

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**ADAPTACION DE VACAS LECHERAS A ESTRATEGIAS INTEGRADAS DE MANEJO
DEL PASTOREO Y SUPLEMENTACION: conducta en pastoreo, fermentación
ruminal y rendimiento productivo.**

Aspirante: Diego Antonio MATTIAUDA MELE

Director: Pablo Chilbroste Symonds

Co-Director: Mariana Carriquiry

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2013/2017**

INTRODUCCIÓN

- Fundamentación general

La producción de leche (PL) en Uruguay ha tenido un incremento sostenido durante los últimos años, a una tasa del 6% anual (DIEA, 2011), con algunos cambios coyunturales más recientemente (DIEA, 2015). El incremento fue resultado de un aumento en productividad dado que el área destinada a la lechería durante el mismo período se redujo un 10% aproximadamente. Este resultado se debe al efecto combinado de mayor producción individual (>60%) y aumentos en la carga animal (25-30%). Los concentrados y las reservas forrajeras juegan un papel fundamental en este incremento (DIEA, 2010) mientras que la cosecha directa de forraje por parte de los animales ha disminuido (Chilibroste et al., 2011). Adicionalmente, este modelo de intensificación de la lechería uruguaya ha sido exigente en niveles de inversión y requerimientos de recursos humanos.

El análisis de la situación debería integrar a Uruguay como país netamente exportador por lo que los aspectos relacionados a cantidad y tipo de sólidos producidos, salud y bienestar animal, y control de los costos de producción (entre otros) son centrales en la competitividad de los sistemas y del sector en su conjunto. Por otra parte a nivel internacional los sistemas de producción más intensivos siguen siendo muy competitivos, al mismo tiempo Uruguay mantiene costos de producción de leche bajos comparados con el resto del mundo (IFCN, 2016). Este bajo costo de producción de los sistemas uruguayos se explica por, el relativamente alto nivel de participación del forraje (cosecha directa y reservas) en la dieta de los animales (Chilibroste y Meikle, Proyecto RTS 1_2014_1_3).

La menor producción de forraje, en el período otoño/invierno, trae como consecuencia que la pastura pasa a ser una limitante de los sistemas en ese período, sumado a la reducción del área y el aumento en la carga planteado previamente. Esto resulta en una menor participación de la pastura cosechada en forma directa en las dietas, y da lugar a los concentrados y/o reservas como complementos importantes de los sistemas de producción. Por esta razón y por ser el forraje un insumo de alto impacto económico, es muy relevante usarlo en forma eficiente; ya sea a través del manejo del pastoreo y/o de la suplementación donde el momento de suministro puede ser una alternativa de manejo para mejorar tanto el consumo de materia seca (CMS) como la eficiencia del uso de los nutrientes.

No obstante, los sistemas lecheros de alto rendimiento requieren un gran aporte y balance de nutrientes, tanto para el animal como para la población microbiana del rumen. Una manera de alcanzar estos aportes ha sido, a través de cambios en la cantidad y composición de los concentrados (Durán, 2004). Sin embargo; el uso de este tipo de insumos se debe realizar teniendo en cuenta y conociendo las interacciones con los otros componentes de la dieta, que impactan directamente en el resultado económico de las empresas lecheras. Esto lo transforma en un desafío que exige buscar alternativas para mejorar su aprovechamiento. Es en este contexto donde establecer/diseñar diferentes estrategias de suplementación con cantidades limitadas de ensilajes y/o concentrados puede permitir lograr mejoras en el aporte o balance de nutrientes a la vaca lechera

Existen evidencias que el momento de inicio de la sesión de pastoreo y la forma en que el pastoreo es combinado con otros alimentos podrían cambiar los resultados

productivos. Estos resultados se producen debido a cambios en los patrones de pastoreo (Orr et al., 1997; Gibb et al., 1998) y variaciones en la composición de la pastura (Delagarde et al., 2000). La restricción del acceso a la pastura resulta en diferencias en producción y composición de la leche, y sugieren mecanismos de compensación del pastoreo por parte del animal (Chilibroste et al., 2007).

Si bien existen algunas evidencias de lo que pasa en el muy corto plazo con el ambiente ruminal de vacas sometidas a diferentes tiempos de pastoreo o ayunos, es notoria la escasa información referida al día completo y en general la información es aislada.

Este trabajo pretende encontrar resultados que integren, en pastoreo directo los cambios en el CMS, patrones de consumo de los diferentes ingredientes de la dieta y sus respuestas a nivel de: tasas de CMS, ambiente ruminal con los resultados productivos y para una escala temporal (día) mayor a la encontrada en la literatura hasta el momento.

- Hipótesis

1. En condiciones restringidas de alimentación, el control del tiempo de acceso a la pastura afecta la tasa, el CMS y los resultados productivos de vacas lecheras.
2. Ofrecer el ensilaje de maíz antes y después de la sesión de pastoreo permite al animal desarrollar un patrón de ingestión más estable lo que debería resultar en un mayor CMS, mayor estabilidad ruminal y con ello mayor aporte de nutrientes para la vaca.
3. El ambiente ruminal más estable debería provocar cambios en la composición de la leche al menos en el contenido y producción de grasa de la misma, en vacas lecheras con igual CMS.
4. Los rumiantes tienen una alta capacidad de adaptación a los cambios a través del comportamiento ingestivo, esto puede amortiguar y enmascarar algunos efectos esperados ya sea en cuanto a CMS, a nivel ruminal y consecuentemente a nivel productivo.

- Objetivo general

Estudiar las respuestas en comportamiento/conducta animal a diferentes estrategias de manejo del pastoreo y suplementación y sus efectos en patrones de ingestión, fermentación ruminal y resultados productivos

- Objetivos específicos

Estudiar y comprender:

1. La adaptación y vinculación de los patrones de actividad de pastoreo y de fermentación ruminal (pH, AGV y NH₄-N) en función de la duración y momento de la sesión de pastoreo.
2. La adaptación de los patrones de actividad de pastoreo de vacas lecheras con acceso restringido a la pastura y según los cambios del momento de suplementación con ensilaje en relación a la sesión de pastoreo.
3. Los cambios en el ambiente ruminal (llenado, cinética de digestión y patrones de fermentación) así como cambios de comportamiento ingestivo y avanzar en la comprensión de cuáles son las señales que hacen que los animales cambien su duración y tasa de pastoreo en estas condiciones.
4. Los cambios en consumo de materia seca (CMS) de las vacas lecheras como resultado de: los cambios en los patrones de ingestión y en el ambiente ruminal producto de la adaptación a los tratamientos de manejo ya sea del pastoreo o de la suplementación en pastoreo y su respuesta en producción y composición.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Conducta en pastoreo y consumo

La producción de leche está explicada mayoritariamente por el CMS (aproximadamente 70%) y en menor medida por la eficiencia con que la dieta es digerida y se absorben los nutrientes. A su vez en condiciones pastoriles para alcanzar los CMS que una vaca lechera de alto potencial requiere es necesario contar muy buenas condiciones de masa de forraje, asignación y tiempo de acceso a la misma además de características de la pastura como: densidad, altura y composición botánica (Chilibroste et al., 2005).

Estas condiciones tanto de manejo del pastoreo como características de la pastura afectarán la actividad de pastoreo a través del tiempo de pastoreo, peso de bocado y tasa de bocados que definen la tasa de consumo e integran y componen el CMS (Gibb, 2006). Los rumiantes tienen un patrón de actividades, pastoreo, rumia y descanso, definido a lo largo del día, no obstante, existen factores que lo modifican como el manejo del pastoreo que podría modificar los patrones e incluso la combinación de los mismos (Orr et al., 1997; Gibb et al., 1998). Existen algunas evidencias que esta combinación podría modificar el aporte de nutrientes y su posterior utilización (Gibb et al., 1997). A pesar que la tasa de consumo y sus componentes ha sido estudiada en detalle y profundidad la mayoría de los estudios se basan en trabajos de corto plazo (Hodgson, 1985; Gregorini, 2012).

Otro aspecto que afecta la tasa de consumo e interactúa con las características de la pastura ya mencionadas, son las características y manejo de los animales, entre los que se pueden mencionar, el estado fisiológico y nutricional (Patterson et al., 1998; Gibb, 2006). Estas condiciones dependen de la evolución del animal y las posibilidades de cumplir con los requerimientos. A esto se le suma que la asignación de forraje se vuelve

restrictiva en algunas estaciones del año, debido a los cambios en tasa de crecimiento de las pasturas, siendo necesario recurrir a diferentes alternativas para resolver la situación y cumplir con las exigencias de las vacas.

La restricción en el tiempo de acceso a la pastura es una herramienta que puede ser usada para mejorar la eficiencia de uso de las mismas (Chilibroste et al., 2007; Gregorini, 2012). Esto puede conllevar a una reducción en el CMS del forraje y de la producción de leche (Chilibroste et al., 2012), lo que determina la necesidad de suplementar con otros alimentos para alcanzar las necesidades del rodeo (Armstrong et al., 2010; Peyraud and Delagarde, 2013). En este sentido las vacas lecheras pueden ser suplementadas con ensilajes y concentrados bajo diferentes modalidades (lugar, combinación y momento) lo que podría producir cambios del comportamiento en pastoreo, de la selectividad y de los procesos de fermentación a nivel ruminal según la cantidad y momento en que son ofrecidos afectando los resultados productivos de las vacas lecheras (Chilibroste et al., 2008).

Los rumiantes en general y en condiciones climáticas normales pueden pastorear en cualquier momento del día, no obstante los eventos de pastoreo más importantes ocurren al amanecer y a última hora en la noche (puesta del sol) (Gibb et al., 1998; Gregorini, 2012). Sin embargo; existen estudios que demuestran que la tasa de consumo fue mayor para la sesión de pastoreo de la tarde respecto a la mañana, debido principalmente a la mayor tasa y masa de bocado (Gibb et al., 1998; Taweel et al., 2004). Es por esta razón que el momento de suplementación (mañana vs. tarde) puede modificar la actividad normal de pastoreo (reduciendo el tiempo de pastoreo), CMS de forraje y los resultados productivos (Adams, 1985; Pulido et al., 2009; Gregorini et al., 2010).

El momento de suplementación en el resultado productivo de vacas lecheras en pastoreo ha sido muy poco estudiado (Gregorini et al., 2010; Al-Marashdeh et al., 2016). La producción de leche tendió a aumentar cuando se suplementó con concentrado en la mañana respecto a ofrecerlo en la tarde, no obstante, este aumento no se explica debido al aumento en tiempo de pastoreo como postula (Sheahan et al., 2013). Sin embargo la tasa de consumo y el CMS fueron mayores cuando vacas de carne en lactancia recibieron el concentrado en la mañana respecto a la tarde (Gekara et al., 2005).

Vacas lecheras suplementadas con ensilaje de maíz antes del pastoreo produjeron más proteína y tuvieron una mayor retención de Nitrógeno que las suplementadas después del pastoreo (Mitani et al., 2005). Mientras que vacas lecheras con 5 horas de acceso al pastoreo presentaron mayor CMS cuando se les ofreció el ensilaje de maíz 9 horas antes del pastoreo con respecto a 2 horas antes; y no se encontraron diferencias ni en producción de leche ni en sólidos (Al-Marashdeh et al., 2016). Existen muy pocos antecedentes donde se haya estudiado el efecto del momento de suplementación con ensilaje de maíz y menos aún la distribución del mismo a lo largo del día en el comportamiento en pastoreo y consumo de forraje que son los factores más importantes que explican los resultados productivos de las vacas. Los cambios en CMS pueden ser explicados por un mayor llenado ruminal que darían sensación de saciedad (Kennedy et al., 2011) o a través de motivación del pastoreo por periodos de ayuno (Gregorini et al., 2009; Soca et al., 2014).

A pesar de la falta de evidencias experimentales al respecto, el modelo planteado por Chilibroste et al. (2008) permitiría hipotetizar que el momento de la suplementación respecto a la sesión de pastoreo podría afectar el consumo de forraje y total de MS, la

cinética y fermentación ruminal y eventualmente el resultado productivo de vacas lecheras a través de la diferencias en la entrega de nutrientes.

Existen evidencias que demuestran el efecto en el CMS del momento y frecuencia de suplementación con concentrado y la respuesta en producción de carne (Adams, 1985; Gekara et al., 2005) en vacas lecheras (Mitani et al., 2012; Trevaskis et al., 2004) pero son muy escasos los que reportan efectos en la cinética ruminal (Trevaskis et al., 2004; Kolver et al., 1998). No obstante, son muy pocos los estudios realizados en momento y frecuencia de suplementación con ensilaje de maíz en cinética y fermentación ruminal; experimentos “*in vitro*” encontraron que cuando el ensilaje de maíz se suministró 9 horas antes del pastoreo el pH ruminal fue menor y la concentración de propionato aumentó respecto a 1 hora antes (Gregorini et al., 2010), y sugieren que este cambio puede mejorar la utilización de nutrientes. En este mismo sentido Mitani et al. (2005) encontraron una mayor salida de Nitrógeno en leche cuando se suministró un suplemento a base de ensilaje de maíz antes de la sesión de pastoreo respecto a después. Mitani et al. (2005) encontraron que el momento de suplementación modificó el ambiente ruminal, aumentó la concentración de amonio en rumen y bajó la concentración de AGV totales para las vacas que recibieron la suplementación antes de la sesión de pastoreo. Estos resultados podrían ser consecuencia de las diferencias en consumo mencionadas previamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos propuestos se plantea realizar los siguientes experimentos:

En el experimento 1, se utilizarán 21 vacas Holando de parición en otoño bloqueados por número de lactancia, producción de leche y días en leche y se asignarán en un diseño de bloques al azar a uno de tres tratamientos: acceso a una parcela diaria durante 8 h 07:00-15:00 h (T7-15), o durante 4 h, ya sea entre las 07:00 y las 11:00 h (T7-11), o de 11:00-15:00 h (T11-15). El periodo experimental consistirá en tres semanas de adaptación (-3, -2 y -1) y seis semanas de mediciones (1 a 6). Se utilizará una pastura de segundo año con una mezcla compuesta *Festuca Arundinacea*, *Trifolium Repens*, *Lotus Corniculatus*.

El pastoreo se realizará en franjas diarias con una asignación de forraje entre 15-20 kgMS/vaca/d que se ajustará cada 14 días a través de la masa de forraje previo al pastoreo por el método de doble muestreo adaptado de Haydock and Shaw, (1975). Se elegirán 5 escalas y 3 replicas que serán usadas para el doble muestreo del área a ser pastoreada. En cada una de esas mediciones se determinará el valor de altura a través de un “rising plate meter” (RPM, Ashgrove Co., Palmerston North, NZ) para posterior corte a ras del suelo y determinación de la masa de forraje de cada réplica estimada a partir del ajuste de la masa disponible en cada replica y el valor de RPM. A la hora de definir la asignación se usará el RPM como una medida rápida en las áreas más específicas donde se definirán las parcelas. Los animales de cada tratamiento pastorearán franjas separadas.

Las vacas se ordeñarán diariamente a las 05:30 y 15:30 horas. En cada ordeño se registrará la producción de leche. Semanalmente durante 2 días consecutivos se tomarán muestras de cada ordeño y se compondrá una muestra para analizar grasa, proteína y lactosa con MilkoScan (Foss Electric[®], 133b-Rajasthan, India).

Semanalmente se determinará con el RPM la desaparición del forraje durante la sesión de pastoreo de cada tratamiento, midiendo cada hora al menos 20 puntos en la parcela. También se tomarán al menos 30 muestras con la mano "hand clipping", simulando el forraje cosechado por parte de las vacas en la sesión de pastoreo de cada tratamiento esto se hará en áreas intactas y contiguas de cada parcela dejadas con esa finalidad.

Los animales serán suplementados en cada ordeño, en forma individual con 3.5 kg/d de una mezcla de concentrado comercial con base en grano de sorgo y semilla entera de algodón en una relación 80/20 y 5.2 kgMS/d de ensilaje de maíz, después del ordeño vespertino. Diariamente se determinará oferta y rechazo de los alimentos suplementados; se tomarán, secarán y guardarán muestras en las semanas 2, 4 y 6 para posterior análisis y determinación de la composición química.

Quincenalmente se determinará la condición corporal en la escala de 1-5 (Edmonson et al., 1989) y el Peso Vivo de los animales.

El consumo de forraje se determinará individualmente durante 4 días en la última semana experimental en 12 vacas (4 bloques completos), para ello se usarán n-alcános (Dove and Mayes, 2006) con n-C33 como marcador interno y n-C32 como externo. El CMS de forraje será estimado restando los aportes de alcános de los suplementos (concentrado y ensilaje) según Dove and Mayes, (2006). Las vacas se dosificarán durante 12 días en cada ordeño con bolos de celulosa preparados con una cantidad exacta de alcáno C32. Los últimos 4 días de dosificación se tomarán muestras de forraje a mano siguiendo las vacas 10 minutos cada hora para determinar la concentración de n-alcános del forraje consumido y esos mismos días se colectarán las heces individualmente a la salida de cada ordeño am y pm para determinar la concentración de n-alcános de la misma.

El tiempo de pastoreo, rumia y descanso así como el número de movimientos mandibulares de pastoreo serán registrados en los 2 tratamientos con el mismo tiempo de acceso al pastoreo (4 horas) y en 4 vacas pertenecientes a los mismos bloques durante la semana 2 a 4 con los registradores de comportamiento automáticos (Rutter et al., 1997). Las vacas estudiadas serán las mismas que se usarán para la estimación del CMS. Cada registrador se colocará en 1 vaca por tratamiento luego del ordeño de la tarde y se sacará al otro día antes de ingresar al ordeño para recargar las baterías, este procedimiento se repetirá con otras 2 vacas hasta alcanzar al menos 4 registros completos por tratamiento en 7 días, asimismo una vez completado este ciclo se repetirá el procedimiento otra vez para lograr al menos 8 registros completos por tratamiento o 2 réplicas. Este protocolo prevé que en nuestras condiciones experimentales el equipamiento tiene riesgos que pueden generar fallas o rupturas, es por ello que se plantea una manera de asegurar un mínimo de datos. La información será analizada usando el software Graze (Rutter, 2000) y los intervalos entre comidas y entre sesiones serán interpretados según lo definido por Gibb, (1998).

El análisis estadístico se realizará utilizando el programa SAS (v.9.2, SAS Institute, Cary, NC). Los datos de producción (medias semanales) y composición y Peso Vivo serán analizados por un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo mediante el procedimiento MIXED, con la semana como efecto repetido y la estructura de covarianza como auto regresión de primer orden. El modelo incluye tratamiento como efecto fijo y

bloque como efecto aleatorio. El CMS y comportamiento en pastoreo y sus componentes serán analizados con un modelo que incluye tratamiento como efecto fijo y bloque como efecto aleatorio. Mientras que las características de la pastura y composición química se analizarán con un modelo que incluye solamente efecto del tratamiento.

Para las variables productivas y CMS se compararán las medias por contrastes ortogonales para determinar el efecto del tiempo de acceso 8 horas (T7-15) vs. 4 horas (T7-11 + T11-15) y el momento de ingreso al pastoreo temprano (07:00) vs tarde (11:00).

La desaparición de la pastura, será estimada a través de la altura medida con el RPM y se calculará con el siguiente modelo: $y = a \cdot \exp^{-kt}$ donde a es la altura inicial de la pastura previo al pastoreo k la tasa de desaparición fraccional y t es la hora desde el inicio del pastoreo. Para esto se usará el procedimiento NLIN y los parámetros estimados a y k se analizarán con el procedimiento MIXED con un modelo que incluye el tratamiento como efecto fijo.

Experimento 2, paralelamente al experimento anterior, se realizará otro experimento donde 6 vacas primíparas fistuladas de rumen, bloqueadas por producción y días en leche y aleotorizadas a cada uno de los siguientes tratamientos: T7-11 y T11-15. Las vacas previamente entrenadas pastorearán en forma individual atadas a una estaca tal como se describe en Chilbroste et al. (2000). El tamaño de la parcela representará la misma asignación de forraje que tendrán las vacas del experimento 1.

Las vacas se ordeñarán y suplementarán de la misma manera para ambos experimentos. Asimismo, se utilizará el mismo método para la determinación de masa de forraje que para el experimento previamente descrito.

Desde la semana 1 a la 6, un día a la semana se tomarán muestras de líquido ruminal en las vacas de T7-11 y T11-15 a las 0, 1, 2, 4, 8, 10, 11, 12, 14, 18, y 22 horas y 0, 1, 2, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 18, y 22 horas, respectivamente, (0 = inicio del pastoreo), para determinar pH, y la concentración de amonio y AGV. Las muestras tomadas del saco ventral del rumen serán filtradas en una tela doble de quesería e inmediatamente después de medir el pH se tomarán alícuotas que serán acidificadas en una relación 20:1, con ácido sulfúrico (95.6%) y orto fosfórico (85%), y congeladas para determinar amonio y AGV, respectivamente. El amonio se determinará por el método de destilación con MgO (Bremner, 1960) y los AGV por cromatografía de gases (Chilbroste et al., 2000).

Los parámetros ruminales serán analizados por procedimiento de SAS TPSPLINE usando el método de mínimos cuadrados penalizados para ajustarlo a un modelo de regresión no paramétrico. La diferencia entre tratamientos se verifica en forma gráfica con un intervalo de confianza de 95% para la curva completa.

En el experimento 3, se utilizarán 33 vacas Holando de parición de otoño, bloqueadas por número de lactancia, producción de leche y días en leche. El periodo experimental consistirá en una semana de adaptación y seis semanas de mediciones. Se utilizará una pastura de segundo año con una mezcla compuesta *Festuca Arundinacea*, *Trifolium Repens*, *Lotus Corniculatus*. Las vacas pastorearán en franjas diarias entre las 9:00 y 15:00 h separadas por tratamiento. Las vacas serán ordeñadas y suplementadas con concentrado comercial en cada uno de los ordeñes igual que en los experimentos 1 y 2, excepto por el momento y forma de suministrar el ensilaje de maíz que determinará los tratamientos:

1. Tratamiento 1 (100am): el ensilaje de maíz se ofrecerá 100% a las 08:00 h previo la sesión de pastoreo.
2. Tratamiento 2 (50/50-am/pm): el ensilaje de maíz se distribuirá 50/50 a las 08:00 h y 17:00 h.
3. Tratamiento 3 (100pm): el ensilaje de maíz se ofrecerá 100% a las 17:00 h después de la sesión de pastoreo.

El diseño será de bloques al azar y las vacas asignadas dentro de bloques a uno de los tres tratamientos.

Las estimaciones de masa de forraje, asignación por vaca, desaparición y manejo del pastoreo se harán de la misma forma que para el experimento 1, al igual que las estimaciones de CMS y de forraje.

El comportamiento en pastoreo será registrado visualmente con observadores entrenados. Durante 3 días consecutivos por semana, las semanas 4, 5 y 6 se registrarán cada 15 minutos las actividades de pastoreo y rumia (Chilibroste et al., 2012) de 12 vacas (los mismos 4 bloques completos utilizados para estimar consumo). Por otra parte, a través del registro individual del comportamiento ingestivo se podrán estimar las diferentes sesiones para este experimento así como el largo de la 1er. sesión de pastoreo. Se registrarán el número de bocados por minuto durante los diferentes momentos de pastoreo, en este caso predefinidos entre las 09:00 a 10:00, 11:30 a 12:30 y 14:00 a 15:00h.

El análisis estadístico se realizará utilizando el programa SAS (v.9.2, SAS Institute, Cary, NC). Los datos de producción (medias semanales) y composición y Peso Vivo serán analizados por un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo mediante el procedimiento MIXED, con la semana como efecto repetido y la estructura de covarianza como auto regresión de primer orden. El modelo incluye los tratamientos, semana y la interacción tratamiento×semana como efectos fijos y el bloque como aleatorio. El CMS será analizado con un modelo mixto que incluye los tratamientos como efectos fijos y el bloque como aleatorio. Mientras que las características de la pastura y composición química se analizarán con un modelo que incluye solamente efecto del tratamiento. Para las variables productivas y CMS se compararán las medias por test de Tukey.

La probabilidad de pastoreo será analizada con el procedimiento GLIMMIX con una distribución binomial y un modelo que incluye tratamiento, sesión de pastoreo y su interacción como efectos aleatorios y con la semana y el bloque como efectos fijos. Los registros individuales de pastoreos serán utilizados para definir el largo de la 1er. sesión de pastoreo y estimar la probabilidad de encontrar un animal en pastoreo o rumia. El tiempo total de pastoreo y de rumia será estimado como la suma del tiempo en cada actividad y analizado con el mismo modelo utilizado para composición de leche. La tasa de bocados por minuto será analizada con el mismo modelo donde el día se agrega como efecto aleatorio.

La desaparición de la pastura, será estimada a través de la altura medida con el plato (RPM) y se calculará con el siguiente modelo: $y=a*\exp^{-kt}$ donde a es la altura inicial de la pastura previo al pastoreo k la tasa de desaparición fraccional y t es la hora desde el inicio del pastoreo. Para esto se usará el procedimiento NLIN y los parámetros estimados a y k se analizarán con el procedimiento MIXED con un modelo que incluye el tratamiento como efecto fijo.

Experimento 4, paralelamente al experimento 3, se hará otro experimento donde se colocarán 6 vacas en producción fistuladas de rumen y serán bloqueadas por número de lactancias, producción, y días en leche, y se asignarán en un diseño de bloques al azar a cada uno de los 3 tratamientos de momento de suministro y distribución del ensilaje de maíz, igual al experimento 3.

Durante la semanas 4 y 6 se evacuará el contenido ruminal de las vacas como se ve en la tabla 1. En cada hora de muestreo se evacuarán 2 vacas al mismo tiempo, previo al vaciado se tomarán muestras de líquido ruminal para medir el pH y las concentraciones de amonio y AGV de la misma manera que en el experimento 1. Todo el contenido ruminal que pueda ser extraído a mano se colocara en recipientes con malla de 0.04 mm² y debajo tela de quesería doble para separar la fracción solida y liquida del contenido. Luego de vaciado todo el contenido se pesarán por separadas las fracciones para determinar la relación liquido/solido del mismo. Se tomarán sub-muestras de cada fracción y se recompondrá el contenido en función de las relaciones estimadas previamente. Las mismas serán congeladas a -20° C para determinar MS, MO, y N. Luego de tomar todas las muestras el contenido se devolverá completamente a cada vaca.

Tabla 1. Esquema de vaciado ruminal; día y hora; se repite durante la semana 4 y 6 del experimento.

Hora	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes
05:00		100am	50/50-am/pm	100pm
15:30		50/50-am/pm	100pm	100am
20:00	100pm	100am	50/50-am/pm	

100am ensilaje de maíz a las 08:00 h, 50/50-am/pm distribuido a 08:00 and 17:00 h o 100pm ofrecido a las 17:00 h.

Las muestras de líquido ruminal serán tomadas las semanas 3, 5 y 7 a las 0, 1.5, 3, 5, 8.5, 10, 12, 14, y 22 horas, (a partir de las 09:00 = inicio del pastoreo), para determinar pH, y la concentración de amonio y AGV. Las muestras tomadas del sacco ventral del rumen serán filtradas en una tela doble de quesería e inmediatamente después de medir el pH se tomarán alícuotas que serán acidificadas en una relación 20:1, con ácido sulfúrico (95.6%) y orto fosfórico (85%), y congeladas para determinar amonio y AGV, respectivamente. El amonio se determinará por el método de destilación con MgO (Bremner, 1960) y los AGV por cromatografía de gases (Chilibroste et al., 2000).

El análisis estadístico se realizará utilizando el programa SAS (v.9.2, SAS Institute, Cary, NC). Los parámetros de fermentación y pooles ruminales serán analizados usando el Procedimiento MIXED, con la semana, el tratamiento, la hora y su interacción como efectos fijos el bloque como efecto aleatorio con la vaca como sujeto dentro de la semana. Los parámetros de degradación ruminal serán estimados con los datos de desaparición de la MS y MO en los diferentes tiempos de incubación y ajustados con el modelo de Ørskov and McDonald, (1979) como se muestra a continuación;

$$Y_{(t)} = a + b (1 - e^{-kdt}), t \geq 0$$

Donde: Y_(t)=desaparición de la fracción al tiempo t, a= fracción soluble o rápidamente degradable, b= fracción insoluble pero potencialmente degradable, kd=tasa de

degradación (h^{-1}), t =tiempo de incubación (h). Los parámetros de degradación serán calculados usando el procedimiento no-lineal con el método de Marquardt (NLIN proc).

RESULTADOS ESPERADOS

Estos trabajos permitirán obtener valores de tasas de consumo, CMS, cinética de la fermentación ruminal, etc. en condiciones determinadas de alimentación. Se espera comprender a través de estos trabajos algunos de los factores que actúan en los patrones de ingestión y de esta forma vincular medidas de manejo del pastoreo y del suplemento y sus efectos principalmente en la tasa y el CMS, siendo este último una de las variables más importantes y difíciles de estimar en pastoreo.

Por otra parte, en base a la información obtenida se podrán delinear estrategias de alimentación que busquen mejorar el aporte y uso de nutrientes en vacas lecheras a través del manejo, tanto de la pastura y del pastoreo, como del suplemento en determinadas condiciones que minimicen efectos secundarios negativos sobre la pastura y mejoren la producción animal.

Los resultados esperados deberían impactar en forma directa en algún aspecto productivo ya sea producción y composición de la leche o cambios en el balance energético de los animales (PV y BCS).

ESTRUCTURA PROBABLE DE LA TESIS

El objetivo es publicar como mínimo 3 artículos científicos en revistas arbitradas internacionales, uno de los cuales ya fue publicado.

1. Introducción
2. Mattiauda, D.A., S. Tamminga, M. J. Gibb, P. Soca, O. Bentancur and P. Chilbroste. 2013. Restricting access time at pasture and timing of grazing allocation in Holstein dairy cows: ingestive behaviour, dry matter intake and milk production. *Livestock Science*. v:152, p 53 - 62.
3. Mattiauda, D.A., M. Carriquiry, S. Tamminga, M. J. Gibb, and P. Chilbroste. 2017. Does timing of corn silage supplementation affect, ingestive behavior, dry matter intake and milk production of Holstein grazing dairy cows?
4. Mattiauda, D.A., M. Carriquiry, S. Tamminga, M. J. Gibb, and P. Chilbroste. 2017. Timing of corn silage allocation related to grazing session in dairy cows: rumen kinetics and fermentation.
5. Discusión general

BIBLIOGRAFÍA PERTINENTE

- Adams, D.C. 1985. Effect of time of supplementation on performance, forage intake and grazing behavior of yearling beef steers grazing russian wild ryegrass in the fall. *J. Anim. Sci.* 61:1037–1042.
- Al-Marashdeh, O., P. Gregorini, and G.R. Edwards. 2016. Effect of time of maize silage supplementation on herbage intake, milk production, and nitrogen excretion of grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* doi:10.3168/jds.2015-10681.
- Armstrong, D., K. Tarrant, and C. Ho. 2010. Evaluating development options for a rain-fed dairy farm in Gippsland. *Anim. Prod.* 363–370.
- Bremner, J.M. 1960. Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by steam-distillation methods. *In* Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties. R. Black, CA; Evans, DD; White, JL; Ensminger, LE; Clark, FE; Dinauer, editor. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA. 1191–1206.
- Chilibroste, P., J. Dijkstra, P.H. Robinson, and S. Tamminga. 2008. A simulation model “CTR Dairy” to predict the supply of nutrients in dairy cows managed under discontinuous feeding patterns. *Anim. Feed Sci. Technol.* 143:148–173. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.05.009.
- Chilibroste, P., M.J. Gibb, P. Soca, and D.A. Mattiauda. 2015. Behavioural adaptation of grazing dairy cows to changes in feeding management : do they follow a predictable pattern ? *Anim. Prod. Sci.* 55:328–338.
- Chilibroste, P., M.J. Gibb, and S. Tamminga. 2005. Pasture Characteristics and Animal Performance. *Quant. Asp. Rumin. Dig. Metab.* 681–706.
- Chilibroste, P., D.A. Mattiauda, O. Bentancur, P. Soca, and A. Meikle. 2012. Effect of herbage allowance on grazing behavior and productive performance of early lactation primiparous Holstein cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 173:201–209. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.02.001.
- Chilibroste, P., P. Soca, and D.A. Mattiauda. 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. Centro Medico Veterinario de Paysandu, Paysandu, Uruguay. 91–97.
- Chilibroste, P., P. Soca, D.A. Mattiauda, O. Bentancur, and P.H. Robinson. 2007. Short term fasting as a tool to design effective grazing strategies for lactating dairy cattle: A review. *Aust. J. Exp. Agric.* 47:1075–1084. doi:10.1071/EA06130.
- Chilibroste, P., S. Tamminga, H. Boer, M.J. Gibb, and G. den Dikken. 2000. Duration of regrowth of ryegrass (*Lolium perenne*) effects on grazing behavior, intake, rumen fill, and fermentation of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:984–995. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74963-0.
- Delagarde, R., J.L. Peyraud, L. Delaby, and P. Faverdin. 2000. Vertical distribution of biomass, chemical composition and pepsin-cellulase digestibility in a perennial ryegrass sward: Interaction with month of year, regrowth age and time of day. *Anim. Feed Sci. Technol.* 84:49–68. doi:10.1016/S0377-8401(00)00114-0.
- DIEA. 2010. Estadísticas del Sector Lácteo 2009. Serie de Trabajos especiales N°

295. Estadística Agropecuaria, MGAP, Montevideo, Uruguay. 41 pp.
- DIEA. 2011. Anuario Estadístico Agropecuario 2011 [En línea]. MGAP. Montevideo, Uruguay. 246 pp.
- DIEA. 2015. Anuario Estadístico Agropecuario 2015 [En línea]. MGAP. Montevideo, Uruguay. 215 pp.
- Dove, H., and R.W. Mayes. 2006. Protocol for the analysis of n-alkanes and other plant-wax compounds and for their use as markers for quantifying the nutrient supply of large mammalian herbivores. *Nat. Protoc.* 1:1680–1697. doi:10.1038/nprot.2006.225.
- Durán, H. 2004. El camino de la lechería. Los mojones de la intensificación en sistemas pastoriles. *Rev. INIA.* 1:6–9.
- Edmonson, A., I. Lean, L. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 72:68–78. doi:10.3168/jds.S0022-0302(89)79081-0.
- Gekara, O.J., E.C. Prigge, W.B. Bryan, E.L. Nestor, and G. Seidel. 2005. Influence of sward height, daily timing of concentrate supplementation, and restricted time for grazing on forage utilization by lactating beef cows. *J. Anim. Sci.* 83:1435–1444.
- Gibb, M. 1998. Animal grazing/intake terminology and definitions. In *Pasture ecology and animal intake*. M.G. Keane and E.G. O’Riordan, editors. Proc. Workshop Pasture Ecology Anim. Intake, Dublin, Ireland. 21–37.
- Gibb, M. 2006. Grassland management with emphasis on grazing behaviour. In *Fresh herbage for dairy cattle*. A. Elgersma, J. Dijkstra, and S. Tamminga, editors. Springer. Dordrecht, The Netherlands. 141–157.
- Gibb, M.J., C.A. Huckle, and R. Nuthall. 1998. Effect of time of day on grazing behaviour by lactating dairy cows. *Grass Forage Sci.* 53:41–46.
- Gibb, M.J., C.A. Huckle, R. Nuthall, and A.J. Rook. 1997. Effect of sward surface height on intake and grazing behaviour by lactating Holstein Friesian cows. *Grass Forage Sci. (United Kingdom) VO - 52.* 309.
- Gregorini, P. 2012. Diurnal grazing pattern: its physiological basis and strategic management. *Anim. Prod. Sci.* 52:416–430.
- Gregorini, P., C.E.F. Clark, J.G. Jago, C.B. Glassey, K.L.M. McLeod, and a J. Romera. 2009. Restricting time at pasture: effects on dairy cow herbage intake, foraging behavior, hunger-related hormones, and metabolite concentration during the first grazing session. *J. Dairy Sci.* 92:4572–80. doi:10.3168/jds.2009-2322.
- Gregorini, P., K.J. Soder, and G. Waghorn. 2010. Effects of timing of corn silage supplementation on digestion, fermentation pattern, and nutrient flow during continuous culture fermentation of a short and intensive orchardgrass meal. *J. Dairy Sci.* 93:3722–3729. doi:10.3168/jds.2009-2950.
- Haydock, K., and N. Shaw. 1975. Correction - The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Aust. J. Exp. Agric.* 15:663. doi:10.1071/EA9750663c.
- Hodgson, J. 1985. The control of herbage intake in the grazing ruminant. *Proc. Nutr. Soc.* 44:339–346. doi:10.1079/PNS19850054.
- IFCN. 2016. Global dairy farm economics in the crisis years 2015 – 2016 : An IFCN Perspective. The Dairy Research Network. 1-8 pp.

- Kennedy, E., J. Curran, and B. Mayes. 2011. Restricting dairy cow access time to pasture in early lactation: the effects on milk production, grazing behaviour and dry matter intake. *Animal*. 5:1805–1813. doi:10.1017/S1751731111000826.
- Kolver, E., L.D. Muller, G. a Varga, and T.J. Cassidy. 1998. Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2017–28. doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)75776-5.
- Mitani, T., M. Takahashi, K. Ueda, H. Nakatsuji, and S. Kondo. 2005. Effects of pre-feeding of a corn silage-based supplement on the feed intake, milk production and nitrogen utilization of grazing dairy cows. *Anim. Sci. J.* 76:453–460.
- Mitani, T., K. Ueda, T. Endo, M. Takahashi, H. Nakatsuji, and S. Kondo. 2012. Effect of feeding non-fibrous carbohydrate before grazing on intake and nitrogen utilization in dairy cows throughout the grazing season. *Anim. Sci. J.* 83:121–7. doi:10.1111/j.1740-0929.2011.00922.x.
- Orr, R.J., P.D. Penning, A. Harvey, and R.A. Champion. 1997. Diurnal patterns of intake rate by sheep grazing monocultures of ryegrass or white clover. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 52:65–77. doi:10.1016/S0168-1591(96)01120-3.
- Ørskov, E.R., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* 92:499–503. doi:10.1017/S0021859600063048.
- Patterson, D.M., D.A. McGilloway, A. Cushnahan, C.S. Mayne, and A.S. Laidlaw. 1998. Effect of duration of fasting period on short-term intake rates of lactating dairy cows. *Anim. Sci.* 66:299–305. doi:10.1017/S1357729800009425.
- Peyraud, J.L., and R. Delagarde. 2013. Managing variations in dairy cow nutrient supply under grazing. *Animal*. 7 Suppl 1:57–67. doi:10.1017/S1751731111002394.
- Pulido, R.G., R. Muñoz, P. Lemarie, F. Wittwer, P. Orellana, and G.C. Waghorn. 2009. Impact of increasing grain feeding frequency on production of dairy cows grazing pasture. *Livest. Sci.* 125:109–114. doi:10.1016/j.livsci.2009.03.010.
- Rutter, S.M. 2000. Graze: a program to analyze recordings of the jaw movements of ruminants. *Behav. Res. Methods. Instrum. Comput.* 32:86–92. doi:10.3758/BF03200791.
- Rutter, S.M., R.A. Champion, and P.D. Penning. 1997. An automatic system to record foraging behaviour in free-ranging ruminants. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 54:185–195.
- Sheahan, A.J., S.J. Gibbs, and J.R. Roche. 2013. Timing of supplementation alters grazing behavior and milk production response in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 96:477–83. doi:10.3168/jds.2012-5781.
- Soca, P., H. González, H. Manterola, M. Bruni, D. Mattiauda, P. Chilbroste, and P. Gregorini. 2014. Effect of restricting time at pasture and concentrate supplementation on herbage intake, grazing behaviour and performance of lactating dairy cows. *Livest. Sci.* 170:35–42. doi:10.1016/j.livsci.2014.07.011.
- Taweel, H.Z., B.M. Tas, J. Dijkstra, and S. Tamminga. 2004. Intake regulation and grazing behavior of dairy cows under continuous stocking. *J. Dairy Sci.*

87:3417–27. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73477-3.
Trevaskis, L.M., W.J. Fulkerson, and K.S. Nandra. 2004. Effect of time of feeding carbohydrate supplements and pasture on production of dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 85:275–285. doi:10.1016/S0301-6226(03)00122-2.

EXPLICITACIÓN DE LA ORIGINALIDAD DEL TRABAJO

- *Contribución al avance del conocimiento científico (aporte original)*

Este proyecto profundizará una línea de trabajo desarrollada por investigadores de las Facultades de Agronomía y Veterinaria en colaboración con investigadores de otras instituciones, en busca de un abordaje comprensivo que tenga presente una visión integradora del animal en pastoreo y con estrategias que permitan controlar el comportamiento en condiciones pastoriles y los desafíos de naturaleza variable a los que se enfrenta las vacas lecheras en determinados periodos del año. El planteo es original dado que este tipo de estudios se han realizado mediante cambios en el comportamiento debido al manejo en el cortísimo plazo (minutos/horas) y en particular se busca integrar el resultado de las diferentes señales durante todo el día o una jornada completa de pastoreo de la vaca. Otro aporte original es a través de medidas simples de manejo tratar de integrar diferentes tipos de señales ya sea ingestivas (ej. comportamiento) y/o digestivas o fermentativas (ej. parámetros ruminales) que debieran dar respuestas prácticas y productivas.

- *Contribución a la formación de Recursos Humanos*

En el marco de este Proyecto se formarán y participarán diferentes recursos humanos:

Becarios: Ing. Agr. Francisco Elizondo

Tesistas de grado (12):

Ruggia, Andrea; Urricarriet, Verónica.

Arriola, Sebastián; Cordal, Martín; Davyt, Rafael y Souza, Gastón

Bacchetta, Corina; Etchegaray, Soledad; Ferreira, Inés; Lockhart, Cecilia; Pose, Lourdes

Ana V. Silberman

También participarán estudiantes de UTU como parte de sus pasantías.

- *Contribución a la respuesta / satisfacción de necesidades de nuestra sociedad:*

La información generada permitirá ser aplicada directamente a nivel de sistemas de producción y tomar decisiones para facilitar y/o simplificar medidas de manejo complejas o difíciles de operar a nivel de sistemas, que se usan pero se desconoce el impacto de las mismas y muchas veces es bajo ya sea; en la eficiencia del uso de nutrientes así como en los resultados productivos. En otras palabras frente a determinadas condiciones de pastura se podrán dar recomendaciones en cuanto al tiempo de acceso y/o momento del pastoreo sabiendo que cada decisión de esas tendrá impacto en el CMS y aporte de nutrientes con alta posibilidad que redunde a nivel productivo. Asimismo el manejo de la suplementación permitirá tomar decisiones en base a los resultados e impactos

esperados también en el CMS y con altas posibilidades de consecuencias a nivel de performance de los animales. Se destaca del punto de vista de los productores y de la sociedad la mejora en el uso de los recursos y no menos importante conocer si el mayor trabajo insumido en determinadas actividades se compensará con una respuesta acorde al costo y esfuerzo.

- Transferencia / difusión de los resultados

Se procederá a la redacción de tres artículos a ser publicados en revistas arbitradas de carácter internacional. La información ha sido y será presentada en seminarios internos, cursos de grado y postgrado, congresos nacionales e internacionales.

FACTIBILIDAD Y FACILIDADES

Los trabajos de campo se realizaron en la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía (EEMAC) así como el procesamiento de las muestras y las determinaciones primarias de las diferentes muestras alimentos, rumen, leche, heces, etc. Las determinaciones de pH y N-NH₃ del líquido ruminal se realizarán en el laboratorio de análisis químico de la EEMAC.

Por otra parte los análisis de composición química de los alimentos se realizarán en los laboratorios de Facultad de Agronomía, Montevideo.

Las determinaciones ruminales como AGV en el líquido y composición química de los pooles en el laboratorio de Wageningen, Holanda.

La preparación y determinación de muestras de alcanos se realizarán en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Veterinarias- Universidad Nacional de la Provincia-UNCPBA Tandil-Argentina.

Los análisis de composición de leche se realizarán en los laboratorios de PILI S.A.