

Juan Manuel Rojo Bedoya

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE
SEMILLA DE GIRASOL Y ACEITE DE PESCADO
SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN
VACAS HOLSTEIN**

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

Facultad de Ciencias Agrarias

2015



**UNIVERSIDAD
DE ANTIOQUIA
1803**

**Efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol y aceite de
pescado sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein**

Trabajo de grado en Nutrición de Rumiantes

Presentado por:

Juan Manuel Rojo Bedoya Zoot. Esp.

**Como requisito parcial
para optar al título de**

Maestro en Ciencias Animales

Director

Ricardo Rosero Noguera. Zoot. Esp. Mag.Sci. Ph.D.

Comité tutorial

Óscar Sierra Posada. Zoot. Mag.Sci.

Juan Carlos Pérez. Ing. Agrónomo. Mag.Sci. Ph.D.

**Maestría en Ciencias Animales
Línea Nutrición de Rumiantes**

**Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Antioquia**

2015

Agradecimientos

A los miembros del Grupo de Investigación Sobre Ciencias Agrarias (GRICA), en especial a los Zootecnistas Gonzalo Honorio Villegas y Omar Albeiro Ceballos, a la Química Johana Marcela Acosta, que con su aporte y colaboración en el desarrollo de la investigación contribuyeron a la culminación exitosa de este proceso. Al profesor Ricardo Rosero Noguera por haber guiado mis pasos en pro del conocimiento. A los miembros del comité tutorial, profesores: José Óscar Sierra Posada y Juan Carlos Pérez por su apoyo y comprensión en los momentos difíciles que tuvo el proceso.

Dedicatoria

Dedico este trabajo que fue logrado con esfuerzo y sacrificio primero a Dios que me dio las fuerzas necesarias para terminarlo, a mis hermanos Carolina y Jaime Andrés, a mi señora madre Luzmila, a la memoria de mi padre Ernesto, a mi esposa Ana Cecilia y en especial a mis hijas Manuela y Emilia que desde su nacimiento se han convertido en la motivación personal para alcanzar metas y superar los retos que me impone la vida. “Los grandes retos son para grandes hombres, no existen limitaciones, los límites solo habitan en las mentes de hombres incapaces de luchar por sus sueños y defender sus proyectos”.

Tabla de Contenido

Agradecimientos	iii
Dedicatoria	iv
Lista de Tablas	ix
Lista de Figuras	xi
Lista de Abreviaturas	xii
Resumen	xv
Summary	xv
Resumo	xvi
Introducción	xviii
Objetivos	xx
CAPÍTULO I. Utilización de suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 en dietas para vacas lecheras	1
1.1 Resumen	1
1.2 Summary	2
1.3 Resumo	2
1.4 Introducción	3
1.5 Mejoramiento genético de vacas de alta producción de leche que consumen bases forrajeras tropicales	4
1.6 Dinámica de los lípidos en el rumen	5
1.6.1 Lipólisis	6
1.6.2 Biohidrogenación de los ácidos grasos.....	7
1.7 Grasa láctea	14
1.8 Factores nutricionales que afectan el contenido de grasa de la leche	18
1.8.1 Composición del material fibroso	19
1.8.2 Tamaño de partícula del forraje	20
1.8.3 Efecto de la relación MS forraje vs. MS concentrado	20
1.8.4 Tipo de alimento balanceado	22
1.8.5 Proteína dietética	23

1.8.6 Grasa suplementaria	23
1.8.7 Manejo de la alimentación.....	24
1.8.8 Uso de agentes neutralizantes (buffers) otros y aditivos.....	25
1.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27

CAPÍTULO II. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca y materia orgánica de dietas con grasas ricas en ω_6 y ω_3 para vacas Holstein 38

2.1. Resumen	38
2.2. Summary	39
2.3. Resumo	40
2.4. Introducción.....	40
2.5. Materiales y métodos	42
<i>Localización.....</i>	42
<i>Inóculo.....</i>	43
<i>Preparación de medio, substratos e inoculación.....</i>	43
<i>Tratamientos</i>	43
<i>Degradabilidad de la MS y la MO</i>	44
Preparación del medio de cultivo	44
Montaje del experimento	44
Preparación del inóculo e inoculación	44
<i>Análisis estadístico.....</i>	46
2.6 Resultados	48
<i>Participación porcentual de las materias primas en cada suplemento, composición porcentual de los suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3, y composición química de las materias primas</i>	48
<i>Parámetros de producción de gas de la técnica de digestibilidad <i>in vitro</i></i>	50
<i>Parámetros de degradabilidad de la MS y la MO.....</i>	52
<i>Degradabilidad de la MS y la MO.....</i>	55
2.7 Discusión	56
2.8 Conclusiones.....	58

2.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
---	----

CAPÍTULO III. Efecto de la inclusión de aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche en dietas para vacas lecheras	64
3.1. Resumen	64
3.2. Summary	65
3.3 Resumen	66
3.4 Introducción	66
3.5 Materiales y métodos	68
<i>Localización</i>	68
<i>Animales</i>	68
<i>Variables a evaluar</i>	70
<i>Consumo de materia seca</i>	70
<i>Producción y composición de la leche</i>	73
<i>Tratamientos</i>	73
<i>Análisis estadístico</i>	73
3.6 Resultados	74
<i>Materias primas y composición porcentual de los alimentos balanceados</i>	74
<i>Estimación del consumo de materia seca total</i>	75
<i>Consumo voluntario de materia seca de pasto y porcentaje de eficiencia de utilización de la pradera</i>	76
<i>Consumo de MS de pasto vs. MS de concentrado</i>	77
<i>Composición química de la base forrajera kikuyo (Cenchrus clandestinus (Hochst. ex Chiov.) Morrone)</i>	78
<i>Digestibilidad de la materia seca (MS) empleando lignina ácido detergente como marcador interno y digestibilidad aparente de PB, FDN y FDA</i>	80
<i>Efecto de la inclusión de fuentes de grasa ricas en ω_6 y ω_3 sobre la producción y composición de la leche</i>	80
3.7. Discusión	81
<i>Estimación del consumo de materia seca total</i>	81

<i>Valor nutricional del pasto kikuyo (Cenchrus clandestinus (Hoescht Ex Chiov) Morrone)</i>	83
<i>Digestibilidad de la materia seca (MS) empleando lignina ácido detergente como marcador interno, digestibilidad del material fibroso FDN y FDA y digestibilidad aparente de PB</i>	84
<i>Efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche</i>	86
3.8 Conclusiones	88
3.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
Conclusiones generales	95

Lista de Tablas

1.1 Composición en ácidos grasos de los lípidos de la leche bovina	15
2.1 Participación porcentual de las materias primas en cada suplemento y composición porcentual de los suplementos grasos	49
2.2 Composición química de las materias primas incluidas dentro de la formulación de las dietas como porcentaje de la materia seca.....	50
2.3 Volumen final de gas (VF), tiempo de colonización (L), Tasa de producción de gas y factor de partición del pasto kikuyo (<i>Cenchrus clandestinus</i> (Hochst. Ex Chiov) Morrone) incubado con diferentes niveles de aceite de semilla de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3	42
2.4 Parámetros de degradabilidad de la MS	54
2.5 Parámetros de degradabilidad de la MO	54
2.6 Efecto de los suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS de las dietas en diferentes tiempos de incubación	55
2.7 Efecto de los suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 sobre la digestibilidad <i>in vitro</i> de la MO de las dietas en diferentes tiempos de incubación.....	56
3.1 Composición porcentual de las materias primas, porcentaje de inclusión en los suplementos dietarios (tratamientos) y composición química de estos.....	69
3.2 Estimación del consumo de materia seca total (ECMST) vaca día ⁻¹ , utilizando marcador externo (Cr ₂ O ₃) y ecuación de la NRC (2001).....	75

3.3 Consumo voluntario de materia seca de pasto y consumo de forraje verde (promedio grupal en cada periodo experimental).....	77
3.4 Estadística descriptiva de los parámetros de la metodología de aforos.....	74
3.5 Ingesta de materia seca de pasto (MSP) vs. Ingesta de materia seca de concentrado (MSC) en porcentaje de la dieta diaria	78
3.6 Composición química de la base forrajera kikuyo (<i>Cenchrus clandestinus</i>) de la Hacienda La Montaña durante el periodo experimental	79
3.7 Digestibilidad aparente MS, PB, FDN y FDA en dietas de vacas Holstein suplementadas AG ω_6 y ω_3	77
3.8 Efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein	81

Lista de Figuras

1.1 Digestión de las grasas en el rumen.....	11
1.2 Principales rutas de formación del ácido ruménico (CLA) en el rumen y en la glándula mamaria	12
3.1 Comparativo del consumo de materia seca total por la metodología de cromo en heces vs. Expresión matemática de la NRC (2001) y estimación por método agronómico CVMST (<i>promedio grupo⁻¹</i>).	76

Lista de Abreviaturas

- A:** Fracción totalmente degradable
- AE:** Aforo de entrada
- AG:** Ácidos grasos
- AGCL:** Ácidos grasos de cadena larga
- AGE:** Ácidos grasos esenciales
- AGP:** Ácidos grasos polinsaturados
- AGV:** Ácidos grasos volátiles
- AR:** Ácido ruménico
- AS:** Aforo de salida
- AV:** Ácido vaccénico
- B:** Fracción lentamente degradable
- bh-MB:** Bosque húmedo montano bajo
- C:** Tasa constante de producción de material degradable (tasa de degradación)
- C₄:** Mecanismo fotosintético, cuyos productos intermedios son ácidos de cuatro carbonos
- Cat:** Categoría
- CE:** Carbohidratos estructurales
- CLA:** Ácido linoleico conjugado
- CMSP:** Consumo de materia seca de pasto
- CMST:** Consumo de materia seca total
- CNE:** Carbohidratos no estructurales
- Cr:** Cromo
- CVMS:** Consumo voluntario de materia seca
- DMS:** Digestibilidad de la materia seca
- DMSLig:** Digestibilidad de la materia seca utilizando lignina como marcador interno
- DAFDA:** Digestibilidad aparente de la fibra detergente acida
- DAFDN:** Digestibilidad aparente de la fibra en detergente neutro
- DALAD:** Digestibilidad aparente de la lignina ácido detergente

DHA: Ácido docosahexanoico

ECMSTA: Estimación del consumo de materia seca total por aforos de entrada y salida

ECMSP: Estimación del consumo de materia seca de pasto

ECMSN: Estimación del consumo de materia seca total utilizando la expresión matemática propuesta por la NRC (2001)

ECMSTCr: Estimación del consumo de materia seca total por cromo en heces

ED: Energía digestible

EE: Extracto etéreo

FDA: Fibra ácido detergente

FDN: Fibra detergente neutro

FP: Factor de partición

FPD: Fracción potencialmente degradable

FI: Fracción indigestible

g: Gramos

GI₀: Grasas insaturadas cero

GI₂: Grasas insaturadas al 2%

GI₃: Grasas insaturadas al 3%

GI₄: Grasas insaturadas al 4%

h: Hora

IVMS: Ingesta voluntaria de materia seca

Kg: Kilogramos

L: Tiempo de colonización (tiempo lag)

LAD: Lignina ácido detergente

LCG: Leche corregida al 4% de grasa

MHA: Hidróxido análogo de metionina

mg: Miligramos

ml: Mililitros

mm: Milímetros

MO: Materia orgánica

MS: Materia seca

MSC: Materia seca de concentrado
MSP: Materia seca de pasto
MSS: Materia seca de suplemento
MST: Materia seca total
NA: Número promedio de animales en el potrero
NADP⁺: Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
NCR: National Research Council
NNP: Nitrógeno no proteico
OF: Oferta forrajera
OP: Ocupación del potrero en días
p: Probabilidad
PB: Proteína bruta
PC: Peso corporal
PMR: Ración parcialmente mezclada
PSI: Libras por pulgada cuadrada
PUFAs: Ácidos grasos polinsaturados de cadena larga
R²: Coeficiente de determinación
SL: Semana de lactación
SNG: Sólidos no grasos
T: Tiempo
TDN: Total de nutrientes digestibles
TMR: Ración totalmente mezclada
VF: Volumen de gas correspondiente a la completa digestión del sustrato
VRF: Valor relativo forrajero
VT: Volumen total de gas
 ω_6 : Omega seis
 ω_3 : Omega tres

Resumen

Es importante evaluar el efecto de la inclusión de grasas insaturadas ricas en ω_6 y ω_3 en dietas para vacas lecheras de alta producción sobre el consumo voluntario de materia seca, degradabilidad de materia seca y materia orgánica, nivel de producción y calidad composicional de la leche. La suplementación de dietas para vacas en pastoreo con grasas insaturadas ricas en ω_6 y ω_3 en los niveles utilizados en este estudio no afectaron negativamente los procesos de degradación *in vitro* de la materia seca y materia orgánica; al igual sobre los parámetros de producción de leche, producción de leche ajustada al 4% de grasa, las cantidades y porcentajes de proteína, grasa y sólidos no grasos. Los tratamientos empleados no registraron diferencias significativas ($p>0.05$) para la variable consumo total de materia seca, evaluado con la técnica de indicadores, externo óxido de cromo (producción de heces) e interno lignina ácido detergente (digestibilidad de la materia seca). Se comparó datos obtenidos a través de la técnica de indicadores con y con la expresión matemática propuesta por la NCR (2001), y estimación por el método agronómico (aforos de entrada y salida: estimación de la materia seca retirada durante el periodo de pastoreo); encontrándose mayor grado de ajuste a las condiciones reales de vacas en pastoreo de los datos obtenidos por la metodología de aforos, aunque dicha metodología no permite individualizar el consumo de materia seca, pero si es la más ajustada para predecir consumo promedio referente al lote de vacas en pastoreo.

Summary

It is important to evaluate the effect of inclusion of unsaturated fats rich in ω_6 and ω_3 in diets for dairy cows of high production on voluntary intake of dry matter degradability of dry matter and organic matter, level of production and compositional quality of milk. Supplementation of diets for cows grazing with unsaturated fats rich in ω_6 and ω_3 at the levels used in this study processes *in vitro* degradation of dry matter and organic matter not adversely affected; as on the

parameters of milk production, milk production adjusted to 4% fat, the amounts and percentages of protein, fat and non-fat solids. Treatments employees reported no significant differences ($p > 0.05$) for total dry matter intake variable, evaluated with technical indicators, external chromium oxide (stool output) and internal acid detergent lignin (digestibility of dry matter). data obtained through the technique of indicators and the mathematical expression proposed by the NCR (2001), and estimate the agronomic method were compared (seating capacity input and output: estimation of dry matter withdrawn during the grazing period); finding greater degree of adjustment to the actual conditions of cows grazing on the data obtained by the methodology of appraisals, although the methodology does not allow individualize dry matter intake, but it is the tightest in predicting benchmark average consumption to the batch of cows grazing.

Resumo

É importante avaliar o efeito da inclusão de gorduras insaturadas ricas em ω_6 e ω_3 em dietas para vacas leiteiras de alta produção no consumo voluntário de degradabilidade da matéria seca da matéria seca e matéria orgânica, o nível de produção e qualidade de composição do leite. A suplementação de dietas para vacas que pastam por gorduras insaturadas ricas em ω_6 e ω_3 nos níveis utilizados neste processos de estudo de degradação in vitro da matéria seca e matéria orgânica não afectadas negativamente; como sobre os parâmetros de produção de leite, produção de leite ajustada para 4% de gordura, os valores e as porcentagens de proteína, gordura e sólidos não gordurosos. Tratamentos funcionários relataram nenhuma diferença significativa ($p > 0,05$) para variável total de consumo de matéria seca, avaliados com indicadores técnicos, óxido de cromo externa (saída de fezes) e ácido interna detergente lignina (digestibilidade da matéria seca). Dados obtidos através da técnica de indicadores ea expressão matemática proposta pela NCR (2001), e estimar o método agrônômica foram comparados (com capacidade de entrada de capacidade e produção: estimativa de matéria seca, removida durante o período de pastejo); encontrando maior grau de

adequação às condições reais de vacas que pastam nos dados obtidos pela metodologia das avaliações, embora a metodologia não permite individualizar o consumo de matéria seca, mas é o mais apertado na previsão de consumo médio de referência ao lote de vacas pastagem.

Introducción

El mejoramiento genético de las razas lecheras en búsqueda continua de incrementar los niveles de producción, ha generado aumento de los requerimientos energéticos en vacas de alta producción, cuya base alimenticia son pastos y forrajes tropicales (C_4) manejados en monocultivo en sistemas de pastoreo intensivo, los cuales son de baja calidad nutricional; como consecuencia limitan la capacidad de ingesta voluntaria de materia seca (IVMS), la digestibilidad (Posada y Noguera, 2005), el nivel de producción y composición de la leche. Surge la posibilidad de suplementar la dieta de vacas de alta producción con grasas insaturadas para mejorar la densidad energética de la misma; el aceite de semilla de girasol se utiliza como fuente de ácidos grasos ω_6 y aceite de pescado pelágico fuente de ácidos grasos ω_3 , debido a la lenta liberación de aceite en el rumen por parte de estos compuestos (Coppock y Willks, 1991) no se afecta la cinética y la extensión de degradación de la materia seca y materia orgánica (Hervas *et al*, 2005) de dietas cuya base es el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone). La suplementación con grasas insaturadas ricas en ω_6 y ω_3 para vacas lecheras de la raza Holstein es utilizada con cierta frecuencia para mejorar la densidad energética de la dieta y calidad intrínseca de la leche; estudios realizados por Angulo *et al*, (2012) encontraron una disminución en el contenido de grasa en leche cuando suplementaron la dieta con aceite de linaza y/o girasol (ω_6) más aceite de algas marinas (ω_3), no tuvo ningún efecto sobre el nivel de producción ni sobre el consumo voluntario de materia seca.

Se ha reportado que los lípidos adicionados en dietas para rumiantes pueden interrumpir ampliamente los procesos fermentativos en el rumen, ya que obstaculizan la acción de los microorganismos causando reducida digestibilidad de las fuentes energéticas no lipídicas (Jenkins, 1993). La digestión ruminal de los carbohidratos estructurales fue reducida en 50% cuando se suplementaba la dieta entre 6-10% de grasa, como consecuencia hay reducción en la ingesta de materia

seca (MS), acompañada por reducción en la producción de metano (CH₄), hidrógeno y ácidos grasos volátiles (AGV) (Ikwueghu y Sutton, 1982; Chalupa *et al*, 1984; Czerkawski, 1986), posiblemente afectando el nivel de producción y composición de la leche.

La dinámica de los lípidos en el rumen esta mediada por importantes transformaciones microbiales; lipólisis que causa liberaciones de ácidos grasos de los lípidos esterificados de las plantas y procesos de biohidrogenación, los cuales reducen el número de dobles enlaces (Jenkins, 1995). La población microbiana del rumiante, su concentración y actividad difieren con la relación concentrado:forraje de la dieta (Abe y Iriki, 1978). La absorción microbiana y la síntesis de ácidos grasos se aceleran con un incremento en el suministro de concentrado y además se sugiere que la biohidrogenación es acelerada con el suministro de forraje (Sasaki *et al*, 2001).

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la fuente grasa rica en ω_6 y ω_3 sobre la producción y composición de la leche, consumo voluntario de materia seca comparado (metodología de marcadores y expresión matemática propuesta por NRC, 2001) y a través del método agronómico el promedio grupal, degradabilidad de la materia seca y materia orgánica de la dieta.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein.

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de la fuente de grasa rica en ω_6 y ω_3 sobre la producción y composición de la leche.
- Evaluar el efecto de la suplementación con grasas ricas ω_6 y ω_3 sobre el consumo de materia seca (MS), comparando la metodología de marcadores interno (LAD) y externo (Cr_2O_3) con la expresión matemática propuesta por NRC, (2001) y estimación por el método agronómico.
- Evaluar el efecto de la suplementación con grasas ricas en ω_6 y ω_3 sobre digestibilidad *in vitro* de la MS y de la MO de las dietas.

CAPÍTULO I

1. Utilización de suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 en dietas para vacas lecheras

1. Using supplements rich in fatty ω_6 and ω_3 in diets for dairy cows

1. Usando suplementos ricos em ω_6 gordos e ω_3 em dietas para vacas leiteiras

Juan M Rojo¹, Zoot, Esp, MSc(c); Ricardo R Noguera¹, Zoot, Esp, MSc, PhD.
Grupo de Investigación Sobre Ciencias Agrarias (GRICA), Escuela de producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

1.1 Resumen

En la actualidad se ha generado aumento en los requerimientos nutricionales de vacas lecheras de alta producción, especialmente de energía, a causa del mejoramiento genético. En Colombia existe un modelo de pastoreo intensivo donde se desarrolla la lechería especializada. El monocultivo de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoechst Ex Chiov) Morrone), que es una especie tropical de mecanismo fotosintético C₄, la cual, es alta en pared celular y por el manejo que recibe (sobrefertilización nitrogenada), es de calidad baja y no cumple con las demandas nutricionales de vacas de alta producción. La alternativa es suministrar alimentos concentrados y suplementos grasos para mejorar la densidad energética de la dieta. Es muy importante evaluar hasta qué punto deben incluirse grasas en la dieta, de tal manera que no se afecte el metabolismo general de la vaca; ya que, puede repercutir de manera negativa sobre el consumo voluntario de materia seca, la digestibilidad de esta y además sobre el nivel de producción y composición de la leche.

Palabras clave: *Densidad energética, metabolismo de lípidos, rumen*

1.2 Summary

Today has generated increased nutritional requirements of high producing dairy cows, especially energy, because of genetic improvement. In Colombia there is a model where specialized intensive grazing dairy develops. Monoculture of kikuyu grass (*Cenchrus clandestinus* (Hoechst Ex Chiov) Morrone), which is a tropical species of photosynthetic mechanism C₄, which is high in cell wall and receiving management (nitrogen over-fertilization), is poor and does not meet the nutritional demands of high producing cows. The alternative is to provide concentrated fatty foods and supplements to improve the energy density of the diet. It is very important to evaluate to what extent should include dietary fat, so that the general metabolism of the cow is not affected; since it can negatively impact on voluntary dry matter intake, digestibility of this and also on the level of production and milk composition.

Keywords: *Energy density, lipid metabolism, rumen*

1.3 Resumo

Hoje tem gerado aumento nas necessidades nutricionais de vacas de alta produção de lácteos, especialmente energia, por causa de melhoramento genético. Na Colômbia há um modelo onde desenvolve especializada intensivo de pastagem laticínios. Monocultura de grama kikuyu (*Cenchrus clandestinus* (Hoechst Ex Chiov) Morrone), que é uma espécie tropical de fotossintético C₄ mecanismo, que é rico em parede celular e receber gestão (nitrogênio excesso de fertilização), é pobre e não atende as exigências nutricionais de vacas de alta produção. A alternativa é a de fornecer alimentos gordurosos concentrados e suplementos para melhorar a densidade de energia da dieta. É muito importante para avaliar em que medida deve incluir gordura dietética, de modo a que o metabolismo geral da vaca não é afectada; uma vez que pode ter um impacto

negativo sobre voluntária ingestão de matéria seca, a digestibilidade disso e também sobre o nível de produção e composição do leite.

Palavras-chave: *Densidade de energia, metabolismo lipídico, rúmen*

1.4 Introducción

El mejoramiento genético desarrollado en ganadería especializada en producción de leche en Colombia, ha generado aumento de requerimientos nutricionales en vacas lecheras de alta producción, especialmente en energía (Oltenucu y Broom, 2010); vacas que son manejadas en alto porcentaje en pastoreo intensivo de kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoechst Ex Chiov) Morrone) (gramínea tropical C₄) en monocultivo (Correa *et al*, 2008; Sierra, 2015), el cual posee altos tenores de carbohidratos estructurales (CE), condición esta que aunada al exceso de fertilización nitrogenada que reciben las pasturas, genera altos niveles de proteína bruta, bajos niveles de carbohidratos no estructurales (CNE) y de lípidos, y en general baja densidad energética del recurso forrajero (Sierra, 2011). Dicha situación ha generado la necesidad de suplementar la dieta de vacas lecheras de alta producción con recursos energéticos, muchos de los cuales son fuentes ricas en ácidos grasos polinsaturados como aceites vegetales (aceite de girasol ω_6) y aceites marinos (aceite de pescado pelágico ω_3).

La utilización de suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 en dietas para vacas lecheras en nivel no mayor al 6% de la MS de la dieta, ha demostrado en investigaciones previas no tener repercusiones negativas sobre el consumo voluntario de materia seca (CVMS), la degrababilidad de la MS, en el nivel de producción y composición de la leche (Zachut *et al*, 2010; Caroprese *et al*, 2010; Pappritz *et al*, 2011), En la actualidad cobra valor la importancia del contenido de ácidos grasos esenciales (AGE) para una adecuada nutrición humana, que le dé valor biológico a la leche.

Las sustancias potenciales de origen animal para mejorar la salud humana son pocas, una de ellas se encuentra en la grasa de la leche y derivados lácteos; esta consiste en una mezcla de isómeros conjugados de ácido linoleico, de los cuales el Cis 9 trans-11 ácido linoleico conjugado (CLA) es el más abundante (Belury, 2002; Herrera, 2004; Rojas *et al*, 2005; Angulo *et al*, 2009).

1.5 Mejoramiento genético de vacas de alta producción de leche que consumen bases forrajeras tropicales

Las vacas de alta producción de leche en primer tercio de lactancia poseen alta demanda de energía, limitada capacidad de ingesta y necesidad de mantener niveles mínimos de fibra (Palmquist, 1984), como consecuencia necesitan movilizar reservas corporales para suplir dicha demanda, entran en balance energético negativo y pierden condición corporal (Beam y Butter, 1999; Oltenacu y Broom, 2010). Las bases forrajeras tropicales que ingieren las vacas de alta producción no son suficientes para garantizar la energía requerida para más de 20000 libras de leche lactancia⁻¹ (Oltenacu y Broom, 2010). Sistemas de altas entradas de nutrientes y altas salidas de leche son los más ampliamente usados por los sistemas de producción lechera en Estados Unidos y lecherías especializadas de Colombia, estos sistemas se caracterizan por emplear ganados de tamaño grande (95% Holstein Friesian), requieren alto uso de fertilizantes y alimentos concentrados para vacas usando dietas de alta densidad energética (OECD, 1999). El objetivo ha sido siempre producir cantidad y calidad de leche para el consumidor; en muchos países el rendimiento por vaca ha sido más que doblado en los últimos 40 años (Dobson *et al*, 2007); este dramático incremento en rendimiento, es debido al rápido progreso en genética y manejo (Oltenacu y Broom, 2010).

El pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoechst Ex Chiov) Morrone) manejado como monocultivo en un sistema de pastoreo intensivo, no posee la capacidad para sostener rendimientos de más de 5 a 9 litros vaca día⁻¹ (Rojo *et al*, 2012;

Sierra, 2015), otros autores sostienen que la base forrajera de dicho pasto tiene un potencial que no supera los 12 litros (Correa *et al*, 2008); ya que es una gramínea C₄, la cual tiene alta tasa de captación de CO₂, alta tasa de fotosíntesis neta y altas tasas de crecimiento (Van Soest, 1982). En contra posición las gramíneas C₄ tienen mayor número de haces vasculares por unidad de área foliar, lo que las hace más ricas en pared celular (celulosa, hemicelulosa, lignina, pectina y sílice), esto se traduce en menor digestibilidad del recurso forrajero (Van Soest, 1994). Al tener altos niveles en pared celular (CE) suelen poseer bajo contenido en CNE, lo que contribuye a generar una base forrajera de baja densidad energética, insuficiente para llenar todos los requerimientos energéticos de la vaca lechera (Sierra, 2015). Estos pastos son típicamente manejados con sobre fertilización nitrogenada, lo que contribuye también a que haya baja cantidad de CNE (Sierra, 2011), que son la fuente de energía para las bacterias celulolíticas del rumen, encargadas del desdoblamiento de la pared celular para la obtención de los ácidos grasos volátiles (AGV) los cuales suministran del 50-70% de los requerimientos energéticos del rumiante (Agudelo, 2001; Rojo *et al*, 2012). La fertilización nitrogenada en exceso genera alto contenido de proteína bruta en el pasto, lo que agudiza más la relación energía:proteína de la dieta (Agudelo, 2001). Surge entonces la posibilidad de suplementar la dieta de vacas lecheras de alta producción con grasas para mejorar la densidad energética de la dieta, pero hay que tener en cuenta que la mayoría de las grasas no son inertes en el rumen y, particularmente los ácidos grasos insaturados (ω_6 y ω_3) que pueden alterar el metabolismo ruminal e influir en forma negativa sobre el CVMS, degradabilidad de la MS, nivel de producción y composición de la leche (Palmquist, 1984) (Figura1.1).

1.6 Dinámica de los lípidos en el rumen

Los forrajes son una fuente importante de nutrientes para los rumiantes a pesar del bajo contenido en lípidos (2-5%) de la MS, estos compuestos se encuentran localizados en una alta proporción en los cloroplastos del tejido vegetal. Los

lípidos de los pastos y forrajes son ricos especialmente en 18:3, este hecho se convierte en una estrategia fundamental para incrementar los PUFAs (ω_3) en carne y leche, ya que la transformación de los lípidos de la dieta cumple un rol importante en la determinación de la composición de los AG de estos productos (Dewhurst *et al*, 2006). El metabolismo ruminal de los ácidos grasos AG contenidos en lípidos de dietas para vacas lecheras de alta producción, tiene gran efecto sobre la composición de los AG en el tejido del rumen y en los lípidos de la leche (Kim *et al*, 2009).

1.6.1 Lipólisis

La dieta del rumiante adulto está conformada, en una alta proporción, por ácidos grasos (AG) insaturados que se encuentran en los galactolípidos del forraje y en los triglicéridos de los granos cereales (Figura 1.1). Sin embargo, los lípidos del contenido ruminal son diferentes a los de los alimentos; la flora ruminal tienen la capacidad de hidrolizar rápidamente los triglicéridos y los galactolípidos produciendo AG libres, lo cual permite que el glicerol y la galactosa se fermenten y formen ácidos grasos volátiles (AGV) (Czerkawski, 1986; Agudelo, 2001; González, 2008). El grado de hidrolisis es reducido por el incremento de grasa en dieta o cuando otros factores tales como pH bajo del rumen y el uso de ionóforos inhiben la actividad y el crecimiento de las bacterias (Harfoot y Hazlewood, 1997; Bauman y Lock, 2006).

La actividad lipolítica está determinada por el ecosistema ruminal, y esta se puede ver influenciada por factores dietarios como el estado de madurez del forraje, el contenido de nitrógeno y el tamaño de las partículas alimenticias en el rumen (Rojas *et al*, 2005). Cuando se alimenta con ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (PUFAs), se causa un incremento en la concentración de AG monoinsaturados y una disminución de AG saturados (Bauman y Lock, 2006).

La mayoría de los lípidos en los pastos y forrajes están en forma de fosfolípidos y glicolípidos (Figura 1.1), localizados en las membranas tilacoidales dentro de los cloroplastos; durante el corte y la masticación, el daño a los tejidos de la planta activa las lipasas endógenas (propias de la planta), más la acción de las lipasas microbiales causan la liberación de AG no esterificados 18:2 y 18:3 de las membranas rotas (Khanal y Dhiman, 2004; Dewhurst *et al*, 2006; Kim *et al*, 2009; Halmemies-Beauchet-Filleau, *et al*, 2013). Por efecto de la masticación, los lípidos de los recursos alimenticios quedan expuestos en el rumen, donde se inicia un proceso de lipólisis por la acción de las lipasas microbiales (lipólisis de los enlaces éster entre el glicerol y los AG y del enlace éter de la galactosa) (Jenkins, 1993). La *Aerovibrio lipolytica* es la especie más conocida con actividad de lipasas extracelulares, que hidrolizan los galactosilglicéridos, y fosfolípidos en ácidos grasos libres, galactosa y glicerol, y los fosfolípidos a AG libres, fosfato, y glicerol con una pequeña acumulación de mono y/o digliceridos; el glicerol es fermentado rápidamente, produciendo ácido propiónico como producto final, y la galactosa se convierte en ácidos grasos volátiles (Rojas *et al*, 2005; Kim *et al*, 2009). La parte correspondiente al glicerol de las grasas que no procede de glucosa, tiene su origen en los acilgliceroles de la sangre (Mcdonald *et al*, 2002).

Múltiples especies de bacterias están involucradas en el proceso de lipólisis, como es el caso de *Butyrivibrio fibrisolvens*, pero solo unas pocas especies pueden hidrolizar ácidos grasos de cadena larga (AGCL) (Jenkins, 1993; Rojas *et al* 2005).

1.6.2 Biohidrogenación de los ácidos grasos

Luego del proceso de lipólisis ocurre un proceso de biohidrogenación: los lípidos esterificados que no se hidrolizan quedan contenidos principalmente en el fluido ruminal, mientras los ácidos grasos se van asociando a la superficie de las células microbianas y a partículas fibrosas del alimento donde ocurre la biohidrogenación (Jenkins, 1993; Jenkins, 1995; Rojas *et al*, 2005). En esta fase puede existir competencia entre los microorganismos y partículas de alimento por la adsorción

de los AG (Wang y McAllister, 2002; Rojas *et al*, 2005). Los AG libres insaturados se van saturando rápidamente por los microorganismos convirtiéndose en intermediarios, cada vez más saturados; solo el 1 – 2 % del hidrógeno ruminal es usado en este proceso; el paso inicial en la biohidrogenación es la isomerización de algunos ácidos grasos insaturados mediante isomerasas ubicadas en la membrana celular de algunas bacterias (Jenkins, 1993). Esta reacción es inusual por que no requiere de cofactor y ocurre en la parte media de una cadena hidrocarbonada larga y lejos de un grupo funcional; para que esta reacción ocurra, el AG debe poseer un grupo carboxilo libre (Jenkins, 1993; Rojas *et al* 2005).

El paso inicial en la biohidrogenación es una reacción de isomerización que convierte el doble enlace cis 12 del AG insaturado a su isómero trans 11 (Jenkins, 1993). La isomerasa no es funcional a menos que el AG tenga un grupo carboxilo libre, y en caso de AG polinsaturados tales como 18:2 un cis 9 y cis12 la doble configuración del enlace está presente (Kepler *et al*, 1970). El requerimiento del grupo carboxilo libre estabiliza la lipólisis como un requisito para la biohidrogenación, puesto que el enlace trans 11 está formado por la acción de la isomerasa, entonces la hidrogenación del enlace cis 9 en el AG 18:2 ocurre por una reductasa microbial; el grado por el cual el trans 11 18:1 es hidrogenado a 18:0 depende de las condiciones del rumen (Jenkins, 1993). Por ejemplo, la completa hidrogenación hasta ácido esteárico es promovida por la presencia de células libres del fluido ruminal y partículas de alimento (Kellens *et al*, 1986); pero es inhibido irreversiblemente por grandes cantidades de ácido linoleico (Harfoot *et al*, 1973).

Se han descrito dos vías para la biohidrogenación de los AG insaturados. En la primera, la biohidrogenación del ácido linolénico (C18:3 cis - 9, cis - 12 y cis - 15) y el ácido linoleico (C18:2 cis - 9 y cis - 12) comienzan con la acción de una isomerasa sobre el doble enlace cis -12, convirtiéndolo en trans – 11 dando como productos el cis – 9, trans – 11, cis – 15 y el cis – 9, trans – 11 (CLA) respectivamente. La isomerasa requiere de un sustrato de tipo cis – 9, cis 11 y un

grupo carboxilo libre. El cis – 9, trans – 11, cis 15 se convierten en trans – 11, cis – 15 y posteriormente en trans – 15, o cis – 15 o en trans – 11 (Jenkins, 1993; Rojas *et al* 2005; Kim *et al*, 2009). La enzima encargada del proceso de la conjugación de los dos dobles enlaces (cis-9 y cis-12) se ha identificado como una ácido linoleico isomerasa, que se encuentra ligada a la membrana bacteriana y que actúa tanto sobre el sistema dieno del ácido linoleico como del ácido α -linolénico (Gómez, 2010). La incubación de *B. fibrisolvans* en presencia de ácido α -linolénico como sustrato también produce AV. Sin embargo éste no se genera a partir de AR, sino de intermediarios distintos: cis-9, trans-11, cis-15 C18:3 (Khanal y Dhiman, 2004; Gómez, 2010) y trans-11, cis-15 C18:2 (Loor *et al*, 2004; Gómez, 2010). Por último, la conversión de ácido esteárico a partir de VA sería idéntica a la vía enunciada para el ácido linoleico. El CLA cis – 9, trans – 11 puede convertirse en trans – 11 (ácido vaccénico) y posteriormente en C18:0 (ácido esteárico) (Kim *et al*, 2009). Sin embargo, dependiendo de las velocidades de las reacciones enzimáticas estos AG pueden no ser hidrogenados por completo y pasar al intestino (Khanal y Dhiman, 2004) (Figura 1.2).

La formulación de dietas para vacas lecheras con productos de origen marino como aceite de pescado pelágico y de algas unicelulares (Mozzon *et al*, 2002) en combinación con aceites vegetales de girasol y linaza mejoran notablemente el contenido de CLA, sin alterar sustancialmente las características organolépticas de la leche o de productos derivados como la mantequilla y queso (Angulo *et al*, 2012; Rojas *et al*, 2005). El aceite de pescado ha demostrado ser más efectivo que los aceites vegetales para aumentar el contenido de cis 9, trans11 CLA en la grasa de la leche (Angulo *et al*, 2012), ya que el ácido docosahexanoico (DHA) posee un efecto positivo sobre la acumulación de AV en rumen, y un efecto negativo sobre la reducción de este a ácido esteárico, favoreciendo el flujo de AV hacia el intestino para que sea absorbido y llevado hasta el tejido mamario (Rojas *et al*, 2005; Boeckeaert *et al*, 2008; Angulo *et al*, 2012). La implementación de estos aceites en combinación con un aceite vegetal rico en ácido linoleico ω_6 (aceite de girasol) que sirva como sustrato para aumentar la formación ruminal de AG,

produce los mayores aumentos del contenido de CLA de la grasa de la leche (Cooper *et al*, 2004; Rojas *et al*, 2005) (Figura 1.2).

El suministro dietario de PUFAs es alcanzado a través de la adición de aceites vegetales y aceites marinos; en el rumen estos PUFAs (18:2 ω_6 , 18:3 ω_3 , 22:6 ω_3) afectan los procesos microbiales induciendo una biohidrogenación ruminal incompleta, como resultado varios AG trans 18:1 e isómeros conjugados del CLA se acumulan en el rumen y pasan a la leche por una alteración del perfil de AG, asociado o no a una reducción en el contenido graso de la leche (Boeckeaert *et al*, 2008).

El énfasis en el metabolismo lipídico ruminal se ha hecho en dos prácticas fundamentales: (1) control de los efectos antimicrobiales de los AG, así que la grasa suplementaria puede ser utilizada en alimentos para rumiantes sin interrupción de la fermentación ruminal y digestión, (2) regulación de la biohidrogenación ruminal para alterar la absorción de AG seleccionados que pueden mejorar el rendimiento o mejorar la calidad nutricional de los productos alimenticios de origen animal (Jenkins, 1993).

Estudios *in vitro* monitoreando la dinámica del ácido linoleico en fluido ruminal han demostrado que el CLA cis – 9, trans – 11 se convierte rápidamente en ácido octadecenoico trans – 11 (AV). La hidrogenación del ácido octadecenoico trans – 11 ocurre menos rápido y por lo tanto este se acumula en el rumen y está más disponible para la absorción en el intestino (Singh y Hawke, 1979; Kim *et al*, 2009) (Figura 1.2).

Las bacterias ruminales involucradas en la biohidrogenación han sido clasificadas en dos grupos A y B; basados en los procesos metabólicos para obtener la biohidrogenación completa de los PUFAs, las bacterias de ambos grupos se requieren para este proceso (Harfoot y Hazlewood, 1988; Bauman *et al*, 2003). El grupo A contiene muchas bacterias que pueden hidrogenar los PUFAs a trans

18:1; sólo unas pocas especies caracterizadas como grupo B pueden hidrogenar AG 18:1 a ácido esteárico (Harfoot y Hazlewood, 1987). En el proceso de hidrogenación para el ácido linolénico intervienen los dos grupos (A y B), mientras que en el del ácido linoleico se involucran principalmente bacterias del grupo A y algunas del grupo B pero en forma transitoria; Las bacterias más representativas del grupo A en la isomerización del ácido linoleico y linolénico son el *Butyrivibrio fibrisolvens* y el *Eubacterium*, aunque otras bacterias hacen isomerización de una manera transitoria como es el caso de *Ruminococcus albus* (Rojas *et al*, 2005).

Figura 1.1. Digestión de las grasas en el rumen

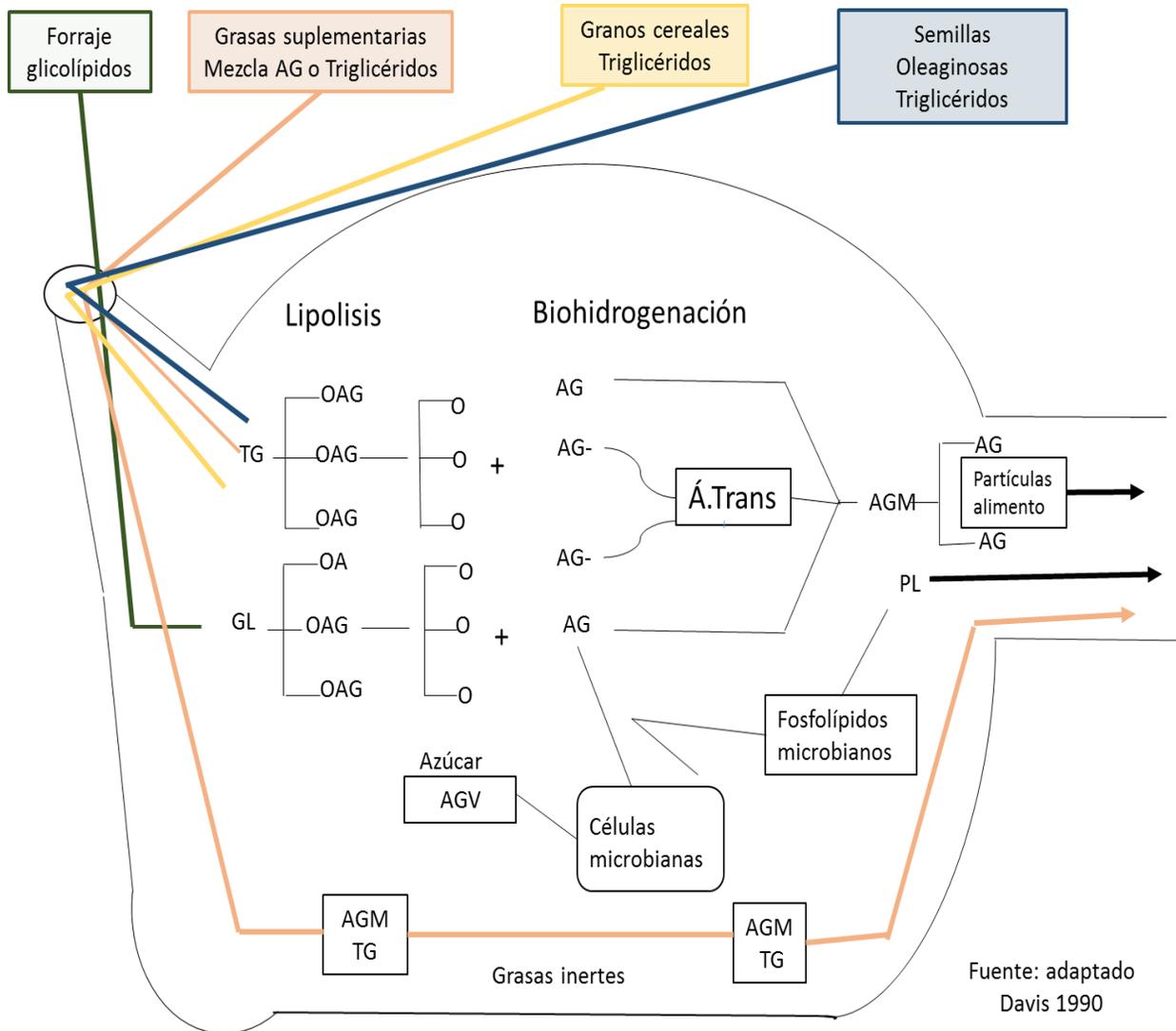
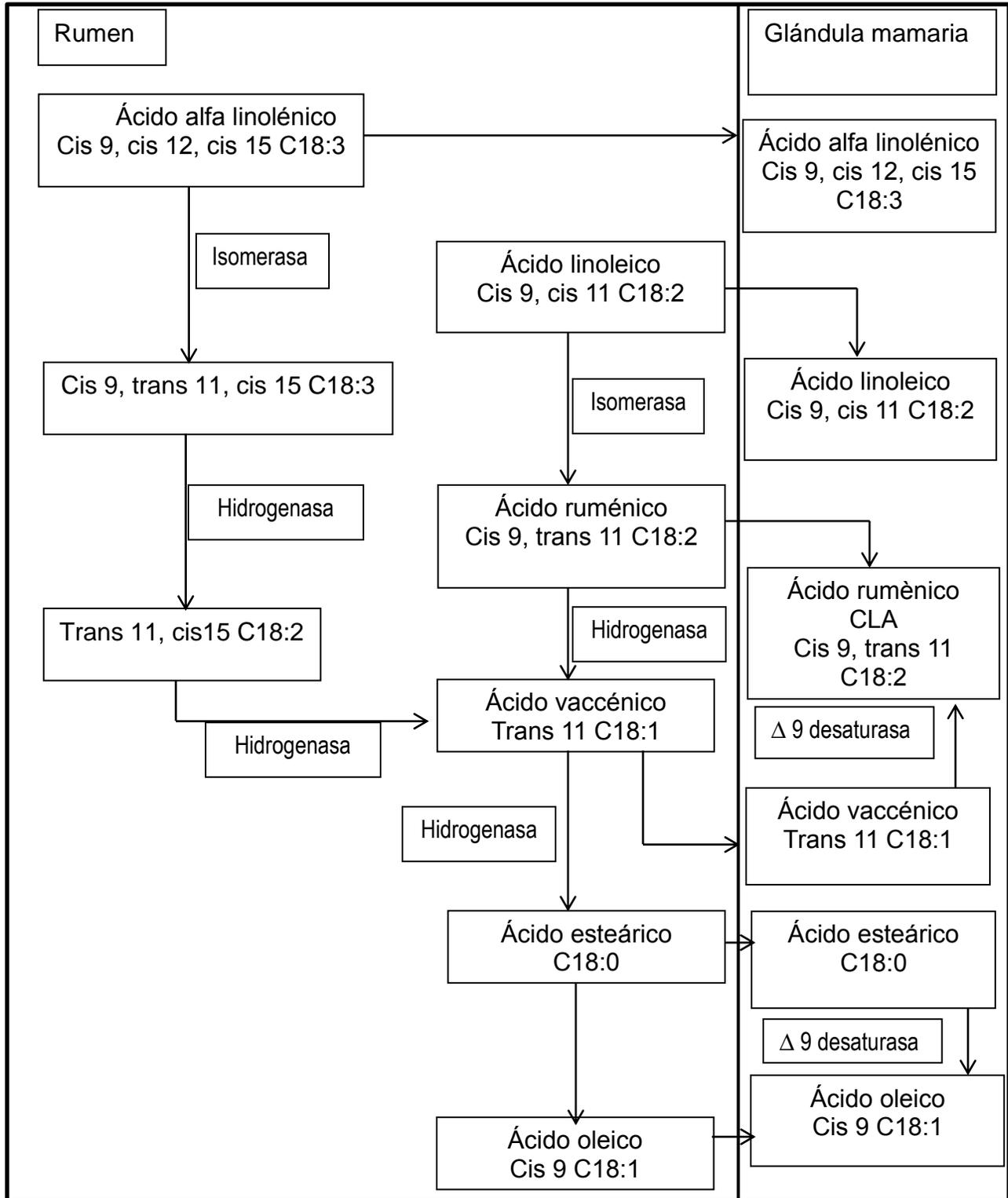


Figura 1.2. Principales rutas de formación del ácido ruménico (CLA) en el rumen y en la glándula mamaria.



Fuente: adaptada de Gómez, 2010

Una segunda vía para la biohidrogenación de los AG ha sido reportada por (Sasaki *et al*, 2001); la principal diferencia con la vía descrita anteriormente es la formación de compuestos trans – 10 que originan el isómero CLA trans – 10, cis – 12. Se ha demostrado que las moléculas de ácidos grasos trans – 10 C 18:1 son potentes inhibidores de la síntesis de grasa de la leche y que el isómero trans – 10, cis 12 CLA inhibe la síntesis del isómero cis – 9, trans – 11 CLA en la grasa de la leche (Loor *et al*, 2002; Giesy *et al*, 2002); la presencia de una u otra vía depende de la dieta del animal que determina el pH ruminal ya que este define los tipos de bacterias que predominan en el rumen (Rojas *et al*, 2005).

Los AG insaturados son hidrogenados rápidamente cambiando a formas saturadas, especialmente a ácido esteárico; por esta razón los ácidos grasos que se absorben son mucho más saturados que los presentes en el alimento. Esta hidrogenación tiene mucha influencia en la composición y en las propiedades físicas de la leche (González, 2008).

La flora ruminal también puede sintetizar AG de cadenas impares, a partir del propionato, y AG de cadenas ramificadas derivados de los esqueletos de carbono de los aminoácidos valina, leucina o isoleucina (González, 2008).

El metabolismo intermediario de los lípidos tiene gran importancia, por cuanto está muy relacionado con el movimiento de la energía en los rumiantes. Como ya se mencionó, los lípidos aportan gran cantidad de energía cuando se metabolizan completamente a CO₂ y H₂O en el proceso de la beta oxidación (Álvarez, 2008).

La capacidad de los microorganismos del rumen para digerir los lípidos es limitada. El contenido de lípidos en la dieta normal del rumiante es baja, por ejemplo 50g/kg de MS, y si aumenta a 100g/kg de MS, la actividad de los microorganismos se reduce; la fermentación de los carbohidratos es retardada y disminuye el consumo de alimento (Ramírez, 2003).

El incrementar la densidad energética de la ración es una estrategia que permite a la vaca cubrir la demanda de energía para la producción de leche, estas estrategias incluyen el suministro de altas cantidades de concentrado (40% máximo de la MS), el uso de forrajes de alta calidad (45% FDN) y de grasas (Rojas y Palavicini, 1996). El suministro de grasas que sean insolubles, inertes o no disponibles en el rumen ha permitido la inclusión de éstas en mayores cantidades sin alterar la digestión de la fibra, (Grummer y Carroll, 1988); tampoco altera la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y la eficiencia de la síntesis microbiana, además de mejorar la producción de leche y de grasa (Kluesmeyer y Clark, 1991).

1.7 Grasa láctea

La grasa de leche puede formarse ya sea por desintegración de los AG de cadena larga hallados en la sangre circulante, o por síntesis a partir de sustancias precursoras. Los AG desde el butírico hasta el palmítico son sintetizados principalmente en las glándulas mamarias comenzando ya sea como ácido acético o como B-hidroxibutírico. De este modo, por adición de fragmentos de dos carbonos de acetil CoA, se forman ácidos grasos con cadenas más largas. No, obstante todos los AG C18 provienen de fuentes distintas de la síntesis en las glándulas mamarias (Frandsen y Spurgeon, 1995).

La mayor parte de los lípidos de la leche se encuentran en la forma de triglicéridos. Los rumiantes dependen en mayor grado del acetato (sal de ácido acético) para la síntesis de AG. Los triglicéridos se componen de AG y glicerol. El glicerol se deriva principalmente del catabolismo de la glucosa en el proceso de glucólisis. La glucosa proporciona la fracción glicerol de la molécula de los triacilgliceroles, por la ruta del glicerol-3-fosfato, así como el NADP⁺ necesario para la síntesis de ácidos grasos en el citosol. El principal producto de dicha ruta es el ácido palmítico (McDonald *et al*, 2002). En los rumiantes, el acetato junto con algunos (AGV) son los productos del metabolismo de los polisacáridos en el

rumen, realizado por microorganismos que habitan allí (Ikwueghu y Sutton, 1982); esos (AGV) son absorbidos por la corriente sanguínea del rumiante y de este modo quedan disponibles para la síntesis de grasa de leche en la glándula mamaria (Frandsen y Spurgeon 1995).

Aparte de una pequeña fracción ligada a la membrana de los glóbulos de grasa, la grasa láctea es una mezcla de triacilglicerolos que contienen una gran variedad de AG saturados e insaturados. El ácido graso saturado predominante es el palmítico, en tanto que los insaturados están constituidos principalmente por ácido oleico con pequeñas cantidades de linoleico y de linolénico (McDonald *et al*, 2002).

Las grasas se caracterizan por la existencia de AG de longitud de cadena media (8:0 a 12:0 carbonos), que son específicos de la glándula mamaria; además la grasa de la leche producida por los rumiantes se caracteriza por la presencia de AG de bajo peso molecular butanoico (4:0) y hexanoico (6:0), que constituyen el 0.05% de los AG totales, sobre una base molar (McDonald *et al*, 2002; Angulo *et al*, 2005) (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 Composición en ácidos grasos de los lípidos de la leche bovina

Ácido graso	Peso (%)	Ácido graso	Peso (%)
C4:0	1.61	C15:0	1.38
C6:0	1.90	C16:0a	0.25
C8:0	1.30	C16:0	32.31
C10:0	3.25	C16:1	3.55
C10:1	0.32	C17:0	1.11
C12:0	3.66	C18:0a	0.50
C12:1	0.12	C18:0	7.82
C13:0	0.21	C18:1	22.44
C14:0a	1.48	C18:2	2.59
C14:0	11.28	C18:3	1.33
C14:1	1.34	C20:0	0.15

a Cadena ramificada. Fuente: Jensen *et al*, 1991.

En la tabla 1.1, se expone un análisis de la grasa de leche del ganado bovino, donde puede apreciarse la gran variedad de AG presentes. En total, son 22, incluyendo los de número impar de átomos de carbono y los que tienen cadenas ramificadas.

Los AG de la grasa láctea tienen dos orígenes; el primero lo constituyen los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad en la sangre y el segundo, la síntesis de acetato por la ruta malonil-CoA del citosol (McDonald *et al*, 2002).

Los ácidos de 8:0 a 12:0 átomos de carbono se producen por terminación prematura de la ruta. La terminación en los rumiantes se trata de una propiedad inherente del sistema sintasa. En el tejido mamario tiene lugar la desaturación de algunos ácidos, siendo los productos obtenidos los ácidos 18:1 y 16:1 (McDonald *et al*, 2002).

Los ácidos 4:0 y 6:0 se producen, principalmente, por síntesis de *novo* a partir de acetato en la glándula mamaria (Bauman y Look, 2006); no obstante, puede tomarse de la sangre D-3-hidroxibutirato y utilizarse como fuente de butiril-CoA que, a continuación entra en la ruta del citosol. El tejido de la glándula mamaria de los rumiantes es el único en cuanto a la capacidad de esterificar dichos ácidos en triacilglicérol. Los ácidos con número impar de átomos de carbono, así como los que tienen cadenas ramificadas, se sintetizan a partir de propionato por la ruta de la metil malonil coenzima A y el sistema sintetasa (McDonald *et al*, 2002).

De la totalidad de los AG de la leche, aproximadamente la mitad procede de los lípidos de la sangre y el resto de la síntesis de *novo* (Angulo *et al*, 2005). En último extremo, todos los AG de la cadena láctea tienen su origen en los productos de la digestión, pero no todos lo son tan directamente. Algunos proceden de acetato y AG endógenos tras haber estado almacenados en el organismo (McDonald *et al*, 2002).

La grasa láctea está compuesta principalmente por triglicéridos (95%), pequeñas cantidades de AG libres, colesterol y otras sustancias; aproximadamente un 50% de la grasa de la leche es sintetizada en la glándula mamaria a partir de los ácidos acético y butírico, que provienen de la fermentación ruminal de los alimentos (Angulo *et al*, 2005). Los otros componentes de la grasa se originan de lípidos de origen dietético o provienen de los depósitos grasos de la vaca. Estas dos fuentes contribuyen a los AG de cadena larga de la leche y son incorporados directamente al líquido (Campabadall, 1999). De los componentes de la leche, el porcentaje de grasa es el más variable y el que más cambios sufre por efecto genético, fisiológico y nutricional (Sutton, 1989). La concentración de grasas en la leche puede variar en un rango hasta de tres unidades por medio de la manipulación de la dieta (Campabadall, 1999).

La producción de grasa láctea está afectada por el balance entre la síntesis de grasa y la movilización. Esta se encuentra bajo control hormonal, aunque depende del equilibrio de las sustancias glucogénicas existentes en los productos de la digestión. Por ejemplo, una alta proporción de propionato, glucosa y aminoácidos, estimula la deposición de grasa en el tejido adiposo y determina un menor aporte de precursores grasos a la glándula mamaria (Mcdonald *et al*, 2002).

Se sabe que los AGV producidos en el rumen son los responsables de la variación en el contenido de la grasa en la leche (Erdman, 1988). En principio se creyó, que cuando disminuía el porcentaje molar de acetato y se incrementaba el de propionato, producto de una dieta alta en grano, o con el uso de forrajes de partícula fina, el contenido de grasa se disminuía (Campabadall, 1999); se demostró que la producción de acetato no disminuye con ese tipo de dietas, sino más bien se incrementa la concentración molar de propionato, afectando la relación acetato-propionato, reconocida como la principal responsable del contenido de grasa en la leche (Erdman, 1988).

Wonsil *et al*, (1994); Wu *et al*, (1991) encontraron que la producción de AG tipo trans C18:1, era la responsable de la disminución de grasa cuando las vacas reciben dietas altas en granos y aceites. Teter *et al*, (1990) reportaron que existe una correlación negativa significativa (-0.53) entre el contenido de grasa en la leche y el total de AG trans. Erdman, (1988) establece que la producción en el rumen de estos AG de tipo trans es el principal factor que causa el síndrome de baja producción de grasa y que la cantidad de concentrado en la dieta, el pH del rumen, y la fuente de grasa dietética son importantes factores que afectan la acumulación de estos AG de tipo trans en el rumen. Este mismo autor establece como los AG trans que se producen en el rumen se absorben a nivel del duodeno y son incorporados en la leche, afectando la síntesis de AG de cadena menor de 16 carbonos, causando una reducción en el porcentaje de grasa, y concluye que la depresión de la grasa en la leche, no está relacionada con variaciones en los patrones ruminales de AGV, sino en los cambios cuando se utilizan dietas altas en granos que resultan en un aumento en la producción de AG tipo trans. La formación de la grasa de la leche depende de los ácidos grasos volátiles producidos en el rumen por la fermentación de la fibra, los ácidos grasos que provienen de la dieta y los ácidos grasos movilizados de las reservas corporales (Ángulo *et al*, 2005).

1.8 Factores nutricionales que afectan el contenido de grasa de la leche

La nutrición, alimentación y manejo de vacas lecheras de alta producción puede producir cambios en la leche mejorando su composición; existe una gran variedad de factores nutricionales que pueden afectar directa o indirectamente el contenido de grasa en la leche (Allen, 1996). Estos factores nutricionales son:

- A. Composición del material fibroso
- B. Tamaño de la partícula del forraje
- C. Efecto de la relación MS forraje vs. MS concentrado
- D. Tipo de alimento balanceado

- E. Proteína dietética
- F. Grasa suplementaria
- G. Manejo de la alimentación
- H. Uso de agentes neutralizantes (buffers) y aditivos

1.8.1 Composición del material fibroso

Las vacas lecheras de alta producción deben recibir dietas de alta calidad nutricional (forrajes bajos en fibra); los forrajes proveen energía y fibra para el mantenimiento de la función ruminal y una concentración normal de grasa en la leche (Clark y Armentano, 2002). Es importante considerar el contenido de pared celular de los pastos y forrajes tropicales utilizados en los sistemas de alimentación para vacas lecheras (gramíneas C₄) que generalmente poseen altos niveles de FDN y FDA; dichos valores son muy variables, y están afectados por factores como lo son la especie vegetal y el estado de madurez (Allen, 1996). El porcentaje de componentes fibrosos de la ración también tiene un efecto sobre la producción de saliva, pH del rumen, tiempo de rumia y producción de AGV; un incremento en el porcentaje de componentes fibrosos produce un pH ruminal óptimo para máxima digestión de la celulosa, mayor producción de saliva y una mayor actividad de masticado, valores superiores al 45% de FDN, benefician estos factores que afectan el porcentaje de grasa de la leche (Van Soest, 1994). Un consumo de MS total que contenga menos del 40% de FDN, puede causar desde una pequeña hasta una severa depresión en el porcentaje de grasa de la leche, producto de una relación más estrecha acetato-propionato (Campabadall, 1999). Para maximizar la producción de leche y el porcentaje de grasa se recomienda que la dieta contenga mínimo 28% de FDN y 18% de FDA, la cantidad diaria de FDN necesaria fue estimada en 1.2% del peso vivo (Linn, 1988).

1.8.2 Tamaño de partícula del forraje

Las fuentes de fibra varían en su habilidad para estimular el proceso masticatorio, dicha variación se debe a diferencias en tamaño de las partículas, densidad o interacciones físicas con otros alimentos en el rumen, una reducción del tamaño de partícula disminuye la actividad masticatoria (Soita *et al*, 2000). Las partículas de forraje finamente molido provocan una fermentación que favorece la alta producción de ácido propiónico y como consecuencia reducción del porcentaje de grasa en la leche; las partículas muy finas de forraje no favorecen un proceso adecuado de rumia, lo que resulta en una baja producción de saliva (Cerón y Correa, 2005). La acción neutralizadora de la saliva contribuye a un ambiente en el rumen que favorece el crecimiento de microorganismos que digieren la fibra y que ayudan a mantener adecuadas relaciones de AGV (Abe y Iriki, 1978) para mantener el porcentaje de grasa de la leche, el tamaño medio de partícula debe ser de 6.25 mm o mayor, es necesario para mantener el porcentaje molar de ácido propiónico en el rumen menor a 25% y el porcentaje de grasa mayor a 3.6%, además dice que el molido muy fino de los granos (<3.18 mm) y la peletización de los granos son factores que influyen negativamente en el porcentaje de grasa de la leche (Campabadall, 1999; Clark y Armentano, 2002).

1.8.3 Efecto de la relación MS forraje vs. MS concentrado

La relación de MS forraje vs. MS concentrado en la dieta afecta la alimentación y la digestión en vacas lecheras a través de mecanismos físicos y químicos; los controles físicos incluyen distensión ruminal y limitaciones en el tiempo invertido para comer y rumiar (Allen, 2000). Los cambios en el porcentaje de grasa por efecto de la manipulación de la dieta, son el producto de cambios en la fermentación del rumen; los precursores necesarios (AGV: ácido acético) por la célula mamaria para sintetizar la grasa de la leche son generados durante la fermentación, por lo tanto, ciertas características de la dieta que altere el patrón de fermentación ruminal, también afectan el contenido de grasa en la leche

(Campabadall, 1999, Cerón y Correa, 2005). La alteración de la fermentación, marca la producción de AGV a nivel del rumen como resultado de cambios en la proporción de MS forraje vs. MS concentrado, esto también puede afectar la ingesta y las respuestas digestivas; excesos de fermentación en la producción de AGV con dietas bajas en forraje, conducen a un bajo pH ruminal, el cual puede disminuir la digestibilidad de la dieta (Voelker *et al*, 2002).

El exceso de alimento concentrado en la dieta puede suspender completamente la actividad ruminal, cuando la relación MS forraje: MS concentrado es menor a 60:40, se afecta la producción de saliva que actúa como neutralizador (amortiguador) y la falta de un amortiguador en el rumen lleva a una reducción adicional del pH; la digestión de la celulosa se reduce porque las bacterias que la digieren son sensibles a un pH ruminal bajo y en estas condiciones predominan las bacterias que producen ácido láctico (Sutton, 1985; Linn, 1988; Cerón y Correa, 2005). El factor nutricional que más afecta el contenido de grasa en la leche es una inadecuada proporción de material fibroso relativo a la cantidad de carbohidratos fermentables en la dieta, con la consecuencia que se produce una reducción en la producción microbiana de precursores de grasa, que son el ácido acético y el butírico, y un aumento en la producción de ácido propiónico, esta situación produce el llamado “síndrome de baja producción de grasa” (Linn, 1988). El síndrome de baja producción de grasa en la leche, se presenta por dietas altas en energía proveniente de carbohidratos rápidamente fermentables del catabolismo de las grasas, puede llegar hasta el 60% de reducción de la grasa láctea y genera cambios en la composición de esta (Banks *et al* 1983; Linn, 1988).

Cuando las vacas lecheras reciben dietas alimenticias altas en concentrado y bajas en fibra, tiene una alta correlación con aumento en la proporción ruminal de propionato frente al acetato (Frobish y Davis, 1977). El porcentaje de grasa está influenciado positivamente cuando existe en el rumen un alto porcentaje molar de ácido acético y butírico, pero es afectado negativamente cuando el porcentaje molar de ácido propiónico sobrepasa al 25%; un incremento lineal en el porcentaje

de grasa en la leche ocurre cuando la relación acetato: propionato aumenta hasta 2.2:1; después de esto, los cambios son mínimos. Consecuentemente, cualquier cambio alimenticio que promueva la producción de ácido propiónico, altera esa relación y afecta el porcentaje de grasa en la leche (Linn, 1988; Campabadall, 1999).

1.8.4 Tipo de alimento balanceado

La fuente de carbohidratos fermentables a nivel ruminal y el procesamiento de los ingredientes que conforman el alimento influyen en el porcentaje de grasa láctea (Linn, 1988). Sutton (1985) reportó que la baja degradabilidad del grano de maíz (*Zea mays* L.) comparado con la cebada (*Hordeum vulgare* L.), debería resultar en la producción de leche con alto porcentaje de grasa. Cuando se reemplaza la cebada con maíz molido, se reduce la proporción de energía digestible (ED) en rumen; el 94% del almidón de la cebada fue fermentado en rumen comparado con el 74% del almidón del maíz y el 76% del sorgo (*Sorghum* sp) (Waldo, 1973). Dietas con base a cebada, en comparación con las de maíz, tienden a reducir la digestibilidad de la fibra y dan como resultado una reducción de la relación acetato-propionato; la alta digestión de la cebada en el rumen produce más propionato y resulta en menos almidón que pasa al tracto digestivo posterior para conversión de glucosa que con el maíz (DePeters y Taylor, 1985). Sin embargo el incremento en propionato en el rumen estimula el rendimiento lechero más que la glucosa derivada directamente del maíz en el tracto digestivo posterior (DePeters y Taylor, 1985; Linn, 1988).

El procesamiento de los alimentos como el molido, prensado, calentamiento, formación de hojuelas con vapor y peletizado, aumenta la digestión ruminal de los almidones, por lo que se aumenta la producción microbiana del ácido propiónico y reduce el porcentaje de grasa en la leche (Linn, 1988). El modo de acción del propionato, sirve como precursor, para la producción de ácido láctico y glucosa, esto estimula la producción de insulina, la cual reduce la liberación de AG del

tejido adiposo y evita que estos sean usados para la síntesis de grasa en las células de la glándula mamaria (Campabadall, 1999).

La sustitución de cereales por carbohidratos solubles, como los encontrados en el suero y en ciertos tipos de melazas, previene una reducción en el porcentaje de grasa en la leche, pues estos carbohidratos solubles ayudan al crecimiento de los microorganismos que digieren la fibra, los cuales son la fuente principal de precursores de acetato, necesarios para la síntesis de AG (Kellogg 1969; Sutton, 1989).

1.8.5 Proteína dietética

La variación del contenido de proteína dietaria en rangos normales se considera que tiene no efectos sobre la concentración de grasa en la leche (Cerón y Correa, 2005), pero un incremento en la concentración de la proteína de la dieta de 12-14% a 18%, puede reducir la concentración de grasa en leche por encima de 0.5 unidades porcentuales (Sutton, 1989). Una cantidad insuficiente de proteína degradable en el rumen (<7% de la dieta), puede resultar en una reducción en la producción de grasa cuando la producción de amonio ruminal no es suficiente para estimular el crecimiento de los microorganismos que digieren la fibra, además de deprimir el CVMS (Allem, 1996; Cerón y Correa, 2005).

1.8.6 Grasa suplementaria

El principal propósito de incluir grasas y aceites en la dieta de vacas lecheras es incrementar el consumo de energía, eficiencia energética, rendimiento lechero y calidad de la grasa láctea (Smith *et al*, 1978; Chalupa *et al*, 1984; Sutton, 1989). La suplementación de las dietas normales con lípidos en porcentaje del 5-7% de la MS, usualmente incrementa el rendimiento lechero, pero la respuesta en concentración de grasa láctea es altamente variable, el incremento o la disminución de una unidad porcentual esta de acuerdo con la cantidad, forma

física y la composición de los AG (Sutton, 1989; Campabadall, 1999). El efecto de las grasas en la reducción del porcentaje de grasa en la leche, es por un resultado negativo en la fermentación ruminal; las grasas interfieren con la fermentación de la fibra y consecuentemente con la producción de acetato, la adición de aceites tienen un efecto en la producción de AG tipo trans y estos causan una depresión en el porcentaje de la grasa de la leche (Sutton, 1989). La utilización de grasas protegidas, constituye una buena oportunidad para alterar la composición de AG en la leche; los AG presentes en esas grasas contribuyen a la síntesis de triglicéridos de la leche; entre un 20 a un 40% de los AG poliinsaturados presentes en los lípidos protegidos y suplementados al ganado son transferidos a la leche (Osborne, 2007).

La utilización de semillas de oleaginosas enteras, trituradas o grasas protegidas, evita la depresión en el porcentaje de grasa de la leche, y en la mayoría de los casos aumentan su valor; esto se debe a que evitan la interacción con los microorganismos ruminales (Campabadall, 1999).

1.8.7 Manejo de la alimentación

Las estrategias de alimentación pueden causar un efecto en el porcentaje de grasa en la leche; el número de veces que se ofrece el alimento balanceado a vacas en pastoreo o la ración total mezclada (TMR) para vacas en sistemas de estabulación, así como la cantidad que se ofrece en un momento dado y la disponibilidad de forraje tiene un efecto importante sobre el pH del rumen y la presencia de acidosis subclínica (Sutton, 1989). La leche de vacas Holstein alimentadas con TMR frente a vacas en pastoreo (*Avena sativa* L.) suplementadas con maíz, maíz más grasas protegidas (grasas cálcicas), los niveles de CLA fueron mayores en pastoreo y aumentaron con el tiempo de suplementación (Schroeder *et al*, 2003). Entre más veces se ofrezca el alimento a las vacas, mejor será su utilización, pues se estabiliza el ambiente ruminal; el mayor efecto

se encuentra cuando se aumenta la frecuencia a seis o más veces y no se ofrece más de tres kilogramos de concentrado por comida (Sutton *et al*, 1988).

1.8.8 Uso de agentes neutralizantes (buffers) y otros aditivos

Se utilizan algunos productos (aditivos) para manipular el pH ruminal (Cerón y Correa, 2005), estos aditivos pueden ser de naturaleza alcalina (aumentan el pH ruminal) o neutra (estabilizan el pH ruminal) para que se den las condiciones adecuadas que faciliten los procesos fermentativos de los recursos forrajeros (Van Soest, 1994). El uso de estos agentes neutralizantes (bicarbonato de sodio NaHCO_3 , bicarbonato de potasio KHCO_3 , calcio Ca , óxido de magnesio MgO y bentonita $\text{SiO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ayuda a mantener un pH ruminal entre 6.2-6.8 que facilita la digestión de la fibra y una producción deseable de AGV; cuando se produce más propionato de lo normal provoca cambio en la población de microorganismos afectando la relación acetato-propionato y aumenta la digestibilidad de la FDA (Linn, 1988). El bicarbonato de sodio (NaHCO_3) ha sido utilizado con éxito para mantener o aumentar el porcentaje de grasa en la leche, especialmente cuando se utiliza ensilaje de maíz como fuente principal de forraje (Snyder *et al*, 1983; Linn, 1988). El mayor efecto del bicarbonato de sodio se da al inicio de la lactancia, el nivel de inclusión debe ser de 0.7% del total de la MS o del 1 al 2% en el concentrado; de forma práctica una vaca debe recibir entre 140 a 180 g día⁻¹ (Van Soest, 1994; Cerón y Correa, 2005). En ciertas ocasiones, el uso de bicarbonato de sodio no ayuda a controlar la disminución de grasa en la leche; esto se debe a que la cantidad de alimento balanceado que contiene el agente neutralizante y que se le suministra a las vacas es muy alta para una sola comida, por lo que el bicarbonato ayuda a neutralizar el pH en el momento que llega al rumen, pero pierde su efecto conforme se van fermentando los carbohidratos no estructurales que causan una disminución en el pH del rumen. Esto es común cuando los alimentos balanceados son altos en carbohidratos no estructurales (>50%) y estos se suministran en cantidades mayores a 3 kg por comida (Campabadall, 1999).

El óxido de magnesio ha demostrado prevenir la depresión en el porcentaje de grasa en la leche; sin embargo el mecanismo de acción es a través de la transferencia de lípidos dentro de la glándula mamaria provenientes de la sangre, más que de un cambio en los patrones de fermentación ruminal (Linn, 1988). La suplementación en forma práctica de este producto es de 0.6% de la MS o 50 a 100 g vaca día⁻¹ (Cerón y Correa, 2005).

El hidróxido análogo de la metionina (MHA), que es incluido en dietas altas en energía aumenta el porcentaje de grasa de la leche, y el mayor efecto se produce al inicio de la lactancia. El nivel de MHA utilizado es de 25 g vaca día⁻¹ durante los primeros 120 días de lactación, dicho valor produjo un aumento en la grasa de la leche de 0.35 unidades porcentuales. El producto tiene la desventaja de que no es muy palatable y su respuesta varía según el tipo de forraje utilizado y la restricción de la metionina en la ración (Campabadall, 1999; Cerón y Correa, 2005). Factores que influyen en la respuesta al MHA: el estado de lactación (menor a cien días posparto), producción de leche menor a 22 kg día⁻¹, nivel de metionina en la dieta (0.15% en la dieta con base en materia seca o 25 a 30 g vaca día⁻¹), dietas altas en concentrados (>50% en la ración de materia seca) y concentraciones bajas de proteína dietética (< 15%) (Hutjens, 1994; Cerón y Correa, 2005). El modo de acción del MHA incluye la síntesis de lipoproteínas, aumento en la digestión de la celulosa, incremento en el número de protozoarios y además, un incremento de la relación acetato-propionato (Campabadall, 1999).

La monensina puede producir una reducción del porcentaje de grasa en la leche, pues este producto reduce los microorganismos ruminales (gram +) que originan el ácido acético, favoreciendo la obtención de ácido propiónico y disminuyendo la relación acetato-propionato (Campabadall, 1999, Cerón y Correa, 2005).

1.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abe M and Iriki T. Effects of diet on the protozoa population in permeable continuous cultures of rumen contents. 1978. Br. J. Nutr. 39, 255.

Agudelo G G. Capítulo 5 Carbohidratos. Fundamentos de nutrición animal aplicada. 2001. Edición 1. Editorial Universidad de Antioquia. Pags.346.

Allen M S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. 2000. J. Dairy Sci. 83:1598–1624.

Allen M S. 1996. Physical Constraints on Voluntary Intake of Forages by Ruminants. Journal of Animal Science. 74:3063-3075.

Álvarez C J L. 2008. Interpretación de los perfiles metabólicos: indicadores asociados al metabolismo energético del rumiante capítulo 2. Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico. Editorial Universidad de Antioquia. Primera reimpresión. P 30-59.

Angulo J, Mahecha L, Nuernberg K, Nuernberg G, Dannenberger D, Olivera M, Boutinaud M, Leroux C, Albrecht E and Bernard L. 2012. Effects of polyunsaturated fatty acids from plant oils and algae on milk fat yield and composition are associated with mammary lipogenic and SREBF1 gene expression. Animal (2012), 6:12, pp 1961–1972. The Animal Consortium.

Angulo J, Mahecha L, Giraldo M y Olivera M. 2005. Prostaglandinas y grasa de la leche: síntesis a partir de ácidos grasos poliinsaturados, en bovinos. En: Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca. Editores Martha Pabón y Jorge Ossa. Editorial Biogénesis. Medellín, Colombia. Pag 91-110. Total 330 p.

Angulo J, Mahecha L y Olivera M. 2009. Síntesis, composición y modificación de la grasa de la leche bovina: Un nutriente valioso para la salud humana. Rev.MVZ Córdoba 14(3):1856-1866.

Banks W, Clapperton J L, and Steele W. 1983. Dietary manipulation of the content and fatty acid composition of milk fat. Proc. Nutr. Soc. 42:399.

Bauman D E, and Lock A L. 2006. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf. pp. 1-14.

Bauman D E, Perfield II J W, de Veth M J, and Lock A L. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. Proc. Cornell Nutr. Conf. pp. 175-189.

Beam S W and Butler W R. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. Journal of Reproduction and Fertility. 54S: 411-424.

Belury M A. 2002. Inhibition of Carcinogenesis by Conjugated Linoleic Acid: Potential Mechanisms of Action. Recent Advances in Nutritional Sciences. J. Nutr. 132: 2995–2998.

Boeckaert C, Vlaeminck B, Dijkstra J, Issa-Zacharia A, Van Nespen T, Van Straalen W and Fievez V. 2008. Effect of dietary starch or micro alga supplementation on rumen fermentation and milk fatty acid composition of dairy cows. Journal of Dairy Science 91, 4714–4727.

Campaball C. 1997. Factores que afectan el contenido de sólidos de la leche. Memorias II Seminario internacional sobre calidad de la leche. Competitividad y proteína. Medellín, noviembre 4 y 5. P 91-111.

Caroprese M, Marzano A, Marino R, Gliatta G, Muscio A and Sevi A. 2010. Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. *J. Dairy Sci.* 93: 2580–2588 doi: 10.3168/jds.2008-2003.

Cerón A J M y Corra C H J. 2005. Factores nutricionales que afectan la composición de la leche. . En: *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca.* Editores Martha Pabón y Jorge Ossa. Editorial Biogénesis. Enero. Medellín, Colombia. Pag 229-261. Total 330 p.

Chalupa W, Rickabaugh B, Kronfeld D S and Sklan D. 1984. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.* 67:1439.

Clark P W and Armentano L E. 2002. Influence of Particle Size on the Effectiveness of the Fiber in Alfalfa Silage. *J. Dairy Sci.* 85:3000–3007.

Cooper S L, Sinclair L A, Wilkinson R G, Hallett K G, Enser M and Wood J D. 2004. Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid content of muscle and adipose tissue in lambs. *J ANIM SCI.* 82: 1461-1470.

Correa C H J, Pabón R M L y Carulla F J E. 2008. Valor nutricional del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hoechst Ex Chiov.) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): I - Composición química y digestibilidad ruminal y posruminal. *Livestock Research for Rural Development.* Volume 20, Article #59.

Czerkawski J W. 1986. Chapter 11. Manipulation of rumen fermentation. An introduction to rumen studies. Firts edition. Pags. 233.

Davis C L. 1990. *Fats in Animal Feeds.* Barnaby Inc., Sycamore, IL.

DePeters E J and Taylor S J. 1985. Effects of feeding corn or barley on composition of milk and diet digestibility. *J. Dairy Sci.* 68:2027.

Dewhurst R J, Shingfield K J, Lee M R F, and Scollan N D. 2006. Increasing the concentrations of beneficial fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.* 131:168–206.

Dobson H, Smith R, Royal M, Knight C and Sheldon I. 2007. The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reproduction in Domestic Animals.* 42(2): 17-23.

Erdman L E. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow. *J. Dairy. Sci.* 71:3246-3266.

Frandsen R D y Spurgeon T L. 1995. Los alimentos y su procesamiento químico básico Capítulo 21. Fisiología y anatomía de los animales domésticos. USA. P346-361.

Frobish R A and Davis C L. 1977. Theory Involving Propionate and Vitamin B12 in the Low-Milk Fat Syndrome. Volume 60, Issue 2, Pages 268-273.

Gandajo T y López P. 2004. Efectos de la suplementación oral con calcio y ácido linoleico conjugado en primigrávidas de alto riesgo. *Colombia Médica.* Vol 35. No. 1. P 31- 36.

Giesy J G, McGuire M A, Shafii B and Hanson T W. 2002. Effect of dose of calcium salts of conjugated linoleic Acid (CLA) on percentage and fatty acid Content of milk fat in midlactation Holstein cows. *J. Dairy. Sci.* 85:2023-2029

Gómez C P. 2010. Efecto de la suplementación de la dieta ovina con distintas fuentes lipídicas sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Tesis Doctoral.

Departamento de Química Física I. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Complutense de Madrid. P.233.

Gonzales G A. 2008. Lípidos Capítulo 6. Fundamentos de nutrición aplicada. Ciencia y tecnología. Editorial Universidad de Antioquia. Edición primera. Medellín. P 67–75.

Grummer R R and Carroll D J. 1988. A Review of Lipoprotein Cholesterol Metabolism: Importance to Ovarian Function. *J Anim Sci.* 66:3160-3173.

Halmemies-Beauchet-Filleau A, Kairenius P, Ahvenjärvi S, Crosley L K, Muetzel S, Huhtanen P, Vanhatalo A, Toivonen V, Wallace R J, and Shingfield K J. 2013. Effect of forage conservation method on ruminal lipid metabolism and microbial ecology in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *J. Dairy Sci.* 96: 2428–2447.

Harfoot C G, Noble R C and Moore J H. 1973. Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms in vitro. *J. Sci. Food Agric.* 24:961.

Harfoot, C G and Hazlewood G P. 1997. Lipid metabolism in the rumen. In: P. N. Hobson and C. S. Stewart (ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem.* pp 382-426. Chapman & Hall, London, UK.

Harfoot C G and Hazlewood G P. 1988. Lipid metabolism in the rumen. The rumen microbial ecosystem. (Ed) Hobson P N. Elsevier applied publishers. London. pp 238 a 332.

Herrera J A, Shahabuddin A K M, Facial M, Ersheng G, Wie J, Lixia D. 2004. Efectos de la suplementación oral con calcio y ácido linoleico conjugado en primigrávidas de alto riesgo. *Colombia Médica.* Vol. 35 N° 1. P 31-37.

Hutjens M F. 1994. Selecting feed aditives. Proc.Dairy Nutrition Conference. University of Florida. p 309-319.

Ikwuegbu O A and Sutton J D. 1982. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep.Br. J. Nutr. 48:365.

Jenkins T C. 1995. Butylsoyamide Protects Soybean Oil from Ruminal Biohydrogenation: Effects of Butylsoyamide on Plasma Fatty Acids and Nutrient Digestion in Sheep. J. Anim. Sci. 73:818-823.

Jenkins T C. 1993. Lipid metabolim in the rumen. Journal Dairy Science. 76:3851-3863.

Jensen R T G, Ferris A M and Lammi-Keefe C J. 1991.The Composition of Milk Fat. Symposium: milk fat-composition, function, and potential for change. J. Dairy Sci.74:3228-3243.

Kellens M J, Goderis H L and Tobback P P. 1986. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by a mixed culture of rumen microorganisms. Biotechnol. Bioeng. 28:1268.

Kellogg D W. 1969. Influence of sucrose on rumen fermentation pattern and milk fat content of cows fed a high-grain ration. J. Dairy Sci. 52:1601.

Kepler C R, Tucker W P, and Tove S B. 1970. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate $\sim 12_{cis}$, $\sim 1_{trans}$ isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*. J. Biol. Chern. 245:3612.

Khanal R C, Dhiman T R. 2004. Biosynthesis of conjugated linoleic acid (CLA): A review. Pakistan Journal Nutrition 3:72-81.

Kim E J, Huws S A, Lee M R F and Scollan N D. 2009. Dietary Transformation of Lipid in the Rumen Microbial Ecosystem. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 22, No. 9: 1341 – 1350.

Kluesmeyer T H and Clark J H. 1991. Effects of Dietary Fat and Protein on Fatty Acid Flow to the Duodenum and in Milk Produced by Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* Volume 74, Issue 9, September, Pages 3055–3067.

Linn J G. 1988. Factors affecting the composition of milk from dairy cows. In: *Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace.* Pags 384.

Loor J J, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y and Doreau M. 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87:2472-2485.

Loor J J, Herbein J H and Polan C E. 2002. Trans18:1 and 18:2 Isomers in Blood Plasma and Milk Fat of Grazing Cows Fed a Grain Supplement Containing Solvent-Extracted or Mechanically Extracted Soybean Meal. *J. Dairy Sci.* 85:1197–1207.

Mcdonald P, Edwards R A, Greenhalgh J F D y Morgan C A. 2002. Lactación capítulo 16. *Nutrición Animal.* Editorial Acribia. Sexta edición. S.A. Zaragoza España. P 578-349.

Mcdonald P, Edwards R A, Greenhalgh J F D and Morgan C A. 2002. Lípidos capítulo 3. Lactación capítulo 16. *Nutrición Animal.* Editorial Acribia. Sexta edición. S.A. Zaragoza España. P 578-27.

Mozzon M, Frega N G, Fronte B and Tocchini M. 2002. Effect of Dietary Fish Oil Supplements on Levels of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids, trans Acids and Conjugated Linoleic Acid in Ewe Milk. *Food Technol. Biotechnol.* 40 (3) 213–219.

OECD 1999. OECD Agricultural Outlook, 1999-2004. OECD: Paris, France.

Oltenacu P A and Broom D M. 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare*. 19(S): 39-49
ISSN 0962-7286.

Osborne V R, Radhakrishnan S, Odongo N E, Hill A R and McBride B W. 2008. Effects of supplementing fish oil in the drinking water of dairy cows on production performance and milk fatty acid composition. *J ANIM SCI*; 86:720-729.

Palmquist DL. 1984. Use of fats in diets for lactating dairy cows. Ch 18 in: *Fats in Animal Nutrition*. Wiseman J. (ed). Butterworths, Londres, Inglaterra.

Pappritz J, Meyer U, Kramer R, Weber EM, Jahreis G, Rehage J, Flachowsky G and Dänicke S. 2011. Effects of long-term supplementation of dairy cow diets with rumen-protected conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. In: *Archives of Animal Nutrition*. Vol. 65, No. 2, April 2011, 89–107.

Ramírez L R G. 2003. *Nutrición de rumiantes. Sistemas intensivos*. Editorial Trillas. Primera edición. México D F. 304 pag.

Rojas C I, Pabón M L, y Carulla J. 2005. Ácido linoléico conjugado (ALC) Factores dietarios que afectan su contenido en leche. En: *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca*. Editores Martha Pabón y Jorge Ossa. Editorial Biogénesis. Enero. Medellín, Colombia. Pag 91-110. Total 330 p.

Rojas A y Palavicini G. 1996. Suplementación con grasas sobrepasantes a vacas de alta producción en pastoreo. *Agronomía Costarricense*. San José, Costa Rica. 20(1): 81-85.

Rojo B J M, Montoya S J E y Sierra J O. 2012. Relación entre el Brix del pasto y el aporte de energía para el bovino. Grados Brix y pH del jugo de la planta. Como

medio para determinar la salud y la calidad en pastoreo. Edición 1. Editorial Académica Española. Pags.100.

Sasaki H, Horiguchi K and Takahashi T. 2001. Effects of different concentrate and roughage rations on ruminal balance of long chain fatty acids in sheep. *J. Anim. Sci.* Vol 14, No.7 960-965.

Schroeder G F, Delahoy J E, Vidaurreta I, Bargo F, Gagliostro G A and Muller L D. 2003. Milk Fatty Acid Composition of Cows Fed a Total Mixed Ration or Pasture Plus Concentrates Replacing Corn with Fat. *J. Dairy Sci.* 86:3237–3248.

Sierra P J O. 2015. El componente forrajero en ganadería de leche en trópico alto. pp. 515-539. En: Aprovechamiento racional y utilización eficiente de pasturas y cultivos forrajeros en el trópico. Centro de publicaciones UNAL de Colombia sede Medellín. Agosto. Pags.682.

Sierra P J O. 2011. Enfoque agroecológico en la ganadería tropical. Capítulo 3. Producción y manejo agroecológico de pasturas y cultivos forrajeros. Edison 1. Editorial Universidad de Antioquia. Pag. 485.

Singh S and Hawke J C. 1979. The in vitro lipolysis and biohydrogenation of monogalactosylglyceride by whole rumen contents and its fractions. *J. Sci. Food Agric;* 30:603-612.

Smith N E, Dunkley W L and Franke A A. 1978. Effects of feeding protected tallow to dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 61:747.

Snyder T J, Rogers J A and Muller L D. 1983. Effects of 1.2% Sodium Bicarbonate with Two Ratios of Corn Silage:Grain on Milk Production, Rumen Fermentation, and Nutrient Digestion by Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 66:1290-1297.

Soita H W, Christensen D A and McKinnon J J. 2000. Influence of Particle Size on the Effectiveness of the Fiber in Barley Silage. *J Dairy Sci.* 83:2295–2300.

Sutton J D. 1989. Altering milk composition by feeding. *J. Dairy. Sci.* 72:2801.2814.

Sutton J D. 1985. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *J. Dairy Sci.* 68:3376.

Sutton J D, Hart I C, Morant S V, Schuller E and Simmonds A D. 1988. Feeding frequency for lactating cows: diurnal patterns of hormones and metabolites in peripheral blood in relation to milk fat concentration. *Br.J. Nutr.* 60:265.

Teter B B, Sampugna J and Keeney M. 1990. Milk fat depression in C57B1/6J mice consuming partially hydrogenated fat. *J. Nutr.* 120:818-824.

Van Soets P J. 1982. Evaluación de forrajes y calidad de los alimentos para rumiantes. Profesor. Departamento de Ciencia Animal. Universidad de Cornell. Ithaca. Nueva York. Pag. 85-108.

Van Soets P J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Second edition. Pags 479.

Voelker J A, Burato G M and Allen M S. 2002. Effects of Pretrial Milk Yield on Responses of Feed Intake, Digestion, and Production to Dietary Forage Concentration. *J. Dairy Sci.* 85:2650–2661.

Waldo D R. 1973. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 37:1062.

Wang Y and McAllister T A. 2002. Rumen Microbes, Enzymes and Feed Digestion-A Review. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol 15, No.11: 1659-1676.

Wonsil B J, Herbein J H and Watkins B A. 1994. Dietary and ruminally derived trans-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids. *J. Nutr.* 124:556-65.

Wu Z, Ohajuruoka O A, and Palmquist D L. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids cows. *J.Dairy. Sci.* 74:3025-3034.

Zachut M, Arieli A, Lehrer H, Livshitz L, Yakoby S and Moallem U. 2010. Effects of increased supplementation of n-3 fatty acids to transition dairy cows on performance and fatty acid profile in plasma, adipose tissue, and milk fat. *J. Dairy Sci.* 93: 5877–5889 doi: 10.3168/jds.2010-3427.

CAPÍTULO II

2. Digestibilidad *in vitro* de la materia seca y materia orgánica de dietas con grasas ricas en ω_6 y ω_3 para vacas Holstein

2. *In vitro* digestibility of dry matter and organic matter of diet with fats rich in ω_6 and ω_3 for Holstein cows

2. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica de dietas suplementadas com gorduras ricas fontes de ω_6 e ω_3 para vacas da raça Holstein

Juan M Rojo¹, Zoot, Esp, MSc(c); Ricardo R Noguera¹, Zoot, Esp, MSc, PhD.
Grupo de Investigación Sobre Ciencias Agrarias (GRICA), Escuela de producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

2.1. Resumen

Antecedentes: la suplementación de dietas para vacas lecheras con fuentes de grasa ricas en ω_6 y ω_3 puede interferir con la degradabilidad ruminal de la materia seca y la materia orgánica. **Objetivo:** en este experimento se evaluó el efecto de la suplementación de vacas Holstein en pastoreo con fuentes de grasa ricas en ω_6 y ω_3 sobre la degradabilidad *in vitro* de la materia seca y la materia orgánica. **Métodos:** se utilizaron 3 vacas Holstein fistuladas a nivel del rumen de donde se extrajo licor ruminal. Los datos se sometieron a análisis de medidas repetidas en el tiempo y se analizaron con PROC MIXED de SAS, considerando como efectos fijos el periodo de incubación y el tratamiento, y como efecto aleatorio el inoculo; los tratamientos (GI₀, GI₂, GI₃ y GI₄) se refieren a los niveles de inclusión de aceite de girasol y aceite de pescado fuentes de ω_6 y ω_3 respectivamente. Para el modelo de degradabilidad *in vitro* de la materia seca y la materia orgánica, los datos se analizaron con PROC NLIN (no lineal) SAS. **Resultados:** no se presentó efecto significativo ($p>0.05$) en los parámetros de producción de gas (VF, L y C), al

igual que en los parámetros de degradabilidad ruminal de la materia seca y la materia orgánica (A, B, C y L), ni para la degradabilidad ruminal final a las 96 horas para materia seca y materia orgánica. **Conclusiones:** la inclusión de fuentes de grasa ricas en ω_6 y ω_3 en la suplementación de dietas para vacas lecheras en los niveles utilizados en este estudio, no afectó degradabilidad *in vitro* de la materia seca y de la materia orgánica.

Palabras clave: *ácidos omega, degradabilidad, lípidos,*

2.2. Summary

Background: Supplementation of dairy cow diets with fat sources rich in ω_6 and ω_3 can interfere with ruminal degradability of dry matter and organic matter. **Objective:** In this experiment the effect of supplementation of grazing Holstein cows with fat sources rich in ω_6 and ω_3 on *in vitro* degradability of dry matter and organic matter were evaluated. **Methods:** Using three fistulae Holstein cows rumen level where rumen fluid extracted. Data were subjected to repeated measures analysis over time and analyzed using SAS PROC MIXED, Considering as fixed effects the incubation period and treatment, and as a random effect inoculum; treatments (GI₀, GI₂, GI₃ and GI₄), refers to the inclusion levels of sunflower oil and fish oil sources of ω_6 y ω_3 for the model of *in vitro* degradability of dry matter and organic matter, the data were analyzed using PROC NLIN (not linear) SAS. **Results:** did not show significant effect ($p > 0.05$) in the gas production parameters (VF, L and C), as in the parameters of ruminal degradability of dry matter and organic matter (A, B, C and L), or for the end ruminal degradability. At 96 hours for dry matter and organic matter **Conclusions:** the incorporation of fat sources rich in ω_6 and ω_3 supplementation in dairy cattle diets at the levels used in this study had no effect *in vitro* degradability of dry matter and organic matter.

Keywords: *acids omega, degradability, lipids,*

2.3. Resumo

Antecedentes: A suplementação de dietas de vacas leiteiras com fontes de gordura ricas em ω_6 e ω_3 pode interferir com a degradabilidade ruminal da matéria seca e matéria orgânica. **Objetivo:** Neste experimento foram avaliados o efeito da suplementação de pastar vacas da raça Holandesa com fontes de gordura ricas em ω_6 e ω_3 na degradabilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica. **Métodos:** Utilizando três fistulados vacas Holstein nível de rúmen, onde líquido ruminal extraído. Os dados foram submetidos à análise de medidas repetidas ao longo do tempo e analisados utilizando SAS PROC MIXED, considerados como efeitos fixos o período de incubação e tratamento, e como um efeito aleatório inoculo; tratamentos (GI₀, GI₂, GI₃ e GI₄), refere-se aos níveis de inclusão de óleo de girassol e óleo de peixe fontes de ω_6 y ω_3 respectivamente. Para o modelo degradabilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica, os dados foram analisados usando PROC NLIN (não linear) SAS. **Resultados:** não mostrou efeito significativo ($p > 0,05$) nos parâmetros de produção de gás (VF, L e C), como nos parâmetros de degradabilidade ruminal da matéria seca e matéria orgânica (A, B, C e L), ou para a degradabilidade ruminal final em 96 horas de matéria seca e da matéria orgânica. **Conclusões:** a incorporação de fontes de gordura ricas em ω_6 e ω_3 suplementação de dietas para bovinos leiteiros nos níveis utilizados neste estudo não tem efeito na degradabilidade *in vitro* da matéria seca e matéria orgânica.

Palavras-chave: *degradabilidade, lipídios, ômega gordo*

2.4. Introducción

El uso de grasas insaturadas como suplemento dietético para vacas lecheras de alta producción puede generar alteraciones en el metabolismo ruminal, las cuales afectan negativamente la degradabilidad *in vitro* de la materia seca (MS) y de la

materia orgánica (MO) (Jenkins y Palmquist, 1984; Jenkins, 1993; Hervas *et al*, 2005). Un factor muy importante que influye en los procesos fermentativos a nivel ruminal, es la estructura química de los ácidos grasos (AG) y su cantidad dentro de la ración (Jenkins, 1993). En general AG con alto grado de insaturación disturban los procesos de fermentación y digestibilidad de la fibra a nivel ruminal, esto ocasiona una baja producción de acetato (Ikwuegbu y Sutton, 1982).

La digestión ruminal de los carbohidratos puede reducirse en 50% o más, cuando la dieta es suplementada cerca del 10% de grasa con relación a la MS (Jenkins y Palmquist, 1984); dicha reducción en la digestión es acompañada por una disminución en la producción de metano, hidrógeno, y ácidos grasos volátiles (AGV), incluyendo una baja relación acetato:propionato (Ikwuegbu y Sutton, 1982; Chalupa *et al*, 1984). Bock *et al* (1991) encontraron que la digestibilidad de la MS y la fibra disminuyó cuando la dieta se suplementaba con grasa. La actividad de los microorganismos del rumen se ve afectada cuando se suplementa con fuentes grasas (Bock *et al*, 1991; Jenkins, 1993), la inclusión de aceite de pescado al 3% de la MS reduce la ingesta alimento, (Donovan *et al*, 2000; Osborne *et al*, 2008).

El ambiente ruminal no se afecta con la inclusión de AG insaturados protegidos a un nivel del 8% de la MS, esto se pudo corroborar, ya que no se disminuyó la degradabilidad de la MS y MO de la dieta (Arenas *et al*; 2010). Tampoco se encontró efecto negativo sobre la degradabilidad de la MS y MO en rumen de vacas lecheras suplementadas a un nivel de 5% de grasa con una mezcla de aceite de pescado y aceite de semilla de girasol (1:4) (AbuGhazaleh y Holmes, 2007), debido probablemente a la lenta liberación del aceite dentro del rumen (Coppock y Wilks, 1991). Sutton (1989) encontró que la inclusión de lípidos protegidos entre 6 a 8% de la MS de la dieta generalmente incrementa los rendimientos lecheros sin afectar los procesos de fermentación ruminal. Jenkins (1993) afirma que cuando se suplementa la dieta de las vacas lecheras con lípidos a un nivel del 5 a 6% de la MS no se afectan los patrones normales de fermentación ruminal.

El mejoramiento genético de vacas lecheras buscando animales con mayores niveles de producción, ha ido de la mano con un aumento de sus requerimientos nutricionales, principalmente de energía para la producción de leche. Existe una limitación en la capacidad de ingestión voluntaria de materia seca (IVMS) y en su digestibilidad (Posada y Noguera, 2005) cuando se utilizan bases forrajeras de especies tropicales (C_4) como el kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone). Las hojas de estas especies poseen mayor número de haces vasculares y menor proporción de células en el mesófilo, características estas, que las hacen de mayor contenido en pared celular y como consecuencia presentan un menor de consumo y digestibilidad (Cowan y Lowe, 1998). La necesidad de cubrir unos niveles mínimos de fibra que no afecten la producción y la composición de la leche, determinan la implementación de grasas suplementarias en la formulación de raciones alimenticias para vacas lecheras, buscando mejorar el balance energético en la lactancia temprana y la producción de alimentos que beneficien la salud humana (Baumgard *et al*, 2002).

La técnica de producción de gases es un método *in vitro* que permite determinar la extensión y la cinética de degradación de la MS y la MO del pasto con la utilización de suplementos grasos a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo (Theodorou *et al*, 1994; Posada *et al*, 2006). Con este trabajo se pretendió evaluar el efecto de la inclusión de grasas ricas en ω_6 y ω_3 sobre la degradabilidad de la MS y la MO en dietas para rumiantes.

2.5. Materiales y métodos

Localización

La cinética de degradación de la MS y la MO se determinó a través de la técnica *in vitro* de producción de gases (Rosero y Posada, 2007). El análisis de las muestras y el procedimiento experimental fueron realizados en el laboratorio NutriLab,

ubicado en la Sede de Investigación Universitaria de la Universidad de Antioquia, municipio de Medellín, a una altura sobre el nivel del mar de 1479 m.

Inóculo

Para el estudio fue utilizado líquido ruminal obtenido de tres vacas Holstein canuladas, mantenidas en el Centro de Producción Paysandú, propiedad de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, ubicado en el municipio de Medellín, corregimiento de Santa Elena, a una altitud de 2538 msnm, con temperatura media de 14°C, precipitación promedio anual de 2200 mm y perteneciente a la zona de vida bh-MB. La dieta de los animales donadores consistió de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone) de 42 días de edad y sal mineralizada a voluntad.

Preparación de medio, substratos e inoculación

Tratamientos

Los tratamientos utilizados en el experimento fueron:

Gl₀: sin adición de aceite de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 . Grasas insaturadas 0 (Gl₀).

Gl₂: con adición de aceite de girasol (ω_6) al 2% y aceite de pescado pelágico (ω_3) al 0.5%. Grasas insaturadas 2% (Gl₂).

Gl₃: con adición de aceite de girasol (ω_6) al 3% y aceite de pescado pelágico (ω_3) al 0.5%. Grasas insaturadas 3% (Gl₃).

Gl₄: con adición de aceite de girasol (ω_6) al 4% y aceite de pescado pelágico (ω_3) al 0.5%. Grasas insaturadas 4% (Gl₄).

Degradabilidad de la MS y la MO

Para determinar la degradación de la MS y la MO, días anteriores al experimento se colectaron las muestras de pasto y se secaron a 65°C por 72 horas, luego se molieron junto con las muestras de suplemento en un molino Thomas Wiley mill (Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA) utilizando una criba de 1mm de diámetro. Se pesó aproximadamente 0.5g de muestra por frasco en una relación de 60% de MS de pasto y 40% de MS de suplemento, se saturó con CO₂ (Theodorou *et al* 1994; Mauricio *et al*, 1999; Posada *et al*, 2006) y fueron mantenidos en condición de anaerobiosis; se utilizaron frascos ámbar de 110 ml. Se incluyeron frascos llamados blanco, los cuales sirven para realizar posibles ajustes de producción de gas, estos no poseen muestra en su interior, solo incluyen la saliva artificial y el inóculo ruminal (Theodorou *et al*. 1994; López *et al*. 1998).

Preparación del medio de cultivo

La solución tampón se preparó un día antes del inicio del experimento, según las recomendaciones de McDougall, (1948) y Arenas *et al*, (2010): 9.8 g/l de NaHCO₃ (bicarbonato de sodio), 7 g/l de Na₂HPO₄.7H₂O (fosfato disódico heptahidratado), 0.57 g/l de KCl (cloruro de potasio), 0.47 g/l NaCl, 0.12 g/l de MgSO₄.7H₂O (sulfato de magnesio heptahidratado), 0.04 g/l de CaCl₂ (cloruro de calcio). Estos reactivos fueron disueltos totalmente en agua destilada, luego la solución fue saturada con CO₂ y mantenida en una estufa de ventilación forzada a 39°C.

Montaje del experimento

Preparación del inóculo e inoculación

La colecta del líquido ruminal se realizó a las 06:35 am. Se utilizó el inóculo de tres vacas Holstein canuladas. La digesta se retiró manualmente del rumen, se exprimió para extraer el líquido ruminal; éste fue almacenado en tres termos previamente calentados con agua a 40°C para su transporte al laboratorio NutriLab de la Universidad de Antioquia. El transporte tuvo una duración

aproximada de 40 minutos, se colocó una pequeña fracción de pasto en el interior del termo para mantener denso el fluido y con volumen, además ayudó a controlar la temperatura; de manera simultánea en el laboratorio se prepararon los frascos para incubación, en cada frasco se vertió 45ml de solución tampón aplicada lentamente por las paredes evitando que la muestra se quede adherida a las mismas y favoreciendo la humectación de dicha muestra. Una vez llenos todos los frascos colocaron en el horno a 39⁰C a la espera de que llegara el líquido ruminal para ser inoculados.

Cuando llegó el líquido ruminal al laboratorio se filtró rápidamente a través de paños de algodón evitando la pérdida de temperatura y el contacto con el oxígeno del ambiente; luego se saturó con CO₂ y se colocó en el baño de maría a 39⁰C, se envasó en Erlenmeyer y se tapó cada uno con papel aluminio para evitar la entrada de oxígeno y para conservar la temperatura de 39⁰C. Este procedimiento se realizó para garantizar que el inóculo resultante estuviera compuesto por microorganismos ruminales adheridos y no adheridos a la fibra (Theodorou *et al*, 1994 y Posada *et al*, 2006). Cuando se filtró los 3 inóculos ruminales, se sacó caja por caja del horno y de esta manera se aplicó el líquido teniendo en cuenta los 4 suplementos dietarios y según correspondiera a cada frasco el inóculo 1, 2 o 3. Se colocaron los frascos en el horno, se hicieron lecturas de producción de gas en los siguientes horarios después de la incubación para realizar la lectura de presión a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas para observar la cinética de degradación y la tasa de producción de gas. La presión fue medida en libras por pulgada cuadrada (PSI), después de cada lectura los frascos fueron agitados manualmente y devueltos a la estufa de incubación. Para transformar los datos de presión en volumen, fue utilizada la ecuación $Y = -0.1375 + 5.1385X + 0.0777X^2$, donde Y representa el volumen de gas producido por cada unidad de presión (X) (Posada *et al*, 2006). La presión dentro del frasco que ejerce el gas producido durante el proceso de fermentación se registró mediante punción a través del tapón de goma (14mm de diámetro), con una aguja hipodérmica acoplada a un manómetro Ashcroft® D1005PS Digital Pressure Gauge. Después de cada medición se liberó el gas hasta igualar las presiones externa e interna de los

frascos, para evitar que la actividad de los microorganismos pudiera afectarse por la acumulación excesiva de gas (Rymer *et al*, 2005). Las lecturas de presión y volumen se corrigieron teniendo en cuenta la altura sobre el nivel del mar a la cual se encuentra el laboratorio NutriLab (Posada *et al*, 2006).

Se retiraron frascos a las 6, 12, 24, 48, 72 y 96 horas para determinar la degradabilidad de la MS y la MO de las dietas, estos frascos se llevaron a filtración con bomba de vacío. Luego de la filtración los crisoles fueron llevados a secado en horno de ventilación forzada a 65°C durante 48 horas, luego fueron pasados al desecador. La MS y la MO degradada fue determinada por el secado del material filtrado a 65°C por 48 horas hasta obtener peso constante.

Análisis estadístico

Para estimar los parámetros de la cinética de fermentación ruminal y de la degradabilidad *in vitro* de la MS y de la MO, además de las curvas de producción de gases se ajustaron los modelos propuestos por Orskov y McDonald (1979) y France *et al.*, (1993), respectivamente.

Orskov y McDonald (1979):

$$Y = a + b \{1 - \exp(-c \cdot (t - L))\}$$

Dónde:

Y: Es la degradabilidad de la MS y de la MO en el tiempo t.

a: Fracción altamente degradable (%).

b: Fracción lentamente degradable o fracción degradada por los microorganismos (%).

c: Tasa de degradación (%h⁻¹).

t: Tiempo (h).

L: Tiempo de colonización (h).

France et al, (1993):

Dónde:

$$V_t = V_f * \{1 - \exp[-u*(t-L) - k*(\sqrt{t} - \sqrt{L})]\}$$

V_t = Volumen total de gas en el tiempo t

V_f = Volumen de gas correspondiente a la completa digestión del sustrato (asíntota) (ml)

u = parámetro de ajuste del modelo

L = tiempo de colonización (h)

k = tasa constante de producción de gas (%h⁻¹)

Para la degradabilidad in vitro de la MS y la MO los datos se analizaron con PROC NLIN SAS versión 9.1 (2001).

Para estimar el efecto de los tratamientos en la degradación de la MS y MO a través del tiempo, se utilizó análisis de medidas repetidas en el tiempo con ayuda del procedimiento PROC MIXED SAS versión 9.1 (2001), considerando como efectos fijos el tiempo de incubación y tipo de suplemento, y el inóculo como efecto aleatorio.

El modelo aplicado para medidas repetidas en el tiempo fue el siguiente:

$$Y_{ij(k)m} = \mu + T_i + A_j + TA_{ij} + B_k + E_{ij(k)m}$$

Dónde:

$Y_{ij(k)m}$: Es la respuesta esperada en la unidad experimental m -ésima del tratamiento i -ésimo, del periodo de incubación j -ésimo, del inóculo k -ésimo y que

tiene en cuenta la interacción entre tratamiento i -ésimo por el periodo de incubación j -ésimo.

μ : Es el efecto global que mide el nivel medio de todos los resultados.

T_i : Es el efecto positivo o negativo del i -ésimo tratamiento sobre la media global.

A_j : Es el efecto positivo o negativo del j -ésimo tiempo de incubación sobre la media global.

B_k : Es el efecto positivo o negativo del k -ésimo inóculo sobre la media global.

$(T^*A)_{ij}$: Es el efecto entre la interacción entre el tratamiento i -ésimo y el tiempo de incubación j -ésimo.

$E_{ij(k)m}$: es el error experimental

2.6 Resultados

Participación porcentual de las materias primas en cada suplemento, composición porcentual de los suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 , y composición química de las materias primas.

La semilla integral de girasol y la soya extruida son fuentes ricas en grasas ω_6 y el aceite de pescado pelágico rico en grasas ω_3 , estos tres ingredientes son los que más aportan contenido graso a las dietas 27.8, 15.9 y 97% de extracto etéreo (EE) respectivamente (Tabla 2.1).

Los cuatro suplementos dietarios empleados en el experimento fueron isoenergéticos e isoproteicos; la variación más significativa en la dieta fue el contenido graso y el nivel de suplementación con aceite de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 (Tabla 2.1).

Los tratamientos GI_2 , GI_3 y GI_4 con una inclusión de 2, 3 y 4% de aceite de girasol respectivamente, y 0.5% de aceite de pescado para todos ellos, presentaron: 5.1, 6 y 6% de grasa total en la dieta respectivamente; mientras que GI_0 no incluyó aceite de girasol ni aceite de pescado, pero la dieta tuvo un 4% de grasa debido a

que dentro de la formulación había ingredientes que también aportaban contenido graso (Tabla 2.1). Las principales fuentes proteicas dentro de las formulaciones fueron la soya extruída (34.1%) y la torta de soya (45.5%) (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 Participación porcentual de las materias primas en cada suplemento, y composición porcentual de los suplementos grasos

Porcentaje dentro de la MS				
Ingredientes	Humedad	PB	EE	TDN
Maíz amarillo	11.2	5.6	2.4	81.0
Maíz extruído	11.1	7.7	1.9	85.0
Maíz proteico	10.9	12.0	1.3	70.0
Torta de soya	10.8	45.5	1.1	77.0
Semilla de girasol	10.1	13.3	27.8	85.0
Soya extruída	10.5	34.1	15.9	80.0
Aceite de pescado	2.0	0.0	97.0	170.0
Sal 8%	5.0	0.0	0.0	0.0
Carbonato de calcio	5.0	0.0	0.0	0.0
Premezcla	8.0	0.0	0.0	0.0
Pasto kikuyo	83.4	19.9	0.2	71.3
Suplementos dietarios				
GI₀	10.7	16.0	4.0	75.5
GI₂	10.7	16.1	5.1	75.5
GI₃	10.6	16.0	6.0	75.9
GI₄	10.6	16.0	6.0	75.9

% PB= Porcentaje de proteína bruta, %EE= Porcentaje de extracto etéreo y %TDN= Porcentaje total de nutrientes digeribles.

La participación porcentual de las materias primas dentro de la formulación de cada suplemento tuvo la menor variación posible en cantidad para que los efectos fueran atribuibles a la suplementación con aceite de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 ; el maíz fue la base de todos los suplementos. Todos los tratamientos dietarios se formularon con idénticos porcentajes de sal mineralizada al 8%, con premezcla y carbonato de calcio (Tabla 2.2).

Tabla 2.2 Composición química de las materias primas incluidas dentro de la formulación de las dietas como porcentaje de la materia seca

Porcentaje de inclusión en las dietas				
Ingredientes	GI₀	GI₂	GI₃	GI₄
Maíz amarillo	50.0	43.8	42.2	40.0
Maíz extruido	3.4	4.5	4.4	4.0
Maíz proteico	12.6	14.0	12.4	12.9
Torta de soya	13.63	18.0	18.0	18.2
Semilla de girasol	0.0	7.2	10.8	14.4
Soya extruída	15.3	7.0	6.74	5.0
Aceite de pescado	0.0	0.5	0.5	0.5
Sal 8%	2.0	2.0	2.0	2.0
Carbonato de calcio	1.0	1.0	1.0	1.0
Premezcla	1.0	1.0	1.0	1.0
Total	100.0	100.0	100.0	100.0

Parámetros de producción de gas de la técnica de digestibilidad in vitro

En la tabla 2.3 se presentan los parámetros de la cinética de fermentación ruminal *in vitro* de las dietas evaluadas. El volumen final de gas (VF) y el factor de partición (FP) no fueron afectados por los tratamientos utilizados ($p > 0.05$).

En el tiempo de colonización por parte de los microorganismos (L) al sustrato como requisito para dar inicio a la degradación, se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) a favor del tratamiento control GI₀ 2.67±0.23 h, que fue menor comparado con el tratamiento GI₂ 3.15±0.39 h. Esta situación pudo deberse a la menor relación entre aceite de girasol y aceite de pescado 2%:0.5% para el tratamiento GI₂; osea que proporcionalmente había más aceite de pescado que en GI₃ y GI₄. Los ácidos grasos sin protección a nivel ruminal interfieren con los procesos de degradación, a medida que aumenta la proporción de semilla integral de girasol en la dieta, mayor protección le brinda a los AG. El GI₂ no presentó

diferencias significativas ($p > 0.05$) con los tratamientos GI_3 y GI_4 ; estos a su vez no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) con el tratamiento control GI_0 . La tasa constante de producción del material potencialmente degradable (C), presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el tratamiento GI_0 0.095 ± 0.007 (%/h) que fue el mayor frente al GI_4 0.083 ± 0.02 (%h¹). El GI_0 no presentó diferencia ($p > 0.05$) con los tratamientos GI_2 y GI_3 . Los niveles de inclusión de aceite de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 no alteraron de forma significativa la degradación *in vitro* del pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone).

Los tratamientos GI_4 y GI_2 fueron los que mayor VF matemático tuvieron 283.8 ± 5.2 y 279.7 ± 25.1 ml respectivamente, el GI_3 presentó un valor de 269.8 ± 21.9 ml, mientras que el tratamiento control (GI_0) produjo la menor cantidad de gas por la digestión completa del sustrato 247.1 ± 41.4 ml. La variación en las medidas del VF entre tratamientos se debe posiblemente a la variación de los niveles de inclusión de semilla integral de girasol en los tratamientos GI_2 , GI_3 y GI_4 , que contenían 7.2, 10.8 y 14.4% respectivamente frente al control GI_0 que no presentó; este ingrediente a parte de hacer un buen aporte de ω_6 , también aporta fibra a la dieta, y esta probablemente genera gases en el proceso de fermentación ruminal. Hubo una tendencia, a mayor nivel de inclusión de semilla integral de girasol mayor VF, como se evidencio para GI_4 .

Para el factor de partición (FP), el GI_0 presentó la mayor relación entre la cantidad de sustrato degradado (mg) y el volumen de gas producido (ml) con 1.5 ± 0.17 , mientras que el GI_2 presentó el menor valor con 1.3 ± 0.02 mg ml⁻¹, para GI_4 y GI_3 los valores presentados fueron 1.4 ± 0.15 y 1.4 ± 0.16 mg ml⁻¹ respectivamente (Tabla 2.3). Existe una tendencia a disminuir la eficiencia en la relación sobre los mg de sustrato degradado y el volumen de gas producido en ml cuando se incluye en la dieta fuentes grasas ricas en ω_6 y ω_3 .

Tabla 2.3. Volumen final de gas (VF), tiempo de colonización (L), Tasa de producción de gas y factor de partición del pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone) incubado con diferentes niveles de aceite de semilla de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 .

Parámetros	GI₀	GI₂	GI₃	GI₄
VF	247.1±41.4	279.7±25.1	269.8±21.9	283.8±5.2
L	2.67±0.23b	3.15±0.39a	2.84±0.23ab	2.88±0.23ab
C	0.095±0.007a	0.086±0.004ab	0.087±0.002ab	0.083±0.02b
FP	1.5±0.17	1.3±0.02	1.4±0.16	1.4±0.15

Letras diferentes en cada fila existen diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$). VF: volumen de gas (ml) correspondiente a la completa digestión del sustrato. (Asíntota), L: Tiempo de colonización por parte de los microorganismos (h), C: Tasa constante de producción del material potencialmente degradable ($\%h^{-1}$), FP: factor de partición que es la relación entre la cantidad de sustrato degradado (mg) y el volumen de gas (ml) producido durante las 96 horas de incubación.

Parámetros de degradabilidad de la MS y la MO

En las tablas 2.4 y 2.5, se reportan los parámetros de degradación de la MS y MO del pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone) incubado con aceite de semilla de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 . En general no se verificaron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$) entre tratamientos para los parámetros estimados, solo se presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) para la FI (Fracción indigestible) de la MS, el tratamiento que mayor valor obtuvo fue GI₄ 19.5± 1.4 % frente al GI₂ 13.9±2.0 %, pero no existen diferencias significativas ($p>0.05$) entre GI₂ con GI₀ y GI₃; a su vez no existen diferencias ($p>0.05$) entre GI₄, GI₃ y GI₀ (Tabla 2.4).

Se presentaron diferencias numéricas en parámetros de degradación de la MS y la MO, el parámetro A (fracción soluble totalmente degradable), para GI₄ y GI₀ en la MS y la MO mostraron los mayores valores 61.3± 4.4 y 60.7± 1.6, 61.9± 5.8 y 61.8±1.3 respectivamente, mientras que GI₃ y GI₂ los valores más bajos 56.0± 6.0 y 55.4±9.8, 55.2± 6.1y 55.7± 11.3 respectivamente.

El GI₂ presentó el mayor valor de B (fracción parcialmente degradable) para la MS y MO 30.6±11.8 y 29.9±13.6 respectivamente, y el GI₄ presentó el menor valor de B para MS y MO 19.2±3.2 y 18.7±4.5 respectivamente. En cuanto al parámetro C (constante de la cinética de degradación ruminal), el GI₄ y GI₀ mostraron los mayores valores en MS y MO 0.13± 0.038 y 0.10± 0.006 %h⁻¹, 0.13± 0.039 y 0.10± 0.003 %h⁻¹ respectivamente.

El parámetro L, que es el tiempo de colonización del sustrato por los microorganismos “tiempo lag”, no presentó diferencias (p>0.05) entre tratamientos, pero los tratamientos GI₀ y GI₄ de la MS y MO presentaron los mayores tiempos de colonización 12.7± 0.8 y 12.5± 1.6, 13.6± 0.5 y 13.2± 2.0 horas respectivamente. La fracción potencialmente degradable (FPD) entre el tratamiento GI₂ y GI₄ de la MS presentó diferencia significativa (p<0.05). El GI₂ presentó mayor valor 86.0± 2.0 y el GI₄ menor valor 80.5± 1.4. Para este parámetro en la MO no hubo diferencias significativas (p>0.05) entre tratamientos (Tabla 2.4 y 2.5).

Se encontró diferencias significativas (p<0.05) entre tratamientos para la FI de la MS, el GI₂ presentó menor valor 14.0±2.0 y el GI₄ mayor valor 19.5± 1.4 (Tabla 2.4 y 2.5); pero en la FI de la MO no se presentaron diferencias significativas (p>0.05) entre tratamientos.

El R² de la degradabilidad de la MS y MO en todos los tratamientos fue del 0.99, significa que los valores de degradabilidad de la MS y MO podrán ser predichos en un 99% de las veces por los tratamientos empleados en el experimento.

Tabla 2.4. Parámetros de degradabilidad de la MS

Parámetro	GI ₀	GI ₂	GI ₃	GI ₄
A	60.7± 1.6	55.4± 9.8	56.0± 6.0	61.3± 4.4
B	22.9± 1.5	30.6± 11.8	27.7± 6.0	19.2± 3.2
C	0.10± 0.006	0.09± 0.017	0.09± 0.008	0.13± 0.038
L	12.7± 0.8	11.3± 3.3	11.8± 1.9	12.5± 1.6
FPD¹ (A+B)	83.7± 2.2 ab	86.0± 2.0 a	83.7± 0.2 ab	80.5± 1.4 b
FI²	16.3± 2.2 ab	14.0±2.0 b	16.3± 0.2 ab	19.5± 1.4 a
R²	0.99±0.005	0.99±0.01	0.99±0.01	0.99±0.007

Letras diferentes en cada fila existen diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$). A: Fracción soluble totalmente degradable (%), B: Fracción insoluble pero potencialmente degradable, C: Es la constante de la cinética de degradación ruminal ($\%h^{-1}$), L: Es el tiempo de colonización del sustrato por parte de los microorganismos (minutos), FDP (A+B): Fracción potencialmente degradable (%), FI: Fracción indigestible (%).

Tabla 2.5 Parámetros de degradabilidad de la MO

Parámetro	GI ₀	GI ₂	GI ₃	GI ₄
A	61.8± 1.3	55.7± 11.3	55.2± 6.1	61.9± 5.7
B	22.0± 2.9	29.9± 13.6	28.2± 6.1	18.7± 4.5
C	0.10± 0.003	0.09± 0.017	0.09± 0.008	0.13± 0.039
L	13.6± 0.5	12.0± 3.9	11.9± 1.9	13.2± 2.1
FPD¹ (A+B)	83.8± 1.6	85.6± 2.3	83.4± 0.2	80.6± 1.9
FI²	16.2± 1.6	14.4±2.3	16.6± 0.2	19.4± 1.9
R²	0.99±0.012	0.99±0.007	0.99±0.002	0.99±0.007

A: Fracción soluble totalmente degradable (%), B: Fracción insoluble pero potencialmente degradable, C: Es la constante de la cinética de degradación ruminal ($\%h^{-1}$); L: Es el tiempo de colonización del sustrato por parte de los microorganismos (minutos), FDP (A+B): Fracción potencialmente degradable (%), FI: Fracción indigestible (%).

Degradabilidad de la MS y la MO

Los parámetros de la degradación de la MS y MO presentados en las tablas 2.4 y 2.5 de las dietas concuerdan con los valores de degradación de la MS y MO presentados en las tablas 2.6 y 2.7. No se observó diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$) para la mayor extensión de la degradación de la MS y MO entre tratamientos dietarios después de 96h de incubación. Se presentaron diferencias numéricas para la incubación a 96h; el tratamiento suplementario GI₂ fue el que presentó el mayor valor para degradación de la MS y MO con 87.2 y 87.1% respectivamente. El tratamiento GI₄ fue el que presentó menores valores para la degradabilidad de la MS y MO con 81.7 y 81.5% respectivamente en 96h de incubación. El tratamiento GI₃ a las 24h de incubación presentó los menores valores ($p<0.05$) de degradabilidad para la MS y MO con 74.9 y 74.4% respectivamente; a su vez, el tratamiento GI₄ a las 48 y 72h presentó los menores valores ($p<0.05$) para la degradación de la MS y MO (78.2 y 77.8%) y (81.2 y 82.0%) respectivamente (Tablas 2.6 y 2.7).

Tabla 2.6. Efecto de los suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 sobre la digestibilidad *in vitro* de la MS de las dietas en diferentes tiempos de incubación

Tiempo h	Tratamientos dietarios			
	GI ₀	GI ²	GI ₃	GI ₄
6	37.9	38.1	37.3	36.6
12	58.0	56.3	56.9	59.7
24	77.7a	78.2a	74.9b	76.6ab
48	81.7a	81.3a	80.5a	78.2b
72	85.0a	86.4a	84.7a	81.2b
96	82.9	87.2	84.3	81.7

Filas con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$)

Tabla 2.7. Efecto de los suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 sobre la digestibilidad *in vitro* de la MO de las dietas en diferentes tiempos de incubación

Tratamientos dietarios				
Tiempo h	GI ₀	GI ²	GI ₃	GI ₄
6	36.3	36.1	35.4	34.6
12	57.1	54.9	55.6	58.6
24	77.3a	77.7a	74.4b	76.2ab
48	81.4a	80.2a	80.1a	77.8b
72	85.9a	86.2a	84.4a	82.0b
96	82.6	87.1	83.9	81.5

Filas con letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

2.7 Discusión

Cuando se utilizan suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 dentro de la formulación de alimentos balanceados, sin sobrepasar la barrera del 6% total de grasa en la dieta, no se afecta la dinámica del metabolismo ruminal (Tabla 2.4, 2.5, 2.6 y 2.7), puesto que entre los tratamientos empleados no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) para la digestibilidad de la MS y de la MO. Si, se tiene en cuenta que los requerimientos grasos de las vacas lecheras son de 2.5-3.0% de la MS ingerida (Angulo *et al*, 2005), y que los pastos tropicales hacen un aporte deficiente, es recomendable suplementar la dieta de las vacas lecheras con grasa y preferiblemente con ácidos grasos poliinsaturados ω_6 y ω_3 que además de brindar un aporte energético, se ha demostrado su beneficio en otros aspectos, como eficiencia energética, rendimiento lechero y calidad de la grasa láctea (Smith *et al*, 1978; Chalupa *et al*, 1984; Sutton, 1989).

El uso de fuentes de AG poliinsaturados en los niveles implementados en este experimento posiblemente no tuvo efecto tóxico sobre los microorganismos celulolíticos y metanogénicos, algo que reporta Jenkins (1993), puesto no que se afectaron los parámetros y la degradabilidad de la MS y la MO. Según Jenkins, (1993), Jenkins y Fotouhi, (1990) los AG poliinsaturados utilizados en exceso

pueden adherirse a la pared bacteriana y/o a la superficie de las partículas de fibra entorpeciendo el proceso de degradabilidad del material fibroso.

El parámetro A, que hace referencia a la fracción soluble totalmente degradable en el rumen no registro diferencia significativa ($p > 0.05$) para la degradación de la MS y MO entre tratamientos (Tablas 2.4 y 2.5); dicha fracción está compuesta por la parte soluble de la PB (NNP y parte de PB verdadera), de los carbohidratos no estructurales (CNE), de los lípidos, así como carbohidratos estructurales (CE) que son degradables en el rumen; pero se ha reportado que cuando se utilizan niveles grasos tóxicos ($\pm 10\%$ AGI) para los microorganismos, la digestibilidad de los CE puede ser reducida al 50% (Jenkins y Palquist, 1984). Si se hubiese presentado esta situación, posiblemente se hubiese afectado de manera negativa la digestibilidad de la MS y de la MO de las dietas empleadas (Jenkins y Palquist, 1984) fenómeno que no ocurrió.

El parámetro B, que es la fracción parcialmente degradable en el rumen de las dietas fue similar en todos los tratamientos, esto pudo deberse a que todos tuvieron similar composición química y nutricional (Tabla 2.3 y 2.4). La constante de la cinética de degradación ruminal (C), también fue muy similar para los tratamientos utilizados; sin embargo el GI_4 presentó el mayor valor, pudo deberse a que dentro de la formulación de las dietas fue la que mayor cantidad de semilla integral de girasol tuvo; esta materia prima tiene un valor relativo forrajero (VRF) de 93.54, lo que corresponde a tercera categoría (Linn *et al*, 1989) debido al % de FDN (54.4) y % de FDA (44) dentro de la MS.

Según Nsahlai *et al*, (1995) la producción de gas está relacionada con la degradabilidad de la fibra del pasto, cuando eso ocurre hay buena salud ruminal, y la degradabilidad de la MS y de la MO se hace de manera eficiente. Los procesos de digestibilidad *in vivo* de la fibra del pasto puede ser predichos con exactitud y precisión con los parámetros de la cinética producción de gas (Huhtanen, 2008). El tiempo de colonización del sustrato (Lag) es importante, ya que muestra con que velocidad atacan los microorganismos del rumen los alimentos que llegan allí, previo proceso de hidratación del sustrato (Arenas *et al*, 2010).

Los parámetros de la técnica de producción de gases fueron similares para los tratamientos empleados, lo que indica que las poblaciones microbianas colonizaron y fermentaron en forma semejante los sustratos utilizados (Noguera *et al*, 2011).

De acuerdo con los valores de degradación de la MS y de la MO (Tablas 2.6 y 2.7), confirman que el nivel de inclusión de aceite de girasol ω_6 (2, 3 y 4%) y aceite de pescado ω_3 (0.5%) de la MS, no afectó los procesos de degradación de la MS y de la MO del pasto y de las dietas de tratamiento. La literatura reporta un efecto negativo cuando se utilizan grasas insaturadas libres más del 6% de la MS de la dieta diaria (Edwards, 1995; Harrison *et al*, 1995). Este efecto consiste en la inhibición de la hidrogenación de los dobles enlaces por parte de los microbios cuando se suministran dietas altas en AG insaturados (Ekerenz *et al*, 1992). Cuando se suministra aceite dietario en las semillas oleaginosas, estas proveen alguna protección para la biohidrogenación de los AG (Baldwin y Allison, 1983; (Ekerenz *et al*, 1992).). Alternativamente la biohidrogenación ruminal de los AG puede ser evitada suministrando grasas altas en AG insaturados cubiertos con materiales que no pueden ser metabolizados por la microflora ruminal pero que pueden ser digeridos en el intestino (Ekerenz *et al*, 1992). Hay que recalcar que en este estudio se utilizó semilla integral de girasol molida como fuente de AG ω_6 , esta fuente se ha reportado por otros autores (Baldwin y Allison, 1983; (Ekerenz *et al*, 1992) como “grasa protegida” o con algún tipo de protección que le brinda las partículas del pericarpio, entonces, no tiende a afectar los procesos de fermentación ruminal de los recursos fibrosos.

2.8 Conclusiones

La inclusión de la combinación de fuentes de grasa ricas en ω_6 y ω_3 como el aceite de semilla de girasol y el aceite de pescado pelágico en la suplementación de dietas para vacas lecheras en los niveles utilizados en este estudio, no afectó

los patrones normales de degradabilidad *in vitro* de la materia seca y de la materia orgánica del pasto kikuyo y de las dietas tratamiento.

2.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AbuGhazaleh A A and Holmes L D. 2007. Diet Supplementation with Fish Oil and Sunflower Oil to Increase Conjugated Linoleic Acid Levels in Milk Fat of Partially Grazing Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:2897–2904.

Angulo J, Mahecha L, Giraldo M y Olivera M. 2005. Prostaglandinas y grasa de la leche: síntesis a partir de ácidos grasos poliinsaturados, en bovinos. En: *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca*. Editores Martha Pabón y Jorge Ossa. Editorial Biogénesis. Enero. Medellín, Colombia. Pag 91-110. Total 330 p.

Arenas F A, Rosero R N y Restrepo L F. 2010. Efecto de diferentes tipos de grasa en dietas para rumiantes sobre la cinética de degradación y fermentación de la materia seca *in vitro*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol 23, No 1.

Baldwin R L and Allison M J. 1983. Rumen metabolism. *J. Anim. Sci.* 57 (suppl. v2):461.

Baumgard L H, Corl B A, Dwyer D A and Bauman D E. 2002. Effects of conjugated linoleic acids (CLA) on tissue response to homeostatic signals and plasma variables associated with lipid metabolism in lactating dairy cows. *J ANIM SCI.* 80:1285-1293.

Bock B J, Harmon D L, Brandt Jr R T and Schneiders J E. 1991. Fat source and calcium level effects on finishing steer performance, digestion, and metabolism. *J. Anim. Sci.* 69:2211-2224.

Chalupa W, Rickabaugh B, Kronfeld D S and Sklan D. 1984. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.* 67:1439.

Coppock C E and Wilks D L. 1991. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. *J ANIM SCI.* 69:3826-3837.

Cowan R T and Lowe K F. Tropical and Subtropical Grass Management and Quality. 1998. In: Cherney JH and Cherney DJR Editors. *Grass for Dairy Cattle.* New York USA. P102-135.

Donovan D C, Schingoethe D J, Baer R J, Ryali J, Hippen A R and Franklin S T. 2000. Influence of Dietary Fish Oil on Conjugated Linoleic Acid and Other Fatty Acids in Milk Fat from Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 83:2620–2628.

Ekerenz A P, Smith R D, Lunts K D and Smith B S. 1992. Ruminant Biohydrogenation of Fatty Acids From High-Oleate Sunflower Seeds. *J. Anim. Sci.* 70:2574-2580.

Edwards J. 1995. Interrogantes sobre el suministro de grasas al ganado de alta producción lechera. En: *Manual técnico de Energy Booster.*

France J, Dhanoa M S, Theodorou M K, Lister S J, Davies D R and Issac D. 1993. A Model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. *J Theoretical Biol.* 163:99-111.

Harrison J H, Kincaid R L, McNamara J P, Waltner S, Loney K A, Riley R E and Cronrath J D. 1995. Effect of whole cotton seed s and calcium salts of long chain fatty acids on performance of lactating dairy caws. In: *Journal of Dairy Science.* Vol. 78. No 1 p 181-193.

Hervás G, Shingfield K J, Reynolds C K, Jones A K, Lupoli B, Griinari J M, Grandison A S and Beever D E. 2005. Efecto de la inclusión de una mezcla de aceites de pescado y de girasol en la dieta de vacuno lechero sobre el rendimiento productivo y el perfil lácteo de ácidos grasos. En: Información técnica agropecuaria. Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. XXXVII jornadas de estudio. XI Jornadas sobre producción animal. Vol. Extra N.º 26. Tomo II, Zaragoza, España. Pag 694-696. Total: 883 p.

Huhtanen P, Seppälä A, Ahvenjärvi S and Rinne M. 2008. Prediction of in vivo neutral detergent fiber digestibility and digestion rate of potentially digestible neutral detergent fiber: Comparison of models. J ANIM SCI. 86:2657-2669.

Ikwuegbu O A and Sutton J D. 1982. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. Br. J. Nutr. 48:365.

Jenkins T C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. Journal Dairy Science. 76:3851-3863.

Jenkins T C and Palmquist D L. 1984. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. J Dairy Sci. 67: 978.

Jenkins T C and Fotouhi N. 1990. Effects of lecithin and corn oil on site of digestion, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep. J. Anim. Sci. 68:460.

Linn J G, Martin N P, Howard W T and Rohweder D A. 1987. Relative feed value as a measure of forage quality. Minnesota Forage UPDATE. vol XII, No. 4. pp 2,4. Minnesota Forage and Grassland Council.

Lopéz S, Carro M, González J and Overo F. 1998. Comparison of different in vitro and in situ methods to estimate the extent and rate of degradation of hays in the rumen. *A Feed Sci and Tech.* 73:99-113.

Mauricio R M, Mould F L, Dhanoa M S, Owen E and Channa K S. 1999. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminants feedstuff evaluation. *Anim Feed Sci Technol* 79: 321-330.

McDougall. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemistry J.* 43:99-109.

Nsahlai I V, Umunna N N and Negassa D. 1995. The effect of multi-purpose tree digesta on in vitro gas production from napier grass or neutral-detergent fibre. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 69: 519-528.

Noguera R R, Ortiz D M y Gallego N. 2011. Comparación de líquido ruminal vacuno y caprino como fuente de inóculo en la técnica in vitro de producción de gases. *Livestock Research for Rural Development* 23 (11).

Osborne V R, Radhakrishnan S, Odongo N E, Hill A R and McBride B W. 2008. Effects of supplementing fish oil in the drinking water of dairy cows on production performance and milk fatty acid composition. *J ANIM SCI,* 86:720-729.

Orskov E R and McDonald I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J Agricultural Sci.* 92:499-503.

Posada S L, Noguera J R y Bolívar D. 2006. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica in vitro de producción de gases en Medellín, Colombia. *EN: Rev Col Cienc Pec Vol.* 19:4.

Posada S L y Noguera R R. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 17, Art. #36.
<http://www.lrrd.org/lrrd17/4/posa17036.htm>

Rosero N J R y Posada O S L. 2007. Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20:174-182.

Rymer C, Huntingtonb J A, Williams B A and Givens D I. 2005. In vitro cumulative gas production techniques. In: History, methodological considerations and challenges. *Animal Feed Science and Technology*.123–124 9–30.

Smith N E, Dunkley W L, and Franke A A. 1978. Effects of feeding protected tallow to dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 61:747.

Sutton J D. 1989. Altering milk composition by feeding. *J. Dairy. Sci.* 72:2801.2814.

Theodorou M K, Williams B A, Dhanoa M S, McAllan heodorou M K, Williams B A, Dhanoa MS, McAllan A B, France J A. 1994. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci and Technol.* 48:185-197.

CAPÍTULO III

3. Efecto de la inclusión de aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche en dietas para vacas lecheras

3. Effect of inclusion of sunflower seed oil and fish oil on production and milk composition in dairy cows diets

3. Efeito da inclusão de óleo de girassol e óleo de peixe sobre a produção e composição do leite em vacas leiteiras dietas

Juan M Rojo¹, Zoot, Esp, MSc(c); Ricardo R Noguera¹, Zoot, Esp, MSc, PhD.
Grupo de Investigación Sobre Ciencias Agrarias (GRICA), Escuela de
producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de
Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

3.1. Resumen

Antecedentes: en la manipulación de dietas para vacas lecheras se usan grasas suplementarias que aumentan la densidad energética de la ración, tratando de cubrir los requerimientos nutricionales sin detrimento sobre el consumo de materia seca, el nivel de producción y composición de la leche. **Objetivo:** en este experimento se evaluó el efecto de la suplementación con grasas ricas en ω_6 y ω_3 sobre el consumo de materia seca, producción y composición de la leche. **Métodos:** se utilizaron 8 vacas Holstein múltiparas en primer tercio de lactancia en un diseño de cuadrado latino Cross Over, las cuales recibieron cuatro suplementos dietarios (GI₀, GI₂, GI₃ y GI₄) refiriéndose al nivel de aceite de girasol del 0, 2, 3 y 4% respectivamente con base en la materia seca y con un nivel estándar de aceite de pescado los tres últimos de 0.5%. El consumo de materia seca (CMS), el nivel de producción y la composición de la leche se analizaron mediante análisis de varianza (ANAVA). **Resultados:** no se presentó efecto significativo ($p>0.05$) en el nivel de producción total de leche, en la producción ajustada al 4% de grasa, en las cantidades y porcentajes de grasa y proteína,

como tampoco en el CMS estimado por el Cr_2O_3 encontrado en las heces, ni por la expresión matemática planteada por la NRC (2001), ni por la estimación de la metodología agronómica. **Conclusiones:** la inclusión de fuentes grasas ricas en ω_6 y ω_3 en dietas para vacas lecheras en los niveles utilizados en este estudio, no afectaron la producción y composición de la leche, como tampoco se afectó el CMS total.

Palabras clave: *marcadores, ingesta de pasto, lípidos*

3.2. Summary

Background: handling of diets for dairy cows supplementary fats that increase the energy density of the ration, trying to cover nutritional requirements without compromising on dry matter intake, the level of production and milk composition are used. **Objective:** In this experiment we evaluated the effect of dietary fats rich in ω_6 and ω_3 on dry matter intake, production and milk composition. **Methods:** Using eight multiparous Holstein cows in early lactation on a Latin square design Cross Over, which received four dietary supplements (GI_0 , GI_2 , GI_3 and GI_4) level ensuring reference Sunflower oil 0, 2, 3 and 4% respectively based on the dry matter and with a standard level of fish oil past three 0.5%. Dry matter intake (DMI), the level of production and milk composition was analyzed using analysis of variance (ANOVA). **Results:** did not show significant effect ($p > 0.05$) in the level of total milk production in lean production to 4% fat in the amounts and percentages of fat and protein, nor in the DMI estimated by the Cr_2O_3 found feces, or by gauging methodology of input and output, or by mathematical expression proposed by the NRC (2001). **Conclusions:** sources including fats rich in ω_6 and ω_3 in diets for dairy cows at the levels used in this study did not affect the yield and composition of milk, nor was affected total DMI.

Key words: *markers, grass intake, lipids*

3.3 Resumo

Antecedentes: manipulação de dietas para vacas leiteiras gorduras complementares que aumentam a densidade de energia da ração, tentando cobrir as necessidades nutricionais sem comprometer o consumo de matéria seca, o nível de produção e composição do leite são usados. **Objetivo:** Neste experimento, avaliou-se o efeito das gorduras dietéticas ricas em ω_6 e ω_3 no consumo de matéria seca, produção e composição do leite. **Métodos:** Usando 8 vacas da raça Holstein, múltíparas no início da lactação um quadrado latino, que recebeu quatro suplementos dietéticos (GI_0 , GI_2 , GI_3 e GI_4) nível que garanta referência Óleo de girassol 0, 2, 3 e 4%, respectivamente, com base na matéria seca e com um nível normal de óleo de peixe passado três de 0,5%. A ingestão de matéria seca (CMS), o nível de produção e composição do leite foi analisado utilizando análise de variância (ANOVA). **Resultados:** não mostrou efeito significativo ($p > 0.05$) no nível de produção total de leite na produção enxuta para 4% de gordura nos valores e porcentagens de gordura e proteína, nem no CMS estimados pelo Cr_2O_3 encontrado fezes, ou através da medição metodologia de entrada e saída, ou pela expressão matemática proposto pela NRC (2001). **Conclusões;** a inclusão de fontes de gordura ricos em ω_6 e ω_3 em dietas para vacas leiteiras em níveis utilizados neste estudo, não afetou a produção e composição do leite, nem o CMS total foram afetados.

Palavras-chave: marcadores, ingestão de grama, lipídios

3.4 Introducción

Es un reto para las Ciencias Animales, el impulso de investigaciones que conduzcan a mejorar la densidad energética de dietas para vacas lecheras sin incurrir en efectos negativos sobre el consumo voluntario de materia seca (CVMS), la producción y composición de la leche (Zachut *et al*, 2010; Caroprese *et al*, 2010;

Pappritz *et al*, 2011; Angulo *et al*, 2012); es por esta razón que los sistemas de alimentación en ganadería de leche están a la vanguardia en ciencia y tecnología.

El uso de grasas suplementarias sin protección en niveles de 8-10% de la MS de la dieta pueden afectar los patrones normales de fermentación ruminal provocando una disminución en el CVMS, en la producción y composición de la leche (Jenkins, 1993; Hervás *et al*, 2005).

La inclusión de ácidos grasos polinsaturados (AGP) ω_6 y ω_3 de origen vegetal (aceite de girasol, soya o linaza) y origen marino (aceite de pescado pelágico o algas) en dietas para rumiantes en niveles de 5-6% mejoran la densidad energética, la eficiencia en la utilización de la energía y la calidad composicional de la leche (Kelly *et al*, 1998; Sackmann *et al*, 2003; Dirandeh *et al*, 2013). Estos suplementos grasos destinados para vacas lecheras en pastoreo intensivo de kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone) en monocultivo, mejoraría la densidad energética de la dieta, sin afectar en forma negativa el consumo voluntario de materia seca (CVMS) (Zinn *et al*, 2000; Sackmann *et al*, 2003; Ramírez, 2003; Oltenacu y Broom, 2010), la producción total de leche (Hervás *et al*, 2005) y su composición nutricional (Angulo *et al*, 2012).

El CVMS es quizás el parámetro más importante en producción animal, ya que este influye directamente en el nivel de producción de vacas lecheras (Correa, 2011; Taweel, 2006; Ariztizabal y Pérez, 2005).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 en dietas para vacas Holstein, sobre la producción y la calidad composicional de la leche, además del consumo voluntario de materia seca (CVMS) comparando metodologías de marcadores y con la expresión matemática de la NRC (2001), y estimación por el método agronómico.

3.5 Materiales y métodos

Localización

El estudio se realizó en la hacienda “La Montaña” propiedad de la Universidad de Antioquia, ubicada en la vereda Monterredondo, municipio San Pedro de los Milagros, Antioquia - Colombia, con una topografía plana a ondulada, altura sobre el nivel del mar de 2450 m, temperatura promedio de 15°C, precipitación de 2350 mm en el año de estudio, humedad relativa promedio de 72% y perteneciente a una zona de vida de bosque húmedo montano bajo (bh-MB) (Sierra 2002).

Animales

Fueron utilizadas 8 vacas de la raza Holstein Friesian multíparas (entre 2 y 8 partos), con un promedio de días en lactancia 84.13 ± 27.08 , un peso vivo promedio de 599.67 ± 33.12 kg y una producción promedio de 29.99 ± 7.46 l/día (promedio \pm DE).

Las vacas que participaron en el experimento fueron manejadas bajo pastoreo intensivo de praderas botánicamente conformadas en un 98% de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. ex Chiov) Morrone), el restante 2% estuvo conformado por ryegrass (*Lolium* sp), falsa poa (*Holcus lanatus* L) y lengua de vaca (*Rumex crispus* L), con periodos de descanso entre 35 a 42 días y un periodo de ocupación de 3 a 6 días dependiendo del área de cada potrero y con una carga animal/ha de 5.5 unidades.

Los animales se ordeñaron dos veces por día, el primero comenzaba con la recogida de los animales a las 4:00 am y el segundo a las 2:00 pm, en el ordeño de la mañana el lote de vacas permanecía aproximadamente 2 horas fuera del potrero y en el ordeño de la tarde 1.5 horas; la suplementación con las dietas tratamiento se realizó en el momento del ordeño con una relación aproximada de

3:1 (producción:concentrado). Para diseñar los suplementos, se utilizó semilla integral de girasol con 27.8% de contenido graso; la cual fue molida y su inclusión se realizó con base en el nivel de aceite. El aceite de pescado pelágico del 97% de contenido graso, fue sometido a calentamiento para facilitar su manejo (20°C) y agregado al momento de mezclar las materias primas al suplemento. Cuando se tuvo listo cada bache de suplemento se procedió a empacar y a marcar cada uno con un color diferente, para que se suministrara a las vacas que portaban el collar con el respectivo color (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Composición porcentual de las materias primas, porcentaje de inclusión en los suplementos dietarios (tratamientos) y composición química de estos.

Materia prima	%				Tratamiento			
	Humedad	%PB ¹	%EE ²	ENL ³	GI ₀	GI ₂	GI ₃	GI ₄
Maíz amarillo	11.2	5.6	2.4	2.02	50	43.8	42.16	40
Maíz extruido	11.1	7.7	1.9	2.12	3.44	4.5	4.4	4
Maíz proteico	10.9	12	1.3	1.75	12.63	14	12.4	12.89
Torta de soya	10.8	45.5	1.1	1.92	13.63	18	18	18.21
Semilla de girasol	10.1	13.3	27.8	2.12	0	7.2	10.8	14.4
Soya extruida	10.5	34.1	15.9	1.99	15.3	7	6.74	5
Aceite de pescado	2	0	97	4.25	0	0.5	0.5	0.5
Sal 8%	5	0	0	0	2	2	2	2
Carbonato de calcio	5	0	0	0	1	1	1	1
Premezcla	8	0	0	0	1	1	1	1
%Humedad					10.7	10.7	10.6	10.6
%PB					16	16	16.1	16
%EE					4	5.1	6	6
ENL					1.87	1.88	1.89	1.89
\$/Kg					956.7	1111.6	1197	1273.8

¹%PB: Porcentaje de proteína bruta de la MS del suplemento.

²%EE: Porcentaje de extracto etéreo de la MS del suplemento.

³ENL: Energía neta de lactancia en Mcal/kg de MS.

Variables a evaluar

Consumo de materia seca

El consumo de materia seca total (CMST) fue estimado mediante la utilización de óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador indigestible (Rodríguez *et al*, 2007). Las evaluaciones en los animales se realizaron durante cuatro periodos, cada uno con una duración de 15 días. El óxido de cromo fue suministrado durante todo el periodo experimental en dos dosis diarias de 5g cada una (Langlands *et al*, 1963; Rodríguez *et al*, 2007). La suplementación realizada al momento del ordeño fue aprovechada para administrar la dosis diaria de marcador. Los últimos 5 días de cada periodo muestras individuales (100g) de heces fueron colectadas directamente del recto del animal (Mojica *et al*, 2009). Las muestras fueron presecadas en marquesina y luego llevadas a estufa de ventilación forzada a 65°C por 48 horas para completar el proceso de secado, molidas a un tamaño de partícula de 1mm en un molino Thomas Wiley mill (Arthur H. Thomas, Philadelphia, PA). Una muestra compuesta de las heces colectadas durante el periodo de muestreo fue analizada por periodo vaca⁻¹ con el fin de estimar la concentración del marcador en la materia fecal.

La concentración de cromo en las heces fue determinada por espectrofotometría de absorción atómica utilizando un espectrofotómetro SPECTRAA 50 B Atomic Absorption Spectrometer usando una lámpara de cátodo hueco (Williams *et al* 1962, Mojica *et al* 2009) y siguiendo el protocolo propuesto por Silva y Cesar de Queiroz (1990).

La producción fecal se estimó utilizando la siguiente expresión matemática propuesta por (Arnold, 1967; Church, 1988 y Merchen, 1993): Producción de MS fecal (g/día) = Marcador consumido (g/día) / Concentración del marcador en las heces (g/g de MS).

La digestibilidad de la MST fue estimada por el indicador lignina ácido detergente (utilizada como marcador interno) mediante la expresión matemática empleada por Rodríguez *et al*, (2007):

$$\text{Digestibilidad (\%)} = 100 - (100 * (\text{Indicador en dieta}/\text{Indicador en heces})).$$

La digestibilidad aparente de la PB, FDN y FDA fue estimada utilizando la expresión matemática: Digestibilidad % = 100 – ((100 * (% Marcador en dieta / % Marcador en heces) * (% Nutriente en heces / % Marcador en el alimento) (Merchen, 1993).

La expresión matemática por la cual se estimó el consumo de materia seca total fue: CMST = Producción de MS fecal / (100 - % Digestibilidad de la MS) (Merchen, 1993).

Se estimó el consumo grupal de materia seca de pasto (CMSP) a través de la metodología del doble muestreo propuesta por Sierra (2015) (Método agronómico), realizando aforos a la entrada y a salida de los animales al potrero; procedimiento que permitió estimar la cantidad de materia seca de pasto (MSP) retirada durante el proceso de pastoreo. La cantidad de MSP retirada se dividió por el número de días de ocupación del potrero y luego por el número de animales, permitiendo estimar un promedio del CMSP vaca día⁻¹, luego se relaciona con el peso vivo promedio de la vacas en estudio para estimar el porcentaje de consumo de MS con respecto al peso vivo y, finalmente se individualiza el consumo relacionando dicho porcentaje con el peso vivo real de cada vaca. Se conoce en forma individual el consumo de materia seca del suplemento (MSS) más el CMSP, se obtiene la estimación individual del CMST vaca día⁻¹, pero es obtenido a partir del promedio grupal. Se propone la siguiente la expresión matemática para la estimación del CMSP:

$$\text{ECMSP/kg/día/vaca} = ((\text{AE}-\text{AS})/\text{OP})/\text{NA}.$$

Dónde:

ECMSP/kg/día/vaca: Estimación del consumo de MS en kg/día/vaca

AE: Aforo de entrada en kg de MS por el área del potrero

AS: Aforo de salida en kg de MS por el área del potrero

OP: Ocupación del potrero en días

NA: Numero promedio de animales que estuvo en el potrero

Se estimó el CMST por la expresión matemática propuesta por la National Research Council (NRC, 2001):

$$\text{CMST (kg/d)} = (0.372 * \text{LCG} + 0.0968 * \text{PC}^{0.75}) * (1 - e^{(-0.192 * (\text{SL} + 3.67))})$$

Donde:

CMST (kg/d): Consumo total de material seca en Kg día⁻¹

LCG: Leche corregida al 4% de grasa

PC: Peso corporal

SL: Semana de lactación

Se estimó el porcentaje de materia seca del pasto (MSP) vs porcentaje de materia seca del concentrado (MSC) ingerido por las vacas en los cuatro periodos.

Se caracterizó la base forrajera de pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hochst. Ex Chiov) Morrone), mediante la metodología “*hand plucked*” se tomaron las muestras de pasto tratando de imitar el patrón de pastoreo de las vacas (Guzhva, 2013) en el periodo experimental con la finalidad de realizar los análisis químicos, y se estimó el valor relativo forrajero por las expresiones matemáticas propuestas por Linn *et al*, (1989), el CMS máximo es estimado con base en el contenido de FND, CMS (% PV) = 120/FND (%MS). La digestibilidad de la MS, por su parte, se calcula en función del contenido en FDA, DMS (%)= 88.9 - (0.779 x FAD, %MS).

De esta manera, el $VRF = DMS \times CMS/1.29$, cuyo resultado lo clasifica en categorías: excelente (>151), primera (125-150), segunda (103-124), tercera (87-102), cuarta (76-86) y quinta (<75) (Tabla 3.3).

Producción y composición de la leche

La producción de leche de los ordeños de la mañana y la tarde fue registrada diariamente en forma individual durante cada periodo experimental, se ajustaron los datos de producción al 4% de grasa. Los últimos cinco días de cada periodo, dos muestras de leche (am y pm) fueron colectadas para determinar las concentraciones de proteína, grasa y sólidos no grasos por ultrasonido, utilizando un equipo EKOMILK-M® (Noguera *et al*, 2011).

Tratamientos

Los tratamientos utilizados en el experimento fueron:

Gl₀: sin adición de aceite de girasol ω_6 y aceite de pescado ω_3 . Grasas insaturadas 0 (Gl₀).

Gl₂: con adición de aceite de girasol (ω_6) al 2% y aceite de pescado pelágico (ω_3) al 0.5%. Grasas insaturadas 2% (Gl₂).

Gl₃: con adición de aceite de girasol (ω_6) al 3% y aceite de pescado pelágico (ω_3) al 0.5%. Grasas insaturadas 3% (Gl₃).

Gl₄: con adición de aceite de girasol (ω_6) al 4% y aceite de pescado pelágico (ω_3) al 0.5%. Grasas insaturadas 4% (Gl₄).

Análisis estadístico

Se aplicó un diseño de cuadrado latino doble en *Cross over* o de reversión para evitar el efecto "Carry"; donde el factor principal fueron los tratamientos y los factores secundarios los animales y los periodos (doble bloqueo). Se controlaron

fuentes de variación (cuadrado, tratamientos, periodos, periodos dentro de los cuadrados, animales dentro de los cuadrados e interacción entre tratamiento y cuadrado). Se analizaron los datos con proc GLM SAS versión 9.1 (2001), utilizando el modelo de análisis de varianza (ANAVA); se efectuaron pruebas de comparación entre efectos promedios mediante el método de Tukey, con 95% de confiabilidad.

El modelo aditivo lineal para el este experimento fue:

$$Y_{ijklm} = \mu + C_i + A(C)_{j/i} + P(C)_{k/i} + T_l + (T^*C)_{i^*l} + E_{m/ijkl}$$

Donde:

Y_{ijklm} : Es la respuesta esperada en la unidad experimental m-ésima del tratamiento l-ésimo en el cuadrado i-ésimo, y del efecto del periodo dentro del cuadrado, del animal dentro del cuadrado y de la interacción del tratamiento y los cuadrados.

μ : Es el efecto global que mide el nivel medio de todos los resultados.

C_i : Es el efecto positivo o negativo del i-ésimo cuadrado sobre la media global.

T_l : Es el efecto positivo o negativo del l-ésimo tratamiento sobre la media global.

$A(C)_{j/i}$: Es el efecto positivo o negativo de la j/i-ésimo animal dentro del cuadrado sobre la media global.

$P(C)_{k/i}$: Es el efecto positivo o negativo del k/i-ésimo periodo dentro del cuadrado sobre la media global.

$(T^*C)_{i^*l}$: Es el efecto positivo o negativo de la i^*l-ésima interacción del tratamiento y el cuadrado.

$E_{ij(K)}$: Es el error experimental, son variables aleatorias con distribución N

3.6 Resultados

Materias primas y composición porcentual de los alimentos balanceados

En la tabla 3.1, se describe la composición química y la participación porcentual de las materias primas y los suplementos utilizados. Los suplementos fueron formulados para ser isoenergéticos e isoproteicos, solo varió la inclusión del nivel de grasa, pero en ningún momento sobrepasó el 6% de grasa total.

Estimación del consumo de materia seca total

Los tratamientos utilizados no mostraron efecto directo sobre el consumo de materia seca total CMST ($p > 0.05$) para las metodologías comparadas (marcadores y ecuación propuesta por la NRC, 2001). El coeficiente de correlación entre estas dos metodologías fue bajo r : 34%.

Se estimó el CMST utilizando cromo como marcador externo, y el porcentaje de recuperación de cromo en heces empleado fue de 80%. Se utilizó LAD como marcador interno para estimar la digestibilidad de la MST, la cual fue de 59.51% (Tabla 3.2 y Figura 3.1).

Tabla 3.2. Estimación del consumo de materia seca total (ECMST) vaca día⁻¹ utilizando marcador externo (Cr_2O_3) y ecuación de la NRC (2001).

Ítem	GI ₀	GI ₂	GI ₃	GI ₄
CMST Kg vaca día¹ Cromo	21.2±4.6	22.9±8.8	21.1±6.4	23.6±7.1
CMST Kg vaca día¹ NRC	19.6±1.5	19.7±1.5	19.4±1.5	19.3±1.5

¹ECMSTCr: Estimación del consumo de materia seca total utilizando cromo como marcador externo (recuperación 80%) y digestibilidad de la MS 59.51% utilizando LAD como marcador interno. ECMSTN Kg/vaca/día: Estimación del consumo de materia seca total utilizando la expresión matemática que propone la NRC 2001.

Comparativo Consumo materia seca total entre metodologías

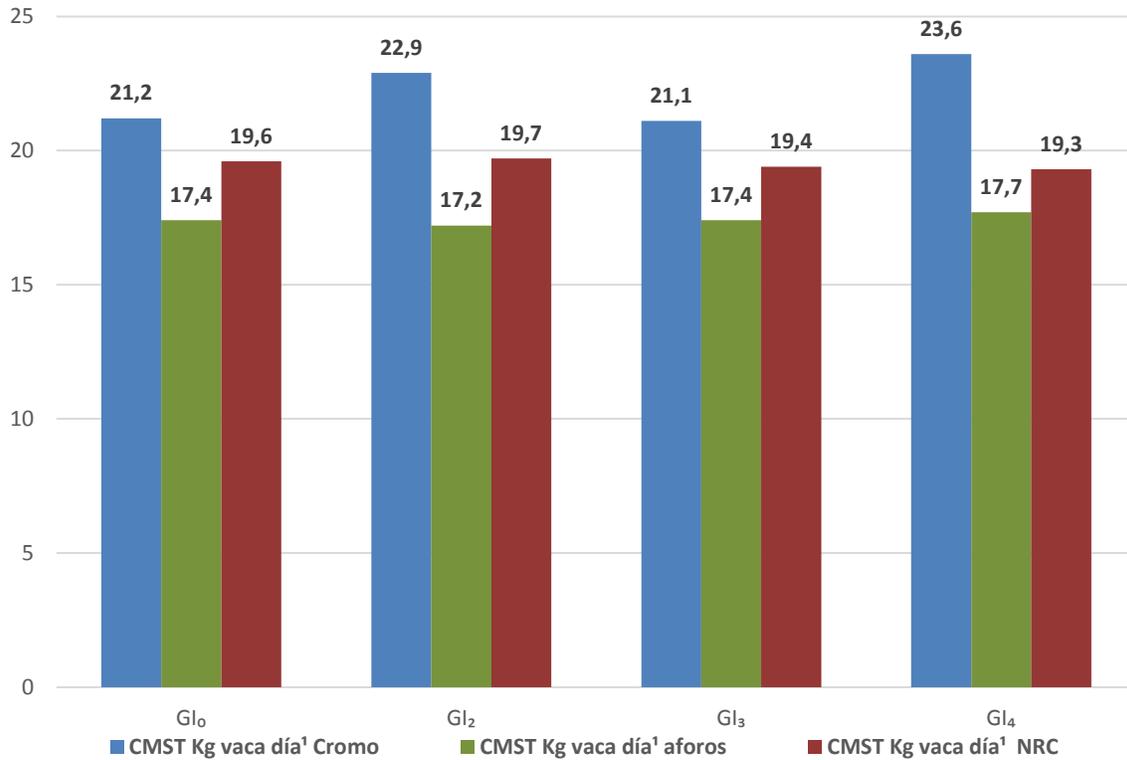


Figura 3.1. Comparativo del consumo de materia seca total por la metodología de Cromo en heces vs. Expresión matemática de la NRC (2001) y estimación por método agronómico CVMST (*promedio grupo⁻¹*).

Consumo voluntario de materia seca de pasto y porcentaje de eficiencia de utilización de la pradera

En los 4 periodos experimentales se realizaron aforos de entrada y de salida para estimar el consumo voluntario de MSTpromedio grupal de las vacas día⁻¹ y la eficiencia del pastoreo (Tabla 3.3). En la estadística descriptiva de los parámetros de la metodología de aforos, se encontró que el promedio de los aforos de entrada para el experimento fue de 1.87 Kg de forraje verde/m² y de 0.311 Kg de MS/m², para los aforos de salida el promedio encontrado fue de 0.717 Kg de forraje

verde/m² y 0.119 Kg de MS/m². En cuanto a la MS total disponible en promedio por potrero fue de 2215.4. Kg de MS y la MS total remanente fue de 805.03 Kg de MS. El porcentaje de eficiencia promedio de utilización de la pradera fue de 61.73 y el promedio de Kg de MS ofrecidos por cada 100 Kg de peso vivo en la rotación fue de 2.39. (Tabla 3.4).

Tabla 3.3. Consumo voluntario de materia seca de pasto y consumo de forraje verde (promedio grupal en cada periodo experimental)

Período	CMSPASTO Kg vaca día¹	CFVPASTO Kg vaca día¹
1	9.6	57.73
2	10.2	61.33
3	7.2	43.3
4	10.5	63.14

CMS: Consumo de materia seca. CFV: Consumo de forraje verde.

Tabla 3.4. Estadística descriptiva de los parámetros de la metodología de aforos

Parámetro	Promedio DE
% Materia seca	16.68±0.8
Aforo entrada forraje verde Kg/m²	1.87±0.4
Aforo salida forraje verde Kg/m²	0.717±0.2
Aforo entrada materia seca Kg/m²	0.311±0.05
Aforo salida materia seca Kg/m²	0.119±0.03
Área potreros m²	6951.5±1286.9
Materia seca total disponible Kg MS	2115.4±201.2
Materia seca total remanente Kg MS	805.03±71.9
Número de animales/potrero	27±2.16
Días de ocupación potrero	5.75±1.7
Eficiencia de utilización de la pradera%	61.73±4.4
Kg de MS ofertados/100Kg de peso vivo	2.39±0.53

Consumo de MS de pasto vs. MS de concentrado

Para esta estimación se tomaron los datos de CMST obtenido a través de la metodología del Cromo. Se comparó el porcentaje de CMS de pasto entre tratamientos; GI₂, GI₄ y GI₀ presentaron los porcentajes más altos de ingesta de MS del pasto y no hubo diferencia estadística significativa (p>0.05) entre los tres.

Pero si hubo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre el porcentaje de MS de pasto para GI_3 y GI_2 . También se comparó el porcentaje de CMS de concentrado entre tratamientos, se observó un comportamiento similar al CMS de pasto (Tabla 3.5).

Tabla 3.5 Ingesta de materia seca de pasto (MSP) vs. Ingesta de materia seca de concentrado (MSC) como porcentaje de la dieta diaria

Ítem	GI_0	GI_2	GI_3	GI_4
%MSP	54.27±12.09ab	58.27±10.97a	53.82±10.80b	57.64±12.66ab
%MSC	45.73±12.09ab	41.73±10.97a ¹	46.22±10.80b	42.36±12.66ab

¹ Letras idénticas en filas no hay diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$)

Composición química de la base forrajera kikuyo (Cenchrus clandestinus (Hochst. ex Chiov.) Morrone)

El valor relativo forrajero del kikuyo (*Cenchrus clandestinus*), lo ubica en primera y segunda categoría, ya que el contenido en FDN y FDA estuvo entre 47.76% y 59%, 18.21% y 29% respectivamente (Tabla 3.6). El contenido de LDA de las muestras tomadas para el estudio fluctuó entre 0.99% y 2.25%, es un contenido relativamente bajo para una especie de ciclo fotosintético C_4 . El contenido de PB estuvo dentro del rango 15.97% a 23.19%, es alto, si se tiene en cuenta que es una gramínea, pero debido a la fertilización nitrogenada, es de esperar estos valores tan altos; el contenido de MS fluctuó entre 14.06% y 19.62%; el Consumo de materia seca de pasto (CMSP) estimado a partir del FND estuvo entre 2.03 a 2.51% con respecto al peso vivo y la digestibilidad potencial de la materia seca del pasto (MSP) estimada por el contenido de FDA presento un rango 66.3 a 74.7% (Tabla 3.6), estos resultados tienen mucho que ver con el plan de fertilización.

Dentro de la variación de los resultados se tiene la edad del pasto, hora en que se tomó la muestra y estrato de la pradera (Tabla 3.6), específicamente en el cuarto periodo, donde cada estrato de la pastura se muestreo por separado (superior,

medio e inferior), estos resultados dan a pensar, que cuando se maneja un pastoreo a “fondo” la calidad de la MS ingerida disminuye notablemente, de ahí que se pueda decir que, para una finca con un manejo del pastoreo donde se obligue al animal a consumir hasta un punto donde se encuentre el límite anatómico (4 a 5 cm en promedio arriba de la superficie), se afecta el CMS, la calidad de esta y su digestibilidad; además se invierte la relación hojas-tallo del pasto, de esta manera las vacas lecheras de alta producción consumen más fibra de la que requieren, es por esto, que se debe muestrear lo que se consume el animal para poder estimar una base forrajera con la mayor exactitud posible.

Tabla 3.6. Composición química de la base forrajera kikuyo (*Cenchrus clandestinum*) de la Hacienda La Montaña durante el periodo experimental

Periodo	Preinicial	Primero	Segundo	Tercero	Cuarto superior	Cuarto medio	Cuarto inferior
MS	16,63	17,89	16,14	16,41	19,62	15,2	14,06
PB	18,64	19,96	21,04	23,19	21,67	18,61	15,97
FDN	59	56,46	53,96	53,91	47,76	50,87	55,5
FDA	29	21,74	20,77	21,26	18,21	21,57	25,59
LAD	1,06	1,11	1,23	1,33	0,99	1,57	2,25
CEL	27,94	20,63	19,54	19,93	17,22	20	23,34
HEM	30	34,72	33,19	32,65	29,55	29,3	29,91
VRF	104,35	118,26	125,15	124,49	145,37	131,9	115,47
CMSP	2,03	2,13	2,22	2,22	2,51	2,36	2,16
DMSP	66,3	71,9	72,7	72,3	74,7	72,1	68,9
Cat	2	2	1	2	1	1	2
Edad/d	42	38	35	40	40	40	40
Hora	03:50 p.m.	11:30 a.m.	11:30 a.m.	11:30 a.m.	12:30 p.m.	12:30 p.m.	12:30 p.m.

MS: Porcentaje de materia seca. PB: Porcentaje de proteína bruta. FDN: Porcentaje de fibra en detergente neutro. FDA: Porcentaje en fibra detergente ácido. LAD: Porcentaje de lignina ácido detergente. CEL: porcentaje de celulosa. HEM: Porcentaje de hemicelulosa. VRF: Valor relativo forrajero. CMSP: Porcentaje del consumo de materia seca del pasto con respecto al peso vivo del animal. DMSP: Porcentaje de digestibilidad de la materia seca del pasto (potencial). Cat: Categoría del pasto. Edad/d: Edad en días de la pastura. Hora: horario de recolección.

Digestibilidad de la materia seca (MS) empleando lignina ácido detergente como marcador interno y digestibilidad aparente de PB, FDN y FDA.

La digestibilidad de la materia seca empleando lignina ácido detergente como marcador interno no presentó diferencias significativas ($p>0.05$) entre tratamientos. El tratamiento GI_0 presentó el mayor valor de DMS con 64.4 y GI_2 el menor 55.9, la media general estuvo 59.51%. La digestibilidad aparente de la PB presentó diferencias ($p<0.05$) entre tratamientos, el mejor tratamiento fue GI_4 con un porcentaje de 69.4, mientras que GI_0 presentó el menor valor de digestibilidad 67.01. La digestibilidad aparente de la FDN presentó diferencias ($p<0.05$) entre tratamientos, el mayor porcentaje de digestibilidad para la FDN lo presentó GI_0 66.2 y el menor GI_4 43.3. La digestibilidad aparente de la FDA no presentó diferencias ($p>0.05$), el mayor valor fue GI_2 55.5 y GI_3 el menor 34.9 (Tabla 3.7)

Tabla 3.7. Digestibilidad aparente MS, PB, FDN y FDA en dietas de vacas Holstein suplementadas AG ω_6 y ω_3

Digestibilidad aparente	GI_0	GI_2	GI_3	GI_4
Materia seca (%)	64.4	55.9	56.0	61.6
Proteína bruta (%)	67.0 d	68.7 b	68.1 c	69.43 a
Fibra en detergente neutro (%)	66.2 a	59.2 ab	43.3 b	56.6 ab
Fibra en detergente ácido (%)	53.9	55.5	34.9	54.2

Letras diferentes en cada fila existen diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$). Porcentaje de digestibilidad de la materia seca empleando lignina ácido detergente como marcador interno.

Efecto de la inclusión de fuentes de grasa ricas en ω_6 y ω_3 sobre la producción y composición de la leche

El análisis estadístico no mostró efectos significativos ($p>0.05$) entre los tratamientos para las variables estudiadas (producción de leche, producción de

leche ajustada al 4% de grasa, porcentaje y cantidad de grasa, proteína y sólidos no grasos), pero hubieron diferencias matemáticas (Tabla 3.8)

Tabla 3.8 Efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein

Ítem	GI ₀	GI ₂	GI ₃	GI ₄
Producción litros/vaca/día	25.3±6.3	25.2±5.8	25.7±7.5	25.4±6.5
Leche corregida 4% grasa	23.3±4.4	23.1±5.4	23.3±4.0	23.0±3.3
Grasa (g)	834.0±101.9	829.3±88.0	835.8±99.7	820.9±74.3
Proteína (g)	855.3±223.9	840.9±188.2	848.1±201.4	843.8±184.9
Sólidos no grasos	2268.4±597.1	2230.5±502.7	2249.9±536.9	2238.2±493.7
Grasa (%)	3.23±0.7	3.22±0.6	3.24±0.6	3.18±0.6
Proteína (%)	3.18±0.1	3.17±0.1	3.18±0.1	3.17±0.1
Sólidos no grasos (%)	8.42±0.2	8.40±0.2	8.42±0.2	8.39±0.2

Con los datos de la tabla 3.8 se estimó la relación del contenido graso con el contenido proteico de la leche; para GI₀, GI₂ y GI₃ fue de 1.02 para los tres tratamientos y para GI₄ la relación fue de 1.00.

3.7. Discusión

Estimación del consumo de materia seca total

Los resultados obtenidos por la metodología de marcadores externos como el Cr₂O₃ (Tabla 3.2), están de acuerdo con lo que se reporta en la literatura para el CMST de vacas Holstein en pastoreo en la primera fase de lactancia, que llega del 18 - 21 Kg MS vaca día⁻¹ (Aritzizabal y Pérez 2005), en los estudios realizados por Correa *et al*, (2009) encontraron un CMST de 18.3 Kg MS vaca día⁻¹ (recolección total de heces) y con los resultados presentados por Mojica *et al*, (2009) 21.2 a 24.4 Kg MS vaca día⁻¹; pero esta metodología se debe utilizar con cuidado, ya que la tasa de pasaje del Cr₂O₃ por el tracto gastrointestinal no es constante (Arnold, 1967), y además hay que tener en cuenta que las recolecciones de heces se hicieron en el mismo horario todos los días del periodo en todos los periodos de toma de datos; esto puede dar una variación en la concentración del Cr₂O₃ en

heces; se estimó una tasa de recuperación del Cr_2O_3 del 80%, la cual resultó en una digestibilidad aparente de la MS dieta del 59.51%.%. Phar *et al*, (1970) en estudios con novillos Holstein reportaron digestibilidades de la MS entre 57.6 y 70% con la utilización de Cr_2O_3 como marcador externo. La Concentración del Cr en el Cr_2O_3 empleado en este estudio fue 15 ppm, por demás baja, y la dosificación por animal fue de 10 g vaca día⁻¹ de Cr_2O_3 . Hardison *et al*, (1959) observaron que la excreción del marcador fue más uniforme cuando se suministraron 15 g de Cr_2O_3 vaca día⁻¹. También es importante resaltar que cuando las vacas consumen la parte inferior de la planta en una pastura, como es frecuente en los sistemas de lechería especializada, que manejan altas cargas por unidad de área, obligan al animal a cosechar la parte más baja de la pradera (3-4 cm de la superficie del suelo) y tienden a mostrar una concentración de Cr_2O_3 más baja que cuando están consumiendo el estrato superior de la pradera (defoliación) (Hardison *et al*, 1959).

El inconveniente que se tiene para hacer una colección total de heces en este tipo de experimentos, pudo haber condicionado los resultados, por eso se quiso contrastar los resultados obtenidos con la estimación del CMST con la ecuación matemática propuesta por la NRC 2001 y a través del método agronómico, los cuales no presentaron diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$) entre tratamientos (Tabla 3.2, Figura 3.1); pero, hay una tendencia a sobreestimar los resultados cuando se utiliza la metodología de los marcadores, ya que no hubo una recuperación total de las heces y de los marcadores (Hardison *et al*, 1959; Arnold, 1967).

Se monitoreó el grado corporal de las vacas del estudio, presentándose un comportamiento normal de pérdida de grado corporal a través del tiempo de la investigación, ya que las vacas en primera fase de lactancia no ingieren la cantidad de MS que demandan para cubrir todos su requerimientos nutricionales, entre otros por el estrés posparto, el proceso de involución uterina y producción láctea, de allí que se le de tanta importancia a los resultados de la estimación del CMST realizada por aforos. Los resultados están relacionados con los

encontrados por Ariztizabal y Pérez, (2005) en la zona del altiplano norte de Antioquia, debido que el consumo voluntario de materia seca (CVMS) es el factor de mayor influencia en la producción de leche y en la condición corporal durante toda la lactancia de la vaca. En los sistemas de producción el consumo es afectado por diversos factores, uno de los cuales es el alto contenido de humedad de los pastos (Ariztizabal y Pérez, 2005).

Se manejó una alta presión de pastoreo como es lo habitual en estos hatos lecheros, que para el momento fue de 5.5 UA ha⁻¹, la concentración de tantos animales en tiempos de ocupación largos, tiende a afectar el CVMS (Stuedemann y Franzluebbers, 2007), ya que gran parte del área es afectada por heces y orina de las vacas, y si, se tiene en cuenta que el experimento se desarrolló durante la época de lluvias (segundo semestre), se afectó mucho más la disponibilidad de MS del pasto por contaminación con pantano del mismo; la disponibilidad promedio de Kg de MSP/100 Kg de PV fue de 2.39 (Tabla 3.4), que es baja en comparación con lo que reportan autores como Mojica *et al*, (2009) (2.6, 3.3 y 4 Kg de MSP/100 Kg de PV), Escobar y Carulla, (2003) (3.0, 5.0 y 7.0 Kg de MSP/100 Kg de PV) Kg de MSP/100 Kg de PV) para la sabana de Bogotá. En los estudios realizados por Escobar y Carulla (2003) en vacas Holstein en pastoreo, se encontró una correlación positiva entre la oferta forrajera (OF) y el consumo de materia seca de pasto (CVMS) registrando consumos de 12.71, 19.14 y 23.47 Kg vaca día⁻¹ con OF de 3.0, 5.0 y 7.0 respectivamente estimados a través de aforos.

Valor nutricional del pasto kikuyo (Cenchrus clandestinus (Hoescht Ex Chiov Morrone)

El pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoescht Ex Chiov Morrone) por el manejo que recibe con la sobre fertilización nitrogenada (540kg Nha⁻¹, 2011) en la hacienda La Montaña, se convierte en un alimento muy succulento, acelerando posiblemente la tasa de pasaje a nivel del tracto gastrointestinal, lo que disminuye su digestibilidad y aprovechamiento; esto ocasiona que el valor relativo del pasto

kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoescht Ex Chiov) Morrone) descienda y se ubique posiblemente en tercera categoría (Linn *et al*, 1989); los resultados del valor nutritivo que se obtuvieron en este trabajo son similares a las apreciaciones de Ariztizabal y Pérez (2005). Las muestras que fueron tomadas en el cuarto periodo de los estratos superior, medio e inferior, confirman que se debe manejar un pastoreo alto, donde las vacas defolien, de esta forma retiren el estrato superior de la pradera que contiene mayor cantidad de nutrientes y su digestibilidad también es mayor (Tabla 3.6).

El contenido elevado de humedad del pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoescht Ex Chiov) Morrone) (Tabla 3.6) se debe al exceso de fertilización nitrogenada, esto hace que haya un efecto de dilución de la fibra, y se vea limitada la capacidad de ingesta voluntaria de MS. El valor elevado de la PB en las muestras tomadas durante la investigación, es la respuesta a los planes de fertilización y posiblemente acarree problemas metabólicos y reproductivos. Se ha observado que el consumo voluntario disminuye cuando el contenido de MS del pasto es menor de 25 al 35% (National Research Council, 2001).

Digestibilidad de la materia seca (MS) empleando lignina ácido detergente como marcador interno, digestibilidad del material fibroso FDN y FDA y digestibilidad aparente de PB

La LAD se utilizó como marcador interno para estimar la digestibilidad de la MS de la dieta, el resultado fue 59.51%; Elam *et al* (1962) en sus trabajos con rumiantes encontraron 61.4% de DMS. La lignina se utiliza como marcador interno, pues se supone que no es digerible, pero su estructura puede ser degradada o modificada durante su paso a través del tracto gastrointestinal como resultado son bajas las cantidades recuperadas en las heces, es por esta razón que hay una recuperación incompleta (78% para la LAD), en estudios anteriores se ha encontrado una digestibilidad de la lignina de 8 a 53% (Merchen, 1993), 27.9 a 53.3% (Fahey y Jung, 1983). Queda claro que ninguna metodología es exacta, y que esto puede deberse a que no fue posible hacer la recuperación total de heces. La digestibilidad aparente de la FDN y FDA de los tratamientos empleados estuvo

entre 43.3 a 66.2% y 34.9 a 55.5% respectivamente (Tabla 3.7). Traxler *et al* (1998) encontraron valores de digestibilidad aparente de la FDN entre 65.9 a 68.3% en evaluaciones de 145 muestras de pastos. Sullivan *et al* (1993) encontraron digestibilidades aparentes para la FDN y FDA entre 64.1 a 65.9% y 31.2 a 35.4% respectivamente, en dietas para vacas lecheras utilizando semilla de algodón como base de la dieta. Se puede decir que el nivel de suplementación de grasas sin proteger debería de ser máximo el 6% para no afectar la cinética de degradación de la FDN y la FDA (Jenkins, 1993); se empleo la semilla integral de girasol molida como fuente de ω_6 , la cual protege a sus AG insaturados de la biohidrogenación sin afectar negativamente la degradabilidad de la dieta (Ekerenz *et al*, 1992). La digestibilidad del material fibroso del pasto favorece la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), puede ser un signo de que el animal está obteniendo energía necesaria (Jenkins, 1993).

La digestibilidad aparente de la PB en los tratamientos empleados en general tuvo buen comportamiento, al parecer el efecto de la inclusión de grasas insaturadas ricas en ω_6 y ω_3 en los niveles utilizados en el experimento tienden a mejorar la digestibilidad aparente de la PB (Tabla 3.6), según (Jenkins, 1993) cuando no se suministra dietas al ganado con carga tóxica de lípidos ($\pm 10\%$) de la MS de la dieta, no se afecta el metabolismo proteico. El tratamiento GI_4 tuvo el mayor porcentaje de digestibilidad 69.43%; pudo deberse a un efecto asociativo benéfico de la semilla integral de girasol que se incluyó dentro de la formulación de los suplementos para vacas lecheras de alta producción; esto es factible, ya que su calidad de proteína y fibra es mejor que el de otras materias primas empleadas normalmente dentro de las formulaciones. Se puede llamar al componente fibroso de la semilla integral de girasol como fibra “noble”, fibra que se digiere y tiene mayor aprovechamiento nutricional (Ekerenz *et al*, 1992). El metabolismo de la proteína tampoco se vio comprometido con los niveles de grasa empleados, esto permite sugerir que la dinámica de producción de proteína microbiana no se afectó (Jenkins, 1990).

Efecto de la suplementación con aceite de semilla de girasol y aceite de pescado sobre la producción y composición de la leche

Analizando los resultados obtenidos sobre la producción y la composición de la leche utilizando suplementos grasos ricos en ω_6 y ω_3 , no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) para los parámetros de producción total de leche, producción de leche ajustada al 4%, cantidad en gramos y porcentaje de grasa, proteína y sólidos no grasos (Tabla 3.7); debido principalmente a que se utilizó máximo el 6% de grasa en la formulación de los suplementos, a la inclusión de semilla de girasol molida (que se comporta como grasa protegida) y al bajo porcentaje de inclusión de aceite de pescado. Los niveles grasos empleados en la dieta no interfirieron con la dinámica ruminal normal, es decir, no se entorpece la acción de los microorganismos degradadores del material fibroso, que son una de las limitaciones para la utilización de suplementos grasos (Jenkins, 1993; Sackmann *et al*, 2003). Hervás *et al*, (2005) no encontraron diferencias significativas ($p > 0.01$) en producción y composición láctea cuando se suplemento con aceite de girasol y aceite de pescado, Angulo *et al*, (2012) reportaron que no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) en rendimiento lechero cuando se suplemento la dieta de vacas lecheras con AG insaturados de origen vegetal y marino, a su vez Baumgard *et al*, (2002) afirmaron que no hay diferencias significativas ($p > 0.01$) en rendimiento lechero cuando se suplementa con AG insaturados; los trabajos aquí descritos utilizaron un nivel de 3 a 6% de grasa total dentro de la MS. La inclusión de ácidos grasos polinsaturados de cadena larga (PUFAs) en las dietas para vacas lactantes puede detener el paso final de la biohidrogenación en el rumen, lo que significaría un mejor aporte al tejido mamario de ácido linoleico conjugado (CLA) que no deprime el contenido graso de la leche y le da valor agregado a esta (Angulo *et al*, 2012). Esto puede ser apoyado por la relación gramos de grasa por kilogramo de MS en las dietas empleadas, se estuvo por debajo de los 60 g de grasa kg^{-1} MS, que según los reportes literarios hasta ese nivel no se afecta la dinámica ruminal, los mismos

autores encontraron que cuando la relación era de 100 g de grasa kg^{-1} MS si se afecta la degradación de MS de la dieta, y si esto ocurre va a afectar el nivel de producción al restringir el CVMS (Sackmann *et al*, 2003; Ramírez, 2003); también afectaría la cantidad de grasa de la leche al interferir con la degradación de la fibra y el metabolismo de los ácidos grasos, particularmente el ácido acético y el ácido butírico que participan en la síntesis de *novo* de ácidos grasos de cadena corta en la glándula mamaria los cuales aportan cerca del 50% de la grasa láctea (Mcdonald *et al*, 2002). El que no haya variado el nivel de proteína de la leche con los tratamientos grasos, demostró que los niveles utilizados fueron cuidadosamente formulados, porque al no presentarse un efecto negativo en la degradación de la MS de las dietas, el aporte de proteína microbial desde el rumen hacia el intestino se mantuvo en niveles normales y esto se reflejó en el contenido de proteína de la leche (Tabla 3.8).

Al no haber variaciones en el nivel de producción de leche entre los tratamientos empleados (Tabla 3.8), es correcto pensar que el suministro de glucosa fue parejo para todos los tratamientos, ya que esta es la principal responsable del nivel de producción y de lactosa presente en la leche (Nudda *et al*, 2004). La lactosa y la proteína son los principales aportantes para los SNG de la leche; sin olvidar a las sales minerales, la dinámica de estos tres componentes no se afectó con los tratamientos empleados; a pesar de que las proporciones de MSP vs. MSC estuvieron desbalanceadas para todos los tratamientos a favor de la MSC (Tabla 3.5), transgrediendo los tratados de nutrición en vacas que recomiendan una proporción máxima de 60:40 MSP y MSC respectivamente (Ariztizabal y Pérez 2005). Es preocupante la restricción en CMSP que padecieron las vacas de alta producción durante todo el estudio (Tabla 3.3), pues esto exacerba el desbalance entre la MSP vs. MSC, y posiblemente predispone a acidosis subclínicas, laminitis, a un funcionamiento indecuaado del rumen, entre otros, consecuentemente afectando el bienestar animal.

3.8 Conclusiones

El nivel de inclusión de los aceites de girasol ω_6 y pescado ω_3 en las dietas experimentales no causó detrimentos en los niveles de producción y composición de la leche, y no afectaron negativamente el consumo de materia seca de pasto (MSP) y de materia seca total (MST), probablemente por que se utilizó semilla molida de girasol (grasa protegida) y al bajo nivel de inclusión de aceite de pescado.

En estudios subsecuentes que involucren la estimación del CMST en vacas en pastoreo utilizando la metodología de marcadores, se debe aplicar simultáneamente el método agronómico (aforos de entrada y de salida: aforos de consumo) con cada animal del estudio (franjas de potrero individualizadas). Se debe procurar conducir un pastoreo “alto” para que las vacas defolien el estracto superior de la pastura, el cual posee mayor calidad nutricional y digestibilidad.

3.9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Angulo J, Hiller B, Albrecht E, Olivera M, Mahecha L, Nuernberg G, Dannenberger D and Nuernberg K. 2012. Effect of different dietary fats on protein expression of sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) in mammary gland tissue of lactating cows. *Livestock Science*. Volume 143, Issues 2-3. p 300-304.

Aristizabal J V y Pérez R R. 2005. Factores que afectan el consumo voluntario de materia seca en vacas en producción en trópico alto. *Bioquímica, nutrición y alimentación de la vaca*. Capítulo 11. Pag 263 -281.

Arnold G W. 1967. Empleo de técnicas in vitro en asociación con técnicas de muestreo para medir la digestibilidad y el consumo en pastoreo. En *Métodos in*

vitro para determinar el valor nutritivo de los forrajes. Editor: Osvaldo Paladines. Jefe del programa ganadería y pastos. Memorias del simposio realizado en Estanzuela. Montevideo Uruguay. Pag. 61-100. Total 157p.

Baumgard L H, Corl B A, Dwyer D A and Bauman D E. 2002. Effects of conjugated linoleic acids (CLA) on tissue response to homeostatic signals and plasma variables associated with lipid metabolism in lactating dairy cows. J ANIM SCI. 80:1285-1293.

Caroprese M, Marzano A, Marino R, Gliatta G, Muscio A and Sevi A. 2010. Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. J. Dairy Sci. 93: 2580–2588 doi: 10.3168/jds.2008-2003.

Correa C H J, Pabón R M L y Carulla F J E. 2009. Estimación del consumo de materiaseca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia. Livestock Research for Rural Development, Volume 21, Number 4, April. .

Correa C H J. 2011. Efecto del manejo del pastoreo y la suplementación alimenticia en vacas lactantes de sistemas especializados sobre su metabolismo energético y proteico y el contenido de proteína en la leche. Tesis en Ciencias de la Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Pag 203.

Church D C. 1988. El Rumiante: Fisiología Digestiva y Nutrición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. De la edición en lengua española. 641 p.

Dirandeh E, Towhidi A, Zeinoaldini S, Ganjkanlou M, Ansari Pirsaraei Z and Fouladi-Nashta A. 2013. Effects of different polyunsaturated fatty acid supplementations during the postpartum periods of early lactating dairy cows on milk yield, metabolic responses, and reproductive performances. J. Anim. Sci. 91: 713–721.

Elam C J, Reynolds P J, Davis R E and Everson D O.1962. Digestibility studies by means of chromic oxide, lignin and total collection techniques with sheep 1. *U.S. Department of Agriculture. J ANIM SCI.* 21:189-192.

Ekerenz P A, Smith D R, Lunts D K, and Smith S B. 1992. Ruminant Biohydrogenation of Fatty Acids From High-Oleate Sunflower Seed. *J ANIM SCI.* 70:2574-2580.

Escobar A y Carulla J E. 2003. Efecto de la oferta de forraje sobre los parámetros productivos y composicionales de la leche en la sabana de Bogotá. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 16. (Suplemento):74.

Fahey G C Jr and Jung H G. 1983. Lignin as a marker in digestión studies: a review. *Journal Animal Science.* 57:220-225.

Guzhva O. 2013. Exercise pasture compared with production pasture in a part time grazing system with automatic milking. Master Thesis Animal Science. Swedish University of Agriculture Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science. SLU. Pgs. 40.

Hardison W A, Linkous W N, Engle R W and Graf G C. 1959. Observations on the use of chromic oxide for estimating the fecal output of dairy animals. *J. Dairy Sci.* 42:346.

Hervás G, Shingfield K J, Reynolds C K, Jones A K, Lupoli B, Griinari J M, Grandison A S y Beaver D E. 2005. Efecto de la inclusión de una mezcla de aceites de pescado y de girasol en la dieta de vacuno lechero sobre el rendimiento productivo y el perfil lácteo de ácidos grasos. *Información Técnica Agropecuaria. Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario. XI jornadas de estudio animal.* Vol 26. Tomo II, Zaragoza, España. Pag 694-696.

Jenkins T C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *Journal Dairy Science.* 76:3851-3863.

Jenkins T C and N Fotouhi. 1990. Effects of lecithin and corn oil on site of digestion, ruminal fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *J. Anim. Sci.* 68:460.

Kelly M L, J R Berry, D A Dwyer, J M Griinari, P Y Chouinard, M E Van Amburgh, and D E Bauman. 1998. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128:881–885.

Langlands J P, Corbett J L, McDonald I, and Reid G W. 1963. Estimation of the faeces output of grazing animals from the concentration of chromium sesquioxide in a sample of faeces 2.* Comparison of estimates from samples taken at fixed times of day with estimates from samples collected from the sward. *British Journal of Nutrition.* 17: 291-226.

Linn J G, Martin N P, Howard W T and Rohweder D A. 1987. Relative feed value as a measure of forage quality. *Minnesota Forage UPDATE.* vol XII, No. 4. pp 2,4. Minnesota Forage and Grassland Council.

Merchen N R. 1993. Digestión, absorción y excreción en los rumiantes. En: D. C. Church (Ed.). *El rumiante, fisiología digestiva y nutrición.* Tomo I. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. 191 – 223.

Mcdonald P, Edwards R A, Greenhalgh J F D y Morgan C A. 2002. Lípidos capítulo 3. p 27-45 Lactación capítulo 16. *Nutrición animal.* Editorial Acribia. Sexta edición. S.A. Zaragoza España. 578 pag.

Mojica J E, Castro E, León J, Cárdenas E A, Pabón M L y Carulla J E. 2009. Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción y calidad composicional de la leche bovina. *Livestok Research for Rural Development* 21 (01).

National Research Council (NRC). 2001. The nutrient requirement of dairy cattle. Seventh edition; National Academy Press, Washington D. C. 381 p.

Noguera R R, Bedoya-Mejía O y Posada S L. 2011. Producción, composición de la leche y estatus metabólico de cabras lactantes suplementadas con ensilajes. *Livestock Research for Rural Development* 23 (11).

Nudda A, Bencini R, Mijatovic S and Pulina G. 2002. The yield and composition of milk in Sarda, Awassi, and Merino sheep milked unilaterally at different frequencies. *Journal of Dairy Science* 85: 2879-2884.

Oltenucu P A and Broom D M. 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare*. 19(S): 39-49 ISSN 0962-7286.

Pappritz J, Meyer U, Kramer R, Weber EM, Jahreis G, Rehage J, Flachowsky G and Dänicke S. 2011. Effects of long-term supplementation of dairy cow diets with rumen-protected conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. In: *Archives of Animal Nutrition*. Vol. 65, No. 2, April 2011, 89–107.

Phar N P A, Bradley W, Little C O and Cundiff L V. 1970. Effects of confinement and level of intake on digestibility of nutrients and excretion of chromis oxide, crude protein and gross energy in the bovine. *Journal Animal Science*. 30:598-592

Ramírez L R G. 2003. Nutrición de rumiantes. Sistemas intensivos. Editorial Trillas. Primera edición. México D F. 304 pag.

Rodríguez N M, Oliveira E S S y Guimaraes-Júinor R. 2007. Uso de indicadores para estimar consumo y digestibilidad de pasto. LIPE, lignina purificada y enriquecida. *Revista colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20:4. P.518-524.

Sackmann J R, Duckett S K, Gillis M H, Realini C E, Parks A H and Egelston R B. 2003. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation

of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. J ANIM SCI 81:3174-3181.

Silva J D. y Cesar de Queiroz A. 1990. Determinacao do oxido cromico (Cr_2O_3) em fezes metodo da absorcao atômica. Pag 120-124.

Sierra P J O. 2002. Ecofisiología de las especies forrajeras. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros. Ciencia y tecnología. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. 259 p. (66-108).

Sierra P J O. 2015. Aforo del rendimiento de follaje consumible para el cálculo de la carga inicial y ajuste periódico de la carga en el pastoreo rotacional. pp. 347-372. En: Aprovechamiento racional y utilización eficiente de pasturas y cultivos forrajeros en el trópico. Centro de publicaciones UNAL de Colombia sede Medellín. Agosto. Pags 682.

Stuedemann J A and Franzluebbbers A J. 2007. Cattle performance and production when grazing Bermudagrass at two forage mass levels in the southern Piedmont. J ANIM SCI. 85:1340-1350.

Sullivan J L, Huber J T, Price R L and Harper J M. 1993. Comparison of digestibility, nutritive value, and storage characteristics of different forms of cottonseed in diets fed to lactating dairy cows. J ANIM SCI. 71:2837-2842.

Taweel K Z. 2006. Improving dry matter intake of perennial-ryegrass pasture by dairy cows. In: Elgersma A, Dijkstra J, and Tamminga S. (Eds). Fresh Herbage for Dairy Cattle. Chapter 9. Springer, Netherlands. Pp. 159-174.

Traxler M J, Fox D G, Van Soest P J, Pell A N, Lascano C E, Lanna D P, Moore J E, Lana R P, Vélez M and Flores A. 1998. Predicting forage indigestible NDF from lignin concentration. J ANIM SCI. 76:1469-1480.

Williams C H, David DJ and Lismaa O. 1962. The determination of chromic oxide in faeces by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of Agriculture Science*. (Cambridge) 59:381.

Zachut M, Arieli A, Lehrer H, Livshitz L, Yakoby S and Moallem U. 2010. Effects of increased supplementation of n-3 fatty acids to transition dairy cows on performance and fatty acid profile in plasma, adipose tissue, and milk fat. *J. Dairy Sci.* 93: 5877–5889 doi: 10.3168/jds.2010-3427.

Zinn R A, Gulati S K, Plascencia A and Salinas J. 2000. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 78:1738–1746.

Conclusiones generales

La inclusión de aceite de semilla de girasol molido ω_6 (grasas insaturadas protegidas) y aceite de pescado pelágico ω_3 (grasas insaturadas sin proteger) en combinación para dietas de vacas lecheras de alta producción de la raza Holstein en los niveles utilizados en este estudio, no afectó los parámetros de degradabilidad ruminal de la materia seca (MS) y materia orgánica (MO) del pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoescht Ex Chiov) Morrone) y de los suplementos dietarios, estimados a través de la técnica *in vitro* de producción de gases. Esta técnica ofrece resultados confiables para la digestibilidad *in vitro* de pastos, alimentos concentrados y todos los componentes de la dieta que se requieran evaluar.

Suplementar la dieta de vacas Holstein de alta producción manejadas en pastoreo intensivo de kikuyo (*Cenchrus clandestinus* (Hoescht Ex Chiov) Morrone) en monocultivo con grasas insaturadas ricas en ω_6 (grasas insaturadas protegidas) y ω_3 (grasas insaturadas sin proteger) no causó detrimentos en los niveles de producción y composición de la leche, y no se afectó el consumo de materia seca de pasto (CMSP), ni el consumo de materia seca total (CMST); es recomendable en estudios subsecuentes que involucren la estimación del CMST de vacas en pastoreo intensivo utilizando la metodología de marcadores, aplicar simultáneamente el método agronómico (aforos de entrada y salida: estimar la cantidad de material retirado de la pastura durante el periodo de pastoreo) individualizando el pastoreo por franjas, con el fin de corroborar los datos obtenidos con marcadores y construir los coeficientes de correlación (r) estadística. Los resultados de experimentos con vacas en confinamiento y semiconfinamiento que han sido suplementadas con ácidos grasos insaturados entre 1-6% de la materia seca, en general presentaron efectos positivos sobre el consumo de materia seca, producción y composición de la leche; la presente investigación fue realizada en medio tropical, se debe tener en cuenta que son manejos diferentes (TMR o PMR) comparado con un manejo de

pastoreo intenso. Los mejores resultados en cuanto a cantidad de grasa en la leche y composición de la misma (CLA) se alcanzan bajo pastoreo directo.