica descrita por Bremmer (1960).

#### **2.4.3.4 Cinética de degradación In situ**

La cinética de degradabilidad in situ de la MS, MO y FDN del heno de moha fue estudiada empleando la técnica del la bolsa de nylon (Ørskov et al., 1980). El heno de moha fue secado en estufa de aire forzado (60°C) hasta peso constante y luego fue molido utilizando una malla de 2-mm. Posteriormente se introdujeron unos 5 g del heno de moha en bolsas de nylon (10× 18 cm, 40 µm tamaño del poro) y se colocaron en el rumen a través de la cánula por duplicado para cada tiempo de incubación. Previo a la incubación en los animales las bolsas fueron colocadas en agua destilada a 39°C por 15 minutos y se retiraron dos bolsas que correspondieron al tiempo 0. El resto de las bolsas fueron retiradas del rumen en los siguientes tiempos posteriores a su incubación (2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 h). Inmediatamente posterior a la extracción, las bolsas fueron congeladas para conservación y al finalizar todos los tiempos de incubación se descongelaron y lavaron en un lavarropas hasta obtener un líquido de enjuague claro y transparente. En el residuo se determinó el contenido de MS, MO y FDN

Los datos de degradabilidad de las diferentes fracciones fueron ajustados al modelo propuesto por Ørskov y MCDonald (1979)  $D_i = a + b(1 - e^{-ct})$ , donde  $D_i$  es

la Degradabilidad al tiempo  $t_i$  (%); a: es la fracción soluble (%), b: es la fracción insoluble potencialmente degradable (%) y  $c$  ( $\%h^{-1}$ ) es la tasa fraccional de degradación de la fracción b. Con los parámetros de desaparición (a, b y c) y asumiendo una tasa de pasaje ( $Kp$ ) de 2%/h y 4%/h se estimó la degradabilidad efectiva (DE) aplicando la siguiente ecuación  $DE=a+[bc/(c+kp)]$

#### **2.4.5 Análisis estadístico**

Los datos de PV y CMS del Exp. 1 fueron analizados como medidas repetidas utilizando el procedimiento mixto PROC MIXED del SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Se utilizó al PV inicial como covariable. La estructura de modelación de las covarianzas fue la autoregresiva de orden uno (AR1). La variación de PV fue analizada por una prueba de heterogeneidad de pendiente mientras que los valores medios de CMS fueron sometidos a una prueba de comparación múltiple de media determinándose como diferentes cuando  $p < 0.05$  (Tukey).

El CMS y los parámetros de la degradabilidad *in situ* (Exp.2) fueron analizados con un modelo que incluyó el efecto animal, tratamiento y periodo utilizando PROC MIXED del SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC). Los parámetros de la dinámica de desaparición de las diferentes fracciones evaluadas fueron estimados utilizando el procedimiento no lineal PROC NLIN de SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

Las variables (pH,  $NH_3$  y AGV) se analizaron con un modelo de medidas repetidas en el tiempo en que se incluyó el efecto animal, período, tratamiento, hora de muestreo y la interacción tratamiento por hora de muestreo utilizando el PROC MIXED del SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

Las medias de mínimos cuadrados estimadas para los efectos fijos y/o sus interacciones fueron comparadas por prueba de probabilidad Tukey-Kramer. La estructura de modelación de las covarianzas fue la autoregresiva de orden uno. La significancia fue determinada para  $P < 0,05$  y tendencias para  $0,05 < P < 0,1$

## **2.5. RESULTADOS**

### **Exp. 1**

#### **2.5.1. Composición química de la dieta**

El tratamiento C presentó un nivel de PC del 70 g/kg MS, un contenido de FDN de 700 g/kg MS y valores estimados de energía metabolizable de 1,84 Mcal/kg MS. La incorporación en la dieta de los AFR en niveles de 30% de la MS incrementó el nivel de PC en 88 % por encima del C, alcanzando valores de 120 g/kg MS y el valor energético de la dieta aumentó un 16% alcanzando 2,14 Mcal/kg MS.

#### **2.5.2. Ganancia diaria, consumo de materia seca, balance de energía y proteína metabolizable.**

Los resultados de CMS, ganancia diaria de PV y los balances de energía y proteína metabolizable se presentan en el cuadro 2. El CMS del ES no difirió entre los tratamientos ( $P>0,05$ ). Sin embargo el CMS total incrementó en un 34 % (4,7 vs 6,2 kg) en los animales suplementados. La inclusión del glicerol crudo no afectó el CMS del ES (4,6 vs 4,7 kg MS para CAFRM y CAFRG, respectivamente) logrando valores similares de CMS total (6,1 kg). Las ganancias de peso no difirieron entre los tratamientos CAFRM y CAFRG ( $P>0,05$ ) pero fueron superiores ( $P<0,05$ ) al tratamiento C.

Cuadro 2. Media de mínimos cuadrados ( $\pm$ EE) del consumo de materia seca (kg/día) de la dieta base (CMS), ganancia diaria (kg/día) (GMD), peso vivo (kg) (PV), balance de energía (Mcal/día)(BE) y balance de proteína metabolizable (g/día) (BPM) para terneras Holando alimentadas con ensilaje de sorgo no suplementadas (C) o suplementadas con activadores de la fermentación ruminal (CAFRM) con maíz o glicerol crudo (CAFRG)

Variable	Tratamientos			$\pm$ EE
	C	CAFRM	CAFRG	
CMS(kg/d)	4,7	4,7	4,8	0.08
GMD(kg/d)	0,19 b	0,52 a	0,57 a	0.05
PV(kg)	195 b	202 a	203 a	1.28
BE (Mcal/d)	- 0,7	1,2	0,8	.....
BPM(g/d)	-59	46	27	.....

Valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a ( $P < 0,05$ )

## **Exp. 2**

### **2.5.3. Composición química de la dieta.**

La dieta del tratamiento C presentó un nivel de PC 50 g/kgMS, un contenido de FDN 700g/kgMS y valores estimados de energía metabolizable (1.93 Mcal/kgMS). Con la incorporación de 30% en la dieta con los AFR se incrementó el nivel de proteína en un 150 % (130PC) proteína en la dieta y se mejoró el valor energético estimado de la misma incrementándose un 15% (2.21 Mcal/kgMS)

### **2.5.4. Consumo**

Los tratamientos no afectaron el CMS del heno de moha ( $P > 0,05$ ) (7,8, 8,0 y 8,3 kgMS/d) para CAFRG, CAFRM y C, respectivamente. La inclusión del glicerol

crudo no afectó el CMS de activador ya que en ambos tratamientos se consumió todo el suplemento ofrecido.

### **2.5.5. Características de la fermentación ruminal**

Los valores medios de pH, NH<sub>3</sub>, AGV totales y sus componentes se presentan en el cuadro 3. La dinámica del pH ruminal, NH<sub>3</sub> y AGV totales se presentan en la Figura 1

**Cuadro 3.**Media de mínimos cuadrados ( $\pm$ EE), pH, NH<sub>3</sub> (mg/100ml), AGVT (mM) totales e individuales para vacas no suplementadas (C) o suplementadas con activadores de la fermentación ruminal con maíz (CAFRM) o glicerol (CAFRG) en su composición

Variable	Tratamientos				<i>P-valor</i>		
	C	CAFRM	CAFRG	EE	T	H	TXH
pH	6,76 a	6,68 a	6,71 a	0,03	0,18	<,001	0,69
NH <sub>3</sub> (mg/100ml)	6,91 b	14,82 a	12,02 a	1,29	0,0007	<,0001	0,0085
AGVT( mM)	105 b	114ab	116 a	2,84	0,0318	0,0038	0,19
AGV (mM)							
Acético( C2 )	81	86	80	2,05	0,0837	0,0001	0,43
Propionico (C3 )	15,6 b	19,6 a	20,1 a	0,59	<0,0001	0,0054	0,02
Butírico(C4)	8,74 b	9,75 b	13,31 a	0,51	<0,001	0,0017	0,0004
C2/C3	5,31 a	4,5 b	4,1 c	0,08	<,0001	<,0001	0,03

T: efecto tratamiento; H: efecto hora; T× H: interacción tratamiento y hora; valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a ( $P < 0,05$ )



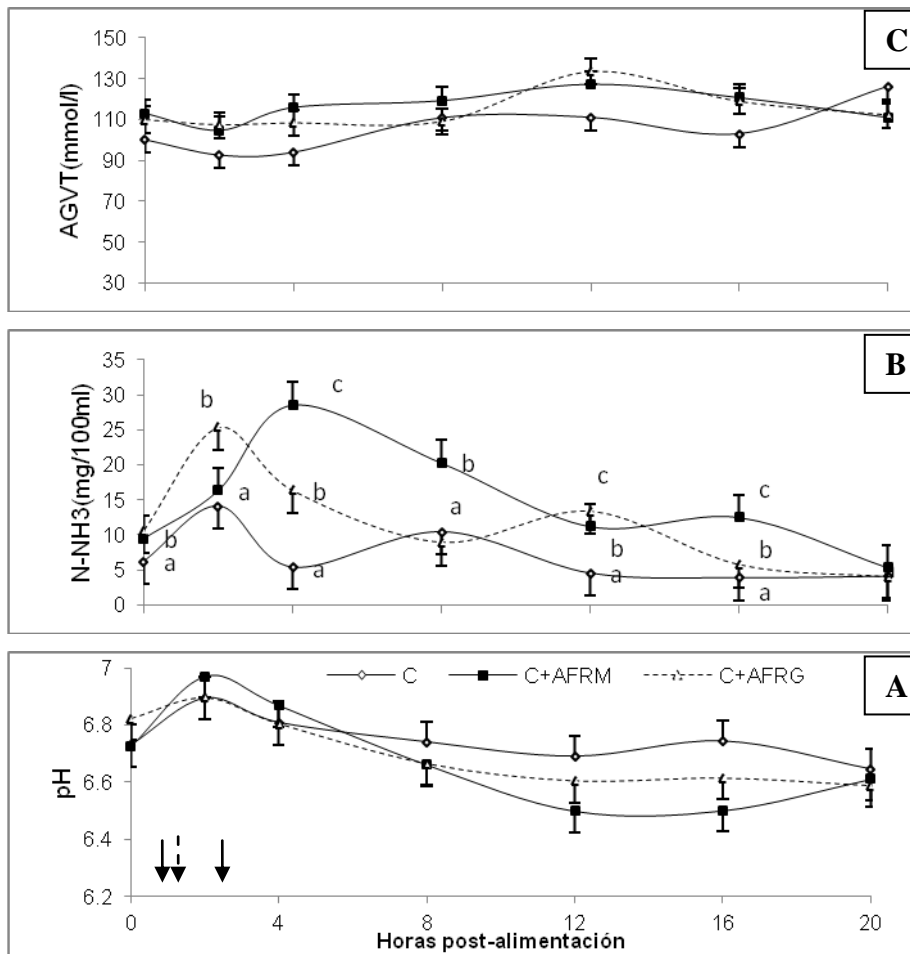


Figura 1. Valores medios y su ( $\pm$ EE) para pH(A), NH<sub>3</sub> (mg /100ml) (B) y ácidos grasos volátiles totales (mmol) y (C), en el fluido ruminal para vacas consumiendo heno de moha. ↓ Flecha punteada indica momento de suplementación con los activadores y ↓ Flechas enteras momento suministro del heno. Las letras muestran las diferencias significativas entre tratamientos para la hora de muestreo ( $P < 0,05$ )

No existieron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) en los valores medios de pH entre tratamientos ni en la interacción tratamiento por horario de muestreo (TxH). Los valores de pH se mantuvieron entre 6,5 y 6,9 durante las 24 horas de determinación (Fig. 1 B).

La concentración de  $\text{NH}_3$  ruminal se incrementó significativamente ( $P < 0,05$ ) en los tratamientos CAFRM y CAFRG respecto al C y se detectó efecto de la interacción (TxH). La sustitución del glicerol crudo por el maíz no reportó diferencias significativas en los valores promedio de  $\text{NH}_3$  a nivel ruminal. La mayor concentración (28.6 mg/100 ml) se registró en el tratamiento CAFRM a las 4 horas pospandrium, siendo diferente estadísticamente ( $P < 0,05$ ) al resto de los tratamientos a la misma hora de muestreo (Fig. 1 B).

La concentración total de AGV se incrementó significativamente en el tratamiento CAFRG con respecto al tratamiento C. No se detectaron diferencias significativas ( $P > 0,05$ ) entre los tratamientos CAFRM y C ni entre los tratamientos CAFRM y CAFRG. La interacción TxH no fue significativa ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1 C). No se encontraron diferencias significativas en los niveles de C3 entre los distintos tratamientos ( $P > 0,05$ ). Los tratamientos CAFRM y CAFRG incrementaron significativamente ( $P < 0,05$ ) los niveles de C3 respecto a C. El tratamiento CAFRG incrementó significativamente ( $P < 0,05$ ) los niveles de C4 con respecto a los tratamientos C y CAFRM.

En el Cuadro 4 se presenta los parámetros de la cinética de degradabilidad de la MS, MO y la FDN del heno de moha donde la fracción potencialmente degradable (b) no fue diferente entre tratamientos. La tasa fraccional de degradación de los tratamientos CAFRM y CAFRG se incrementaron un 50 % en el caso de la MS y un 131% para la FDN respecto al C aunque no fueron detectadas como diferencias significativas ( $P > 0,05$ ). La degradabilidad efectiva de la FDN ( $a + [bc/(c+kp)]$ )  $K_p = 2\%/h$  de los tratamientos CAFRG (51,2%) y CAFRM (51,7%) fueron mayores ( $P < 0,05$ ) al C (45,9%). Se encontraron tendencias ( $P = 0,08$ ) al incremento en la degradabilidad efectiva para la MO a esta tasa de pasaje así como en la degradabilidad efectiva de la FDN y MO al considerar una tasa de pasaje de 4%/h.

Cuadro.4 Parámetros que describen la cinética de la digestión in situ del heno de moha para vacas no suplementadas (C) o suplementadas con activadores de la fermentación ruminal con maíz (CAFRM) o glicerol (CAFRG) en su composición.

		Tratamiento		Efectos	<i>P</i> -valor
		C	CAFRM	CAFRG	T
Degradación parámetros <sup>1</sup>					
MS	a	19,1 a	17,4 ab	15,4 b	0,045
	b	59,1	54,9	58,9	0,170
	c	2,6	3,9	3,9	0,195
MO	a	15,4	16,6	11,3	0,203
	b	69,5	57,8	63,4	0,169
	c	1,6 a	4,1 b	3,9 b	0,035
	DE2	48,2	55,5	53,4	0,060
	DE4	36,9	45,9	42,8	0,089
<sup>a</sup> FDN <sub>mo</sub>	a	10,5	9,3	6,4	0,340
	b	78,3	65,5	68,4	0,082
	c	1,6	3,8	3,8	0,085
	DE2	45,9 a	51,7 b	51,2 b	0,03
	DE4	33,3	40,9	39,8	0,050

<sup>1</sup> Parámetros fueron calculados con la siguiente ecuación  $y=a+b(1-e^{-c(t)})$  donde y= Desaparición de MS,MO y FDN al tiempo t (%), a=fracción soluble(%), b=fracción potencialmente degradable(%), c= tasa fraccional con que b es degradada(% h<sup>-1</sup>), DE (%) degradabilidad efectiva usando kp de 2% h<sup>-1</sup> y 4% h<sup>-1</sup> T: efecto tratamiento; valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a (P < 0,05)

## **2.6. DISCUSIÓN**

### **Exp.1 desempeño animal**

De acuerdo a lo esperado la suplementación con los AFR mejoró la ganancia de peso en relación a los animales no suplementados indistintamente de la fuente de energía utilizada: maíz o glicerol. La suplementación con diferentes fuentes de energía, nitrógeno vitaminas y minerales críticos permitió mejorar el desempeño de animales alimentados con una dieta con altos contenidos de fibra (74% FDN, 45%FDA) y pobre en el aporte de proteína (7%) en concordancia con lo reportado por (Galina et al., 1999; Ortiz, 2002; Galina et al., 2003; Rodrigues et al., 2012) quienes utilizaron diferentes fuentes de fibra como dieta base. La ganancia de peso de los animales suplementados en este experimento fue menor que la obtenida por Rodrigues et al. (2012) quienes reportaron ganancias de 0.64kg/día para terneras Holando de origen, edad y peso similares a las de este trabajo, alimentadas con ensilaje de sorgo y suplementadas con un AFR similar al del tratamiento CAFRM.

La suplementación con los AFR no afectó el CMS del ES, incrementándose el CMS total en concordancia con lo reportado por Galina et al. (1999); Ortiz (2000); Puga et al. (2001a); Galina et al. (2003) y Rodrigues et al. (2012) quienes trabajaron con niveles de suplementación similares y con variadas fuentes de fibra como alimento base. Si se compara los resultados CMS de ES fue un 19 % superior en el trabajo reportado Rodrigues et al. (2012) pudiendo relacionar la diferencia en el CMS a los menores niveles de fibra que presentó el ensilaje utilizado en dicho experimento (41% FDN y 23% FDA) vs (74% FDN y 45% FDA). Esta superioridad en el consumo de la dieta base repercutió en mayores CMS totales y seguramente en las mayores ganancias de peso de los animales en el experimento reportado por Rodrigues et al. (2012).

El suministro de los AFR no deprimió el consumo del ES por lo que el efecto sobre el CMS fue de tipo aditivo incrementando el aporte de nutrientes. Se aumentó el consumo total de proteína (322 g vs 800 g) como lo reportan Puga et al. (2001a) y Galina et al. (2003) y se incrementaron los niveles de energía en la dieta mejorando la relación entre proteína y energía, lo que repercute en mejores desempeños de los animales. La inclusión de glicerol en la composición de los AFR no afectó el CMS del suplemento en línea con lo reportado por Carvalho et al. (2011), Donkin et al. (2009) y Ramos y Kerley (2012). Por lo cual debemos destacar que la función energética del maíz en la dieta, puede ser sustituida por glicerol crudo ya que ambos tratamientos registraron un mismo nivel de CMS de la dieta base y CMS total, logrando una misma ganancia diaria.

Sustituir el maíz por glicerol crudo al 5% de la MS de la dieta no presentó diferencias en las ganancias de peso de las terneras, en concordancia con lo reportado por Ramos y Kerley (2012) y Parsons et al. (2009) con niveles de sustitución entre el 2% y el 20% de la MS total. Las ganancias de peso obtenidas con la suplementación de los AFR ya sea en base a maíz o glicerol, permitirían llegar a un peso adecuado al servicio de 350 kg a los 17 meses y con un ritmo de crecimiento que no comprometen su desempeño futuro según Zanton y Heinrichs (2005).

Del resultado del balance realizado tanto de energía como de proteína podemos afirmar que las ganancias obtenidas en los animales suplementados se corresponden a los aportes estimados de energía y proteína metabolizable (NRC, 2001) de los diferentes componentes de la dieta.

Pese a la mejora en el status proteico y energético de la dieta no se logra estimular el consumo de la dieta base como si lo reportan los trabajos de Galina et al. (1999); Ortiz (2000); Puga et al. (2001a); Galina et al. (2003) y Rodrigues et al. (2012). Tampoco en este trabajo se mejora la extracción de nutrientes por kg de materia seca consumida ya que los balances para los animales suplementados se explican por la suma de los aportes energéticos de los distintos ingredientes de la

dieta. Por lo que se podría suponer que no existió un aumento en la digestibilidad de la dieta base que aumentara los aportes de nutrientes o que permitiera un incremento de la cantidad de materia seca ingerida.

### **Exp 2: Caracterización de la fermentación ruminal.**

Con la incorporación de los AFR el pH se mantuvo estable durante todo el periodo de muestreo y en valores cercanos a la neutralidad como mencionan los trabajos de Ortiz (2000), Puga et al. (2001b), Galina et al. (2003) y Pineda (2004) al suplementar forrajes de pobre calidad. El pH en las distintas horas de muestreo se presenta en niveles adecuados para la actividad de las bacterias celulolíticas considerando que el ambiente ideal para los microorganismos celulolíticos se sitúa en el rango de pH de 6.4 a 7.0 (Leng, 1991).

La sustitución del glicerol crudo por el maíz en los AFR no afectó el pH, lo que coincide con lo reportado por DeFrain et al. (2004), Donkin et al. (2009) y Carvalho et al. (2011) con animales en diferentes momentos de la lactancia con dietas a base de ensilaje de maíz o en sustitución de otras fuentes de almidón como cebada en la suplementación de vacas lecheras alimentadas con silaje de pastura como dieta base (Kass et al., 2012).

Según lo esperado la incorporación de los AFR con o sin glicerol crudo elevan y estabilizan los niveles de  $\text{NH}_3$  en el rumen como resultado del desdoblamiento enzimático (ureasas) del NNP (urea, sulfato de amonio) además de la degradación de la proteína verdadera, adicionada en el AFR por los microbios ruminales (Delgadillo, 2001).

Con la incorporación de AFR en niveles del 20-30 % complementado forrajes de baja calidad se duplicaron los valores de  $\text{NH}_3$  al igual que reportado por Galina et al. 2003 y Puga et al. 2001b. Con la suplementación se cuadruplica la cantidad de

nitrógeno consumida por día por parte de los animales (66 gr vs 286 g por día) y por lo tanto el  $\text{NH}_3$  generado a nivel ruminal. Al elevarse y estabilizarse los valores de  $\text{NH}_3$  a nivel ruminal se llegan valores adecuados (5-20 mg/dl) para la actividad microbiana según Boniface et al. (1986) para rumiantes alimentados con dietas de baja calidad y alta fibra. Mientras que la dieta base sin suplementación presenta valores inferiores de  $\text{NH}_3$  y por momentos cercanos a los límites o por debajo de los valores recomendados para una óptima actividad microbiana.

La sustitución del maíz no afecta los niveles promedio de  $\text{NH}_3$  (Donkin et al., 2009; Abo El-Nor et al., 2010; Carvalho et al., 2011). Por lo que ambos AFR elevan y mantienen adecuados niveles ruminales de  $\text{NH}_3$ , claves para una correcta degradación del alimento fibroso.

La suplementación con los AFR aumenta la concentración de AGV, producto del incremento en C3 y C4, en el caso del AFRG. Este aumento en la producción de AGV coincide con lo reportado por varios autores utilizando este tipo de suplementos (Puga et al., 2001b; Galina et al., 2003). El incremento en el C3 se explica fundamentalmente por la incorporación en el suplemento de alimentos glucogénicos como son el maíz y el polvillo de arroz (Puga et al., 2001a) y glicerol. Mientras que los incrementos en el C3 y C4 concuerdan con lo reportado por Krehbiel (2008) que menciona que la respuesta más consistente tanto *in vitro* como *in vivo* de la inclusión del glicerol es un aumento ligero en el C3 y un mayor aumento en el C4.

La concentración total de AGV no fue afectada por la sustitución de maíz por glicerol en los AFR, al igual que los resultados encontrados por DeFrain et al., 2004; Carvalho et al., 2011 y Kass et al., 2012 cuando se sustituyeron diferentes fuentes de almidón por glicerol. En lo que respecta a las concentraciones de los distintos AGV se puede observar que al igual que Carvalho et al. (2011) en inicio de lactancia en vacas lecheras y Abo El-Nor et al. (2010) en un estudio a nivel de laboratorio con fermentadores un aumento en la proporción molar de C4.

No se encontraron diferencias en los niveles de C3 al sustituir el maíz por el glicerol como sí ocurrió en los trabajos de (DeFrain et al., 2004 ; Carvalho et al., 2011; Kass et al. 2012). Estas diferencias se pueden vincular a mayores niveles de sustitución (10 al 15% de la MS de la dieta) y mayor participación del concentrado (relación forraje/concentrado 60/40) en comparación con este trabajo. Como se confirma en los trabajos reportados por Abo El-Nor et al., (2012) en una dieta en base de heno de alfalfa con niveles de sustitución que no superaron el 10% de la MS o como lo reportado por De Frain et., (2004) en la dieta preparto de vacas lecheras con una proporción de forraje (76%) que tampoco encontraron diferencias para las proporciones de C3. Por lo que las diferencias en los distintos resultados obtenidos en la experimentación se deben a las cantidades manejadas así como a los otros componentes de la dieta (Kass et al., 2012).

La suplementación con los AFR disminuye la relación C2/C3 al aumentar los niveles de C3 y permanecer incambiados los niveles de C2. Al comparar ambos activadores se aprecia una caída en la relación C2/C3 al sustituir el maíz por glicerol crudo tal como lo reportaron Donkin et al. (2009) y Carvalho et al. (2011) con la salvedad que en este experimento no se encontraron diferencias en los niveles de C2 y C3, explicándose la caída en la relación C2/C3 por la disminución en los niveles de C2 en el AFRG (diferencias no significativas).

Contrariamente a lo reportado por distintos trabajos con diferentes fuentes de fibra que mencionan un incremento en la desaparición de la materia seca al suplementar con los AFR (Delgadillo, 2001; Galina et al., 2003) en este trabajo no se encontraron diferencias en la desaparición in situ, así como en la fracción potencialmente degradable de MS, MO y FDN a las 96 horas. Sin embargo se debe destacar que en los diferentes trabajos citados el material incubado fue la mezcla de la dieta recibida por los animales y no la fuente de fibra aislada como en el presente trabajo. Si bien no existieron diferencias en la desaparición total de las fracciones (MS, MO y FDN) existió un aumento en la tasa de desaparición de la MO así como



en la degradación efectiva ( $K_p = 2\%/h$ ) de la FDN. Por lo que estos incrementos en las tasas de desaparición de las distintas fracciones de la dieta base nos permiten sugerir que la adición del AFR favoreció la degradabilidad del heno de moha a través de un pH óptimo para la celúlólisis sumado a un nivel de nitrógeno y aporte de aminoácidos que favorecen la síntesis de proteína microbiana (Delgadillo, 2001).

La incorporación del glicerol crudo en los AFR no afectó la degradación de la MS del alimento base como es mencionado por Schröder y Südekum (1999) quienes afirman que la incorporación del glicerol en dietas con bajo contenido de almidón no tiene efectos adversos o en ocasiones favorables en la digestibilidad de la MS.

La sustitución del maíz por glicerol crudo no afectó la desaparición total de la fibra contrariamente a lo mencionado Abo El-Nor et al. (2010) que reporta una disminución en la desaparición de la fibra al manejar niveles de sustitución similares a este experimento.

Pese a las buenas condiciones ruminales para la degradación de la fibra no se logran incrementos significativos en la tasa de degradación de la MS y FDN por lo que no repercute en un aumento del CMS del alimento fibroso como sí ocurrió en el trabajo de Galina et al. (2003) donde se determinaron incrementos en las tasas de desaparición y de pasaje y por ende del CMS de la dieta base.

## **2.7 CONCLUSIONES**

Los AFR ya sea con maíz o glicerol como fuente de energía mejoraron la ganancia de peso de terneras Holando en crecimiento con ensilaje de sorgo de planta entera como fuente de fibra.

La sustitución del maíz por el glicerol crudo en los AFR no tuvo efectos significativos sobre el CMS, fermentación y degradación de la dieta base.

**3. EFECTO DE NIVELES CRECIENTES DE GLICEROL CRUDO EN LA  
DIETA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN VACAS HOLANDO**

### **3. EFECTO DE NIVELES CRECIENTES DE GLICEROL CRUDO EN LA DIETA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS EN VACAS HOLANDO**

#### **3.1. SUMMARY**

In order to study the effect of the inclusion of incremental levels of crude glycerol in the diet of Holstein cows in early lactation on production and milk composition, body condition, body weight and ingestive grazing behavior an experiment was carried out from October 10<sup>th</sup> to November 30<sup>th</sup> of 2011 at the Research Station Mario A. Cassinoni (EEMAC), Faculty of Agronomy, Paysandú. Twenty-four Holstein cows (13 primiparous and 11 multiparous) were used with an average of  $56 \pm 11$  days of lactation,  $551 \pm 79.7$  kg of body weight (BW) and  $2.8 \pm 0.27$  for body condition (BC) at the beginning of the experiment in a completely randomized block design. During the experiment the cows were milked twice daily at (4:30 a.m. and 3:00 p.m.). The animals had access to multiannual pastures paddocks from 7:00 a.m. to 2:30 p.m. in the afternoon. During the evening cows were in individual pens with food, water and shade available. The forage allowance was 40 kg DM / animal / day in a daily strip. The diet supplied in the pens involved 7 kgFB / animal / day of a commercial ration (16% CP), 12 kgFB / animal / day pasture silage and the glycerol added to the mixture of feed and silage according to the treatment. The difference between treatments was the amount of glycerol provided, 0 lts/animal/day, 0,5 lts/animal/day, 1 lt/animal/day, y 1,5 lts animal/day, for the control treatment, T0,5, T1 y T1,5 respectively. The variables measured were milk yield, milk solids, BW, CC and ingestive behavior during grazing. There were no significant differences in milk production, solids production, CC and proportion of time spent grazing between the treatments ( $P > 0.05$ ). Milk production per 100 kg BW increased with the addition of crude glycerol ( $P < 0.05$ ) without significantly differentiate between different levels of inclusion of glycerol. Milk composition showed significant decreases in fat and urea content in treatment T1.5 compared to C. It is concluded that the inclusion of crude glycerol between 0.5 to 1.5 l per animals/day during early lactation did not affect the daily production of solid or the proportion of the time devoted to grazing

activity. There was a decrease in the levels of urea in milk with incremental level of crude glycerol in the diet.

**Keywords:** crude glycerol, Holstein cows, milk production; milk composition; grazing behavior

### 3.2. RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto de la inclusión de niveles incrementales de glicerol crudo en la dieta de vacas Holando en lactancia temprana, sobre la producción y composición de la leche, condición corporal, peso vivo y comportamiento ingestivo en pastoreo se llevó a cabo un experimento desde el 10 de octubre al 30 de noviembre del 2011 en la Estación Experimental Mario A. Cassinoni (E.E.M.A.C.), Facultad de Agronomía, Paysandú. Para su realización se utilizaron veinticuatro vacas Holando (13 primíparas y 11 multíparas) con un promedio de  $56 \pm 11$  días de lactancia  $551 \pm 79,7$  kg de peso vivo (PV) y  $2,8 \pm 0,27$  de condición corporal (CC) al comienzo del experimento en un diseño de bloques completos al azar. Durante el experimento las vacas se ordeñaron en dos turnos diarios (4:30 am y 15:00 pm). Los animales tuvieron acceso al pastoreo de pasturas plurianuales en el horario de 7:00 am a 14:30 pm y en la tarde-noche estuvieron en corrales individuales con acceso a alimento, agua y sombra. La asignación de pastura fue de 40 kg/animal/día en parcelas de ocupación diaria. La alimentación suministrada en los corrales consistió en 7 kgBF/animal/día de una ración comercial (16%PC), 12 kgBF/animal/día de henilaje de pastura, y glicerol agregado sobre la mezcla de ración y henilaje. Lo que diferenció los tratamientos fue la cantidad de glicerol suministrado, 0 litros/animal/día, 0,5 litros/animal/día, 1 litro/animal/día, y 1,5 litros/animal/día, para el tratamiento C, T0.5, T1 y T1.5 respectivamente. Las variables medidas en los animales fueron la producción de leche, sólidos en leche, PV, CC y comportamiento ingestivo en el pastoreo. Sobre la pastura se midió la disponibilidad de la misma a la entrada de los animales de las distintas parcelas durante los distintos períodos de pastoreo. No existieron diferencias significativas en

producción de leche, producción de sólidos, CC y proporción de tiempo dedicada al pastoreo entre los tratamientos ( $P>0,05$ ). La producción de leche cada 100 kg PV se incrementó con la incorporación de glicerol crudo ( $P<0,05$ ), sin diferenciarse significativamente entre los distintos niveles de adicción. En la composición de leche se presentaron disminuciones significativas en el porcentaje de grasa y urea en el tratamiento T1.5 en comparación al C. Se concluye que la inclusión de niveles crecientes de glicerol crudo de 0.5 l a 1.5 l en animales al inicio de la lactancia no afectó la producción diaria de sólidos ni la proporción de tiempo dedicadas a la actividad de pastoreo. Existió una disminución en los niveles de urea en la leche ante el incremento del glicerol crudo en la dieta.

Palabras clave: Glicerol crudo, Vacas Holando, Producción de leche; composición de leche; comportamiento ingestivo

### **3.3. INTRODUCCIÓN**

El bajo consumo de materia seca y energía metabolizable así como la falta de sincronía en el rumen entre la energía y la proteína cruda aportada por el forraje, son los principales factores que limitan la producción de leche en pastoreo (Stockdale, 2000). La suplementación energética de las pasturas aumenta el consumo de energía y puede mejorar el balance ruminal entre la energía y proteína disponible y permitir un crecimiento microbiano óptimo (Beever y Siddons, 1986).

Los sistemas lecheros tienen el desafío de utilizar nutrientes alternativos al almidón como fuente de energía dado el aumento en los últimos años en los precios de los granos (maíz, soja, trigo, etc.) destinados a la alimentación de los rumiantes. En el grupo de alimentos alternativos, los subproductos agroindustriales tienen un papel destacado a cumplir. La inclusión de subproductos industriales constituye una oportunidad única desde esta perspectiva, sustituyendo fuentes demandadas por la nutrición humana (maíz, trigo) por fuentes que no compiten en este mercado. Adicionalmente, en la mayoría de los casos, los subproductos industriales tienen alto

potencial contaminante, lo que obliga a incorporarlos en costosos procesos de tratamiento, de no tener una fuente alternativa de uso. (Chilibroste, 2012)

Una industria que tiene perspectivas de desarrollo en el Uruguay y en la región es la de producción de biodiesel. La industria se encuentra en una etapa de desarrollo importante marcado por el aumento de la oferta y la demanda basada en las políticas públicas de sustitución de derivados del petróleo por biodiesel y etanol (Bentacour et., 2009). El glicerol crudo es un subproducto de la trans-esterificación del aceite en la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, en la producción de biodiesel (Thompson y He, 2006). Aproximadamente 0,92 kilogramos de glicerol crudo se producen cada 10 litros de biodiesel producido (Crandell, 2004). En Uruguay se prevé para el 2014 la producción de 10000 toneladas anuales de glicerol crudo (Chilibroste, 2012)

El glicerol es una molécula de azúcar-alcohol ( $C_3H_8O_3$ ) con una concentración de energía neta de lactación de 1.98 a 2.29 Mcal / kg que es aproximadamente igual a la energía contenida en el almidón de maíz. Esta y otras cualidades lo hacen una alternativa atractiva para ser utilizado como fuente de energía en los rumiantes y ganado lechero en particular en la medida que la cantidad de glicerol producido supere las capacidades de las industrias farmacéuticas y químicas de procesar glicerol crudo (Schröder y Südekum, 1999).

Se han reportado diferentes estudios en vacas lecheras donde se incluyó glicerol en la alimentación tanto al inicio de la lactancia (Rémond et al.,1991; Defrain et al., 2004 ; Bodarski et al., 2005 Ogborn , 2006 ;Chung et al.,2007 ; Wang et al., 2008 ; Donkin et al., 2009) como en lactancia media (Khalili et al., 1997 ,Echeverria et al., 2010). Algunos estudios han reportado incrementos en la producción de leche por la inclusión de glicerol crudo en la dieta (Chung et al. 2007; Wang et al. 2009; Bodarski et al; Donkin et al. 2009; Echeverría et al., 2010; Lomander et al., 2012) mientras que otros no encontraron respuestas significativas en la producción de leche (Khalili ,1997; De Frain et al. 2004; Ogborn, 2006).

Prácticamente la totalidad de los trabajos citados se realizaron en condiciones de estabulación con dietas totales mezcladas (DTM) con excepción del estudio reportado por Etcheverría et al. (2010) que fue realizado en el país en condiciones de pastoreo. En este experimento con vacas pastoreando avena se obtuvo una respuesta marginal a la utilización del glicerol de 2,6 L de leche/ kg de glicerol, siendo esta respuesta superior a las encontradas con otras fuentes energéticas.

En función de estos antecedentes se planteó un experimento con el objetivo de determinar el efecto de la inclusión de niveles crecientes de glicerol crudo en la dieta sobre producción y composición de la leche de vacas Holando en lactancia temprana en pastoreo suplementadas con DPM.

### **3.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

El experimento fue realizado en la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” (E.E.M.A.C.), Facultad de Agronomía, Paysandú, Uruguay, durante el período 17 octubre -30 noviembre de 2011. Se evaluó el efecto de la inclusión de niveles crecientes de glicerol crudo en la dieta de vacas Holando primíparas y multíparas a inicio de lactancia temprana sobre comportamiento ingestivo, producción y composición de leche. El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de Uruguay (CHEA – UdelaR).

#### **3.4.1. Animales, diseño experimental y manejo.**

Se utilizaron veinticuatro vacas Holando (13 primíparas y 11 multíparas) con un promedio de  $56 \pm 11$  días de lactancia,  $551 \pm 79,7$  kg de peso vivo (PV) y  $2,8 \pm 0,27$  de condición corporal (CC) al comienzo del experimento. El diseño del experimento fue de bloques completos al azar. Los animales se agruparon en bloques según número de lactancia (NL), fecha de parto, PV, producción de leche y CC y fueron asignadas en forma aleatoria a uno de los cuatro tratamientos experimentales

(n=6): C = Control (pastoreo en el turno de la mañana con un tiempo de acceso a la pastura de 7 hs diarias y encierro en la tarde en corrales individuales con acceso a agua y DPM; T0.5 = C + 0,5 litros de glicerol crudo; T1 = C + 1 litro de glicerol crudo; T1.5= C + 1,5 litros de glicerol crudo. El glicerol crudo se agregó sobre el henilaje suministrado en el encierro. La duración del experimento fue de 51 días, de los cuales los primeros 7 días correspondieron al período de adaptación de los animales a las dietas mientras que los restantes 44 días correspondieron al período de determinaciones. Durante el periodo de adaptación se incrementaron gradualmente los niveles de glicerol de manera de llegar al nivel objetivo de cada tratamiento.

La rutina de los animales durante el periodo experimental consistió en un ordeño am a las 4:00 y luego acceso a la pastura desde las 7:30 hasta las 14:30 momento en el que fueron trasladadas para el ordeño pm a las 15:00 h. Posteriormente luego del ordeño pm los animales fueron trasladados a corrales individuales de 8 m<sup>2</sup>, con piso de tierra. En estos corrales los animales tuvieron agua a voluntad y recibieron en comederos individuales la suplementación (mezcla de concentrado y henilaje). El glicerol crudo fue agregado sobre la mezcla de concentrado y henilaje.

### **3.4.2. Dieta**

La dieta de los animales consistió en pastoreo de pasturas plurianuales suplementadas a razón de 6.3 Kg. de MS/animal/día de concentrado (16%PC) más 5 Kg. de MS/animal/día de henilaje de pastura de Trébol rojo (*Trifolium pratense*) y Raigrás (*Lolium multiflorum*). El concentrado y el henilaje fueron mezclados manualmente y suministrados en forma individual para cada vaca.

Las pasturas consistieron en una pradera monoespecífica de Festuca (*Festuca arundinacea*) y otra compuesta de Festuca (*Festuca arundinacea*), Lotus (*Lotus corniculatus*) y Trébol Blanco (*Trifolium repens*). A cada tratamiento se le asignaron



aproximadamente 40 kg materia seca (a raz del piso) por animal por día en parcelas de ocupación diaria.

El glicerol crudo utilizado fue provisto por la empresa A.L.U.R SA y presentó las siguientes características físico-químicas (82% glicerol, 11.5% sales, 5% agua, 2,2% metanol y densidad 1,23g/ml (20°C)). Se consideró un aporte de energía neta de lactación de 1.9 MCal/kg MS según lo reportado por Schröder y Südekum, (1999).

La composición química de los alimentos se presenta en el Cuadro 1

### **Cuadro 1. Alimentos y su composición química**

Composición química	Alimentos			
	Henilaje	Ración	Pastura 1	Pastura 2
MS(g/kg)	430	920	190	270
PC (g/kg MS)	130	160	130	150
<sup>a</sup> FDN <sub>mo</sub> (g/kg MS)	520	300	590	570
FDA <sub>mo</sub> (g/kg MS)	320	130	350	300
ENL (Mcal/kg MS) <sup>1</sup>	1.17	1.75	1.41 <sup>2</sup>	1.41 <sup>2</sup>

Henilaje (Trébol Rojo y raigrás) Pastura 1(*Festuca 1er año*), Pastura 2(*Festuca, Trébol Blanco y Lotus Corniculatus 1er año*) <sup>1</sup> estimada por NRC 2001.<sup>2</sup> valor promedio de energía de ambas pasturas. La disponibilidad promedio de las pasturas fue de 2660 ± 900 Kg/ha.

### **3.4.3. Determinaciones**

#### **3.4.3.1. Producción y composición de leche**

La producción de leche se registró individualmente en cada ordeño con el uso de medidores Waikato®. El contenido de grasa, proteína, lactosa y urea en leche se determinó semanalmente con muestras individuales de dos ordeños consecutivos a través del método de espectroscopia de infrarrojo cercano (Near Infrared Reflectance

Spectroscopy-NIRS, Milko-Scan, Fross Electric, Hillerød, Denmark). La concentración de energía en leche se calculó de acuerdo a NRC (2001):

$$\text{Eleche} = ((0,0929 * \text{grasakg}) + (0,0547 * \text{protkg}) + (0,0395 * \text{lactkg})) * 100$$

Donde, Eleche = energía neta contenida en leche (Mcal/L), grasakg = kilogramos de grasa producidos; protkg = kilogramos de proteína producidos y lactkg = kilogramos de lactosa producidos.

#### **3.4.3.2. Peso vivo y condición corporal**

Semanalmente, previo al pastoreo se pesaron todos los animales luego del ordeño de la mañana sin ayuno previo. Coincidiendo con la pesada de los animales se realizó la evaluación de la CC, utilizando la escala de 5 puntos (Ferguson et al., 1989).

#### **3.4.3.3. Consumo en corrales**

Diariamente se determinó el consumo de la dieta parcial mezclada (DPM). El alimento ofrecido se pesó diariamente y los rechazos se retiraron y pesaron previo a ofrecer la nueva alimentación. El consumo se determinó como la diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado.

#### **3.4.3.4. Comportamiento ingestivo**

En la semana 2 y 5 del experimento se estudió la conducta en pastoreo durante 2 días consecutivos por periodo. Dichas medidas consistieron en la observación del comportamiento grupal de los animales de cada tratamiento. En intervalos de 15 minutos se registró el número de animales que se encontraban pastoreando, descansando, rumiando o en otras actividades.

### **3.4.3.5. Disponibilidad de forraje**

Cada 15 días se realizaron determinaciones de disponibilidad de forraje de manera de definir el área de la franja diaria de forma de lograr la asignación de forraje objetivo (40 kg MS/vaca/día). Se tomaron 100 puntos por parcela caminando en zigzag con plato (Rising Plate Meter® - Ashgrove Co., Palmerston North, New Zealand). Para estimar la disponibilidad de forraje se estimó la cantidad de forraje (kgMS/ha) a través de la calibración del plato, utilizando la técnica de doble muestreo de Haydock y Shaw (1975). Se determinaron cinco escalas de altura de plato y se cortaron a ras del suelo tres repeticiones de cada escala. Las muestras consistieron en cuadros de 30\*30 cm, que fueron secadas en estufa de aire forzado a 60 °C durante 48 horas para la determinación de MS. Luego se determinó la relación entre altura de plato y la cantidad de forraje disponible (kgMS/ha)

### **3.4.4. Análisis químicos**

Se tomaron muestras de los diferentes alimentos una vez por semana y fueron secadas en estufa a 60°C por 48 h para la determinación de MS. Posteriormente las muestras fueron molidas en molido Wiley (Standard Model No 3, Arthur H. Thomas Co. Philadelphia) y enviadas al laboratorio de Nutrición Animal, de la Facultad de Agronomía (UdelaR) para analizar contenido de MS, cenizas y nitrógeno, según los métodos 167.03, 942.05 y 984.13 de AOAC (1990), respectivamente. Los contenidos de fibra detergente neutro ( $a\text{FDN}_{\text{mo}}$ ) y de fibra detergente ácido ( $\text{FDA}_{\text{mo}}$ ) se determinaron secuencialmente (Van Soest et al., 1991) utilizando un analizador de fibra ANKOM200 (ANKOM Technology Corp., Fairport, NY, USA).

### **3.4.5 Cálculos**

Los balances de energía y proteína metabolizable fueron calculados según NRC (2001) para animales Holando en producción.

La energía neta aportada por el forraje se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{ENLaf} = \text{ENLah} + \text{ENLac} - (\text{ENLpl} + \text{ENLmant} + \text{ENLvarpv}).$$

Donde: ENLaf (es la energía neta lactación aportada por el forraje), ENLah (es la energía neta lactación aportada por en henilaje), ENLac (es la energía neta lactación aportada por el concentrado), ENLpl (es la energía neta lactación requerida para producción de leche) ENLmant (es la energía neta lactación requerida para mantenimiento) y ENLvarpv (es la energía neta lactación requerida para la variación de peso vivo).

El consumo de forraje se determinó de la siguiente manera

$$\text{Consumo de forraje} = \text{ENLaf (Mcal)} / \text{ENLforraje (Mcal/kg Ms)}$$

Donde: ENLaf (es la energía neta lactación aportada por el forraje) y ENLforraje (es la energía neta lactación contenida del forraje por kilogramo de materia seca).

La concentración de energía neta de lactación aportada por los distintos alimentos así como los requerimientos fueron calculados de acuerdo a NRC (2001).

### **3.4.6. Análisis estadístico**

El efecto del nivel de suplementación con glicerol crudo fue testado aplicando un modelo lineal general. Las variables de respuesta producción de leche, producción de leche cada 100Kg peso vivo, producción de grasa, proteína y lactosa, porcentajes de grasa, proteína y lactosa, urea en leche (mg/dl), condición corporal (CC), peso vivo (PV) y energía en leche fueron analizadas con un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo usando el procedimiento GLIMMIX de SAS 9.2 (2010). El modelo incluyó los efectos fijos: tratamiento, número de lactancia, semanas, tratamiento x semana y sus interacciones. Para las variables PV y CC se utilizó como covariable el PV inicial y CC inicial. El efecto bloque fue tratado como un efecto aleatorio y fue elegida una estructura de covarianzas auto regresivas heterogéneas de primer orden (AR1). Las medias de cuadrado del error fueron separadas usando la opción PDIFF para efectos significativos. Las medias se compararon usando la prueba de Tukey y un efecto se reportó como significativo cuando  $P < 0,05$ .

Para la variable comportamiento ingestivo grupal se ajustó un modelo lineal generalizado asumiendo que la variable número de vacas realizando una actividad en relación al número de vacas totales, tuvo distribución binomial con la función Logit como link. La probabilidad de animales comiendo, rumiando o descansando fue analizada utilizando el procedimiento GLIMMIX de SAS 9.2 (2010). El modelo incluyó los efectos fijos de tratamiento, hora de observación y su interacción. Las medias del cuadrado del error fueron separadas utilizando la opción PDIFF para efectos fijos significativos. La estructura de covarianza fue modelada con la opción AR1. Las medias se compararon usando la prueba de Tukey y un efecto se reportó como significativo cuando  $P < 0,05$ .

### 3.5. RESULTADOS

Una vaca múltipara fue retirada del tratamiento T0.5 por presentar problemas sanitarios no relacionados al tratamiento nutricional.

#### 3.5.1. Producción y composición de la leche

Las variables producción, composición y energía en leche se muestran en el cuadro 2

Cuadro 2. Producción, composición y producción de energía en leche para los tratamientos control (C), T0.5 (0.5 litros glicerol crudo), T1 (1 litro glicerol crudo) y T1.5 (1.5 litros glicerol crudo)

Variables	Tratamientos				efectos $P \leq$			
	C	T0.5	T1	T1.5	E.E	T	S	TxS
Leche L/V/d	28,2ab	27,0b	27,4ab	28,3a	0,877	0,017	<0,001	0,002
L/100kgPV	4,6b	5,1 a	5,1 a	5,0 a	0,217	<0,0001	0,0335	0,071
Grasa %	3,29a	3,30 a	3,14ab	2,96b	0,083	0,031	<0,001	0,89
Grasa kg/d	0,9	0,9	0,86	0,84	0,02	0,21	<0,001	0,035
Proteína %	2,88	2,97	3,02	3,00	0,049	0,45	<0,001	0,21
Proteína kg/d	0,74a	0,80 a	0,81 a	0,83 a	0,021	0,56	<0,001	0,4
Lactosa %	4,77	4,75	4,86	4,93	0,051	0,08	0,06	0,003
Lactosa kg/d	1,3	1,3	1,33	1,34	0,048	0,91	<0,001	0,48
Urea mg/dl	22,32a	20,38 ab	20,14ab	18,05 b	0,725	0,0038	<0,001	0,15
EN (Mcal)*	17,86	17,84	17,81	17,78	0,431	0,99	<0,001	0,242

\*ENI (Mcal): estimada de acuerdo al NRC 2001, valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente Tukey ( $P < 0,05$ )

El NL afectó de manera significativa la producción de leche promedio ( $P < 0,05$ ) diferenciándose en 10 litros (23 L vs 33 L /V/d) al comparar vacas primíparas con

vacas de 2 o más lactancias. La producción de leche presentó diferencias ( $P < 0,05$ ) significativas entre los tratamientos T0.5 y T1.5. La producción de leche cada 100 kg PV (Cuadro 2) se incrementó con la incorporación de glicerol crudo ( $P < 0,05$ ) sin diferenciarse significativamente entre los distintos niveles de adicción. La interacción tratamiento por NL (TxNL) fue significativa ( $P < 0,05$ ). Las vacas primíparas no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos pero si existieron diferencias para las vacas múltíparas. En las vacas primíparas los mayores valores de producción (23L) correspondieron a los tratamientos (T1.5 y T0.5) y los menores valores (22L) a los tratamientos (C y T1) mientras que para las vacas múltíparas los mayores valores (33L) correspondieron a los tratamientos (T1.5 y C) y los menores valores (32 y 31 L/V/d) a los tratamientos T1 y T0.5 respectivamente.

Los producción diaria en kg de grasa, proteína y lactosa de la leche no fueron diferentes entre tratamientos ( $P > 0,05$ ). La composición porcentual de proteína y lactosa de la leche así como la energía contenida en la leche no presentaron diferencias entre los diferentes tratamientos. El NL afectó de manera significativa ( $P < 0,05$ ) la composición porcentual de proteína (3,2% vs 2,7%) para primíparas y múltíparas respectivamente, la composición porcentual de lactosa (4,9% vs 4,6%) para primíparas y múltíparas respectivamente y la energía contenida en la leche (15 Mcal vs 19 Mcal) para primíparas y múltíparas respectivamente. La interacción TxNL no fue significativa para la composición porcentual de proteína, si fue significativa la interacción TxNL para la composición porcentual de lactosa; donde en las vacas primíparas los mayores valores (5%) correspondieron a los tratamientos (T1.5 y T0.5) y los menores valores (4,9%) a los tratamientos (C y T1) mientras que para las vacas múltíparas los mayores valores (4,8%) correspondieron a los tratamientos (T1.5 y T1) y los menores valores (4,6%) a los tratamientos (C y T0.5). La interacción TxNL para la energía contenida en leche también fue significativa; donde en las vacas primíparas los mayores valores (16 Mcal) correspondieron a los tratamientos (T1.5 y T0.5) y los menores valores (15 Mcal) a los tratamientos (C y T1) mientras que para las vacas múltíparas los mayores valores (20 Mcal)

correspondieron a los tratamientos (C y T1) y los menores valores (19 Mcal) a los tratamientos (T1.5 y T0.5).

Con respecto al porcentaje de grasa en la leche existió una disminución significativa ( $P < 0,05$ ) en el nivel máximo de inclusión (T1.5) con respecto a los tratamientos (C y T 0.5). El NL no afectó de manera significativa el porcentaje de grasa promedio y la interacción TxNL fue significativa. Las vacas multíparas no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos pero si existieron diferencias significativas para las vacas primíparas entre el tratamientos (C) y los tratamientos (T1.5 y T1). En las vacas primíparas los mayores valores (3,6% y 3,3%) correspondieron a los tratamientos (C y T0.5) y los menores valores (2,9%) a los tratamientos (T1.5 y T1) mientras que para las vacas multíparas los mayores valores (3,3%) correspondieron a los tratamientos (C y T1) y los menores valores (3%) a los tratamientos (T1.5 y T0.5).

La urea en leche no presento diferencias significativas entre el C y los niveles más bajo de adicción ( $P > 0,05$ ) así como entre los tratamientos con glicerol. Pero si existieron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre el C y T1.5. El NL afecto significativamente el contenido de urea en leche (21 vs 19 mg/dl) para primíparas y multíparas respectivamente, la interacción TxNL fue significativa. En las vacas primíparas los mayores valores (23 y 22 mg/dl) correspondieron a los tratamientos (C y T0.5) y los menores valores (20 y 18 mg/dl) a los tratamientos (T1 y T1.5) mientras que para las vacas multíparas los mayores valores (22 y 20 mg/dl) correspondieron a los tratamientos (C y T1) y los menores valores (19 y 17 mg/dl) a los tratamientos (T1.5 y T0.5).



### 3.5.2. Peso vivo y condición corporal

El peso vivo medio y la condición corporal de los distintos tratamientos se presentan en el Cuadro 3

**Cuadro 3** Peso vivo (PV) (kg) promedio, Condición corporal promedio (CC) (escala 1-5) para los tratamientos control (C), T0.5 (0.5 litros glicerol crudo), T1 (1 litro glicerol crudo) y T1.5 (1.5 litros glicerol crudo)

Variables	Tratamientos				Efectos			
	C	T0,5	T1	T1,5	E.E	T	S	TxS
PV	583 a	520 b	549 ab	558 ab	10,57	0,003	<0,001	0,17
CC (1-5)	2,7 a	2,8 a	2,9 a	2,9 a	0,047	0,14	0,004	0,78

Valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a ( $P < 0,05$ ), T: efecto tratamiento; S: efecto semana; T× S: interacción tratamiento y semana; valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a ( $P < 0,05$ )

El PV promedio presentó diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre el C y el tratamiento T0.5. No existieron diferencias entre los distintos niveles de glicerol. La interacción entre PV y el NL fue significativa ( $P < 0,05$ ) donde dentro del grupo de vacas con más de una lactancias, las vacas del tratamiento C fueron las más pesadas con  $616 \pm 15,7$  kg sin llegar a ser diferentes estadísticamente con las de los otros tratamientos cuyos pesos promediaron  $566 \pm 15,5$  kg. Para las vacas primíparas también fue el tratamiento C el que registró los animales más pesados con  $551 \pm 13,0$  kg y en este caso se reportaron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) al comparar este tratamiento con los tratamientos (T0.5 y T1). Dentro de los tratamientos con inclusión del glicerol crudo, el tratamiento T0.5 registró los menores valores de pesos con  $468 \pm 14,4$  kg diferenciándose significativamente del resto de tratamientos.

La CC promedio y la interacción CCxNL no presentaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ) entre tratamientos

### **3.5.3. Consumo y balance**

Los valores estimados de CMS total y de forraje se presentan en el cuadro 4

En el caso del consumo de la mezcla de henilaje y concentrado no existieron rechazos por lo que todos los tratamientos consumieron toda la mezcla ofrecida.

**Cuadro 4** Consumo de materia seca (CMS (Kg/día)), consumo de materia seca en porcentaje del peso vivo (CMS (%PV)) consumo de materia seca de pastura (kg/día), balance de energía (Mcal/ENL), balance de proteína metabolizable (PMg/día) y balance de proteína degradable (PDRg/día) en rumen según tratamientos

Variables	Tratamientos			
	C	T0.5	T1	T1.5
CMS (kg/día)	21,7	19,84	21,00	20,93
CMS (%PV)	3,72	3,81	3,82	3,75
CMS pastura (kg/día)	10,1	7,8	8,6	8,1
CMS pastura (%dieta)	46	39	40	39
Balance ENI (Mcal)	0,3	-0,2	1,4	1,1
Balance PM (g/día)	-269	-224	194	-239
Balance PDR(g/día)	302	220	183	128

Valores estimados

### 3.5.4. Comportamiento ingestivo grupal en pastoreo

Las proporciones promedio de animales pastoreando, descansando o rumiando durante la permanencia en la pastura se presentan en el cuadro 5.

**Cuadro 5** Proporción promedio de animales pastoreando, descansando o rumiando durante la permanencia en la pastura para los tratamientos control (C), T0.5 (0.5 litros glicerol crudo), T1 (1 litro glicerol crudo) y T1.5 (1.5 litros glicerol crudo)

Variables	Tratamientos				Efectos		
	C	T0,5	T1	T1,5	T	H	TxH
Pastoreo	0,50	0,59	0,55	0,56	0,92	0,008	0,52
Descanso	0,22	0,26	0,26	0,27	0,97	0,0087	0,27
Rumia	0,17	0,12	0,16	0,17	0,23	0,0112	0,25

Valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a ( $P < 0,05$ ), T: efecto tratamiento; H: efecto hora; T× H: interacción tratamiento y hora; valores entre filas con diferentes letras son diferentes significativamente a ( $P < 0,05$ ).

El comportamiento en pastoreo no presentó diferencias entre los tratamientos. En los distintos tratamientos las vacas dedicaron proporciones similares del tiempo a las distintas actividades (pastoreo, rumia y descanso). Los animales invirtieron la mitad de del tiempo de permanencia en las parcelas en pastorear y dedicaron el resto a las otras actividades (rumia y descanso)

## **3.6. DISCUSIÓN**

### **3.6.1. Producción de leche y composición**

La inclusión del glicerol crudo en niveles del (2,5 al 7%) de la materia seca de la dieta no afectó la producción de leche en vacas en lactancia temprana. Se destacan diferencias significativas solo entre los valores extremos de adicción de glicerol (T0.5 vs T1.5).

Al tener que retirar una vaca del tratamiento T0.5 el PV promedio de los tratamientos se vió significativamente afectado ( $P < 0.05$ ). En razón de este cambio obligado en el diseño la producción de leche se expresa corregida por el PV de los animales.

La producción de leche cada 100 kg de peso vivo se incrementó en el orden del 10% por la incorporación de 0.5 y 1 litros del glicerol con relación a los animales del tratamiento C, no diferenciándose la producción para los distintos niveles de glicerol. Estos resultados coinciden con lo reportado por Bodarski et al. (2005) y Echeverría et al. (2010), quienes mencionan aumentos de producción de leche de 14% y 10% respectivamente manejando niveles de adicción en la dieta en el entorno de los (500g a 673 g). En el caso de Bodarski et al., (2005) asociaron el incremento en la producción de leche a un mayor CMS y mejor balance en la dieta en lo que respecta a energía y proteína. En el caso particular de este experimento aparentemente no se producen aumentos significativos en el CMS dado que el suplemento fue totalmente consumido por los animales en los diferentes tratamientos y el tiempo asignado a actividades de cosecha de forraje no fue significativamente diferente entre tratamientos. Es posible que los animales suplementados con glicerol hayan logrado un mejor balance en la dieta en lo que respecta a la energía y proteína (NRC, 2001).

En lo que se refiere al contenido porcentual graso de la leche los resultados observados, muestran una disminución en el porcentaje de grasa con la adición en niveles del 7%MS de la dieta (T1.5). En este sentido los trabajos de Wang et al., (2009), Echeverría et al., (2010) y Lounglawan et al. (2011), reportan tendencias a la disminución en el contenido de grasa al incrementar los niveles de glicerol crudo en la dieta. En ninguno de los experimentos reportados las dosis de inclusión de glicerol llegaron a los niveles más altos manejados en el presente estudio. Esta caída de la grasa en la leche puede estar asociada al incremento de precursores glucogénicos en la forma de ácido propiónico en rumen y a un descenso en la disponibilidad de precursores lipogénicos (ácido acético) como lo citan diversos trabajos que incluyen glicerol en estos niveles en la dieta (Donkin et al., 2009, Carvalho et al., 2011, Kass et al., 2012). La disminución en la concentración de acético se puede asociar a una disminución en la digestibilidad de la fibra al incluir el glicerol en niveles mayores al 5% de la MS total de la dieta (Abo El-Nor et al., 2010). En este sentido Roger et al., (1992) sugiere que la inclusión del glicerol en más del 5% del total de la MS puede disminuir la digestibilidad de la fibra, debido a un cambio en la flora ruminal al afectar el crecimiento, adhesión y actividad celulolítica de dos especies de bacterias celulolíticas del rumen, "*Ruminococcus flavefaciens*", "*Fibrobacter succinogenes*", y de una especie de hongo anaeróbico, "*Neocallimastix frontalis*".

La composición porcentual de la proteína no presentó diferencias significativas entre los tratamientos, al igual que lo reportado por Chung et al. (2007); Wang et al. (2008); Echeverría et al. (2010) y Lounglawan et al. (2011). Mientras que Bodarski et al. (2005) reportan aumentos en el porcentaje de proteína y lo relacionan a una mejora en el aporte de energía a nivel ruminal que incrementó la producción de proteína microbiana.

Por otra parte los resultados de urea en leche concuerdan con los trabajos de DeFrain et al., (2004) y Donkin et al., (2009), quienes reportaron que la concentración de urea en leche disminuyó a medida que aumentó la dosis de glicerol crudo. Al aumentar los niveles de glicerol crudo se podría haber incrementado la

metabolización a nivel ruminal del amonio como resultado de un incremento en la energía disponible a nivel ruminal (Rearte y Santini 1989) disminuyendo los niveles de urea en sangre y leche. En la medida que se incorporo en niveles crecientes el glicerol crudo se mejoro la relación entre energía y proteína disminuyendo los excesos de proteína degradable a nivel ruminal según el balance realizado (NRC, 2001). Esta disminución la podemos relacionar principalmente a un aumento en la energía disponible a nivel ruminal y en menor medida al descenso en la proporción del forraje en la dieta.

### **3.6.2. Peso vivo y condición corporal**

El peso promedio de los animales no reportó diferencias significativas entre los tratamientos (al excluir por las razones planteadas al T0.5 del análisis). No se reportaron diferencias significativas por la inclusión de distintos glicerol en la dieta al igual que lo reportado por Chung et al. (2007) y Echeverría et al. (2011). En lo que se refiere a la condición corporal tampoco presentaron diferencias significativas entre el tratamiento control y los tratamientos que incluyeron glicerol crudo como los también lo reportaron estos mismos autores.

### **3.6.3. Comportamiento ingestivo en pastoreo**

No se detectaron diferencias entre tratamientos en el comportamiento en pastoreo. Estos resultados son similares a los reportados por Echeverría et al. (2010) en animales de mitad de lactancias pastoreando avena o una pradera en invierno. El incremento en los niveles de glicerol en la dieta no afecto la proporción del tiempo dedicadas a las distintas actividades en pastoreo.

En todos los tratamientos los animales dedicaron en promedio 3 horas y media a la actividad de pastoreo sobre 7 horas de acceso a la parcela. Este tiempo dedicado al pastoreo se podría atribuir a múltiples factores, como fueron el nivel de

suplementación de los animales (6.4 kg MS de concentrado y 5 kgMS de ensilaje de los encierros), nivel de asignación y disponibilidad (40 kg MS /vaca/día y disponibilidad de 2600 kg MS), así como el comienzo de temperaturas elevadas durante las horas asignadas al pastoreo (temperaturas máximas cercanas a los 25 y 30°C para el primer y segundo periodo de observación).

### **3.7. CONCLUSIONES**

La inclusión de niveles crecientes de glicerol crudo de 0.5 l a 1.5 l en animales al inicio de la lactancia no afectó la producción diaria de sólidos ni la proporción del tiempo de tiempo dedicadas a la actividad de pastoreo. Existió una disminución en los niveles de urea en la leche ante el incremento del glicerol crudo en la dieta

#### **4. DISCUSIÓN GENERAL**

Con el objetivo de evaluar el impacto de integrar al glicerol crudo como fuente de energía en la suplementación de animales Holando en crecimiento y en lactación se realizaron 3 experimentos

En una primera etapa se evaluó la sustitución el glicerol por el maíz en la dieta de animales en crecimiento (artículo 1). En un primer experimento se estudió el efecto de sustituir maíz en la dieta sobre parámetros vinculados al desempeño de los animales y en un segundo experimento se analizó el impacto de incluir glicerol sobre los parámetros de la fermentación ruminal y la cinética de degradación de la fuente de fibra en vacas fistuladas de rumen.

Los resultados de estos dos experimentos demostraron que el maíz puede ser sustituido por glicerol crudo en niveles del 5 % de la MS total de la dieta de terneras Holando sin comprometer ni ganancia de peso ni eficiencia. Adicionalmente, en el segundo experimento se demostró que estos resultados se sustentan en que la sustitución de maíz por glicerol crudo en estos niveles no tuvo efectos significativos en lo que respecta a los patrones de fermentación y degradación del forraje

Paralelamente a este trabajo en los últimos años se han realizados diversas pruebas de campo en distintas categorías con variadas fuentes de fibras como dieta base que respaldan la posibilidad de sustituir al maíz por glicerol crudo en los suplementos sin efectos en la eficiencia y crecimiento (Iriniz et. al. 2011 a y b).

En un tercer experimento se evaluó la posibilidad de utilizar glicerol crudo como un ingrediente más en la alimentación de vacas lecheras en pastoreo. Los resultados de este tercer experimento nos permitieron inferir que es posible incluir hasta un 1.5 kilogramos de glicerol en la dieta sin afectar la producción diaria de sólidos ni la proporción de tiempo dedicada al pastoreo. Los tratamientos que incluyeron glicerol en comparación con el tratamiento control produjeron igual cantidad de litros de



leche y sólidos, y presentaron similares evoluciones en peso vivo y condición corporal a lo largo de todo el período experimental. En la producción de leche por kg de peso vivo si se obtuvieron diferencias respecto al control pero no existieron diferencias entre los distintos niveles de glicerol crudo utilizado. Sin embargo se debe destacar que se esperaba que con el incremento de glicerol crudo se produjera más litros de leche y/o mejores evoluciones de peso vivo como resultado de una mejora en el consumo de energía. Durante el período experimental no se registraron rechazos de los alimentos suministrados en los corrales durante el encierro y las determinaciones de comportamiento ingestivo no reportaron diferencias significativas entre tratamientos en el tiempo dedicado al pastoreo. Por lo que las razones que permitirían explicar porque no existieron respuestas en la producción de leche o en la evolución del peso vivo no son claras, pero se puede plantear como hipótesis: la existencia de cambios en otras variables del comportamiento ingestivo que en el experimento no se evaluaron ( tasa de bocado y/ o peso de bocado) que mediaron para que los animales disminuyeran el consumo de forraje ante el aumento de la suplementación.

Los resultados de los diferentes trabajos demostraron que para las condiciones de estos experimentos no existieron efectos adversos de incluir el glicerol en la alimentación. Por lo que con la incorporación del glicerol se diversifica el menú de alimentos disponibles, se saca presión sobre los granos como fuente de energía (cuyo destino natural debería ser la alimentación humana), se pueden bajar costos de alimentación y refuerza el vínculo entre la producción animal y la producción industrial en un modelo sinérgico (Chilibroste, 2012)

Pese a los buenos resultados en la incorporación del glicerol en las distintas fases de la producción de leche aun quedan interrogantes a responder en lo que refiere a los distintos mecanismos de uso del glicerol a nivel ruminal y metabólico y posibles efectos sobre la salud y calidad del producto final.

Otro aspecto que debe considerarse en el análisis de uso de glicerol como alimento animal son los recientes cambios en las materias primas utilizadas en el proceso de producción del biodiesel. El biodiesel en Uruguay se produce a partir de materias primas vegetales tales como aceite de canola, girasol, soja y también en los últimos años a partir del sebo animal. El uso de sebo como materia prima comenzó a ensayarse en mayo 2012 por la empresa ALUR. Desde mayo hasta setiembre 2012 se empleó apenas 5% de sebo como materia prima, por lo que hasta ese entonces no se registraron cambios en la calidad del glicerol. A partir de octubre 2012 se intensificó el uso de sebo superando el 10% y alcanzando en el verano el 60%. Con estos niveles de sebo efectivamente se aprecia un incremento en el contenido de materia grasa del glicerol, alcanzando valores de 15-20% y con ello una reducción en el % de glicerol (60-70%). Mientras que el contenido de metanol no se ha modificado ya que no depende de la materia prima empleada para producir biodiesel (ALUR). Estos cambios han afectado el grado de pureza del glicerol y generan incertidumbres en lo que respecta a posibles efectos en la fisiología ruminal, la interacción con otros alimentos y en el consumo de los animales.

El desarrollo de futuras investigaciones que evalúen el uso del glicerol crudo en la alimentación de rumiantes, permitirá a las instituciones que lo producen tener herramientas para valorar su utilización en las diferentes situaciones de alimentación de los distintos sistemas de producción.

## **5. BIBLIOGRAFÍA**

- Abo El-Nor S, AbuGhazaleh AA, Potu RB, Hastings D, Khattab MS. 2010. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Animal Feed Science and Technology*, 162(3-4): 99–105
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis (15th.Ed)* Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA,
- Beever DE, Siddons RC. 1986. Digestion and metabolism in the grazing ruminant. In L.P. Milligan, W.L. Grovum, & A. Dobson (Eds.), *Control of Digestion and metabolism in Ruminants*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall. pp. 479-497.
- Bentacour G, Duke JP, Texo JP.2009. *Perspectivas generales de desarrollo de la industria de los biocombustibles en el Uruguay*. Trabajo de Investigación Monográfico. Facultad de Ciencias Económicas Uruguay. 32pp
- Bremmer,1960. In. *Methods of soil analysis - Chemical and Microbiological properties*. Eds. Black, C.A. ; Evans.D:D: Evans, J.L. Ensminger L.E. Clark F.E. and Dinamuer R.C. American Society of agronomy, Inc. Publisher.Madinson, Wisconsin, USA. 1965. Library of congress catalog card number: 65-15800.1572 pp
- Boniface AM, Murray RM, Hogan JP.1986. Optimum level of ammonia in the rumen liquor of cattle fed tropical pasture hay. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*,16:151-154.
- Bodarski R, Wertelecki T, Bommer F,Gosiewski S. 2005. The changes of metabolic status and lactation performance in dairy cows under feeding TMR with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities Animal Husbandry*, 8:1–9.

- Carvalho ER, Schmelz-Roberts NS, White HM, Doane PH, Donkin SS. 2011. Replacing Corn with Glycerol in Diets for Transition Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2): 908–16.
- Chilibroste P. 2012. Uso de subproductos industriales en la nutrición de bovinos de leche: una oportunidad para la lechería nacional. In: XVI Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Eds. Centro Médico Veterinario de Paysandú – Sociedad Uruguaya de Buiatría. Paysandú, Uruguay s.p
- Chilibroste P, Soca P, Mattiauda DA. 2011. Balance entre oferta y demanda de nutrientes en sistemas pastoriles de producción de leche: potencial de intervención al inicio de la lactancia. In: XV Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Eds. Centro Médico Veterinario de Paysandú – Sociedad Uruguaya de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 8-10 Junio 2011. Pp. 91-97
- Chung YH, Rico DE, Martinez CM, Cassidy TW, Noirot V, Ames A, Varga G. 2007. Effects of Feeding Dry Glycerin to Early Postpartum Holstein Dairy Cows on Lactational Performance and Metabolic Profiles. *Journal of Dairy Science*, 90(12): 5682–91.
- COMISIÓN DE BIOCOMBUSTIBLES (2005): (MGAP-ANCAP-MVOTMA-MEF-OPP-MIEM) “Informe sobre evaluación económica desde el punto de vista país. Caso biodiesel” [*En línea*]. 23/4/2012 Disponible en : [www.dnetn.gub.uy/documentos](http://www.dnetn.gub.uy/documentos)
- DeFrain JM, Hippen, AR, Kalscheur KF, Jardon PW. 2004. “Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance.” *Journal of Dairy Science*, 87(12): 4195–206.

- Delgadillo PC. 2001. Efecto de la complementación alimenticia de gramíneas tropicales con un alimento complejo catalítico sobre las variables de fermentación ruminal en bovinos y ovinos. Tesis de Doctorado. Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, México 175 pp
- Donkin SS, Koser SL, White HM, Doane PH, Cecava, MJ. 2009. Feeding Value of Glycerol as a Replacement for Corn Grain in Rations Fed to Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 92(10): 5111–19.
- Echeverria R, Mackinnon A, Rotulo J. 2010. Efecto de la inclusión de niveles crecientes de glicerol crudo en la dieta de vacas Holando sobre la producción y composición de la leche. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 56 p.
- Elías A. 1983. Digestión de Pastos y Forrajes Tropicales. En: Los pastos en Cuba. (Eds). Instituto de Ciencia Animal. La Habana Cuba, 187–246.
- Ferguson JD; Galligan DT, Thomsen N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 77: 2695-2703
- Friggens NC, Oldham JD, Dewhurst RJ, Horgan G. 1998. Proportions of Volatile Fatty Acids in Relation to the Chemical Composition of Feeds Based on Grass Silage. *Journal of Dairy Science*, 81: 1331–44.
- Galina MA, Pérez-Gil F, Ortiz RMA, Hummel JD, Ørskov RE. 2003. Effect of Slow Release Urea Supplementation on Fattening of Steers Fed Sugar Cane Tops (*Saccharum Officinarum*) and Maize (*Zea Mays*): Ruminal Fermentation, Feed Intake and Digestibility. *Livestock Production Science*, 83: 1–11.

- Galina MA, Guerrero M., Serrano G, Morales R, Haenlein GFW. 1999. Effect of Complex Catalytic Supplementation with Non-protein Nitrogen on the Ruminant Ecosystem of Growing Goats Pasturing on Shrub Land in Mexico. *Small Ruminant Research*, 36: 33-42.
- Haydock KP, Shaw NH. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 15: 663–670.
- Hernández A. 2009. . MGAP-DIEA. Estadísticas Agropecuarias. Serie encuestas N°. 278. Agosto , 2009.
- Hernández A. 2008. Estadísticas del sector lácteo. MGAP-DIEA. Estadísticas Agropecuarias. Serie Trabajos Especiales N°. 266. Octubre, 2008. 37p
- INML 2012 Instituto nacional de mejoramiento lechero. [En línea] ,20/6/2013 Disponible en [http://www.mejoramientolechero.org.uy/pdf/a\\_vacarom08-12.pdf](http://www.mejoramientolechero.org.uy/pdf/a_vacarom08-12.pdf)
- Iriñiz J, Elías A, Michelena J, Galindo J, Chilibróste P. 2011a. Uso de activadores ruminales con glicerina en el comportamiento productivo de novillos Hereford alimentados con paja de arroz. XXII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal, Montevideo. CD-Rom.
- Iriñiz J, Elías A, Michelena J, Rodríguez D, Chilibróste P. 2011b. Efecto de un activador de la fermentación ruminal sobre vaquillonas que consumen paja de arroz en pastoreo. XXII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal, Montevideo. CD-Rom.
- Kass M, Ariko T, Kaart T, Rihma E, Ots M, Arney D, Kärt O. 2012. Effect of Replacement of Barley Meal with Crude Glycerol on Lactation Performance of

- Primiparous Dairy Cows Fed a Grass Silage-based Diet. *Livestock Science*, 150(1-3): 240–47.
- Krehbiel CR. 2008. Ruminal and physiological metabolism of glycerin. (Abstr.) *Journal of Animal Science*, 86 (E-Suppl.): 392.
- Khalili H; Varvikko T; Toivonen, V; Hissa, K; Suvitie M. 1997. The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. *Agricultural and Food Science in Finland*. 6 : 349-362.
- Leng RA. 1991. Applications of biotechnology to nutrition of animals in developing countries. FAO. UN. Rome. No 90, Italia 146 pp
- Leng RA. 1990. Factors Affecting the Utilization of ‘Poor-quality’ Forages by Ruminants Particularly Under Tropical Conditions. *Nutrition research reviews* 3(1): 277–303.
- Lomander H, Frössling J, Ingvarsen KL, Gustafsson H , Svensson C. 2012 Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation . *Journal of Dairy Science*, 95(5): 2397–408.
- Methol, M. 2010. “Maíz y sorgo: situación y perspectivas” Anuario OPYPA, 2010
- Moody ML., Zanton GI, Daubert JM, Heinrichs J. 2007. Nutrient Utilization of Differing Forage-to-concentrate Ratios by Growing Holstein Heifers. *Journal of Dairy Science*, 90(12): 5580–86.
- Moss RJ. 1993. Rearing Heifers in the Subtropics and Tropics: Nutrient Requirements and Supplementation. *Tropical Grasslands*, 27: 238–49.

- Muller CJ, Botha JA. 2000. Growth Parameters of Holstein-Friesland Heifers Reared on Complete Diets Containing Different Roughages.” South African Journal of Animal Science, 30(2): 121–27.
- NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC, U.S.A
- Ogborn KL, 2006. Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period. Thesis Degree of Master of Science. New York City, USA. Cornell University. 90 p
- Ørskov ER. 1999. Supplement strategies for ruminants and management of feeding to maximize utilization of roughages. Preventive Veterinary Medicine, 38(2-3): 179–85.
- Ørskov ER, Hovell F, DeB D. Mould F. 1980. Uso de la técnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. Production Animal.Tropic, 5: 213 -233
- Ørskov ER, MCdonald I. 1978. The Estimation of Protein Degradability in the Rumen from Incubation Measurements Weighted According to Rate of Passage. Journal Agricole Science Cambriage, 92: 499–503.
- Ortiz RMA, Galina MA, Carmona, MMA. 2002. Effect of a Slow Non-protein Nitrogen Ruminal Supplementation on Improvement of Cynodon Nlemfuensis or Brachiaria Brizanta Utilization by Zebu Steers, Livestock Production Science, 78: 125–31.
- Ortiz RM. 2000. Efecto de un alimento complejo catalítico en asociación de forrajes y fuentes alternas de proteína en bovinos de engorda. Tesis. Posgrado



Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, Colima, México. 95 pp

Parsons GL, Shelor MK, Drouillard JS. 2009. Performance and Carcass Traits of Finishing Heifers Fed Crude Glycerin. *Journal Animal. Science*, 87: 653–57.

Pineda J. 2004. Efecto de un suplemento activador proteico o energético de la fermentación ruminal en la engorda de bovinos en praderas de pastos tropicales en Colima. Tesis de Doctorado. Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, México 125 pp. .

Puga DC, Galina HM, Pérez-Gil, RF, Sangines GL, Aguilera BA, Haenlein GFW, Barajas CR, Herrera HJ.G. 2001a. Effect of a Controlled-release Urea Supplementation on Feed Intake, Digestibility, Nitrogen Balance and Ruminal Kinetics of Sheep Fed Low Quality Tropical Forage. *Small Ruminant Research : the journal of the International Goat Association* 41(1): 9–18.

Puga DC, Galina HM, Pérez-Gil RF, Sanginés GL, Aguilera BA, Haenlein GFW. 2001b. Effect of a Controlled-release Urea Supplement on Rumen Fermentation in Sheep Fed a Diet of Sugar Cane Tops (*Saccharum Officinarum*), Corn Stubble (*Zea Mays*) and King Grass (*Pennisetum Purpureum*). *Small Ruminant Research : the journal of the International Goat Association* 39(3): 269–76.

Preston TR. 1995. *Tropical Animal Feeding. A manual for research workers.* FAO Animal Production and Health Paper 126. Rome, Italy: 305 pp

Ramos MH, Kerley MS. 2012. Effect of Dietary Crude Glycerol Level on Ruminal Fermentation in Continuous Culture and Growth Performance of Beef Calves. *Journal of Animal Science*, 90(3): 892–99

- Rearte DH. 1992. Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. Balcarce, Cerbas. INTA. 94p
- Rearte DH, Santini, FJ. 1989 “Digestión ruminal y producción en animales en pastoreo. Revista Argentina de Producción Animal, 9(2):93-105
- Remond B, Rouel J, Oilier A, 1991. Effet de l'addition de glycérol h la ration des vaches laitières sur leur production et sur quelques paramètres de leur métabolisme. Annimal. Zootechnique, 40: 59-66.
- Roger V; Fonty G; André C; Gouet P. 1992. Effects of glycerol on the growth, adhesion, and Cellulolytic Activity of Rumen Cellulolytic Bacteria and Anaerobic Fungi. Current Microbiology, 25 :197-201.
- Rodrigues FS, Elías A, Chilibroste P. 2012. Suplementación con activadores ruminales en terneras alimentadas con ensilaje de sorgo. Revista Argentina de Producción Animal 32(2): 117–123
- Schröder A, Südekum HK. 1999. Glycerol as a by-product of the biodiesel production in diets for ruminants. [En línea] 10th International Rapeseed Congress. Canberra, Australia. 22/5/2012 Disponible en : <http://www.regional.org.au/au/gcirc/1/241.htm> s.n.t. s.p.
- Stockdale CR. 2000. Levels of pasture substitution when concentrates are fed to grazing dairy cows in northern Victoria. Australian Journal Exp Agric 40, 913-921.
- Thompson JC, He BB. 2006. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple Feedstocks Appl England. Agric. 22:261–265.

- Van Soest P, Robertson J, Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal.Dietary Science*, 74: 3583 – 3597
- Wang C, Liu Q, Huo WJ, Yang WZ, Dong KH, Huang YX, Guo G. 2009a. Effects of glycerol on rumen fermentation, urinary excretion of purine derivatives and feed digestibility in steers. *Livestock. Science*. 121, 15–20.
- Wang C, Liu Q, Yang WZ, Huo WJ, Dong, KH, Huang YX, Yang XM., He DC.,2009b. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Anim. Feed Science. Technology*. 151, 12–20
- Zanton GI, Heinrichs J. 2005. Meta-analysis to Assess Effect of Prepubertal Average Daily Gain of Holstein Heifers on First-lactation Production. *Journal of Dairy Science*, 88(11): 3860–67