

**EVALUACION DE DIFERENTES FUENTES DE CARBOHIDRATOS SOBRE EL  
DESEMPEÑO PRODUCTIVO, LA SALUD ANIMAL Y LA RENTABILIDAD EN  
GANADERIA DE LECHE ESPECIALIZADA EN EL NORTE DE ANTIOQUIA**

**ESTUDIANTE**

**Luis Miguel Gómez Osorio**

**TUTORA**

**Profesora Sandra Lucía Posada Ochoa, Zoot, MSc, Dr. Sci. Anim.**

**CO-TUTORA**

**Profesora Martha Olivera Ángel, MV, Dr. Sci. Agri.**

**COMITÉ TUTORIAL**

**Profesor Ricardo Rosero Noguera, Zoot, Dr. Sci. Anim**

**Pablo Aguirre Martínez, Zoot, MSc.**

**Facultad de Ciencias Agrarias**

**Universidad de Antioquia**

**2016**

## DEDICATORIA

A Dios y a la virgen María, quienes han sido mi guía espiritual

A mi mamá, Nelly, por su apoyo y cariño

A mi esposa, Ana María, por su paciencia infinita. Por ser mi compañera en todo momento. Por estar ahí y asumir el papel de padre y madre cuando yo no pude hacerlo.

A mis hijos Juan Pablo, María Paulina y María Camila, porque a pesar de sus cortas edades, me han sabido comprender y apoyar con sus muestras de cariño

A mi hermano Jorge Iván, de quien aprendí el hábito de la lectura

A Blanquita, que nos cuida desde el cielo

A Mauricio Campillo, por promover la formación de alto nivel

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia y al grupo DIMA del Institute de la Recherche Agronomique (INRA) por permitirme crecer como persona y como profesional

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (Colciencias, Colombia, código No. 1115+569-33874) quien financió el proyecto “*Evaluación in vitro e in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo, reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en Antioquia”, al igual que la convocatoria 528 para estudios de doctorado nacional.

A mi tutora, la profesora Sandra Posada, por tener la paciencia, la voluntad y la disponibilidad de enseñarme lo que sabe y de guiarme por el duro pero gratificante camino de la investigación. Por su aporte a mi crecimiento como investigador y como ser humano. También por enseñarme el valor de la atención al detalle.

A mi co-tutora, la profesora Martha, quien siempre me apoyó desde la concepción de la idea. También, por enseñarme la virtud del pragmatismo y a no tener miedo a romper paradigmas.

A los miembros del comité tutorial, el profesor Ricardo Rosero y el señor Pablo Aguirre, quienes fueron parte fundamental de este equipo de trabajo. Su visión crítica y aplicada de la ciencia, permitieron que el trabajo creciera de manera integral.

A la investigadora Cecile Martín, por abrirme las puertas de su grupo de investigación y permitirme aprender nuevo conocimiento. Al profesor Joaquín Angulo y al profesor Héctor Jairo Correa por su apoyo incondicional. Al señor Javier Henao por su acompañamiento en el trabajo de campo.

Al profesor Juan Carlos Rodríguez-Lecompte, con quien sostuvimos debates muy interesantes sobre la salud animal y quien ayudó al crecimiento de este trabajo.

A la empresa Solla S.A., quien siempre creyó en mí para desarrollar este proyecto y me apoyó en todo momento.

Al equipo de Investigación y Desarrollo (Juan Camilo, Carolina, Oliver y Javier Alonso), Talento Humano y a la Presidencia de Solla, quienes siempre estuvieron dispuestos a colaborarme y apoyarme en todo momento.

A mi esposa Ana María y a mis hijos Juan Pablo, María Paulina y María Camila por ser la motivación que inspira mi vida.

A mi mamá, Nelly, porque a pesar de la distancia, siempre tuvo una palabra de aliento y una oración a Dios, en los momentos críticos.

## TABLA DE CONTENIDO

### EVALUACION DE DIFERENTES FUENTES DE CARBOHIDRATOS SOBRE EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO, LA SALUD ANIMAL Y LA RENTABILIDAD EN GANADERIA DE LECHE ESPECIALIZADA EN EL NORTE DE ANTIOQUIA

---

<b>Resumen General</b>	23
<b>Abstract</b>	25
<b>Introducción General</b>	27

---

<b>Objetivos</b>	30
------------------	----

---

## CAPÍTULO 1

### ALMIDONES EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES. UNA REVISIÓN.

---

<b>Introducción</b>	33
<b>Descripción del almidón</b>	33
Composición	33
Estructura	33
Alteraciones estructurales	35
<b>Fuentes de almidón</b>	35
Granos de cereales	35

Fuentes no convencionales	35
<b>Digestión ruminal y post-ruminal del almidón</b>	36
<b>Factores que afectan la digestibilidad</b>	37
Tamaño del gránulo	37
Relación amilosa/amilopectina	37
Endospermo harinoso versus vítreo	37
Complejos almidón-lípidos	37
Complejos almidón-proteínas	37
Procesamiento del grano de cereal	38
Fuente del almidón	38
<b>Almidón y Acidosis Ruminal Subaguda</b>	39
<b>Almidón y Metanogénesis</b>	39
<b>Relación entre almidón, producción y calidad</b>	
<b>composicional de la leche</b>	40
Efecto sobre producción y contenido de grasa	40
Efecto sobre contenido de proteína	41
<b>Consideraciones finales</b>	42

---

## CAPÍTULO 2

### CONSTRUCCIÓN DE UN MODELO BIOLÓGICO SOBRE LA RELACIÓN ENTRE ACIDOSIS RUMINAL SUB-AGUDA (ARSA) Y CARBOHIDRATOS NO ESTRUCTURALES: UN CASO DE ESTUDIO EN INMUNOLOGIA NUTRICIONAL

---

<b>Introducción</b>	49
<b>Carbohidratos no estructurales y ARSA</b>	49
<b>Producción y traslado de endotoxinas en vacas de leche</b>	50
<b>Endotoxinas y glándula mamaria</b>	53
<b>Consideraciones finales</b>	55

---

## CAPÍTULO 3

### EFFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE, LA SALUD RUMINAL Y SISTÉMICA DE LA VACA

---

<b>Introducción</b>	59
<b>Materiales y métodos</b>	62
Localización	62
Animales y diseño experimental	63
Dietas experimentales y alimentación	63

Descripción química de los alimentos	66
Consumo y digestibilidad de la materia seca	67
Producción de leche, calidad composicional y sanitaria	69
pH ruminal, temperatura rectal y score de locomoción	70
Parámetros hematológicos, química sanguínea y	
Nitrógeno ureico en leche	72
Análisis estadístico	73
<b>Resultados</b>	74
<b>Discusión</b>	81
Caracterización química de los alimentos	81
Consumo y digestibilidad de la materia seca	82
Producción de leche y calidad composicional y sanitaria	84
Eficiencia alimenticia	86
pH ruminal, temperatura rectal y score de locomoción	86
Parámetros hematológicos	89
Perfil metabólico	90
<b>Conclusión</b>	91
<b>Referencias</b>	92

---

## CAPÍTULO 4

### EFFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS NO FIBROSOS SOBRE EL CONSUMO, DESEMPEÑO, PERFIL METABÓLICO, Y DIGESTIBILIDAD EN VACAS LACTANTES EN PASTOREO

---

<b>Introducción</b>	104
<b>Materiales y métodos</b>	106
Localización	106
Animales y diseño experimental	107
Dietas experimentales y alimentación	107
Descripción química de los alimentos	109
Consumo de materia seca	110
Producción de leche, calidad composicional y sanitaria	111
Perfil metabólico, nitrógeno ureico en leche, peso vivo y condición corporal	112
Digestibilidad de nutrientes	113
Análisis estadístico	114
<b>Resultados</b>	115
<b>Discusión</b>	123
Consumo de materia seca, relación Forraje:concentrado, eficiencia alimenticia	124
Producción de leche, calidad composicional y sanitaria	124
Perfil metabólico	126
Digestibilidad de nutrientes	127
<b>Conclusión</b>	129
<b>Referencias</b>	129

---

## CAPÍTULO 5

### ANÁLISIS DE LA RENTABILIDAD DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE VARIANDO LA FUENTE DE CARBOHIDRATO UTILIZADA EN EL SUPLEMENTO DE VACAS HOLSTEIN EN PASTOREO

---

<b>Introducción</b>	137
<b>Materiales y métodos</b>	139
Localización	140
Animales y diseño experimental	140
Dietas experimentales y alimentación	140
Producción de leche, calidad composicional, higiénica y sanitaria	142
Ingreso por venta de leche	143
Costo de producción de leche	144
Análisis de rentabilidad	145
<b>Resultados</b>	146
<b>Discusión</b>	149
<b>Referencias</b>	152

---

## LISTA DE TABLAS

### CAPÍTULO 1

#### ALMIDONES EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES. UNA REVISIÓN.

---

Tabla 1	Propiedades de los componentes del almidón	34
Tabla 2	Gelatinización del almidón bajo varios métodos de procesamiento	35
Tabla 3	Contenido de amilosa y amilopectina en varios alimentos	36
Tabla 4	Enzimas involucradas en la hidrólisis del almidón	36
Tabla 5	Contenido de almidón y digestibilidad ruminal	37

---

### CAPÍTULO 3

#### EFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE, LA SALUD RUMINAL Y SISTÉMICA DE LA VACA

---

Tabla 1	Ingredientes y composición química de los cuatro suplementos concentrados	65
Tabla 2	Composición del almidón de los ingredientes y los suplementos concentrados	66

Tabla 3	Peso, condición corporal, consumo, digestibilidad de la materia seca y eficiencia alimenticia de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos	76
Tabla 4	Efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria	77
Tabla 5	pH ruminal y temperatura rectal en vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos	78
Tabla 6	Parámetros hematológicos de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos	79
Tabla 7	Perfil metabólico de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos	80

---

#### **CAPÍTULO 4**

### **EFFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS NO FIBROSOS SOBRE EL CONSUMO, DESEMPEÑO, PERFIL METABÓLICO, Y DIGESTIBILIDAD EN VACAS LACTANTES EN PASTOREO**

---

Tabla 1	Ingredientes y composición química de los cuatro suplementos concentrados	108
Tabla 2	Consumo, relación forraje concentrado, eficiencia alimenticia, de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos	117
Tabla 3	Efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre la producción de leche, calidad composicional, sanitaria y nitrógeno ureico en leche	118
Tabla 4	Perfil metabólico, función hepática y estado corporal de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos	119
Tabla 5	Efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad de los nutrientes	120

---

## **CAPÍTULO 5**

### **ANÁLISIS DE LA RENTABILIDAD DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE VARIANDO LA FUENTE DE CARBOHIDRATO UTILIZADA EN EL SUPLEMENTO DE VACAS HOLSTEIN EN PASTOREO**

---

Tabla 1	Ingredientes y composición química de los cuatro suplementos concentrados	141
---------	---	-----

Tabla 2	Efecto de los tratamientos sobre el consumo de materia seca, la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria	146
Tabla 3	Precio de venta del litro de leche para los tratamientos experimentales	147
Tabla 4	Costo de producción del litro de leche para los tratamientos experimentales	147
Tabla 5	Costo de alimentación y su participación en el costo total de producción	148
Tabla 6	Análisis de rentabilidad de los cuatro suplementos concentrados	148

---

**LISTA DE FIGURAS****CAPÍTULO 1****ALMIDONES EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES. UNA REVISIÓN**

---

Figura 1a	Estructura del gránulo de almidón	34
Figura 1b	Estructura de la amilopectina	34
Figura 2	Composición del grano de maíz	35

---

**CAPÍTULO 2****CONSTRUCCIÓN DE UN MODELO BIOLÓGICO SOBRE LA RELACIÓN ENTRE ACIDOSIS RUMINAL SUB-AGUDA (ARSA) Y CARBOHIDRATOS NO ESTRUCTURALES: UN CASO DE ESTUDIO EN INMUNOLOGIA NUTRICIONAL**

---

Figura 1	Efecto de la acidosis ruminal subaguda sobre la salud ruminal y sus efectos sistémicos	51
Figura 2	Efecto de la acidosis ruminal subaguda sobre la Glándula mamaria	54

---

**CAPÍTULO 4****EFFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS NO FIBROSOS SOBRE EL CONSUMO, DESEMPEÑO, PERFIL METABÓLICO, Y DIGESTIBILIDAD EN VACAS LACTANTES EN PASTOREO**

---

Figura 1	Porcentaje de grasa de leche con las diferentes fuentes de carbohidratos durante los días en leche evaluados	121
Figura 2	Relación grasa proteína de leche con las diferentes Fuentes de carbohidratos durante los días en leche evaluados	121
Figura 3	Porcentaje de sólidos totales de leche con las diferentes fuentes de carbohidratos durante los días en leche evaluados	122
Figura 4	Condición corporal durante todo el período de evaluación	123

---

**LISTA DE ABREVIATURAS**

ADP	Amplitud de distribución plaquetaria
AGNE	Ácidos grasos no esterificados
AGV	Ácidos grasos volátiles
Alb	Albúmina
APR	Reactantes de fase aguda
ARSA	Acidosis ruminal sub-aguda
ASA	Amiloide sérico A
AST	Aspartato aminotransferasa
BEN	Balance energético negativo
BHB	Beta-hidroxibutirato
Bo	Bonificación obligatoria
BPG	Buenas prácticas ganaderas
CC	Condición corporal
CCS	Conteo de células somáticas
CD14	Cluster de diferenciación 14
CCdel	Condición corporal en los días en leche
CHbCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
CMS	Consumo de materia seca
CMS <sub>C</sub>	Consumo de materia seca concentrado
CMS <sub>P</sub>	Consumo de materia seca pasto
CMS <sub>T</sub>	Consumo de materia seca total

CNE	Carbohidrato no estructural
CNF	Carbohidrato no fibroso
CCp	Condición corporal una semana antes del parto
CCpe	Condición corporal perdida
CRP	Proteína C reactiva
DEL	Días en leche
DIVMS	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca
DL	Densidad de la leche
DMS	Digestibilidad de la materia seca
EA	Eficiencia alimenticia
EB	Energía bruta
EE	Extracto etéreo
EN <sub>L</sub>	Energía neta de lactancia
FA	Fosfatasa alcalina
FB	Fibrinógeno
FC	Fibra cruda
F:C	Forraje:Concentrado
FDA	Fibra en detergente ácido
FDN	Fibra en detergente neutro
GB	Glóbulos blancos
GGT	Gama glutamil transferasa
Glo	Globulina
G:P	Grasa:Proteína

Gr	Gramos de grasa por litro/100 gramos de leche
GR	Glóbulos rojos
HB	Hemoglobina
HbCM	Hemoglobina corpuscular media
HDL	Lipoproteína de alta densidad
Hp	Haptoglobina
HTO	Hematocrito
IL-1	Interleuquina 1
IL-6	Interleuquina 6
ISCA	Índice de ingresos sobre costos de alimentación
LBP	Proteína ligadora de lipopolisacáridos
LCE	Leche corregida por energía
LCG	Leche corregida por grasa
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LPL	Lipoprotein lipasa
LPS	Lipopolisacáridos
LTA	Ácido lipoteicoico
MADR	Ministerio de agricultura y desarrollo rural
Mg	Magnesio
MI	Material inorgánico (cenizas)
MO	Materia orgánica
MP	Margen porcentual
MS	Materia seca

MSI	Materia seca indigerible
MSI <sub>A</sub>	Materia seca indigestible del alimento
MUB	Margen utilidad bruta
NDT	Nutrientes digestibles totales
Neu:Lin	Neutrófilo:Linfocito
NF-kB	Factor de transcripción kB
Nh	Nutriente en las heces
NH <sub>3</sub>	Amoníaco
NH <sub>4</sub>	Amonio
NNP	Nitrógeno no proteico
Np	Nutriente en el forraje
Ns	Nutriente en el suplemento
NUL	Nitrógeno ureico en leche
PAMP	Patrones moleculares asociados a patógenos
PC	Proteína cruda
PCA	Relación precio venta sobre costo de alimentación
PDR	Proteína degradable en rumen
PF	Producción fecal
PL	Producción de leche
PLA	Plaquetas
PMN	Polimorfonuclear
PNA	Polisacárido no amiláceo
PPT	Proteínas plasmáticas totales

Pr	Gramos de proteína por litro/100 gramos de leche
PRR	Receptores reconocedores de patrones
P <sub>t</sub>	Fósforo total
PTO	Plaquetocrito
PV	Peso vivo
PVdel	Peso vivo en los días en leche
PVp	Peso vivo una semana antes del parto
PVpe	Peso vivo perdido
PZO	Proteínas de uniones estrechas
Qgg	Cantidad de gramos de grasa por litro de leche
Qgp	Cantidad de gramos de proteína por litro de leche
T	Costo de transporte
TG	Triglicéridos
TLR-4	Receptor tipo Toll 4
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
UFC	Unidades formadoras de colonias
VCM	Volumen corpuscular medio
Vgg	Valor del gramo de grasa
Vgp	Valor del gramo de proteína
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
VPM	Volumen plaquetario medio

---

<b>Conclusiones generales</b>	156
<b>Anexos</b>	158

---

## RESUMEN GENERAL

A través de la revisión de la literatura se lograron conocer las características básicas de las fuentes de almidón tradicionales (cereales) y no tradicionales (raíces, tubérculos y frutas), al igual que los factores que afectan su digestibilidad. Se pudo conocer el estado del arte sobre la relación entre almidón y metanogénesis, producción y calidad composicional de la leche y acidosis ruminal sub-aguda (ARSA). En relación con este trastorno, se construyó un modelo biológico para comprender las bases nutricionales e inmunológicas que explican la sintomatología asociada con el mismo. Lo más importante de este modelo, fue describir los mecanismos que dan lugar al desarrollo de ARSA y que afectan el desempeño productivo. Cuando las diferentes fuentes de carbohidratos evaluadas en el capítulo 3, a saber, maíz (*Zea maíz*, T1), sorgo (*Sorghum vulgare*, T2), yuca (*Manihot esculenta*, T3) y pulpa cítrica deshidratada (*Citrus sp.*, T4) como parte del suplemento, donde el T1 incluyó como fuente principal de energía el maíz y en los tratamientos 2, 3 y 4, aproximadamente el 50% de los nutrientes digestibles totales aportados por el maíz fueron garantizados por el sorgo, yuca y pulpa cítrica seca, se demostró que el consumo de materia seca no fue afectado por las diferentes inclusiones de carbohidratos, al igual que la eficiencia alimenticia. La inclusión de la yuca en el T3, tuvo un efecto positivo sobre la producción de leche corregida por energía, al igual que la producción de proteína y de sólidos totales (ST) comparado con la inclusión de pulpa cítrica. Se logró demostrar, que el pH ruminal estuvo fluctuando en límites fisiológicos con las dietas evaluadas (a pesar de incluir altas

concentraciones de carbohidratos en la dieta), lo cual es un hallazgo importante ya que al inicio del trabajo se partió de la hipótesis que el suministro de concentrado en dos momentos puntuales del día (durante el ordeño de mañana y tarde) constituía un factor de riesgo para ARSA. Se halló que no hubo animales con ARSA, en los momentos de riesgo más importantes de la vaca para dicho trastorno (periparto y pico de producción), lo cual es escaso en los reportes de la literatura, ya que la mayoría de trabajos evalúan el efecto de ARSA sobre diversos parámetros en modelos de inducción de la enfermedad y no en escenarios productivos. La inclusión de la yuca mejoró el ingreso por venta de leche, redujo el costo asociado con la suplementación y el costo total de producción del litro de leche, lo que finalmente mejoró los indicadores de rentabilidad. En el experimento del capítulo 4, se obtuvieron resultados controversiales con respecto a los del capítulo 3. Cuando la dieta que incluyó pulpa cítrica (T4), mejoró el porcentaje de grasa en la leche en el día 15 postparto al igual que relación grasa:proteína y los ST de la leche. La producción de colesterol, HDL y LDL fue mayor para los tratamientos que incluyeron maíz y pulpa cítrica y la inclusión del sorgo y la yuca favorecieron los valores de digestibilidad la proteína cruda y del extracto etéreo.

## ABSTRACT

During the literature review the learning of conventional sources of starch (cereal) and non-conventional (roots, tubers and fruits), as well as the factors affecting its digestibility were achieved. It was known the state of the art on the relationship between starch and methanogenesis, milk yield and quality compositional and sub-acute ruminal acidosis (SARA). Under this condition, a biological model to understand the nutritional and immunological basis explaining the symptoms associated therewith was performed. The most important of this model was to describe the mechanisms which triggering the onset of SARA and affecting performance. When different sources of carbohydrates assessed in Chapter 3, such as, corn (*Zea mays*, T1), sorghum (*Sorghum vulgare*, T2), cassava (*Manihot esculenta*, T3) and citrus pulp dehydrated (*Citrus sp.*, T4) as part of a supplement, where T1 included as a primary energy source corn and treatments 2, 3 and 4, approximately 50% of total digestible nutrients provided by corn were supplied by sorghum, cassava and dried citrus pulp showed that dry matter intake was not affected by different carbohydrate inclusions, as well as, feed efficiency. The inclusion of cassava in the T3, had a positive effect on the production of energy corrected milk, yield of protein total solids (TS) compared with the inclusion of citrus pulp. It was possible to demonstrate that the ruminal pH was fluctuating in physiological limits with assessed diets (despite including high concentrations of carbohydrates in the diet), which is an important finding since the beginning of the work we started from the hypothesis that the supply concentrated in two specific times of the day (during the morning and evening milking) was a risk factor for ARSA.

No animals with ARSA were found, during the times of major risk of the cow for this disorder (peripartum and peak production), which is scarce in the literature reports, since most studies evaluating the effect SARA on various parameters in models of disease induction but not in productive scenarios. The inclusion of cassava improved income from selling milk, reduced the cost associated with supplementation and total production cost per liter of milk, which improved profitability indicators. In the experiment of Chapter 4, controversial results were obtained with respect to Chapter 3. When diet that included citrus pulp (T4), improved the milk fat percentage on day 15 after calving like fat:protein ratio and ST in milk. Production of cholesterol, HDL and LDL was higher for treatments that included corn and citrus pulp and the inclusion of sorghum and cassava favored digestibility values the crude protein and ether extract.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

La energía derivada de la digestión de los carbohidratos en el rumen es un factor determinante en el desempeño productivo, la salud de la vaca y la rentabilidad de la unidad productiva. En varios países, la mayoría de los sistemas especializados de producción lechera utilizan el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) como base forrajera para la alimentación de los animales. Este pasto presenta limitantes nutricionales que se reflejan en las bajas producciones de leche, exceso de proteína y deficiencia de energía consecuencia del reducido contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) y la baja digestibilidad de los componentes estructurales (Marais, 2001).

Lo anterior denota la importancia de suplementar con concentrados con altas inclusiones de CNF en vacas lactantes en pastoreo, como estrategia para incrementar la disponibilidad de energía a nivel ruminal y con ello la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y de proteína microbiana, impactando positivamente la producción de leche y su calidad composicional (Kellaway y Harrington, 2004). No obstante, el uso excesivo y desbalanceado de dietas con participación alta de CNF como estrategia para incrementar la producción de leche, pueden disminuir el pH ruminal, generar acidosis ruminal subaguda (ARSA) e incrementar el costo del suplemento (Krause y Oetzel, 2006). De acuerdo con lo anterior, se hace necesario evaluar el consumo de materia seca total ( $CMS_T$ ), la producción y calidad composicional de la leche, estimar la digestibilidad de los nutrientes, evaluar el pH

ruminal, y analizar los perfiles metabólicos, componentes celulares y proteicos de las vacas, como indicadores de la salud y bienestar del animal, al momento de evaluar dietas con alto valor nutricional.

Adicionalmente, los costos de producción afectan directamente las utilidades del negocio y son una variable importante en la toma de decisiones para mejorar la competitividad del sector lácteo. Uno de los factores más importantes que afecta dicho costo, es el rubro de suplementación, el cual a su vez es altamente influenciado por la inclusión de los CNF en la dieta (CONPES, 2010). Mundialmente, el maíz debido a su alto contenido de CNF se ha vuelto muy demandado para el sector de alimentos para humanos y animales y, para la producción de biocombustibles (FAO, 2012). En este sentido, es necesario evaluar fuentes de CNF diferentes al maíz para la elaboración de alimentos concentrados para animales, que a su vez permitan disminuir los costos de producción y, por ende, mejorar la rentabilidad del sector.

## **Referencias**

CONPES-Consejo Nacional de Política Económica y Social. Política nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano. 2010. Documento 3675. República de Colombia. Departamento Nacional de Planeación. Bogotá D.C.

FAO 2012. Producción de leche. Consultado el 3 feb 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.VrHQMNLhDIW>

Kellaway RC, Harrington T. Feeding concentrates-Supplements for dairy cows. 2<sup>nd</sup> Ed. CSIRO Publishing: Melbourne, Australia. 2004.

Krause KM, Oetzel GR. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. Anim Feed Sci Technol 2006; 126: 215-36.

Marais JP. Factors affecting the nutritive value of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) a review. Tropical Grasslands 2001; 35: 65-84.

## OBJETIVOS

1. Valorar el efecto de la suplementación con diferentes fuentes de carbohidratos sobre el consumo y la digestibilidad de la materia seca, el desempeño productivo y la calidad láctea.
2. Evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos en el suplemento de vacas holstein en pastoreo sobre la incidencia de acidosis ruminal subaguda, el estatus metabólico y la salud animal
3. Cuantificar la rentabilidad derivada de la suplementación energética con diferentes fuentes de carbohidratos en sistemas de producción de leche especializada

## **CAPÍTULO 1**

### **ALMIDONES EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES. UNA REVISIÓN.**

Este capítulo está relacionado con los objetivos uno (valorar el efecto de la suplementación con diferentes fuentes de carbohidratos sobre el consumo y la digestibilidad de la materia seca, el desempeño productivo y la calidad láctea) y dos (evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos en el suplemento de vacas holstein en pastoreo sobre la incidencia de acidosis ruminal subaguda, el estatus metabólico y la salud animal).

Publicado en la Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 2016; 29:77-90.

## Literature Review

rccp

Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias

Starch in ruminant diets: a review<sup>¶</sup>*Almidones en la alimentación de rumiantes: revisión de literatura**Amido na alimentação dos ruminantes: revisão de literatura*Luis M Gómez<sup>1,2,3\*</sup>, MVZ, MSc, (c)Dr. Sc; Sandra L Posada<sup>2</sup>, Zoot, MSc, Dr. Sc; Mantha Olivera<sup>3</sup>, MV, Dr. Sc.<sup>1</sup>Departamento de Investigación y Desarrollo, Grupo Nutri-Solla, Solla S.A., AA 1272, Itagui, Colombia.<sup>2</sup>GRICA Research Group, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.<sup>3</sup>BIOGENESIS Research Group, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia.

(Received: April 15, 2015; accepted: November 11, 2015)

doi: 10.17533/udea.rccp.v29n2a01

## Summary

**Background:** starch is an important energy source for ruminants nutrition. This carbohydrate is often used to improve rumen fermentation, optimizing digestion of structural carbohydrates and increasing protein flow to the small intestine. Microbial and digestive enzymes are involved in starch digestion, generating products that can positively or negatively affect animal performance and health, depending on the starch contents of the diet. **Objective:** to describe the basic characteristics of starches, the factors affecting its nutritional availability, and its effects in ruminants. **Conclusion:** a number of factors affect starch digestibility, including granule size, amylose/amylopectin ratio, proportion of farinaceous and vitreous endosperm, presence of starch-lipid and starch-protein complexes, and physical-chemical processing of the feed. Ingestion of large amounts of starch can trigger ruminal acidosis. However, its rational use in the diet has positive effects on methane emissions, and in milk yield and composition.

**Keywords:** acidosis, amylopectin, amylose, digestibility, lactation, methanogenesis.

## Resumen

**Antecedentes:** el almidón es un importante recurso energético para la alimentación de rumiantes. Este carbohidrato es frecuentemente empleado para el mejoramiento de los parámetros de fermentación ruminal, lo que optimiza el aprovechamiento de los carbohidratos estructurales e incrementa el flujo de proteína al intestino delgado. En su digestión participan enzimas microbianas y digestivas, las cuales generan diferentes

¶ To cite this article: Gómez LM, Posada SL, Olivera M. Starch in ruminant diets: a review. Rev Colomb Cienc Pecu 2016; 29:77-90.

\* Corresponding author: Luis M Gómez. Director of Research and Development, Solla S.A. Company, Carrera 42 No. 33-80 Itagui, Colombia. Tel +57 4 4448411. E-mail: lmgomez@solla.com

productos que impactan positiva o negativamente el desempeño productivo y la salud del animal, dependiendo del nivel de almidón en la dieta. **Objetivo:** describir las características básicas de los almidones, los factores que afectan su disponibilidad nutricional y los efectos de su utilización en la alimentación de los rumiantes. **Conclusión:** existe un sinnúmero de factores que afectan la digestibilidad del almidón, entre ellos, el tamaño del gránulo, la relación amilosa/amilopéctina, la proporción de endospermo farináceo y vítreo, la presencia de complejos con lípidos y proteínas, y su procesamiento físico-químico. La ingestión de grandes cantidades de almidón puede desencadenar acidosis ruminal; no obstante, su empleo racional en la dieta de los rumiantes tiene efectos positivos sobre la emisión de metano, y la producción y calidad de la leche.

**Palabras clave:** acidosis, amilopéctina, amilosa, digestibilidad, lactancia, metanogénesis.

#### Resumo

**Antecedentes:** o amido é uma importante fonte de energia na alimentação dos ruminantes. Este carboidrato é geralmente utilizado para melhorar os parâmetros de fermentação no rúmen, o que otimiza a utilização dos carboidratos estruturais e aumenta o fluxo de proteína para o intestino delgado do animal. Na sua digestão estão envolvidas enzimas digestivas e microbianas, as quais geram diferentes produtos que impactam positiva ou negativamente o desempenho produtivo e a saúde do animal dependendo do nível de amido na dieta. **Objetivo:** descrever as características básicas do amido, fatores que afetam a sua disponibilidade nutricional e os efeitos da sua utilização na alimentação de ruminantes. **Conclusão:** diversos fatores afetam a digestibilidade do amido, incluindo o tamanho do grânulo, a relação amilose/amilopéctina, a proporção de endosperma farináceo e vítreo, a formação de complexos com lipídeos e proteínas e o seu processamento físico-químico. A ingestão de grandes quantidades de amido pode provocar acidose ruminal, no entanto, a sua utilização racional na alimentação de ruminantes tem efeitos positivos sobre as emissões de metano, a produção de leite e a sua qualidade composicional.

**Palavras chave:** acidose, amilopéctina, amilose, digestibilidade, lactação, metanogénesis.

#### Introduction

Starch—the largest reservoir of plant polysaccharides—plays an important role in germination and growth, and its synthesis is second only to that of cellulose. Starch is the main energy component used in ruminant feeds due to its availability (Ortega and Mendoza, 2003). It is often included in the diet to improve ruminal fermentation, allowing for a better use of structural carbohydrates and to increase protein flow to the small intestine (Huntington *et al.*, 2006). Starch sources are expensive, so they must be used wisely to be cost-effective. It is important to understand the structural characteristics of starch, its ruminal and post-ruminal digestion and the factors affecting its digestibility in order to improve performance and profit of livestock systems. This review describes starch, the factors affecting its nutritional availability, and its effects in ruminant feeding and nutrition.

#### Description of starch

##### Composition

Starches are mainly  $\alpha$ -glucans composed of two types of molecules: amylose and amylopectin

(Santana and Meireles, 2014; Table 1). Amylose is a linear D-glucose polymer containing about 99%  $\alpha$ -1,4 links (Parker and Ring, 2001). Amylopectin, which has 95%  $\alpha$ -1,4 links and 5%  $\alpha$ -1,6 links (Stevnebo *et al.*, 2006), is the most abundant component of starches (Figure 1). On the other hand, amylose content in starch usually fluctuates from 200 to 300 g/Kg. Some starch-rich feeds such as waxy cereals usually contain negligible amounts of amylose, while high-amylose sources may contain up to 700 g amylose/Kg. Cereals such as wheat, maize, barley, and rice can contain a waxy gene derived from natural mutations of genes encoding granule bound starch synthase, which is required for amylose synthesis (Svihus *et al.*, 2005).

##### Structure

Starch granules are formed by concentrically growing layers alternating semi-crystalline and amorphous films (Figure 1). The semi-crystalline region is more abundant in amylopectin and is more impervious to enzymatic attack because of its resistance to entry of water. The amorphous region is rich in amylose and has lower density than the crystalline area, which facilitates water flow and enzyme attack; however, it is abundant in hydrogen bonds (Perez *et al.*, 2009).

Table 1. Properties of starch components.

Characteristic	Component	
	Amylose	Amylopectin
General structure	Linear	Branched
Branch sites	None <sup>a</sup>	1 per 20 to 25 glucose units
Polymerization degree <sup>b</sup>	~1.000	~10.000-100.000
Molecular weight	$1 \times 10^4$ - $1 \times 10^6$ g/mol	$1 \times 10^7$ - $1 \times 10^9$ g/mol
Stability in solution	Low	High

<sup>a</sup> There is a type of branched amylose with 1 or 2  $\alpha$ -1,6 links per molecule.

<sup>b</sup> Number of glucose residues per molecule.

Adapted from Parker and Ring, 2001.

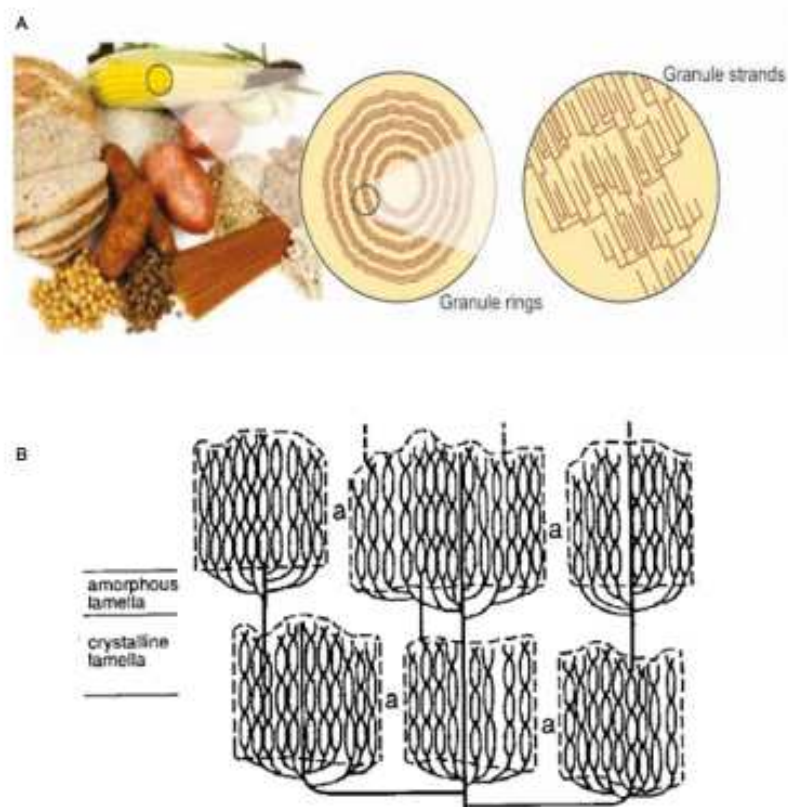


Figure 1. (A) Structure of starch granules, represented by organized laminar forms. Amorphous rings (composed mainly of amylose) separate layers in the semi-crystalline regions (composed primarily of amylopectin). Modified from Perez *et al.*, 2009. (B) Amylopectin structure according with the cluster model by Myers *et al.*, 2000. Glucan chains are depicted by solid lines while intersections between them indicate branch linkages. The dotted lines show the limit of amylopectin side chain clusters with unbranched chains associated in tightly packed double helices. a) depicts the amorphous areas separating amylopectin side chain clusters.

### Structural alterations

**Gelatinization.** It is the permanent alteration of the granule structure by breaking its hydrogen bonds. Starch absorbs water during gelatinization, the expansion breaks the hydrogen bonds releasing some of the amylose by leaching, thus birefringence is reduced and starch becomes more soluble and exposed to enzyme activity (Rooney and Pflugfelder, 1986). In excess of water, most starches gelatinise at temperatures higher than 80 °C. The gelatinisation temperature is higher for small starch granules. Amylose-rich cereals are more resistant to gelatinisation than cereals with normal and high amylopectin levels (Svihus et al., 2005). Table 2 shows gelatinization values for several foods and processing methods. The degree of gelatinization is higher for extruded vs. pelleted food since the temperature used in the process is higher (up to 250 °C vs. 60-95 °C; Caballero, 2010).

**Table 2.** Starch gelatinization under several processing methods in various feeds.

Food	Gelatinization (%) <sup>1</sup>	Processing
Corn	17.06	Unprocessed
Sorghum	12.47	Unprocessed
Yucca	7.59	Unprocessed
Concentrate 1	32.49	Pelleting
Concentrate 2	32.55	Pelleting
Concentrate 3	31.92	Pelleting
Corn	79.3	Extruded

<sup>1</sup>Assessed by an enzymatic method (Medel et al., 1999).

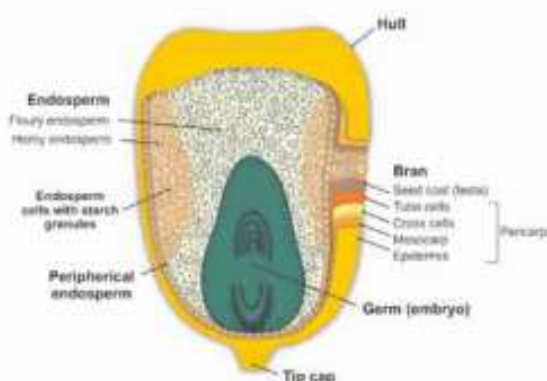
**Retrogradation.** It is defined as the reversible return of a solubilized, dispersed or amorphous state to a crystalline or insoluble form, which limits starch digestibility. Amylose is the main component that facilitates retrogradation (Biliaderis, 2009).

### Sources of starch

#### Cereal grains and roots

Cereal grains are a major source of starch used in animal feeds. Cereals are composed of pericarp, endosperm and germ (Figure 2). The pericarp

comprises 3 to 8% of the kernel weight, although it can be up to 25% in oats (Evers et al., 1999). It is mostly composed (90%) of highly lignified fiber and the starch content is less than 10% (Li et al., 2007), thus pericarp digestibility does not exceed 40% (Van Barneveld, 1999).



**Figure 2.** Corn kernel composition. Adapted from Eckhoff and Watson (2009).

The endosperm represents between 60 and 90% of the grain. It is the morphological structure containing the starch. It also contains proteins, phospholipids and ash, but little neutral detergent fiber (NDF) and phosphorus (P; Eckhoff and Watson, 2009). The endosperm layers, from the outside in, are aleurone, peripheral endosperm, horny (or vitreous) and floury. Both the peripheral and the horny endosperm have starch granules surrounded by a matrix abundant in hydrophobic proteins called prolamines and non-starch polysaccharides (PNAs;  $\beta$ -glucans, arabinoxylans, and pectins), which are relatively impermeable to water and enzymatic activity (Zeoula and Caldas Neto, 2001; Giuberti et al., 2014). Grains exhibiting high proportion of peripheral and horny endosperm are called vitreous or horny, while those abundant in floury endosperm are called opaque or soft (Zeoula and Caldas Neto, 2001).

#### Non-conventional sources

Starch represents an important fraction in many crops. Most cereals (i.e. corn, wheat, rice, oat, and barley) contain between 60 and 80% starch, while legumes (chickpea, bean, pea) contain from 25 to

50%, tubers (potato, cassava, cocoyam, arrowroot) from 60 to 90%, and some green fruit (banana, mango) contain as much as 70% (Santana and Meireles, 2014). As in cereals, the largest proportion of starch corresponds to amylopectin and the smallest to amylose (17-30%; Hu *et al.*, 2010). Amylose represents 14 to 19% of starch in cassava, between 2 and 22% in potato, and approximately 37% in plantain (Knowles *et al.*, 2012). Amylopectin in starch from potato is less branched compared to cereals (Alvani *et al.*, 2011). It is also highly expandable (Vasanthan and Bhatti, 1996) and gelatinizes at relatively low temperature (between 64.4 and 69.9 °C) compared to other starches (Hernandez-Medina *et al.*, 2008).

Table 3 shows amylose and amylopectin concentration in different starchy foods and concentrates fed to dairy cattle. Differences in amylose/amylopectin ratio affect the rate of ruminal or intestinal digestion. Digestion rate of amylopectin is usually higher than that of amylose (Knowles *et al.*, 2012).

Table 3. Amylose and amylopectin content in various feeds.

Source	Amylose (%)	Amylopectin (%)
Corn	29.24	70.76
Sorghum	29.55	70.45
Yucca	19.84	80.16
Concentrate 1 (C1)*	21.17	78.83
Concentrate 2 (C2)	22.22	77.78
Concentrate 3 (C3)	20.25	79.75
Concentrate 4 (C4)	24.89	75.10

\*Isoenergetic and isoproteic concentrates (C) for dairy cattle formulated with four carbohydrate sources: corn (C1), sorghum (C2), yucca (C3), citrus pulp (C4). Assessed using the method described by Gibson *et al.* (1997).

### Ruminal and post-ruminal digestion of starch

Once it reaches the rumen, starch is degraded mainly by amylolytic bacteria and by fungi and protozoa to a lesser extent (Huntington, 1997). The  $\alpha$ -1-4 and  $\alpha$ -1-6 endo and exoamylases produced by rumen microorganisms have the ability to hydrolyze amylose and amylopectin glycosidic linkages, releasing different oligosaccharides (Table 4).

The post-ruminal process of starch degradation begins with pancreatic  $\alpha$ -amylase secretion, which hydrolyzes amylose and amylopectin into dextrans and linear oligosaccharides with two to three glucose units. The process is completed by the action of oligosaccharidases (maltase and isomaltase) secreted in the intestinal membrane (Ortega and Mendoza, 2003).

In ruminants, the site of starch digestion affects the substrates absorbed. Ruminal digestion generates volatile fatty acids (VFA) for absorption and provides energy for microbial protein synthesis (Huhtanen and Sveinbjörnsson, 2006). Decreased rumen digestibility of starch is desirable to prevent from acidosis and to increase the supply of glycogenic substrates (Svihus *et al.*, 2005). Starch digestion in the small intestine implies greater energetic efficiency compared with ruminal digestion due to reduced methane production and fermentation heat losses and higher efficiency of metabolisable energy utilisation (Huhtanen and Sveinbjörnsson, 2006). Nevertheless, the increased energy efficiency from higher starch digestion in the small intestine is offset by the increase in hindgut fermentation, because only VFA are absorbed from the hindgut whereas microbial matter is excreted in feces. A decrease in ruminal starch digestion is not associated with an increase in its small intestinal

Table 4. Enzymes involved in starch hydrolysis.

Enzyme	Link	End product
Phosphorylase	$\alpha$ -1-4 glycosyl	Glucose 1 phosphate
Alpha-amylase	$\alpha$ -1-4 glycosyl	Linear and branched oligosaccharides
Beta-amylase	$\alpha$ -1-4 glycosyl	Maltose and limit dextrans
Amyloglucosidase	$\alpha$ -1-4 glycosyl and $\alpha$ -1-6 glycosyl	Glucose
Isoamylase	$\alpha$ -1-6 glycosyl	Linear chains of $\alpha$ -1-4 glucans
Pullulanase	$\alpha$ -1-6 glycosyl	Linear chains of $\alpha$ -1-4 glucans

Adapted from Tester *et al.*, 2004.

digestion, but it is associated with higher hindgut and lower total tract digestibility (Larsen *et al.*, 2009).

For this reason, rumen is considered the primary site of starch digestion. Ruminal digestion usually accounts for 75 to 80% of the intake, and about 35 to 60% of the starch entering the small intestine is degraded. About 35 to 50% of the starch that escapes digestion in the small intestine is degraded in the hindgut (Harson, 2009). According to a meta-analysis by Moharrery *et al.* (2014), ruminal starch digestibility varies greatly (from 224 to 942 g/Kg). The authors also noted that starch consumption adversely affected ruminal starch digestibility, obtaining a negative slope of 1.4% per Kg increase in daily starch intake. Table 5 presents the content and ruminal digestibility of various starch sources used in livestock.

**Table 5.** Starch content and ruminal digestibility of several starch sources commonly used as feed supplements in dairy cattle.

Grain	Starch (%)	Rumen digestibility (%) <sup>a</sup>
Corn <sup>1,2</sup>	76.0	72 - 89.9
Sorghum <sup>1,2</sup>	71.3	60 - 78.4
Wheat <sup>1,2</sup>	70.3	88.3 - 88.1
Barley <sup>1,2</sup>	64.3	80.7 - 84.6
Oats <sup>1,2</sup>	58.1	92.7 - 94.0
Yucca <sup>3</sup>	80.0	91.0

<sup>a</sup>Variability is explained by grain treatment (grinding, rolling, flaking).

<sup>1</sup>Herrera-Saldana *et al.*, 1990. <sup>2</sup>Huntington, 1997. <sup>3</sup>Veasilo and Mikkel, 2001.

### Factors affecting starch digestibility

#### Granule size

This is a limiting factor in starch digestion because the relationship between starch volume and surface area, and thus substrate-enzyme contact, decreases as granule size increases (Svilus *et al.*, 2005). Cereals with small granules, such as oats and rice, are more digestible than corn, wheat and potato, which have long granules (Bednar *et al.*, 2001; Svilus *et al.*, 2005).

#### Amylose/amylopectin ratio

Several studies have shown that amylose/amylopectin ratio is negatively correlated with starch

digestion (Bednar *et al.*, 2001). Amylose is inserted into amylopectin molecules increasing the amount of hydrogen bonds within the starch molecule, which negatively impacts the ability of expansion and enzyme activity (Caldas-Neto *et al.*, 2000). Likewise, starch granules with high amylose content are more prone to retrogradation (Svilus *et al.*, 2005).

#### Floury versus vitreous endosperm

Several researchers (Correa *et al.*, 2002; Ngonyamo-Majee *et al.*, 2008) have reported an inverse relationship between starch digestibility and vitreousness. Allen *et al.* (2008), studied ruminal and duodenal-fistulated cows using corn with vitreous endosperm content varying between 25 and 66%. They found that feeding corn with 66% of vitreous endosperm reduced ruminal digestion in 19.1% and overall digestion in 7.1%.

#### Starch-lipid complexes

Quantitatively, lipids are the major non-starch compounds in starch granules and can be found as free fatty acids (mostly palmitic and linoleic acid) and lysophospholipids (Svihus *et al.*, 2005). In cereal grains, a portion of amylose has insoluble starch-lipid complexes, which form helical structures that provide greater adhesion between molecules, diminish starch swelling (Vasanthan and Bhatta, 1996), decrease their solubility (Rooney and Pflugfelder, 1986) and reduce the rate of enzymatic digestion (Crowe *et al.*, 2000). Cassava and potato starch contain a smaller percentage of lipids compared with cereal starch (Zeoula and Caldas Neto, 2001; Alvani *et al.*, 2011).

#### Starch-protein complexes

The proteinaceous matrix surrounding starch granules affects starch digestibility. Digestibility is negatively associated with the presence of prolamins. Prolamins are storage proteins that receive a different name for each cereal, namely zein (corn), kafirins (sorghum), gliadin (wheat), hordeins (barley), secalins (rice), and avenines (oats). Usually, wheat, oats, rice and barley have fewer prolamins than corn and sorghum (Momany *et al.*, 2006; Giuberti *et al.*, 2014).

Zeins account for 50 to 60% of the protein in the whole grain and are located at the periphery of the cell. Floury endosperm is low in zein compared with vitreous endosperm (Giuberti *et al.*, 2014). Zeins are not soluble in the rumen environment (Lawton, 2002). Starch digestion requires that rumen bacteria degrade zeins first via proteolysis, before starting the amylolytic activity (Cotta, 1998).

#### *Processing of cereal grains*

Grain processing using temperature, humidity and pressure facilitate binding of bacteria to starch granules, increasing its digestibility (Huntington *et al.*, 2006). Common processing includes grinding, pelleting, dry rolling, steam rolling (addition of water before rolling), and steam flaking. All these processes aim to break grain barriers such as the pericarp and the protein-starch matrix, allowing access of microorganisms to starch granules. These processes also reduce the particle size, and increase surface area and microbial colonization (Giuberti *et al.*, 2014). The response to processing varies with different grains, with sorghum > corn > oats = barley > wheat (Huntington *et al.*, 2006).

Gelatinization of starch makes it more water-soluble and digestible. According to Huntington (1997), steam flaking of corn improves ruminal, post-ruminal and total tract digestibility compared with dry rolling (85 vs. 70%, 92 vs. 69%, and 99 vs. 90%, respectively). According to Sveinbjörnsson *et al.* (2007), heat treatment increases starch degradation during 8 h of *in vitro* incubation, as follows: 0.155 vs. 0.870 and pure potato starch, 0.491 vs. 0.815 for peas, 0.686 vs. 0.913 for barley, and 0.351 vs. 0.498 for maize.

Only a fraction of starch is gelatinized during steam conditioning and pelleting of feeds (from 10 to 200 g starch/Kg). The expander processing, on the other hand, adds up to 80 g water/Kg while the diet reaches a high pressure and temperatures above 100 °C, thus resulting in between 220 and 350 g starch/Kg gelatinized during this process. The extrusion adds even more water (up to 180 g water/Kg) and the diet is subjected to even higher temperatures (>110 °C) under high pressure, thus resulting in more complete gelatinisation and disintegration of starch granules (Svihus *et al.*, 2005). This was evidenced by Offner

*et al.* (2003), who reported 0.607, 0.663, 0.743, 0.746, 0.819, 0.830, and 0.867 effective degradabilities for untreated, cracked, ground, pelleted, expanded, steam flaked and extruded corn, respectively (passage rate 0.04 h<sup>-1</sup>). Grain type also influences the results. Steam flaking of corn eliminated the adverse effects of vitreous endosperm and protein-starch matrix on digestibility in comparison with dry rolling. This was contrary to the results obtained for barley, a grain with a highly digestible protein-starch matrix, where no difference was observed between both treatments (Engstrom *et al.*, 1992).

#### *Starch source*

The highest effective degradability of starch in cereal grains was obtained for oats, wheat and barley, being lower for corn and sorghum. Corn and especially sorghum have a high proportion of peripheral and horny endosperm resulting in increased resistance to microbial activity (Rooney and Pflugfelder, 1986), unlike wheat and oats, which have higher proportion of floury endosperm. In addition, corn and sorghum have a denser protein matrix (Kotarski *et al.*, 1992). The *in vitro* experiment by Lanzas *et al.* (2007) measured fractional gas rates, as a measure of starch digestion (Huhtanen and Sveinbjörnsson, 2006), reporting 0.26, 0.24, 0.15, and 0.06 h<sup>-1</sup> rates for wheat, barley, corn and sorghum, respectively ( $p < 0.001$ ).

Cassava has higher effective degradability than corn and sorghum due to its lack of pericarp, protein matrix, horny and peripheral endosperm; as well as low proportion of lipids, lack of associations between starch and protein, less amylose, more amylopectin, less hydrogen bonding, and greater swelling when subjected to chemical processes. Cassava starch is composed exclusively of amylopectin in the crystalline region and amylose in the amorphous region, which prevents excessive formation of hydrogen bonds with amylopectin, allowing amylose to be readily leached. This is contrary to cereals, which have amylose in the crystalline region (Zeoula and Caldas Neto, 2001). Effective degradability of corn, sorghum and cassava, reported by Offner *et al.* (2003), was 0.597, 0.603 y 0.802, respectively (passage rate 0.06 h<sup>-1</sup>).

#### *Physiological restrictions of the small intestine*

Starch digestibility in the small intestine is limited. As digesta flow increases, starch digestibility decreases (Huntington *et al.*, 2006). Factors that limit starch digestibility include controlled glucose absorption, deficient enzyme accessibility to starch granules, alterations in ruminal and intestinal pH, and lack of synchrony between starch flow through the intestine and amylase secretion (Owens *et al.*, 1986).

Starch digestion efficiency in the small intestine varies between sources. Tothi *et al.* (2003) reported higher digestibility for barley starch in the small intestine compared with cornstarch, resulting in higher small intestine absorption in terms of g/Kg starch ingested.

#### **Starch and ruminal acidosis**

Starch fermentation increases volatile fatty acids (VFA) and lactate production, which can reduce ruminal pH and kill cellulolytic microorganisms, leading to decreased fiber digestibility and dry matter (DM) intake. Additionally, it can cause metabolic disorders such as acute and sub acute ruminal acidosis, rumenitis, laminitis, liver abscesses and polyencephalomalacia (Plaizier *et al.*, 2009).

The risk of ruminal acidosis increases when starch digestion rate increases. This rate varies with grain type and processing and generally occurs in the following order: wheat (32% h) > oat > barley (29% h) > potato (5% h) > corn (2% h) and sorghum (Callison *et al.*, 2001; Mosavi *et al.*, 2012). Krause *et al.* (2002) reported lower ruminal pH in lactating cows fed high moisture corn vs. dried corn. Gulmez and Turkmen (2007) observed a decrease of ruminal pH (<6) in lactating cows when corn was replaced by wheat. They also observed low pH (<5.8) over 13 continuous hours when wheat was the only source of starch.

Cassava is used as a readily fermentable energy source for ruminants. It has a high rate and extent of ruminal degradation, as evidenced by Khampa and Wanapat (2006) who compared cassava vs. corn supplementation at 1 and 2% of live weight. They found that 2% cassava supplementation lowered

ruminal pH (5.3 vs. 6.4) and cellulolytic bacteria ( $2.3$  vs.  $5.9 \times 10^7$ ).

#### **Starch and methanogenesis**

Ruminal digestion of fiber-rich diets increases hydrogen and carbon dioxide production, which are substrates for methanogenesis. Moreover, starch-rich diets change the bacterial ecology by favoring propionic-acid producing bacteria over methanogens (Bannink *et al.*, 2006; Ellis *et al.*, 2008). Propionic acid production from dicarboxylic acids (aspartate, malate, fumarate) via the succinate pathway is thermodynamically more efficient than methanogenesis (Offner and Sauvant, 2006). Moreover, rapidly-fermenting diets reduce methane production by decreasing ruminal pH, which affects the growth of methanogens, protozoa (Hook *et al.*, 2011) and cellulolytic bacteria (Sung *et al.*, 2007), and increases passage rate, which reduces protozoans and, thereby, interspecies hydrogen transfer (Kumar *et al.*, 2013).

Agle *et al.* (2010) reported that diets with higher proportion of non-structural carbohydrates (52 and 72%) resulted in numerically lower methane emissions (1.5 vs. 3.4 g/hour, respectively), although results showed no difference due to high variability. A recent study in grazing Holstein Friesian cows found that concentrate level (2, 4, 6, and 8 Kg/cow/day) had no impact on methane emissions (287, 273, 272, and 277 g/day, respectively). However, when it was associated with DM and energy consumption, methane decreased with increasing levels of concentrate (g CH<sub>4</sub>/Kg DM: 20, 19.3, 17.7, and 18.1; CH<sub>4</sub>-E/gross energy intake: 0.059, 0.057, 0.053, and 0.054, respectively). They demonstrated that concentrate supplementation to grazing cows increased milk production and decreased methane emissions per unit of milk produced (Jiao *et al.*, 2014). Aguerre *et al.* (2011) found that changing forage: supplement ratio (F/S) from 68:32 to 47:53 reduced methane emissions from 648 to 538 g/cow/day. Pirondini *et al.* (2015) evaluated the effect of starch (23.7 and 27.7% DM) on methane emissions in dairy cows, finding lower emissions for starch-rich diets (415 vs. 396 g/d, respectively). Finally, Hatew *et al.* (2015) investigated the effect of starch (270 vs. 530 g/Kg concentrate DM) and fermentation rate

(fast vs. slow) in dairy cows. They found no differences in methane produced per Kg of fat-corrected milk and protein, or per Kg DM consumed, or as a fraction of the gross energy consumed. However, the high starch diet (46.9 vs. 43.1 g/Kg) had less ruminal methane per Kg of fermentable organic matter (42.6 vs. 47.4 g/Kg). Hales *et al.* (2012) evaluated the effect of corn processing. They found that Jersey animals eating steamed corn flakes produced less methane than those eating dry rolled corn (58.77 vs. 74.31 L/animal, 11.65 vs. 14.06 L/Kg DM intake, 2.47 vs. 3.04% of gross energy consumed, and 3.30 vs. 4.18% of digestible energy consumed). The reduction was explained by differences in ruminal fermentation, changing the place of digestion (from the rumen to the intestine), or decreased ruminal pH. Scarce literature is available on the effect of starch source and processing on methane emissions. In a study reported by the CCRP (2012) a reduction of methane emissions in cows fed ground wheat (219 g methane/day, 11.1 g methane/Kg of DM consumed) vs. ground corn (424 and 19.5 g methane, respectively).

The difference in methane production per starch vs. cellulose unit does not depend on the chemical composition, as both carbohydrates are hydrolyzed to glucose before fermentation. Conversely, hemicellulose polymer includes sugars with 5 to 6 carbons, which could lead to changes in the fermentation profile (different proportions of VFA) and methane emissions. Rather than the chemical composition, the differences in methane production from starch, cellulose and hemicellulose appear to be a function of the microbial species that degrade each substrate. Fermentation patterns and methane production vary as microbial species adapt to changes in dietary substrates and ruminal conditions. Additionally, associative effects between nutrients influence methane production, which means that this gas can be estimated for the diet and not for individual ingredients (Knapp *et al.*, 2014).

#### **Relationship between starch and milk composition and yield**

##### *Effect on milk yield and fat content*

Milk yield response depends on the starch source (Khorasani *et al.*, 2001) and its degradation

rate. Mosavi *et al.* (2012) compared milk yield in Holstein cows consuming wheat, barley, maize or potatoes. They found a reduced milk yield for the diet added with potatoes, and attributed it to its lower digestibility. Supplementation with rapidly degradable starches in rumen -such as barley, wheat or cassava- increases yield but reduces milk fat (Sutton, 1989). Poore *et al.* (1993) found a milk yield increase of 3.4 Kg/day and 0.4% fat reduction when ruminal digestibility increased from 48 to 72%. Milk fat reduction is associated with changes in the fermentation profile, caused by a relative reduction in lipogenic vs. glycogenic precursors (Reynolds *et al.*, 1997). Rumen propionate increases while acetate and butyrate decrease when ingestion of rapidly degradable starch exceeds 7 Kg/day (Casper *et al.*, 1990). Jurjanz *et al.* (1998) evaluated starch source and level (wheat or potato peels; <5, 6, or >7.5 Kg/d) on milk yield and composition. High starch consumption from potato peels (>7.5 Kg/day) lead to slower ruminal degradation and increased milk fat content (+ 3.3 g/Kg) compared to wheat. Fed in lower amounts, the starch source did not affect milk fat synthesis. The lower rate of starch degradation could have released more fat precursors. Mosavi *et al.* (2012) also observed slower ruminal degradation for corn starch compared with wheat, barley or potato, as well as increased acetate and butyrate production along with higher milk fat (3.43% vs. 3.12, 3.09, and 3.13%, respectively). Contrary to these findings, Chanjula *et al.* (2004) did not observe differences in milk production and compositional quality by adding corn (low degradability) or cassava (high degradability) at two inclusion levels (55 vs. 75%).

According to Kennelly and Glimm (1998), milk fat is reduced due the inhibitory effect of methylmalonyl CoA (synthesized from propionic acid) on fatty acid synthesis in the mammary gland. Methylmalonyl CoA accumulation competitively inhibits malonyl CoA (Van Soest, 1994).

Reynolds *et al.* (1997) associated milk fat decrease with increased levels of plasma glucose and insulin in animals fed high amounts of the supplement. Insulin lowers lipolysis and promotes lipogenesis in adipose tissue, reducing fatty acids availability to the mammary gland, thus decreasing milk fat. According to Van Soest (1994), lipogenesis in adipose tissue

is insulin dependent, which is not the case for the mammary gland.

The reduction in milk fat can also be explained by increased trans-unsaturated fatty acids in the rumen (Gaynor *et al.*, 1995). Cereal grains are high in linoleic and oleic acid. A ruminal pH decrease due to the diet can disturb biohydrogenation of unsaturated 18 carbon fatty acids increasing *trans* C18:1 fatty acid (*trans* isomers result from incomplete microbial biohydrogenation of linoleic acid into stearic acid). It is known that ruminal and milk increase in *trans* C18:1 is correlated with low milk fat levels in cows fed high grain diets (Grinari *et al.*, 1998). Corn contains a high concentration of linoleic (C18:2) and octadecanoic acid (*trans* C18:1), which inhibit biohydrogenation and reduce lipogenesis in the mammary gland.

According with Montoya *et al.* (2004), the optimal content of nonstructural carbohydrates (NSC) for maximizing milk yield is between 30 and 38% of the diet. Those researchers supplemented cows with 4 Kg of a commercial concentrate and 0, 6, and 12 Kg of fresh potatoes, thus NSC accounted for 7.2, 12.4, and 17.9% of DM intake. Milk yield was higher for the potato treatments (17.2 vs. 15.8 liters/cow/day;  $p = 0.004$ ). Nevertheless, no difference was observed for the inclusion of 6 vs. 12 Kg potatoes, which could be associated with a limited ability to use potato NSC. Their study found no difference between treatments for fat percentage and production ( $p > 0.05$ ). Pimentel *et al.* (2006) also evaluated cassava supplementation on milk yield and composition. They replaced 0, 25, 50, and 75% of corn with cassava, finding a linear decrease of 30 and 1.15 g/day in milk yield (corrected for 3.5% fat) and fat production, respectively. According to the authors, the viability and level of corn substitution with cassava will depend on a low cost of substitution that compensates for the expected decrease in production.

Dann *et al.* (2014) evaluated three starch levels (17.7, 21.0, and 24.6%) in Holstein cows using increasing levels of ground corn. They found that solids-corrected milk yield was not affected by the diet, averaging 40.8 Kg/d. They concluded that starch content did not affect rumen fermentation or performance. Their highest starch level (on a DM basis) was between 23 to 30%, which follows within the recommended range for lactating cows (Grant, 2005).

Delahoy *et al.* (2003) conducted two experiments assuming that supplements such as steam-flaked corn (SFC) and non-forage fiber (NFF) sources may provide benefits over corn. In the first experiment, animals were assigned to a cracked-corn (CC) or to a steam-flaked corn (SFC) supplement. In the second experiment, animals were offered ground corn (GC) or no forage sources of fiber (NFF). No differences were observed in milk yield (24.3 and 27.5 Kg/d for experiments 1 and 2, respectively), explained by a lack of difference in net energy consumption for lactation, which exceeded the requirements (Experiment 1). Another factor that could explain these results is the quality of the pasture, which did not reduce the pH, a target to improve by NFF inclusion in Experiment 2.

#### *Effect on the protein content*

Diets rich in nonstructural carbohydrates increase ruminal ammonia nitrogen utilization and microbial protein synthesis (Svihus *et al.*, 2005). Therefore, when dietary energy increases, metabolizable protein is also increased. Mosavi *et al.* (2012) evaluated the effect of four starch sources on milk protein in Holstein cows. While protein levels of milk were similar (3.03, 3.10, 3.14, and 3.04%) for wheat, barley, corn and potato supplements, respectively, milk protein differed in favor of wheat, barley and corn, compared to potato (1.08, 1.06, 1.06, and 0.98 Kg/d, respectively;  $p = 0.02$ ). Gozho and Mutsvangwa (2008) found no difference in milk protein for animals fed diets based on wheat, barley or corn, but higher milk protein was observed for diets based on corn vs. oats. On the contrary, other studies comparing slow versus fast ruminal degrading starches found no differences in milk protein (Khorasani *et al.*, 2001; Silveira *et al.*, 2007; Cabrita *et al.*, 2009).

It has been suggested by Huhtanen and Sveinbjörnsson (2006) that enhanced starch digestion in the small intestine increases milk protein, perhaps by sparing amino acids from being used for gluconeogenesis in the liver. They report a study in which milk protein yield was slightly but significantly higher for maize compared with barley supplements. Contrary to this concept, increasing starch digestion in the rumen is considered advantageous in terms of milk protein yield, since it increases the energy supply for microbial protein synthesis and the metabolizable

protein flow to the small intestine (Thair, 2012). Finally, Reynolds (2006) reports a study in which there was no evidence that the site of starch digestion increased milk production or changed its composition.

### Final thoughts

Rumen fermentation of starch -although it reduces energy efficiency over the enzymatic digestion in the intestine- determines its nutritional value for ruminants. The rate and extent of ruminal starch digestion alters pH, cellulolytic activity, microbial protein synthesis, methane emissions and, eventually, animal production. There is a considerable body of research on degradation potential of various cereal grains, but little information on non-traditional sources of starch that could replace cereal grains when availability and costs are competitive. The structural traits of starch from these sources, their interaction with other components, and the effect of processing should be examined. *In vitro* digestion techniques constitute a starting point for studying the extent and kinetics of starch degradation from non-conventional sources.

Starch is the main energy component used in ruminants feed to modulate ruminal fermentation and promote sync with the nitrogen sources. More research is required to evaluate the effect of using one or more sources of starch—with different degrees of degradability and processing—on protein use efficiency, milk yield and compositional quality. Studies should focus on addition levels and nutrient composition of the forage base according with the stage of lactation and energy requirements of the animal.

### Acknowledgements

The Administrative Department of Science, Technology and Innovation (Colciencias, Colombia, call 569 of 2012. Code 1115+569-33874) and the Sustainability Strategy 2014-2015 (CODI, Universidad de Antioquia, Colombia) supported the research project entitled "Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo,

reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia", which made possible this literature review.

### Conflict of interest

The authors declare they have no conflicts of interest with regard to the work presented in this report.

### References

- Agle M, Hristov AN, Zaman S, Schneider C, Ndegwa PM, Vaddella VK. Effect of dietary concentrate on rumen fermentation, digestibility, and nitrogen losses in dairy cows. *J Dairy Sci* 2010; 93:4211-4222.
- Aguerre MJ, Wattiaux MA, Powell JM, Broderick GA, Arndt C. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *J Dairy Sci* 2011; 94:3081-3093.
- Allen MS, Longuski RA, Ying Y. Endosperm type of dry ground corn grain affects ruminal and total tract digestion of starch in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2008; 91(E-Suppl. 1):529.
- Alvani K, Qi X, Tester RF, Snape CE. Physico-chemical properties of potato starches. *Food Chem* 2011; 125:958-965.
- Bannink A, Kogut J, Dijkstra J, France J, Kebreab E, Van Vuuren AM, Tamminga S. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *J Theor Biol* 2006; 238:36-51.
- Bodnar GE, Patil AR, Murray SM, Grieshop CM, Merchen NR, Fahey GC. Starch and fiber fractions in selected food and feed ingredients affect their small intestinal digestibility and fermentability and their large bowel fermentability *in vitro* in a canine model. *J Nutr* 2001; 131:276-286.
- Biliaderis CG. Structural transitions and related physical properties of starch. In: BeMiller J, Whistler R, editors. *Starch: Chemistry and Technology*. 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press USA; 2009. p. 293-372.
- Caballero DJ. Efecto del uso de alimento balanceado pelletizado desde el inicio hasta el engorde en la granja porcina el Hobo, Santa Cruz de Yojoa, Honduras. Tesis de pregrado. Zamorano, Honduras. 2010; [Access date: March 9, 2015]. URL: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstreams/11036/236/1/T2917.pdf>.
- Cabrita ARJ, Vale JMP, Bessa RJB, Dewhurst RJ, Fonseca AJM. Effects of dietary starch source and buffers on milk responses and rumen fatty acid bihydrogenation in dairy cows fed maize-based diets. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 152:267-277.
- Caldas Neto SF, Zeotila LM, Branco AF, Do Prado IN, Dos Santos GT, Fregadolli FL, Kassies MP, Dalponte AO. Mandioca e resíduos das farinhas na alimentação de ruminantes: Digestibilidade total e parcial. *Rev Bras Zootec* 2000; 29:2099-2108.

- Callison, SL, Firkins JL, Eastridge ML, Hull BL. Site of nutrient digestion by dairy cows fed corn of different particle sizes or steam-rolled. *J Dairy Sci* 2001; 84:1458-1467.
- Casper DP, Schingoethe DJ, Eisenbeisz WA. Response of early lactation dairy cows feed diets varying in source of nonstructural carbohydrate and crude protein. *J Dairy Sci* 1990; 73:1039-1050.
- Chanjula P, Wanapat M, Wachirapakorn C, Rowlinson P. Effect of synchronizing starch sources and protein (NPN) in the rumen on feed intake, rumen microbial fermentation, nutrient utilization and performance of lactating dairy cows. *Asian Aust J Anim Sci* 2004; 17:1400-1410.
- CCRP, Climate Change Research Program. Effect of starch based concentrates with different degradation characteristics on methane emissions. Reducing emissions from livestock research program. Australian Government, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. 2012.
- Correa CES, Shaver RD, Pereira MN, Lauer JG, Kohn K. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. *J Dairy Sci* 2002; 85:3008-3012.
- Cotta MA. Amyolytic of selected species of ruminal bacteria. *App Environ Microbiol* 1998; 54:772-776.
- Crowe TC, Seligman SA, Copeland L. Inhibition of enzymic digestion of amylose by free fatty acids *in vitro* contributes to resistant starch formation. *J Nutr* 2000; 130:2006-2008.
- Dann HM, Tucker HA, Cotanch KW, Krawczel PD, Mooney CS, Grant RJ, Eguchi T. Evaluation of lower-starch diets for lactating Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 2014; 97:7151-7161.
- Delahoy JE, Muller LD, Bargo F, Cassidy TW, Holden LA. Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture. *J Dairy Sci* 2003; 86:906-915.
- Eckhoff SR, Watson SA. Corn and Sorghum starches: Production. In: BeMiller J, Whistler R, editors. *Starch: Chemistry and Technology*. 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press USA; 2009. p. 373-439.
- Ellis JL, Dijkstra J, Kebreab E, Bannink A, Odongo NE, McBride BW, France J. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *J Agricul Sci* 2008; 146:213e33.
- Engstrom DF, Mathison GW, Goonewardene LA. Effect of beta-glucan, starch and fiber content and steam vs dry rolling of barley-grain on its degradability and utilization by steers. *Anim Feed Sci Technol* 1992; 37:33-46.
- Evers AD, O'Brien L, Blakeney AB. Cereal structure and composition. *Aust J Agric Res* 1999; 50:629-650.
- Gaynor PJ, Waldo DR, Capuco AV, Erdman RA, Douglass LW, Teter BB. Milk fat depression, the glucogenic theory and trans-C 18:1 fatty acids. *J Dairy Sci* 1995; 78:2008-2015.
- Gibson TS, Solah VA, McCleary BV. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A. *J Cereal Sci* 1997; 25:111-119.
- Giuberti G, Gallo A, Masoero F, Farraretto LF, Hoffman PC, Shaver RD. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. *Starch* 2014; 66:72-90.
- Gozho GN, Mutsvangwa T. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2008; 91:2726-2735.
- Grant, R. 2005. Optimizing starch concentrations in dairy rations. *Proc Tri-State Dairy Nutr Conf*, Fort Wayne, IN, 2005. p. 73-79.
- Griinari JM, Dwyer DA, McGuier MA, Bauman DE, Palmquist DL, Nurmela KV. Trans- octadecenoic acids and milk fat depression in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1998; 81:1251-1261.
- Gulmez BH, Turkmen II. Effect of starch sources with different degradation rates on ruminal fermentation of lactating dairy cows. *Revue Méd Vét* 2007; 158:92-99.
- Hales KE, Cole NA, MacDonald JC. Effects of corn processing method and dietary inclusion of wet distillers grains with solubles on energy metabolism, carbon-nitrogen balance, and methane emissions of cattle. *J Anim Sci* 2012; 90:3174-3185.
- Hatew B, Podesta SC, Van Laar H, Pellikaan WF, Ellis JL, Dijkstra J, Bannink A. Effects of dietary starch content and rate of fermentation on methane production in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2015; 98:486-499.
- Hanson DL. Understanding starch utilization in the small intestine of cattle. *Asian-Aust J Anim Sci* 2009; 22:915-922.
- Hernández-Medina M, Torruco-Uco JG, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Cienc Tecnol Aliment* 2008; 28:718-726.
- Herrera-Saldana R, Huber TJ, Poore MH. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *J Dairy Sci* 1990; 73:2386-2393.
- Hook SE, Steele MA, Northwood KS, Wright AD, McBride BW. Impact of high-concentrate feeding and low ruminal pH on methanogens and protozoa in the rumen of dairy cows. *Microb Ecol* 2011; 62:94-105.
- Hu G, Burton C, Yang C. Efficient measurement of amylose content in cereal grains. *J Cereal Sci* 2010; 51:35-40.
- Huhtanen P, Sveinbjörnsson J. Evaluation of methods for estimating starch digestibility and digestion kinetics in ruminants. *Animal Feed Sci Technol* 2006; 130:95-113.
- Huntington GB. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J Anim Sci* 1997; 75:852-867.
- Huntington GB, Harmon DL, Richards CJ. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J Anim Sci* 2006; 84:E14-E24.
- Jiao HP, Dale AJ, Carson AF, Murray S, Gordon AW, Ferris CP. Effect of concentrate feed level on methane emissions from grazing dairy cows. *J Dairy Sci* 2014; 97:7043-7053.

- Jurjanz S, Colin-Schoellen O, Gardeur JN, Laurent F. Alteration of milk fat by variation in the source and amount of starch in a total mixed diet fed to dairy cows. *J Dairy Sci* 1998; 81:2924-2933.
- Kennelly JJ, Glimm DR. The biological potential to alter the composition of milk. *Can J Anim Sci* 1998; 78(Suppl):23.
- Khampa S, Wanapat M. Influences of energy sources and levels supplementation on ruminal fermentation and microbial protein synthesis in dairy steers. *Pakistan J Nutrition* 2006; 5:294-300.
- Khorasani GR, Okine EK, Kennelly JJ. Effects of substituting barley grain with corn on ruminal fermentation characteristics, milk yield and milk composition of Holstein cows. *J Dairy Sci* 2001; 84:2760-2769.
- Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricarico JM. Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J Dairy Sci* 2014; 97:3231-3261.
- Knowles MM, Pabon ML, Carulla JE. Use of cassava (*Manihot esculenta Crantz*) and other starchy non-conventional sources in ruminant feeding. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2012; 25:488-499.
- Kotarski SF, Waniska RD, Thurn KK. Starch hydrolysis by the rumen microflora. *J Nutr* 1992; 122:178-190.
- Krause KM, Combs DK, Beauchemin KA. Effects of forage particle size and grain fermentability in mid-lactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *J Dairy Sci* 2002; 85:1947-1957.
- Kumar S, Dagar SS, Puniya AK, Upadhyay RC. Changes in methane emission, rumen fermentation in response to diet and microbial interactions. *Res Vet Sci* 2013; 94:263-268.
- Lanzas C, Fox DG, Pell AN. Digestion kinetics of dried cereal grains. *Anim Feed Sci and Technol* 2007; 136:265-280.
- Larsen M, Lund P, Weisbjerg MR, Hvelplund T. Digestion site of starch from cereals and legumes in lactating dairy cows. *Anim Feed Sci and Technol* 2009; 153:236-248.
- Lawton JW. Zein: A history of processing and use. *Cereal Chem* 2002; 79:1-18.
- Li L, Blanco M, Jane JL. Physicochemical properties of endosperm and pericarp starches during maize development. *Carbohydr Polym* 2007; 67:630-639.
- Medel P, Salado S, de Blas JC, Mateo GG. Processed cereals in diets for early-weaned piglets. *Animal Feed Sci and Technol* 1999; 82:145-156.
- Moharrery A, Larsen M, Weisbjerg MR. Starch digestion in the rumen, small intestine, and hind gut of dairy cows – A meta-analysis. *Anim Feed Sci Technol* 2014; 192:1-14.
- Momany FA, Sessa DJ, Lawton JW, Selling GW, Hamaker SA, Willet JL. Structural characterization of alpha-zein. *J Agric Food Chem* 2006; 54:543-547.
- Moestoya NF, Pino ID, Correa HJ. Evaluación de la suplementación con papa (*Solanum tuberosum*) durante la lactancia en vacas holstein. *Rev Col Cienc Pecu* 2004; 17:241-249.
- Mosavi GHR, Fatahnia F, Mirzaei Alamouti HR, Mehrabi AA, Darmani Koh H. Effect of dietary starch source on milk production and composition of lactating Holstein cows. *S Afr J Anim Sci* 2012; 42:201-209.
- Myers AM, Morell MK, James MG, Ball SG. Recent progress toward understanding biosynthesis of the amylopectin crystal. *Plant Physiol* 2000; 122:989-997.
- Nkonyamo-Majee D, Shaver RD, Coors JG, Sapienza D, Lauer JG. Relationship between kernel vitreousness and dry matter degradability for diverse corn germplasm. II. Ruminal and post-ruminal degradabilities. *Anim Feed Sci Technol* 2008; 142:259-274.
- Offner A, Bach A, Sauvant D. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 2003; 106:81-93.
- Offner A, Sauvant D. Thermodynamic modeling of ruminal fermentations. *Anim Res* 2006; 55:343-365.
- Ortega ME, Mendoza G. Starch digestion and glucose metabolism in the ruminant: a review. *Interciencia* 2003; 28:380-386.
- Owens FN, Zinn RA, Kim YK. Limits to starch digestion in the ruminant's small intestine. *J Anim Sci* 1986; 63:1634-1648.
- Parker R, Ring SG. Aspects of the physical chemistry of starch. *J Cereal Sci* 2001; 34:1-17.
- Perez S, Baldwin PM, Gallant DJ. Structural features of starch granules I. In: BeMiller J, Whistler R, editors. *Starch: Chemistry and Technology*. 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press USA; 2009. p. 149-192.
- Pimentel RR, Andrade FM, Chaves AS, de Lima LE, Ramos VR. Substituição do milho pela rapa de mandioca em dietas para vacas primíparas em lactação. *R Bras Zootec* 2006; 35:1221-1227.
- Pirondini M, Colombini S, Mele M, Malagutti L, Rapetti L, Galassi G, Crovetto GM. Effect of dietary starch concentration and fish oil supplementation on milk yield and composition, diet digestibility, and methane emissions in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2015; 98:357-372.
- Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Vet J* 2009; 176:21-31.
- Poore MH, Moore JA, Swingle RS, Eck TP, Brown WH. Response of lactating Holstein cows to diets varying in fiber source and ruminal starch degradability. *J Dairy Sci* 1993; 76:2235-2243.
- Reynolds CK. Production and metabolic effects of site of starch digestion in dairy cattle. *Anim Feed Sci Technol* 2006; 130:78-94.
- Reynolds CK, Sutton JD, Beaver DE. Effects of feeding starch to dairy cattle on nutrient availability and production. In: Garnsworthy PC, Wiseman J, editors. *Recent advances in animal nutrition* Nottingham University Press. Nottingham 1997. p. 105-134.
- Rooney LW, Pflugfelder RL. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J Anim Sci* 1986; 63:1607-1623.

- Santana A, Meireles A. New starches are the trend for industry applications: a review. *Food and Public Health* 2014; 4:229-241.
- Silveira C, Oba M, Beauchemin KA, Helm J. Effect of grains differing in expected ruminal fermentability on the productivity of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90:2852-2859.
- Stevnebo, Sahlstrom S, Svihus B. Starch structure and degree of starch hydrolysis of small and large starch granules from barley varieties with varying amylose content. *Anim Feed Sci Technol* 2006; 130:23-38.
- Sung HG, Kobayashi Y, Chang J, Ha A, Hwang IH, Ha JK. Low ruminal pH reduces dietary fiber digestion via reduced microbial attachment. *Asian-Aust J Anim Sci* 2007; 20:200-207.
- Sutton JD. Altering milk composition by feeding. *J Dairy Sci* 1989; 72:2801-2814.
- Sveinbjörnsson J, Murphy M, Udén P. In vitro evaluation of starch degradation from feeds with or without various heat treatments. *Anim Feed Sci Technol* 2007; 132:171-185.
- Svihus B, Uhlen AK, Harstad OM. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. *Anim Feed Sci Technol* 2005; 122: 303-320.
- Tester RF, Karkalas J, Qi X. Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. *Worlds Poult Sci J* 2004; 60:186-195.
- Thair MN. Effects of the level, type and processing of cereal grains in diets for dairy cows. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, 2012; [Access date: September 4, 2015]. URL: [http://pub.epsilon.slu.se/8984/1/tahir\\_mn\\_120823.pdf](http://pub.epsilon.slu.se/8984/1/tahir_mn_120823.pdf)
- Tothi R, Lund P, Weisbjerg MR, Hvelplund T. Effect of expander processing on fractional rate of maize and barley starch degradation in the rumen of dairy cows estimated using rumen evacuation and in situ techniques. *Anim Feed Sci and Technol* 2003; 104:71-94.
- Van Barneveld SL. Chemical and physical characteristics of grains related to variability in energy and amino acid availability in ruminant: a review. *Aust J Agric Res* 1999; 50:651-666.
- Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2<sup>nd</sup> ed. O & B Books, Corvallis; 1994.
- Vasanthan T, Bhatti RS. Physicochemical properties of small- and large-granule starches of waxy, regular and high amylose barleys. *Cereal Chem* 1996; 73:199-207.
- Vearsilp T, Mikled C. Site and extent of cassava starch digestion in ruminants. International Workshop on Current Research and Development on Use of Cassava as Animal Feed. Khon Kaen, University Thailand 2001; [Access date: March 9, 2015] URL: <http://www.mekam.org/procKK/choc.htm>
- Zeoula LM, Caldas Neto SF. Recentes avanços em amido na nutrição de vacas leiteiras. In: *Simposio Internacional em Bovinocultura de Leite*. Anais Lavras 2001; Lavras: Universidad Federal de Lavras p. 249-84

## **CAPÍTULO 2**

### **CONSTRUCCIÓN DE UN MODELO BIOLÓGICO SOBRE LA RELACIÓN ENTRE ACIDOSIS RUMINAL SUB-AGUDA (ARSA) Y CARBOHIDRATOS NO ESTRUCTURALES: UN CASO DE ESTUDIO EN INMUNOLOGIA NUTRICIONAL**

Este capítulo está relacionado con el objetivo dos (evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos en el suplemento de vacas holstein en pastoreo sobre la incidencia de acidosis ruminal subaguda, el estatus metabólico y la salud animal).

Publicado en la Revista CES de Medicina Veterinaria y Zootecnia 2014; 9:295-306.

## Sub-Acute Ruminal Acidosis and non-structural carbohydrates: a study model in nutritional immunology<sup>a</sup>

*Acidosis Ruminal Sub-Aguda y carbohidratos no estructurales: un modelo de estudio en inmunología nutricional*

*Acidose ruminal subaguda e carboidratos não estruturais: um modelo de estudo em imunologia nutricional*

Luis Miguel Gómez <sup>1,2,3</sup>, MVZ, MSc, cPhD, Sandra Lucia Posada <sup>2</sup>, Zoot, MSc, PhD, Martha Olivera <sup>3</sup>, MV, Dr. Sci. Agr<sup>3\*</sup>

\*Corresponding author: [Martha.olivera@udea.edu.co](mailto:Martha.olivera@udea.edu.co). Profesora Titular, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia

<sup>1</sup> Departamento de Investigación y Desarrollo, Grupo Nutri-Solla, Empresa Solla S.A. Carrera 42 No. 33-80 Itagui, Colombia. <sup>2</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Agrarias-GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, AA 1226, Medellín, Colombia. <sup>3</sup> Grupo de Investigación Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, AA 1226, Medellín, Colombia.

(Recibido: 14 de julio, 2014; aceptado: 8 de septiembre, 2014)

### Abstract

Nutritional immunology combines two areas of knowledge that did not interact until recently. One of the best examples studied to date is the bovine rumen. The symbiotic relationship between the host and rumen microorganisms can be altered causing a breakdown of immunological tolerance and imbalance of animal homeostasis. Dietary inclusion of supplements rich in non-structural carbohydrates is required for high yielding cows to meet their energy requirements. However, the use of those diets can lead to substantial changes in the rumen ecosystem, reducing the pH and promoting the development of subacute rumen acidosis. This generates lysis of gram-negative bacteria, release of lipopolysaccharides, breaking of immune tolerance, and activation of a cascade of inflammatory mediators with systemic effects that affect milk yield and quality. The gastrointestinal tract is the most important place where lipopolysaccharides are produced and its translocation mechanism from the rumen to peripheral circulation is still controversial. This review proposes a biological model integrating nutritional and immunological aspects of production, absorption, and mechanisms of action of lipopolysaccharides and its effects on milk production and compositional quality.

\*To cite this article: Gómez LM, Posada SL, Olivera M. Sub-Acute Ruminal Acidosis and Non-Structural Carbohydrates: a study model in nutritional immunology. Rev CES Med Zootec. 2014; Vol 9(2): 295-306.

### Key words

*Immunogens, lipopolysaccharides, nonstructural carbohydrates, nutritional immunology, SARA.*

### Resumen

La inmunología nutricional combina dos áreas del conocimiento que no interactuaban hasta hace algunos años. Uno de los mejores ejemplos estudiados hasta la fecha lo constituye el rumen bovino. La relación simbiótica entre hospedero y microorganismos ruminales puede alterarse provocando una ruptura de la tolerancia inmunológica y un desequilibrio en la homeostasis del animal. Para cubrir los requerimientos energéticos de las vacas de alta producción lechera es necesario incluir en la alimentación suplementos de elevado contenido en carbohidratos no estructurales. Sin embargo, el uso de estas dietas puede provocar cambios sustanciales en el ecosistema ruminal, disminuyendo el pH y promoviendo el desarrollo de acidosis ruminal subaguda. Esto genera la lisis celular de las bacterias gram negativas, la liberación de lipopolisacáridos, la ruptura de la tolerancia inmunológica y la activación de una cascada de mediadores inflamatorios que tienen consecuencias sistémicas y afectan el rendimiento productivo del animal y la calidad composicional de la leche. El tracto gastrointestinal es el lugar más importante donde se producen los lipopolisacáridos, pero el mecanismo de translocación del rumen a la circulación periférica es aún controversial. En esta revisión de literatura se propone un modelo biológico que integra aspectos nutricionales e inmunológicos relacionados con la producción, absorción y mecanismos de acción de los lipopolisacáridos y los efectos sobre la producción y la calidad composicional de la leche.

### Palabras clave

*Carbohidratos no estructurales, inmunógenos, inmunología nutricional, lipopolisacáridos, SARA.*

### Resumo

A imunologia nutricional combina duas áreas de conhecimento que não interagiam até alguns anos atrás. Um dos melhores exemplos estudados até o presente consiste no rúmen bovino. A relação simbiótica entre hospedeiro e microrganismos do rúmen pode ser alterada causando uma quebra da tolerância imune e um desequilíbrio na homeostase do animal. Para satisfazer as necessidades energéticas de vacas de alta produção leiteira é necessário fornecer suplementos alimentares de elevado conteúdo em carboidratos não estruturais. No entanto, o uso dessas dietas pode provocar alterações importantes no ecossistema ruminal, reduzindo o pH e promovendo o desenvolvimento de acidose ruminal subaguda. Isto gera a lise de bactérias gram-negativas, a liberação de lipopolissacarídeos, a quebra da tolerância imune e a ativação de uma cascata de mediadores inflamatórios que têm efeitos sistêmicos e afetam o desempenho produtivo do animal e a composição do leite. O trato gastrointestinal é o lugar mais importante na produção dos lipopolissacarídeos, mas o mecanismo de translocação do rúmen para a circulação periférica é ainda controversa. Nesta revisão de literatura se propõe um modelo biológico que integra aspectos nutricionais e imunológicos relacionados com a produção, absorção e mecanismos de ação de os lipopolissacarídeos e os efeitos sobre a produção e composição do leite.

## Palavras-chave

*Dieta das aves doméstica, galinhas especializadas na produção de ovos, fosforo, vitamina D.*

## Introduction

The study of the interactions between nutrition and immunology provides a new perspective beyond the maximum performance, especially from the point of view of animal health and its consequences in longevity. In dairy cattle, there is a well-known example of this (relationship between non-structural carbohydrate and sub-acute ruminal acidosis) which can break the homeostasis with underlying economic consequences affecting the net profit. According to this, the study of the mechanisms by which nutrition components affects immune status, provide new insight into the nutritional management of dairy cow due to the immune system requires higher amounts of energy for its functioning that could be rechanneled into milk yield.

Nutritional immunology is an interdisciplinary field that has made possible the interaction of different specialties which traditionally do research independently. Such science focuses on the study of underlying mechanisms of the immune response modulation by active components supplied through the feedstuff. Thanks to this new discipline, new mechanisms of action, different from nutritional ones, have been discovered, such as the conjugated linoleic acid (CLA), linolenic acid, resveratrol and E, A, and D vitamins<sup>37</sup>. Besides, new explanations have been found to modulate the immune response and therefore the health status of animals with diet-derived compounds<sup>26</sup>.

The bovine rumen is a representative example of the host-microorganism symbiosis that might be altered causing a breakdown in immunological tolerance, leading to imbalance in homeostasis. Therefore, there is an interest in the study of such interaction to understand the immune-pathological mechanisms by which the host takes effective action against some immunogens generated after the feedstuff with high amounts of NSC, causing substantial changes in the ruminal ecosystem by decreasing rumen pH and developing Sub-Acute Ruminant Acidosis (SARA)<sup>17,27</sup>.

SARA is characterized by favoring proliferation of negative gram bacteria (i.e. *Escherichia coli*) over positive gram bacteria which, once dead in the gastrointestinal tract, releases endotoxin such as lipopolysaccharides (LPS)<sup>38</sup>. However, the translocation mechanism of the LPS from the rumen to the peripheral circulation is still controversial and it seems that it would not be through the ruminal papillae but through the gut. LPS are immunogens classified as pathogen associated molecular patterns (PAMPs) which are able to stimulate pattern recognition receptors (PRR) of the innate immune system. Once the interaction PAMPs-PRR takes place, immunological tolerance is broken and molecular production is started with important local and systemic implications<sup>1</sup>.

## Non-structural carbohydrates (NSC) and sub-acute ruminal acidosis (SARA)

70% to 80% of dairy cows' diet are Carbohydrates<sup>42</sup>; from which NSC (compounds of plants containing simple sugar or those more complex like starch) are the most used in Livestock. The main source of supplement in dairy cows is grains, as they are an effective-cost option of digestive energy to fulfill the high requirements of dairy cows that forages cannot meet<sup>44</sup>. Feedstuffs with nutritionally dense diets increase the amount of volatile fatty acids and lactic acid in the rumen, which exceeds its absorption capacity and therefore the buffer power of the animal organism<sup>30,51</sup>. The combination of these factors creates a decrease in the ruminal pH for long periods during the day (pH <5,6 for more than 3 hours) creating SARA. This sub-clinic acidosis affects dry matter intake, milk yield, ruminal microflora, and digestion; it may cause diarrhea, damage in the mucosa of the gastrointestinal tract, laminitis and liver abscesses in dairy cows<sup>30,41,51</sup>.

## Production and translocation of endotoxin in dairy cows

There are three theories about the translocation of endotoxins to the circulation. The first is directly through the rumen mucosa; the second is in the gut; and the third by specific transporters. The ruminal epithelium is a stratified squamous type with four strata: basale, spinosum, granulosum, and corneum<sup>20</sup>. The stratum basale is the cell layer adjacent to the basale lamina (that is in contact with the circulation) with a substantial amount of mitochondria and other organelles. The next strata are the spinosum and granulosum which do not have a clearly defined division. The epithelium loses mitochondria and evenness as stratum advances. Strata spinosum and granulosum contribute to most metabolic functions of tissues (i.e ketogenesis) and they are the reservoir of cells with the highest participation in energetic metabolism of the animal<sup>7</sup>.

In the stratum granulosum, cells have tight junctions mediated by desmosomes (cell structures remaining attached to neighboring cells) that act as a diffusion barrier in the rumen wall. The cells in the stratum corneum, the outermost, are characterized because they have lost most of the organelles, although the presence of keratin is increased, allowing it to work as a natural barrier and becoming an innate defense mechanism in the rumen. The number of cells of the stratum corneum is highly dependent on the composition of the diet<sup>20</sup>. Animals fed with diets high in concentrated reduce the ruminal pH and increase rate propionate-acetate and the molar proportions of butyrate, which results in a thick corneal layer with more than 15 cell layers. In the case of animals fed with diets high in forage, the stratum corneum consists of just 4 cell layers<sup>20</sup>. Therefore, as stratum corneum layers advance from the outside inward, the integrity of desmosomes is missing and cells without such joints are seen. Tight junctions or occludens areas, which form an impermeable barrier, are located in the middle layers (strata granulosum and spinosum) and not in the outer layers or corneal layers<sup>24</sup>.

The major source of endotoxin in dairy cows is the gastrointestinal tract, which contains a high amount of gram negative bacteria, especially when diets include high amounts of NSC, resulting in a potential source of LPS when entering to the organism through the

gastrointestinal tract<sup>38</sup>. Accordingly, the most important factor that increases the concentration of LPS in the rumen fluid, in the first third of lactation, is the abrupt shift to energetically denser diets at the beginning of lactation<sup>2, 17, 27</sup>. LPS are subsequently released to the rumen fluid during lysis of gram negative bacteria. Several studies have shown that when the concentration of LPS in the lumen of the gastrointestinal tract increases after a diet rich in NSC or by oral administration<sup>6</sup> these are translocated into the systemic circulation<sup>17, 27</sup> (Figure 1). Such translocation leads to a failure in the permeability of the ruminal epithelium caused by high osmolality (the total number of particles of solute in a solvent kg) creating inflammation and rupture of the ruminal papillae<sup>30</sup>.

Other studies have shown that the translocation of LPS from the gut to the peripheral circulation increases due to the inflammation of the intestinal epithelium, together with an excessive production of cytokines and tissue destruction, causing an increase in the enteric permeability<sup>6, 14</sup>.

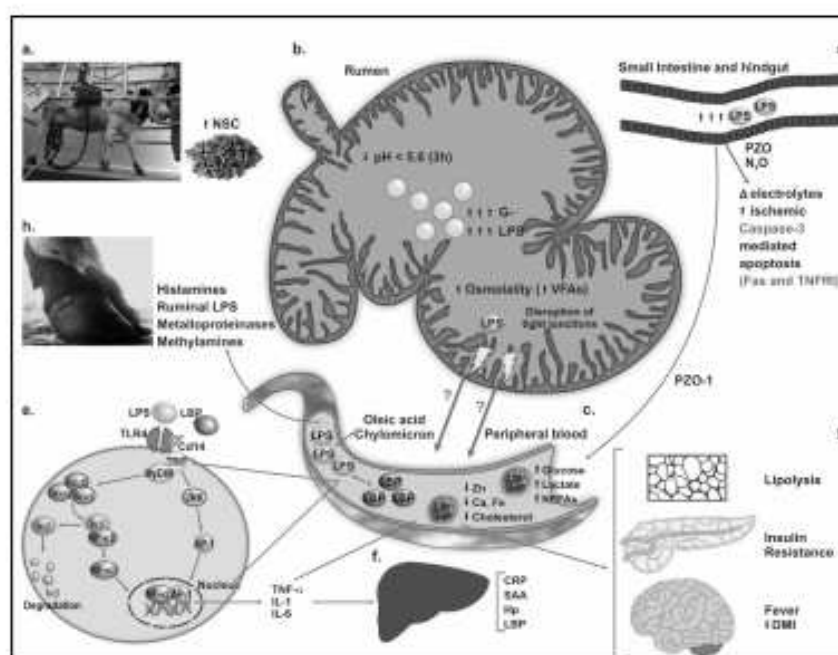
*In vitro* experiments have shown that endotoxins are transported from the gastrointestinal tract into the peripheral circulation, in particular through the ruminal wall at a greater speed than in the colon wall but at pH acids, increasing 5 to 6 times permeability through the colon and ruminal tissues and allowing the passage of large molecules<sup>16</sup>.

Despite the evidence of LPS passing from the rumen and gut into the blood, the precise place of translocation is still controversial. There is no direct evidence that the LPS free from rumen and subsequent to SARA move through the ruminal walls into the bloodstream. It is also difficult to explain from the anatomical point of view because of the multilayer structure of the ruminal epithelium<sup>7</sup>. In the study *in vitro* of Emmanuel *et al.*<sup>16</sup> it was demonstrated LPS pass through the rumen wall at pH 5.5. However, the LPS concentrations added to mucosal tissues were 500 µg/ml, one dose 50 times greater than the free LPS in the rumen when it is induced with SARA grain-based diet<sup>17, 27</sup>. This could have caused a disruption in the structure and a failure in the barrier of the rumen epithelium, which is unlikely to happen with concentrations close to the physiological state<sup>34</sup>.

In order to know the site of ruminal endotoxin absorption, a study was carried out in steers and *Escherichia coli*

endotoxin were administered directly into their rumen labeled with  $^{51}\text{Cr}$  <sup>4,33</sup>. These studies showed that none of the steers experienced absorption through the lymph (thoracic duct) or blood (portal vein) or forage based-diets or diets with high inclusion of grains or acidosis itself. Khafipour *et al.* <sup>28</sup> showed that there was no correlation between the concentration of LPS in the rumen, the

severity of SARA and the degree of inflammation in lactating Holstein dairy cattle. According to the above evidence, the rumen may be impermeable to endotoxins in physiological conditions, unless it suffers a considerable injury in the tissue integrity. Therefore, it is possible that the translocation of LPS occurs primarily from the gut.



**Figure 1.** SARA Effects on rumen health and its systemic effects. **a.** SARA is preceded by consumption of a high amount of non-structural carbohydrates (NSCs) at specific times of day (during the milking). **b.** Once NSCs are fermented in the rumen, they are transformed into volatile fatty acids (VFA) which cause a decrease in pH to 5.6 levels for at least 3 continuous hours (SARA diagnostic criteria). This stimulates the production of gram negative bacteria, which die and release their cell wall components such as endotoxin, being lipopolysaccharides (LPS) the most representative. **c.** So far it is controversial whether the permanent effect of low pH and high osmolality may cause the breakdown of proteins of tight junctions (PZO) of ruminal epithelium which has a complex histological structure. **d.** In the intestine, in addition to LPS coming from the rumen, new LPS are also produced with effects over intestinal epithelial cells. These in turn respond with the release of nitric oxide, promoting the permeability and absorption of LPS to the periphery. Furthermore, the apoptosis of these cells is activated by caspase-3. **e.** Once in circulation, either through the rumen or intestinal, LPS are attached to acute phase reactants (APR) as the binding protein of LPS which are transported to the liver where the macrophage hepatic or cell Kupfer are detected by the Toll like receptor 4 (TLR-4) and co-receptor CD14. This union creates a cascade of signals which ends in the activation of the transcription factor NFkB, traveling from cytoplasm to promoting zones of genes encoding for pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6. **f.** Cytokines stimulate hepatocyte to produce APR as haptoglobin, serum amyloid A, C reactive protein, among others. **g.** APR have systemic effects such as lipolysis in adipose tissue, insensitivity to insulin in pancreas, fever and decrease of dry matter intake. **h.** Laminitis may come as a result of SARA, for which four major causes have been proposed: production of histamines, LPS in rumen, matrix Metalloproteinases, and methylamines.

The theory on which LPS pass through the gut is based on the fact that the intestinal epithelial of the bovine is a monolayer structure with tight junctions at the apical pole of the cell<sup>47</sup>. Chin *et al.*<sup>13</sup> showed that an abnormal concentration of endotoxin in the intestinal lumen induced cell apoptosis, as a result, disruption of the tight junctions, specifically in the ZO-1 protein was initiated; the production of nitric oxide was increased, causing increased mucosal permeability and blood flow with influx of inflammatory cells into the area. Another study showed that the enterocyte regulatory system was altered in presence of LPS through the inhibition of proton pump under extracellular acidotic conditions, which resulted in a cytoplasmic acidification and alteration in cellular function<sup>12</sup>.

The rumen is an immense source of LPS, when present in the gut, many of them are excreted through the bile salts<sup>10</sup>, the remaining ones are displaced into the circulation. A small proportion of LPS consistently occurs in the gut for which immune tolerance in the host is developed, alleviating some of the responses resulting from the acute phase of inflammation<sup>2</sup>. In this case the production of LPS is independent from pH but dependent on starches that are not degraded in the rumen. The overshoot of starches that reach the ileum and large intestine causes a change in the populations of micro-organisms and consequently an increase in the release occurs in the posterior tract of LPS<sup>53</sup>. Finally, SARA is an entity which triggers the production of LPS because of the death of gram negative bacteria (due to the decrease in ruminal pH for three or more hours) subsequent to a diet rich in NSC, even though the translocation mechanism of LPS from either the rumen or the gut into the circulation is controversial<sup>3</sup>.

The latest theory is that the LPS use transcellular and paracellular mechanisms by Toll- receptor 4 type (TLR-4)<sup>40</sup>. Furthermore, Goshal *et al.*<sup>22</sup> showed that LPS can be transported into the blood by mechanisms provided by long chain fatty acids like oleic acid and formation of chylomicron from intestinal epithelial cells. The arrival of LPS into the systemic circulation, triggers the production of acute phase reactants (APR) of inflammation, such as the lipopolysaccharide binding protein (LBP), serum amyloid A (SAA), the C-reactive protein (CRP), and the haptoglobin (Hp), which stimulate the macrophages or hepatic Kupffer cells and other phagocytic cells mediated by the TLR-4 the release of pro-inflammatory cytokines such as the tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), the interleukin 1 (IL-1 $\beta$ ) and IL-6<sup>17</sup>. The APRs are generated as response

of the animal to disturbances in the homeostasis caused by infection, tissue injury, neoplastic growth or immunological disorders<sup>19</sup>. The APR are responsible for carrying out the functions of systemic response, providing energy and substrates for defense against pathogens, preventing the transfer of metabolites needed for them and limiting and helping repair the damage of the infected tissue<sup>19</sup>.

LBP function is to facilitate the removal of endotoxins from blood, either by carrying them to the macrophages when they are in low concentration or transporting with lipoprotein of high density<sup>21</sup>. The Hp is macromolecular protein binding hemoglobin which occurs during acute inflammation<sup>54</sup>. SAA is an apolipoprotein which is associated with high density lipoproteins during the acute response. Both HP and SAA are highly sensitive in bovine<sup>36</sup>. The CRP is part of the innate immune system and belongs to the family of pentraxins. Its main function is to bind to phosphocholine, allowing the recognition of pathogens or phospholipid constituents of damaged cells after an inflammatory process. It also can activate the complement system and phagocytic cells<sup>56</sup>.

During the acute phase response, the pro-inflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 lead to changes in the stability of the mitochondria in various tissues, thereby affecting the animal metabolic profiles<sup>15</sup>. One example is the important relationship between the glucose levels in blood and liver, which are regulated according to the needs of the immune system cells. In moderate inflammation, there is an increase in the uptake of glucose into these cells, generating a stimulus for hepatic glucose production and a corresponding increase in blood glucose. However, with a more intense acute response, there is a marked increase in plasma glucose levels<sup>15</sup>.

Changes have also been described in the profile of minerals and other metabolites in dairy cows during inflammatory states such as SARA. Zebeli *et al.*<sup>57</sup> demonstrated an inverse association between plasma levels of Ca, Fe, cholesterol and consumption of barley diet beyond 45% dry matter. This study showed a positive relationship with lactate. Such alterations generate clues about the effects endotoxins may be generating in the host. For example, cholesterol is the main precursor for the synthesis of bile acids; thus the decrease at high grain diets could be associated with the need to increase bile secretions to detoxify high amounts of endotoxins

present in the gastrointestinal tract<sup>41</sup>. Plasma Ca has been involved in the detoxifying capability of endotoxin in the host, decreasing their detoxifying capacity when there are high concentrations of the mineral<sup>46</sup>. Fe is an important mineral for the growing of microorganisms which is transferred from the peripheral blood to the reticular endothelial system, limiting both its availability and growth. Lactatemia is reported to be caused by an enhanced glycogenolysis and a reduced capacity of the extrahepatic tissues to utilize lactate<sup>49</sup>.

Laminitis has a strong relationship with SARA and immunogens generated by the ingestion of high grain diets. Four key molecules have been involved in the development of laminitis. The first is histamine, the second are endotoxins, the third are metalloproteinases and the fourth are methylamines. One of the most controversial is histamine because Goth<sup>23</sup> injected histamine in cows and they did not develop any type of laminitis. One of the reasons for this result is the rapid degradation of histamine in the gastrointestinal tract, which do not occur with endotoxin or metalloproteinases. It is important to note that the metalloproteinases are enzymes activated by cell wall components of gram positive bacteria such as lipoteichoic acid (LTA). In a study in dairy cows, a vaccine was designed for oral administration only against *Escherichia coli* LPS or concomitantly with the blocking of LTA. When it was administered only against LPS, there was a decrease in the incidence of laminitis, and when blockers LPS and LTA were mixed, a greater decrease in incidence of laminitis was demonstrated<sup>2</sup>. A diet based on high percentages of grain increases in number concentration of methylamine in rumen<sup>2</sup>; when passing from the rumen to circulation it may cause damage in blood vessels in the hoof of cow through free radicals such as formaldehyde, hydrogen peroxide, and ammonia via amino oxidase sensitive to semi-carbazide<sup>55</sup>.

### Endotoxins and mammary gland

Although there are no exact details on how LPS and mediators of the inflammation of fat production affect milk, it is speculated that this effect may be explained by the release of cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , produced by the macrophage and released into the circulation of the blood<sup>52</sup>. Based on the analysis of the literature the following model was built (Figure 2).

Several studies have suggested that intraperitoneal infusion of LPS or the administration of TNF- $\alpha$  or IL-1 $\beta$

in peripheral blood reduces lipogenesis in mammary gland of lactating rats<sup>5,35</sup>. Also, it has shown that TNF- $\alpha$  inhibit the activity of lipoprotein lipase (LPL), a key enzyme in the release of glycerol and non-esterified fatty acids (NEFAs), limiting the supply of circulating lipids available for its metabolism in mammary gland<sup>5</sup>.

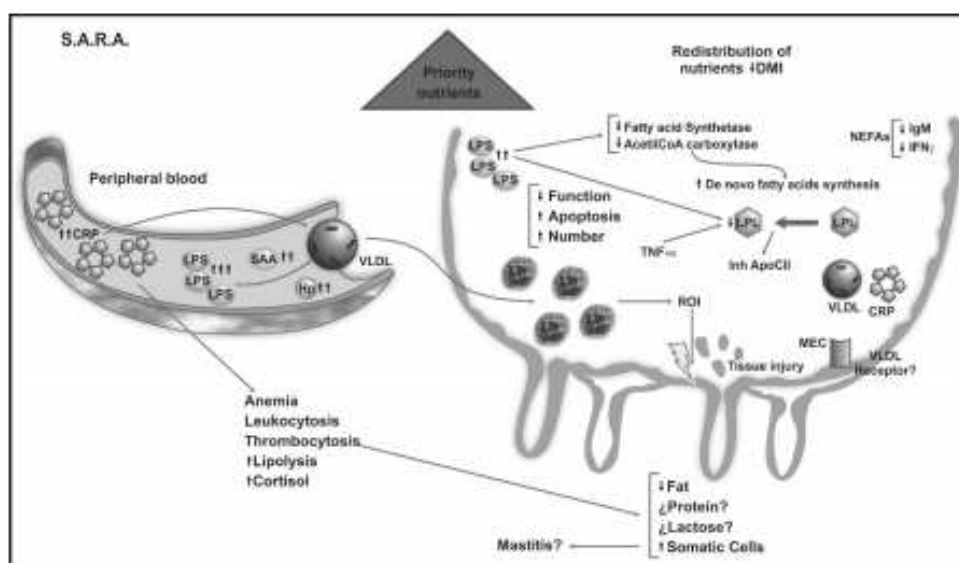
Additionally it has been reported that some mediators generated by LPS inhibit the activity of key enzymes involved in de novo synthesis of fatty acids such as fatty acid synthase and acetyl-CoA carboxylase<sup>35,43</sup>. In this sense, some APR as CRP, are involved in lipid metabolism<sup>29</sup>. Several studies have shown that administration of LPS affects the VLDL secretion with a marked dose-dependent effect. That is, at low doses of LPS the VLDL increases, whereas at higher doses, the removal rate of VLDL decreases<sup>18</sup>. CRP is increased because of the presence of LPS from the rumen, which is also associated with VLDL (Figure 2). In cows, VLDL is the primary source of triglycerides which are then transferred to the mammary gland cells<sup>9</sup>. Approximately 50% of fatty acids in ruminant milk are derived from blood triglycerides<sup>9</sup>.

During lactation there is an increase in LPL activity of mammary tissue with a decrease in LPL of adipose tissue<sup>25</sup>. The association between CRP and VLDL is a defense mechanism of the host to prevent activation of LPL by apoC-II during inflammatory states and reduce the removal of triglyceride-rich lipoproteins such as VLDL. In other words, the host keeps fat synthesis in the mammary gland to have it available to defend itself against an attack. This is evidenced by Barcia and Harris<sup>8</sup>, who showed that triglyceride-rich lipoproteins are attached to LPS, promoting a protective response against LPS-induced toxicity and modulating the response of the host against bacterial toxins.

The effect of SARA on parameters like the milk protein is not yet clear, however, some changes occurring therein are due to an increase in digestible organic matter in the rumen that enhance the synthesis of microbial protein<sup>39</sup>. Few studies have demonstrated a decrease in protein of milk in cows with SARA. Stone<sup>51</sup> evaluated 500 cows that had suffered SARA and whose rumen pH increased through diet. In response to an apparent pH recovery, milk production increased by 2.7 kg/day; fat, and protein in 0.3 and 0.1 percentage points. Another study in dairy cows showed that both the production and the fat content decreased in response to an increase in

the amount of grains in the diet and their corresponding activation of the inflammatory response<sup>27</sup>. According to some authors, there is a negative correlation between the content, production and production adjusted at 3.5% fat in milk and CRP levels in cows fed with incremental levels of barley grains (0%, 15%, 30% and 45%)<sup>26</sup>. This same study reported a positive relationship between

milk production and incremental levels of barley. While incremental levels of barley were associated with milk production, the energy efficiency of the same (calculated as the amount of milk fat per kg of dry matter intake) decreased 26% compared to cows that received 0% of barley.



**Figure 2.** Effects of SARA in mammary gland. Once the LPS are located in periphery, they generate the production of APR with local and systemic effects (i.e., mammary gland). Systemic effects include anemia, leukocytosis, thrombocytosis, increased lipolysis and cortisol. Mammary gland immediately changes its synthesis priorities of milk components (fat, protein and lactose) to nutrients reserve so that the immune system defends itself from the stimulus that is attacking it. LPS are transported by VLDL which have direct effect on some enzymes (synthase of fatty acids, acetylCoA, carboxylase and LPL) synthesizing de novo fatty acids of milk, which would explain, in part, the fat reduction in animals with SARA. Non-esterified fatty acids (NEFAs) modulate the activity of polymorphonuclears (PMNs) and cause a decrease in the production of IgM and IFN $\gamma$ . The PMNs begin phagocytic activity with subsequent generation of oxygen free radicals causing tissue damage in mammary epithelial cells, which may explain in part an increase in somatic cell counts of milk. However, its effect is confused because the association of diseases such as SARA and Mastitis is frequent. APR and pro-inflammatory cytokines within the mammary gland are responsible for the hypofagia and tissue lipolysis at the central level.

A study in France in cows with SARA showed an association with both somatic cell counts and indicators of the negative energy balance (i.e. NEFAs). That relationship grew twice when comparing cows at risk of SARA from moderate to high (based on the protein fat ratio)<sup>45</sup>. The explanation could be that the NEFAs have been associated with the regulation of some functions of the bovine PMNs, in particular with an increase in the respiratory burst associated with phagocytosis, reduction in cell viability and a marked increase in necrosis. Paradoxically, the NEFAs showed no effect on apoptosis<sup>32,46</sup>. It is clear that a relationship exists between lipomobilization, levels in plasma NEFAs and modulation of the bovine PMNs functions. However, more studies are needed to help understand the mechanisms by which this relationship occurs because it is not clear so far.

### Concluding remarks

The intake of diets high in NSCs and development of SARA in dairy cows are well known from the perspective of animal nutrition. However, during this condition PAMPs molecules type are generated (e.g. LPS) which have the ability to activate the immune system generating impacts both locally and systemically. Recently, a new discipline has been growing, known as nutritional immunology, which has allowed understanding the cause and effect relationship between nutrients and the production of immune system molecules capable of altering homeostasis, animal welfare and the productive performance. The gastrointestinal tract is the most important source of PAMPs production in ruminants. However, the anatomical site in which the translocation occurs, for subsequently joining their respective receptors (receptors of the immune system such as TLRs) and then generating bioactive molecules (APRs and cytokines), is a fundamental and also controversial issue. So far, there is a greater biological plausibility (including histological structure) in which this translocation occurs from the gut and not from the rumen. The binding of PAMPs with their respective receptors triggers a number of responses mediated by APR in the host that explain, at least in part, SARA symptomatology such as the decline in dry matter intake, alteration in compositional quality of milk, the decrease in digestibility of the fiber, among others.

During the acute phase of inflammation, proinflammatory cytokines with systemic effect are also generated, which

causes a greater energetic consumption by limiting the amount of energy available for production and maintenance functions. Locally, vaso-active molecules with inflammatory capacity are produced, generating other symptomatology like laminitis. In the mammary gland there are alterations in nutrient availability, causing several changes, among them, the compositional quality of milk. The study of the immunological basis of SARA pathophysiology, together with a deep nutritional knowledge, will make possible to understand more integrally the role of each of its molecules and the impact on both the severity and prognosis of the disease. It will also allow developing new feedstuff strategies to improve host's homeostasis, animal welfare, and performance.

### Acknowledgements

Sustainability 2013-2014 of the Biogenesis Group.

### References

1. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O 2006. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124:783-801
2. Ametaj BN, Koenig KM, Dunn SM, Yang WZ, Zebeli Q, Beauchemin KA. Backgrounding and finishing diets are associated with inflammatory responses in feedlot steers. *J Anim Sci* 2009; 87:1314-1320.
3. Ametaj BN, Zebeli Q, Summera I. Nutrition, microbiota, and endotoxin-related diseases in dairy cows. *Brazilian J Anim Sci* 2010; 39:433-444
4. Anderson SD. Endotoxic and anaphylactic-type shock in steers from intravenous injection of *Escherichia coli* endotoxin and ruminal absorption of endotoxin. Thesis MSc Kansas State University, Manhattan, USA, 1984.
5. Argiles JM, López-Soriano FJ, Evans RD, Williamson DH. Interleukin-1 and lipid metabolism in the rat. *Biochem J* 1989; 259:673-678
6. Aschenbach JR, Seidler T, Ahrens F, Schrodil W, Buchholz I, Garz B, Kruger M, Gabel G. Luminal salmonella endotoxin affects epithelial and mast cell function in the proximal colon of pigs. *Scand J Gastroenterol* 2003; 38:719-726

7. Baldwin RL. Use of isolated ruminal epithelial cells in the study of rumen metabolism. *J Nutr* 1998;128:293-296
8. Barcia AM, Harris HW. Triglyceride-rich lipoproteins as agents of innate immunity. *Clin Infect Dis* 2005; 41:S498-S503
9. Bauman DE, Griinari JM. Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest Prod Sci* 2001;70:15-29
10. Bertok L. Effect of bile acids on endotoxin *in vitro* and *in vivo* (physicochemical defense). Bile deficiency and endotoxin translocation. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 851:408-410
11. Bertok L. Bile acids in physico-chemical host defense. *Pathophysiol* 2004; 11: 139-45
12. Cetin S, Dunklebarger J, Li J, Boyle P, Ergun O, Qureshi F, Ford H, Upperman J, Watkins S, Hackam DJ. Endotoxin differentially modulates the basolateral and apical sodium/proton exchangers (NHE) in enterocytes. *Surgery* 2004; 136:375-383
13. Chin AC, Flynn AN, Fedwick JP, Buret AG. The role of caspase-3 in lipopolysaccharide-mediated disruption of intestinal tight junctions. *Canadian J Physiol Pharmacol* 2006; 84:1043-1050
14. Drewe J, Beglinger C, Fricker G. Effect of ischemia on intestinal permeability of lipopolysaccharides. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:138-144
15. Elsasser TH, Caperna TJ, Li CJ, Kahl S, Sartin JL. Critical control points in the impact of the proinflammatory immune response on growth and metabolism. *J Anim Sci* 2008; 86:E105-25
16. Emmanuel DGV, Madsen KL, Churchill TA, Dunn SM, Ametaj BN. Acidosis and lipopolysaccharide from *Escherichia coli* 055: B5 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues. *J Dairy Sci* 1997; 90:5552-5557
17. Emmanuel DGV, Dunn SM, Ametaj BN. Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows. *J Dairy Sci* 2008; 91:606-614
18. Feingold KR, Stavrans I, Memon RA, Moser AH, Shigenaga JK, Doerrler W, Dinarello CA, Grunfeld C. Endotoxin rapidly induces changes in lipid metabolism that produce hypertriglyceridemia: low doses stimulate hepatic triglyceride production while high doses inhibit clearance. *J Lipid Res* 1992; 33:1765-1776
19. Gabay C, Kushner I. Acute phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448-454
20. Gaebel G, Martens H, Suendermann M, Galfi P. The effect of diet intraruminal pH and osmolarity on sodium chloride and magnesium absorption from the temporarily isolated and washed reticulo-rumen of sheep. *Exp Physiol* 1987; 72:501-511
21. Gallay P, Heumann D, LeRoy D, Barras C, Glauser MP. Mode of action of anti-lipopolysaccharide-binding protein antibodies for prevention of endotoxemic shock in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:7922-7926
22. Goshal S, Witta J, Zhong W, de Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res* 2009; 50: 90-97
23. Goth A. Goth's Medical pharmacology. 7 ed St Louis CB Morsby Co USA; 1974.
24. Graham C, Simmons NL. Functional organization of the bovine rumen epithelium. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288:R173-R181
25. Herrera E, Lasunción MA, Gómez-Coronado D, Aranda P, López-Luna P, Maier I. Role of lipoprotein lipase activity on lipoprotein metabolism and the fate of circulating triglycerides in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158:1575-1583
26. Hontecillas R, Wannemuehler MJ, Zimmerman DR, Hutto DL, Wilson JH, Ahn DU, Bassaganya-Riera J. Nutritional regulation of porcine bacterial-induced colitis by conjugated linoleic acid. *J Nutr* 2002; 132:2019-2027
27. Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *J Dairy Sci* 2009; 92:1060-1070

28. Khafipour E, Li S, Plaizier JC, Krause DO. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute rumen acidosis. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75:7115-7124
29. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: Mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res* 2004; 45: 1169-1196
30. Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JP. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003; 50:406-414
31. Kushner I, Gewurz H, Benson MD. C-reactive protein and the acute phase response. *J Lab Clin Med* 1981; 97:739-749
32. Lacetera N, Scalia D, Franci O, Bernabucci U, Ronchi B, Nardone A. Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *J Dairy Sci* 2004; 87:1012-1014
33. Lassman BA. Release of endotoxin from rumen bacteria and endotoxin absorption from the rumen. Thesis MSc Kansas State University. Manhattan, USA, 1980.
34. Li S, Khafipour E, Krause DO, Kroeker A, Rodriguez-Lecompte JC, Gozho GN, Plaizier JC. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95:294-303
35. López-Soriano FJ, Williamson DH. Acute effects of endotoxin (lipopolysaccharide) on tissue lipid metabolism in the lactating rat. The role of delivery of intestinal glucose. *Mol Cell Biochem* 1994; 141:113-120
36. Martínez-Subiela S, Teclés F, Parra MD, Cerón JJ. Proteínas de Fase Aguda: Conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. *An Vet* 2001;17:97-114
37. Monk JM, Hou TY, Chapkin RS. Recent advances in the field of nutritional immunology. *Exp Rev Clin Immunol* 2011; 7:747-749
38. Nagaraja TG, Bartley EE, Fina LR, Anthony HD. Relationship of rumen gram-negative bacteria and free endotoxin to lactic acidosis in cattle. *J Anim Sci* 1978; 47:1329-1336
39. National Research Council. Nutrient Requirement of Dairy Cattle 2001; 7th edition. National Academic Press Washington USA
40. Neal MD, Leaphart C, Levy R, Prince J, Billiar TR, Watkins S, Li J, Cetin S, Ford H, Schreiber A, Hackam DJ. Enterocyte TLR-4 mediates phagocytosis and translocation of bacteria across the intestinal barrier. *J Immunol* 2006; 176:3070-3079
41. Nocek JE. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J Dairy Sci* 1997; 80:1005-1028
42. Nocek JE, Russell JB. Protein and energy as an integrated system: Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J Dairy Sci* 1988; 71:2070-2107
43. Pekala PH, Kawakami M, Angus CW, Lane MD, Cerami A. Selective inhibition of synthesis of enzymes for de novo fatty acid biosynthesis by an endotoxin-induced mediator from exudate cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:3743-3747
44. Peyraud JL, Delagarde R. Managing variations in dairy cow nutrient supply under grazing. *Animal* 2013; 7 :57-67
45. Raboisson D, Derville M, Herman N, Cahuzac E, Sans P, Allaire G. Herd-level and territorial-level factors influencing average herd somatic cell count in France in 2005-2006. *J Dairy Res* 2012; 79:324-332
46. Rosen FS, Skarnes RC, Landy M, Shear MJ. Inactivation of endotoxin by a humoral component. III role of divalent cation and a dialyzable component. *J Exp Med* 1958; 108:701-711
47. Rusu D, Loret S, Peulen O, Mainil J, Dandriofosse G. Immunochemical, biomolecular and biochemical characterization of bovine epithelial intestinal primocultures. *BMC Cell Biol* 2005; 6:42
48. Scalia D, Lacetera N, Bernabucci U, Demeyere K, Duchateau L, Burvenich C. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. *J Dairy Sci* 2006; 89:147-154

49. Steiger M, Senn M, Altreuther G, Werling D, Sutter F, Kreuzer M, Langhans W. Effect of a prolonged low dose lipopolysaccharide infusion on feed intake and metabolism in heifers. *J Anim Sci* 1999; 77:2523-2532
50. Steven DH, Marshall AB. Organization of the rumen epithelium. In *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant* (ed AT Phillipson), pp 80-100. Oriel Press, New Castle-upon-tyne, UK; 1969.
51. Stone WC. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2004; 8:E13–E26
52. Sweet MJ, Hume DA. Endotoxin signal transduction in macrophages. *J Leukoc Biol* 1996; 60: 8–26
53. Waldo DR. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *J Anim Sci* 1973; 37:1062-1074
54. Young CR, Wittum TE, Stanker LH, Perino LJ, Griffin DD, Littledike ET. Serum haptoglobin concentrations in a population of feedlot cattle. *Am J Vet Res* 1996; 57:138-141
55. Yu PH, Wright S, Fan EH, Lun ZR, Gubisne-Harberle D. Physiological and pathological implications of semicarbazide-sensitive amine oxidase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) –Mol Cell Biol Lipids* 2003; 1647:193-199
56. Zebeli Q, Ametaj BN. Relationship between rumen lipopolysaccharide and mediators of inflammatory response with milk fat production and efficiency in dairy cows. *J Dairy Sci* 2009; 92:3800-3809
57. Zebeli Q, Dunn SM, Ametaj BN. Strong associations among rumen endotoxin and acute phase proteins with plasma minerals in lactating cows fed graded amounts of concentrate. *J Anim Sci* 2010; 88:1545-1553

## CAPÍTULO 3

### EFFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE, LA SALUD RUMINAL Y SISTÉMICA DE LA VACA

Este capítulo está relacionado con el objetivo dos (evaluar el efecto de diferentes fuentes de carbohidratos en el suplemento de vacas holstein en pastoreo sobre la incidencia de acidosis ruminal subaguda, el estatus metabólico y la salud animal).

#### Introducción

La energía derivada de la digestión de los carbohidratos en el rumen es un factor determinante en el desempeño productivo de las vacas lactantes. En varios países, la mayoría de los sistemas especializados de producción lechera utilizan el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) como base forrajera para la alimentación de los animales. Este pasto presenta limitantes nutricionales que se reflejan en producciones de leche inferiores a 11 kg/vaca/d, entre ellas, exceso de proteína, producto de la elevada fertilización nitrogenada, y deficiencia de energía, consecuencia del reducido contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) y baja digestibilidad de los componentes estructurales (Marais, 2001). Aunque la composición química del forraje varía en función de la etapa de crecimiento y de las condiciones ambientales, Correa et al (2008a) reportaron para el pasto kikuyo contenidos de fibra en detergente neutra (FDN), CNF, y proteína cruda (PC) de 58.1, 13.4 y 20.5% de la materia seca (MS), respectivamente. Lo anterior denota la importancia de aumentar el contenido de CNF (ácidos orgánicos, azúcares,

almidones y sustancias pecticas) (Krause y Oetzel, 2006) en la dieta de las vacas lactantes como estrategia para incrementar la disponibilidad de energía a nivel ruminal y, con ello, la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y de proteína microbiana, impactando positivamente la producción de leche y su calidad composicional (Kellaway y Harrington, 2004).

El maíz (*Zea maíz*) representa la fuente energética más usada en la elaboración de suplementos para lechería especializada debido a su elevado contenido de CNF, principalmente almidón, correspondiente al 72% del peso del grano (Huntington et al, 2006) y a la elevada digestibilidad de este nutriente (92.6%) (Giuberti et al, 2014). Existen otras fuentes de CNF como el sorgo (*Sorghum vulgare*), la yuca (*Manihot esculenta*) y la pulpa cítrica (derivados del género *Citrus*), que por presentar menor costo y/o competencia con la alimentación humana, hacen atractiva su incorporación. En el caso del sorgo, el contenido de almidón es comparable con el del maíz (Huntington et al, 2006), no obstante, la yuca presenta mayores concentraciones de este componente (84%) (Santana y Meireles, 2014). De otro lado, la pulpa cítrica se caracteriza por presentar bajos contenidos de almidón (2.3%), pero mayor concentración de azúcares (24.1%) y pectinas (22.3%) (Bampidis y Robinson, 2006).

Si bien la alimentación con granos u otros carbohidratos de rápida fermentación incrementa la producción de leche y la calidad composicional de la misma, también puede llegar a afectar negativamente la salud animal. Este tipo de alimentos aumenta el riesgo de acidosis ruminal subaguda (ARSA) (periodos continuos de depresión del pH ruminal entre 5.0-5.5) (Krause y Oetzel, 2006), que a su vez se

asocia con reducción del consumo de MS y la digestibilidad de la fibra, laminitis, abscesos hepáticos e inflamación, los cuales afectan de manera negativa el desempeño animal (Plazier et al, 2009; O'Grady et al, 2007). La literatura sugiere limitar el contenido de CNF a 35-40% de la MS consumida para evitar ARSA, no obstante, la concentración óptima no es la misma para todas las dietas debido a diferencias en la extensión y la tasa de fermentación de los carbohidratos presentes en la ración (Krause y Oetzel, 2006). Offner et al (2003) reportaron tasas de degradación del almidón de 0.059, 0.042 y 0.139 h<sup>-1</sup>, para maíz, sorgo y yuca, respectivamente, sin embargo, cuando éstas son sometidas a un proceso de extrusión, los valores para los dos primeros alimentos fueron de 0.087 y 0.097 h<sup>-1</sup>, correspondientemente. La pulpa cítrica en niveles del 10-15% de la MS de la dieta no induce ARSA, toda vez que la fermentación de las pectinas no promueve la formación de ácido láctico. Sin embargo, el riesgo de ARSA parece aumentar con mayores niveles de incorporación de esta materia prima (Bampidis y Robinson, 2006).

A diferencia de los sistemas de producción basados en raciones totalmente mezcladas, en los sistemas de producción basados en pastoreo, y representativos del trópico alto colombiano, las vacas consumen forraje a voluntad durante 24 horas y solamente reciben el suplemento en dos momentos puntuales del día, específicamente durante el ordeño, lo que en concepto de Krause y Oetzel (2006) aumenta el riesgo de ARSA. La mayoría de los trabajos realizados en ARSA han inducido esta condición mediante cambios repentinos de la dieta, utilizando para tal efecto vacas que no están gestando ni lactando (Li et al, 2012). Estos trabajos, por

tanto, no logran explicar lo que sucede en sistemas de producción comercial y el efecto sobre el desempeño productivo y la calidad composicional de la leche. Con base en los anteriores conceptos, se denota la importancia de evaluar el efecto de diferentes fuentes de CNF sobre la incidencia de ARSA y el desempeño animal en sistemas basados en pastoreo. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del reemplazo parcial del maíz por sorgo, yuca o pulpa cítrica, como parte de un suplemento energético garantizado a vacas Holstein en pastoreo, y su efecto sobre pH ruminal, salud animal, la producción de leche y su calidad.

## **Materiales y Métodos**

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia, Actas No. 76 (Mayo/2012) y No. 83 (Mayo/ 2013).

### *Localización*

El experimento se realizó en la granja Betania (6°4'57.9" N, 75°28'23.8" W), propiedad de la empresa Solla S.A., la cual está ubicada en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia-Colombia). Esta zona se encuentra a 2600 msnm y presenta una temperatura promedio de 19.1°C, humedad relativa de 67.9% y precipitación anual de 2400 mm, características de un bosque húmedo montano bajo (Holdridge, 1967).

### *Animales y diseño experimental*

Ocho (8) vacas Holstein friesian de  $534 \pm 34$  kg de peso vivo (PV) fueron usadas en un diseño en cuadrado latino replicado. El número de parto representó el efecto del cuadrado, de tal forma que los animales de tercer parto fueron asignados al primer cuadrado y los de cuarto y quinto parto, al segundo. Las unidades experimentales recibieron el mismo manejo de los restantes animales del hato. Los animales (efecto columna) participaron del trabajo los primeros 60 días posparto, por lo que la duración de cada período experimental (efecto fila) fue de 15 días; los primeros 10 días correspondientes al período de adaptación al tratamiento y los restantes 5 días, al período de medición.

### *Dietas experimentales y alimentación*

Los animales consumieron pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) de 41 días de rebrote que presentó la siguiente composición química (como porcentaje de la MS): PC, 24.7%; extracto etéreo (EE), 3.7%, FDN, 52.9%, fibra en detergente ácido (FDA), 29.8%; lignina, 4.6%; cenizas (MI), 9.6%, y CNF, 9.1%. Los animales pastorearon conjuntamente cada potrero durante 24 horas, garantizando una oferta forrajera de 31 kg de MS/vaca/d, aproximadamente. La suplementación concentrada se estableció con base en el promedio de producción de leche semanal, en una relación próxima a 3.5:1 (1 kg de suplemento por cada 3.5 kg de leche). Se garantizaron cuatro (4) diferentes suplementos isoenergéticos e isoproteicos, correspondientes a los tratamientos experimentales. El tratamiento 1 (T1) incluyó como fuente principal de energía el maíz (*Zea maíz*), en los tratamientos 2, 3 y 4 aproximadamente el 50% de los nutrientes digestibles totales (NDT)

aportados por el maíz fueron garantizados por otras fuentes de CNF, a saber, sorgo (*Sorghum vulgare*, T2), yuca (*Manihot esculenta*, T3) y pulpa cítrica deshidratada (*Citrus sp.*, T4). En la Tabla 1 se presentan los ingredientes y la descripción química de los suplementos. En la Tabla 2 se muestra la composición del almidón de los ingredientes y suplementos evaluados. La suplementación se realizó dos veces al día, durante el ordeño, a las 04:00 y 14:00 horas. El agua se suministró *ad libitum*.

**Tabla 1.** Ingredientes y composición química de los cuatro suplementos concentrados

Ítem	Tratamientos experimentales			
	T1 ( <i>Z. maíz</i> )	T2 ( <i>S. vulgare</i> )	T3 ( <i>M. esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
<i>Ingredientes</i>				
Maíz	44.3	21.8	19.3	23.9
Sorgo <sup>1</sup>	-	22.5	-	-
Yuca	-	-	20.5	-
Pulpa cítrica	-	-	-	25.8
Maíz forraje	10.0	9.3	10.0	5.0
Salvado de trigo	11.2	10.0	11.8	10.0
Harina de arroz	8.6	10.8	11.7	7.6
Torta de girasol	8.0	8.0	5.0	8.0
Torta de soya	8.4	8.0	12.2	11.2
Melaza	4.4	4.4	4.4	4.4
Carbonato de calcio	3.7	3.7	3.7	2.3
Cloruro de sodio	0.86	0.89	0.91	0.81
Bicarbonato de sodio	0.30	0.30	0.30	0.30
Premezcla <sup>2</sup>	0.20	0.20	0.20	0.20
Fosfato tricálcico	0.17	0.10	-	0.58
<i>Composición química (%)<sup>3</sup></i>				
MS	89.7	89.5	91.5	89.4
PC	18.0	18.7	18.1	18.6
EE	4.3	4.3	4.3	4.6
MI	8.6	8.8	9.5	8.4
Ca	1.8	1.9	1.8	1.9
P <sub>t</sub>	0.7	0.7	0.7	0.7
FC	4.6	4.9	5.2	7.7
FDN	17.0	16.7	19.0	18.5
FDA	8.4	9.0	8.4	12.6
CNF <sup>4</sup>	52.2	51.6	49.1	49.9
Lignina	2.5	2.8	3.0	3.6
Almidón	30.4	31.8	25.6	21.2
Pectina <sup>5</sup>	1.4	<1.0	<1.0	8.9
EB, Mcal/kg	4.4	4.4	4.3	4.4
EN <sub>i</sub> <sup>6</sup> , Mcal/kg	1.6	1.6	1.6	1.6
NDT <sup>7</sup>	71.4	70.6	71.0	71.8

<sup>1</sup>Sorgo con contenido de 954.5 mg de Catequina/100g de muestra.

<sup>2</sup>Composición garantizada por cada kg de premezcla: vitamina A, 2.500.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 750.000 UI; vitamina E, 2.000 UI; Fe, 12.5 g; Cu, 2.5 g; Mn, 10 g; Zn, 10 g; I, 0.15 g; Co, 0.025 g; antioxidante BHT, 30 g.

<sup>3</sup>Expresada en el 100% de la materia seca (MS): PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; MI, material inorgánico (cenizas); Ca, calcio; P<sub>t</sub>, fósforo total; FC, fibra cruda; FDN, fibra detergente neutra; FDA, fibra detergente ácida; CNF, carbohidratos no fibrosos; EB, energía bruta; EN<sub>i</sub>, energía neta de lactancia; NDT, nutrientes digestibles totales.

<sup>4</sup>CNF = 100 - (PC+EE+FDN+MI).

<sup>5</sup>Cuantificado a partir de la concentración de ácido galacturónico

<sup>6</sup>EN<sub>i</sub> = (NDT\*0.0245)-0.12

<sup>7</sup>NDT = dvCNF + dvPC + (dvAG\*2.25) + dvFDN -7, donde AG= ácidos grasos (AG=EE-1) y dv = digestibilidad verdadera

**Tabla 2.** Composición del almidón de los ingredientes y los suplementos concentrados

	Nutriente		
	Almidón <sup>1</sup>	Amilosa <sup>2</sup>	Amilopectina <sup>2</sup>
En el ingrediente			
<i>Z.maíz</i>	60.9	25.7	74.3
<i>S.vulgare</i>	59.1	25.0	75.0
<i>M.esculenta</i>	69.0	20.7	79.3
<i>Citrus sp.</i>	2.4	9.3	90.7
En el suplemento			
<i>Z.maíz</i>	30.4	21.7	78.3
<i>S.vulgare</i>	31.8	17.3	82.7
<i>M.esculenta</i>	25.6	19.9	80.1
<i>Citrus sp.</i>	21.2	18.0	82.0

<sup>1</sup>Expresado como porcentaje de la materia seca.

<sup>2</sup>Expresado como porcentaje de almidón.

#### *Descripción química de los alimentos*

Las muestras frescas de pasto se secaron en estufa de ventilación forzada a 60°C durante 72 horas. Posteriormente estas muestras y las de suplemento concentrado se procesaron en molino estacionario Thomas-Wiley con tamiz de 1 mm (Arthur M. Thomas, Philadelphia, PA, USA) para su posterior análisis químico. Se determinó MS (ICONTEC, 2000; NTC 4888), PC (ICONTEC, 1999; NTC 4657), EE (ICONTEC, 2001a; NTC 4969), MI (ICONTEC, 2007; NTC 4648), FDN tratada con  $\alpha$ -amilasa (AOAC, 2005; método 2002.04), FDA (AOAC, 2003; método 973.18) y lignina (Van Soest y Wine, 1968). En los suplementos adicionalmente se cuantificó fibra cruda (FC) (ICONTEC, 2002; NTC 5122), energía bruta (EB) en bomba calorimétrica (Model C5000, IKA®, Germany) (ISO 9831, 1998), Ca (ICONTEC, 1998; NTC 302) y P (ICONTEC, 2001b; NTC 4981). Mediante el empleo del kit comercial MEGAZYME® se determinó el contenido de pectina por espectrofotometría (Hansen et al, 2001), almidón (AOAC, 2000; método 996.11 modificado), amilosa y amilopectina por colorimetría (Yun y Matheson, 1990). Los CNF, como porcentaje

de la MS, fueron obtenidos por la ecuación  $CNF = 100 - (PC + EE + MI + FDN)$  (Detmann y Valadares Filho, 2010), el NDT fue estimado a partir del modelo multicompartimental del NRC (2001) y la  $EN_i$  a partir de la ecuación descrita por Weiss (1993),  $EN_i$  (Mcal/kg) =  $NDT(\%) * 0.0245 - 0.12$ . El contenido de taninos condensados del sorgo se analizó mediante la técnica descrita por Chavan et al (2001).

### *Variables respuesta*

#### *Consumo y digestibilidad de la materia seca*

El consumo de materia seca total ( $CMS_T$ ) correspondió a la suma de consumo de materia seca de pasto ( $CMS_P$ ) pasto y de suplemento concentrado ( $CMS_S$ ), último valor establecido con base en la producción de leche. El  $CMS_P$  se determinó mediante la utilización de óxido de cromo ( $Cr_2O_3$ ) como marcador externo y materia seca indigestible (MSI) como marcador interno. El  $Cr_2O_3$  fue dosificado vía oral dos veces al día (5 g/dosis), al momento del ordeño según descrito por Penning y Johnson (1983). El suministro se realizó por 15 días, los primeros 10 días correspondientes al período de adaptación (equilibrio entre la ingestión y la excreción del indicador) y los últimos 5 días correspondientes al período de muestreo fecal, que se efectuó dos veces al día, al momento del ordeño y luego de dosificar el marcador. Porciones de aproximadamente 500 g de heces fueron colectadas directamente del ano, almacenadas en bolsas plásticas, identificadas y congeladas a  $-20^\circ C$ . Al término de los cinco días se obtuvo una muestra compuesta por animal, que se secó en estufa de ventilación forzada ( $60^\circ C/72$  h) y se molió a 1

mm para posterior análisis de cromo mediante espectrofotometría de absorción atómica, conforme la metodología descrita por Williams et al (1962). La producción fecal (PF), en kg de MS/día, se estimó a partir de la fórmula:  $PF = \text{Cromo administrado (g/día)} * \text{Recuperación del marcador en las heces (coeficiente)} / \text{Cromo en las heces (g/kg de MS)}$  (Lippke, 2002). Se asumió un porcentaje de recuperación del 80 % (Correa et al, 2009).

La MSI en las muestras de pasto kikuyo, los suplementos concentrados y las heces, correspondió al residuo indigestible después de 144 h de incubación ruminal. Por cada material evaluado se incubaron tres bolsas de nylon de 5 x 12 cm (3.0 g muestra/bolsa), las cuales se fijaron a una cadena de hierro galvanizado que fue insertada a nivel ruminal. Transcurridas 144 h, las bolsas fueron retiradas, lavadas con agua fría y secadas en estufa de ventilación forzada a 60°C. El porcentaje de MSI correspondió a la relación  $(MSI/MS \text{ incubada}) * 100$  (Kanani et al, 2014; Silva et al, 2014).

La concentración de MSI en las heces ( $\%MSI_H$ ) se multiplicó por la cantidad total de heces ( $H = \text{kg materia seca fecal}$ ) para obtener la cantidad total (kg) de este marcador en las heces ( $\text{kg } MSI_H$ ). Al restar esta cantidad de la proveniente del suplemento concentrado ( $\text{kg } MSI_S = \text{CMS de suplemento (CMS}_S) * \text{Concentración de MSI en el suplemento (\%MSI}_S)$ ) se obtuvo la cantidad de MSI en las heces proveniente del pasto, equivalente a la cantidad de MSI consumida con el pasto ( $\text{kg } MSI_P$ ). Finalmente, el  $CMS_P$  se determinó a partir de la siguiente ecuación:  $CMS_P =$

$[(\%MSI_H \cdot H) - (\%MSI_S \cdot CMS_S)] / \%MSI_P$ , partiendo de la relación:  $\%MSI_H \cdot H = (\%MSI_P \cdot CMS_P) + (\%MSI_S \cdot CMS_S)$ .

A partir de los datos de  $CMS_P / CMS_S$  se estableció la relación forraje:concentrado (F:C). El CMS se expresó en kg/d, como porcentaje del PV y en g/kg  $PV^{0.75}/d$ , donde  $PV^{0.75}$  correspondió al peso metabólico. Los animales se pesaron el día 11 de cada período experimental a las 09:00 horas.

La digestibilidad de la materia seca (DMS) se obtuvo de la relación  $DMS (\%) = [(\%MSI_H - \%MSI_A) / \%MSI_H]$ , donde  $MSI_A$  correspondió a la concentración de MSI en el alimento consumido. Esta concentración fue hallada ponderando la concentración de MSI del pasto y del suplemento concentrado, de acuerdo con el consumo forraje/suplemento.

Simultáneamente con el pesaje, se calificó la condición corporal (CC) empleando una escala de 1 a 5, donde 1 = delgada y 5 = obesa (Edmonson et al, 1989).

#### *Producción de leche y calidad composicional y sanitaria.*

La leche obtenida de cada ordeño fue diariamente pesada los tres últimos días de cada período experimental usando un sistema automático (MM27BC, DeLaval International AB, Sweden). La producción registrada (PL) fue corregida al 3.5% de grasa (LCG, 3.5%) y por energía (LCE) a partir de las ecuaciones:  $LCG, 3.5\% = [(0.4324 \times \text{kg de leche}) + (16.216 \times \text{kg de grasa})]$  y  $LCE = [(0.327 \times \text{kg de leche}) + (12.95 \times \text{kg de grasa}) + (7.20 \times \text{kg de proteína})]$ , respectivamente (Boerman et al, 2015). Con el fin de evaluar la calidad composicional, y con la ayuda de un muestreador secuencial automático, de cada animal se colectaron muestras de

leche (aproximadamente 250 mL) del ordeño am y pm (04:00 y 14:00 horas, respectivamente) en ese mismo período. De la cantidad total de leche muestreada, se tomó una alícuota de 50 mL que fue transportada en tubos plásticos conteniendo preservante (Bronopol 8 mg + Natamicina 0.30 mg) (D&F Control Systems, Massachusetts, USA), a 4°C, hasta el Laboratorio de Análisis de Leche de la Universidad de Antioquia. En las muestras obtenidas de cada animal y ordeño se analizó el contenido de proteína, grasa, lactosa y sólidos totales (valores expresados en %), mediante el empleo de MilkoScan FT+ (transformación de Fourier a partir de infrarrojo) (Foss, Hillerød, Dinamarca). La calidad sanitaria se evaluó a partir del conteo de células somáticas (CCS, valores expresados en miles de células por mL) por citometría de flujo (Fossomatic™ FC, Foss Electric, Hillerød, Dinamarca). La producción de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales (kg) se obtuvo del producto entre la producción de leche del respectivo ordeño (kg) y su composición analizada (%). La suma de los seis valores fue relacionada con la producción total de leche de los 3 días, con el fin de obtener la producción diaria (kg/d) y la concentración porcentual de cada uno de los componentes.

Con base en el desempeño productivo y el CMS<sub>T</sub> se determinó la eficiencia alimenticia (EA), expresada en kg de leche, LCG y LCE por kg de MS consumida.

*pH ruminal, temperatura rectal y score de locomoción.*

El pH ruminal se midió los últimos tres (3) días de cada período experimental mediante el empleo del equipo Ebolus (eCow Ltd, Exeter, Devon, UK), de acuerdo con la metodología propuesta por Mottram et al (2008). El equipo se compone de

bolos intraruminales con sensor de pH y un dispositivo inalámbrico detector de señal. Los bolos -135 mm de largo, 27 mm de diámetro, 150 g de peso- fueron calibrados por el proveedor antes del envío e insertados vía oral en cada vaca con la ayuda de una pistola de aire, ocho (8) días antes de la fecha programada de parto. El bolo midió el pH cada 60 segundos (precisión de  $\pm 0.1$  unidades) y realizó un promedio de las lecturas cada 15 minutos. El día 15 de cada período experimental, después del ordeño de la mañana, los datos se recuperaron mediante el empleo del dispositivo inalámbrico. A partir de los valores obtenidos de 24 horas de medición se determinó el pH ruminal medio, mínimo y máximo, así como el área bajo la curva de un pH 6.0. El área bajo la curva se calculó de acuerdo con la metodología descrita por Bevans et al (2005), adicionando el valor absoluto de las desviaciones en pH por debajo de 6.0 por cada intervalo de 15 minutos, y se expresó en unidades de pH x hora. Igualmente se valoró la duración que el pH estuvo por debajo de 6.0 (minutos/24 h) (Fairfield et al, 2007). Valores de pH superiores a 6.0 se consideraron protectoras de ARSA.

La temperatura rectal se midió durante los tres (3) últimos días de cada período experimental, a las 09:00 y a las 15:00 horas. Los datos de cada día fueron promediados.

El último día de cada período experimental se valoró el score de locomoción utilizando una escala de 1 a 5. La mínima puntuación (1) se asigna a un animal sin alteraciones (actividades como levantarse y caminar se realizan con normalidad) y la máxima (5) corresponde a una cojera grave (inhabilidad evidente, el animal se rehúsa a sostener su peso con uno o más miembros) (Sprecher et al, 1997).

*Parámetros hematológicos, química sanguínea y nitrógeno ureico en leche.*

El día 15 de cada período experimental (09 horas), de cada animal se colectó muestra de sangre de la vena coccígea usando una jeringa de 2.5 cm, de acuerdo con las indicaciones de Jones y Allison, (2007). La muestra fue almacenada en dos vacutainer, 5 mL en vacutainer conteniendo K<sub>2</sub>EDTA como anticoagulante (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) para análisis de fibrinógeno (FB, refractómetro ATAGO Sur-NE, Japón) y parámetros hematológicos y, 5 mL en un vacutainer sin anticoagulante (Becton Dickinson, Rutherford, NJ) para análisis de química sanguínea. La muestra sin anticoagulante permaneció a temperatura ambiente hasta su coagulación y luego fue centrifugada a 1000xg por 15 minutos (dentro de los 60 minutos siguientes a su colección). Posteriormente, con ayuda de pipeta Pasteur, se separó el suero, tomando aproximadamente 1.5 mL de muestra que se almacenó en cuatro tubos Eppendorf. Todas las muestras fueron transportadas a -20°C hasta el Laboratorio de Bioanálisis de la Universidad de Antioquia, donde se evaluaron los siguientes parámetros hematológicos: glóbulos rojos (GR), hemoglobina (Hb), hematocrito (HTO), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HbCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHbCM), plaquetas (PLA), plaquetocrito (PTO), volumen plaquetario medio (VPM), amplitud de distribución plaquetaria (ADP), glóbulos blancos (GB) y diferencial de GB (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, relación neutrófilos: linfocitos) (analizador hematológico automatizado Cell-Dyn sistema 3500, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL). Los parámetros de química

sanguínea analizados fueron urea, creatinina, gamma glutamil transferasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), Ca, P, magnesio (Mg), proteínas plasmáticas totales (PPT), albúmina (ALB) y globulinas (GLO) (Vitros 250 Chemistry Analyzer, Ortho-Clinical Diagnostics, Markham, ON, Canada). El FB se analizó por refractometría (Duncan et al, 2000). Estos datos se acompañaron del análisis de la concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL, expresado en mg/dL) usando MilkoScan FT+ (transformación de Fourier a partir de infrarrojo) (Foss, Hillerød, Dinamarca). Las muestras de leche fueron las mismas obtenidas para el análisis de calidad composicional y sanitaria.

#### *Análisis Estadístico.*

Las variables respuesta se analizaron bajo un diseño de clasificación experimental en cuadrado latino 4\*4 replicado usando el comando PROC MIXED de SAS®. El modelo estadístico fue el siguiente:  $Y_{ijkl} = \mu + T_i + C_j + V_{k(j)} + P_l + \epsilon_{ijkl}$ , donde:  $Y_{ijkl}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media global,  $T_i$  es el efecto fijo de los tratamientos ( $i = 1, 2, 3, 4$ ),  $C_j$  es el efecto fijo del cuadrado ( $j = 1, 2$ );  $V_{k(j)}$  es el efecto aleatorio de la vaca anidada en el cuadrado,  $P_l$  es el efecto fijo del periodo ( $l = 1, 2, 3, 4$ ) y  $\epsilon_{ijkl}$  es el error experimental. Sobre la variable CCS se realizó transformación del logaritmo natural, verificando el cumplimiento de los supuestos.

Los valores de pH y temperatura rectal fueron analizados en un diseño con submuestreo a partir del modelo:  $Y_{ij} = \mu + U_i + \epsilon_{ij}$ , donde cada observación  $Y_{ij}$  se explica por el efecto general de la media  $\mu$ , un efecto aleatorio general controlado

de la  $i$ -ésima unidad experimental  $U_i$ , y un efecto aleatorio no controlado de dicha observación dentro de la unidad experimental a la que pertenece, que es el error muestral (Zamudio-Sanchez y Alvarado-Segura, 1996) .

Las medias fueron comparadas mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia estadística del 5% (Tukey, 1949).

La CC y el SL fueron evaluados mediante el análisis de varianza bidimensional de Friedman por rangos para muestras relacionadas, con un nivel de significancia estadística del 5%.

## **Resultados**

En la Tabla 3 se presenta la información correspondiente a PV, CC, CMS, DMS y EA. Solamente se registró diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) en la DMS, que fue superior para el tratamiento formulado con pulpa cítrica respecto los que incluyeron yuca y sorgo. Las restantes variables fueron estadísticamente equivalentes ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos.

El efecto de los tratamientos sobre la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria se presenta en la Tabla 4. Las variables PL, LCG y producción de lactosa (kg/d), tendieron a ser estadísticamente diferentes ( $p < 0.10$ ), registrando mayores y menores valores para los tratamientos que incluyeron yuca y pulpa cítrica, respectivamente. Entre estos tratamientos se presentó diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) en LCE, producción de proteína y de sólidos totales (kg/d), a

favor del tratamiento con inclusión de yuca. La producción de proteína también fue diferente ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos incluyendo yuca y sorgo.

En la Tabla 5 se presenta el efecto de los tratamientos sobre los valores de pH ruminal, temperatura rectal y SL. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre tratamientos en ninguna de las variables analizadas. El área bajo la curva para un  $pH < 6$ , así como los tiempo que permaneció por debajo de este umbral tampoco mostraron diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

Los parámetros hematológicos fueron estadísticamente equivalentes entre tratamientos (Tabla 6) ( $p > 0.05$ ), no obstante, la concentración de plaquetas tendió a ser diferente ( $p = 0.07$ ), presentando el menor valor para el tratamiento con maíz respecto el tratamiento con yuca. Igualmente no se registraron diferencias sobre el perfil metabólico de los animales en estudio ( $p > 0.05$ ) (Tabla 7).

**Tabla 3.** Peso, condición corporal, consumo, digestibilidad de la materia seca y eficiencia alimenticia de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos

Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
Peso vivo (kg)	537.87	534.50	535.62	526.25	5.96	0.24
CC	3.03	3.03	3.03	2.94	0.04	0.59
CMS <sub>T</sub>						
kg/d	19.36	20.77	20.47	19.20	0.57	0.77
g/kg <sup>0.75</sup> /d	174.28	187.28	184.34	181.27	5.33	0.79
%PV	3.63	3.90	3.84	3.79	0.11	0.79
CMS <sub>P</sub>						
kg/d	11.58	12.18	12.35	11.62	0.54	0.93
g/kg <sup>0.75</sup> /d	104.28	110.12	111.36	105.53	5.05	0.94
%PV	2.17	2.29	2.32	2.20	0.11	0.94
CMS <sub>S</sub>						
kg/d	7.79	8.58	8.13	8.30	0.22	0.16
g/kg <sup>0.75</sup> /d	70.00	77.16	72.98	75.74	2.00	0.17
%PV	1.46	1.61	1.52	1.58	0.04	0.17
Relación F:C	59.20:40.80	57.92:42.08	60.14:39.86	57.19:42.81	1.27	0.78
DMS, %	69.12 ab	68.60 b	67.82 b	71.62 a	0.61	<0.01
Eficiencia alimenticia						
PL, kg/kg MS	1.66	1.51	1.64	1.54	0.06	0.64
LCG, kg/kg MS	1.66	1.55	1.72	1.63	0.07	0.82
LCE, kg/kg MS	1.64	1.51	1.68	1.59	0.07	0.74

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

<sup>2</sup>CC, condición corporal; CMST, consumo de materia seca total; CMSP, consumo de materia seca del pasto; CMSS, consumo de materia seca del suplemento; F:C, relación forraje concentrado; DMS, digestibilidad de la materia seca; PL, producción de leche; LCE, leche corregida por energía; LCG, leche corregida por grasa.

ab, medias de tratamiento con diferente letra en la misma fila difieren estadísticamente (p<0.05)

**Tabla 4.** Efecto de diferentes fuentes de carbohidratos sobre la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria

Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
PL, kg/d	32.15	31.33	33.55	30.63	1.11	0.07
LCG, 3.5%, kg/d	32.12	32.18	35.19	31.33	1.10	0.06
LCE, kg/d	31.76 ab	31.42 ab	34.52 a	30.56 b	1.20	0.03
Grasa, %	3.50	3.67	3.83	3.72	0.14	0.52
Proteína, %	2.89	2.83	2.94	2.81	0.05	0.26
Relación Grasa:proteína	1.20	1.30	1.31	1.33	0.05	0.55
Lactosa, %	4.77	4.76	4.73	4.71	0.03	0.19
Sólidos totales, %	11.98	12.08	12.37	12.07	0.05	0.29
Grasa, kg/d	1.14	1.15	1.27	1.12	0.05	0.28
Proteína, kg/d	0.93 ab	0.87 b	0.97 a	0.85 b	0.03	0.01
Lactosa, kg/d	1.53	1.48	1.60	1.45	0.05	0.06
Sólidos totales, kg/d	3.85 ab	3.77 ab	4.13a	3.67 b	0.13	0.02
CCS (células x 1000)	150	231	269	309	52.8	0.63

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

<sup>2</sup>PL, producción de leche; LCE, leche corregida por energía; LCG, leche corregida por grasa; CCS, conteo de células somáticas. ab, medias de tratamiento con diferente letra en la misma fila difieren estadísticamente ( $p < 0.05$ )

**Tabla 5.** pH ruminal y temperatura rectal en vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos

Item	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
pH Ruminal						
Media	6.50	6.38	6.51	6.37	0.03	0.44
Mínimo	6.16	6.12	6.20	6.00	0.03	0.52
Máximo	6.82	6.68	6.80	6.71	0.03	0.41
Área bajo la curva pH<6.0 (unidades pH/h)	0.00	14.13	0.43	10.46	3.63	0.31
Tiempo pH<6.0 (min/24 h)	32.50	78.75	30.00	77.50	16.00	0.58
Temperatura rectal	38.5	38.7	38.6	38.6	0.07	0.29
Score de locomoción	1.38	1.13	1.13	1.13	0.07	0.39

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

**Tabla 6.** Parámetros hematológicos de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos.

Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
GR (10 <sup>6</sup> x µL)	6.11	6.08	6.20	6.10	0.14	0.90
Hb (g/dL)	10.74	10.01	10.94	10.75	0.26	0.12
HTO (%)	28.93	28.46	29.23	28.71	0.66	0.75
VCM (fL)	47.37	46.75	47.12	47.11	0.57	0.61
HbCM (pg)	17.57	17.31	17.65	17.62	0.19	0.49
ChbCM (%)	37.06	36.96	37.52	37.50	0.18	0.55
PLA (x 10 <sup>3</sup> )	259.37	328.87	335.37	263.50	22.40	0.07
PTO (%)	0.19	0.23	0.24	0.19	0.01	0.22
VPM (fL)	7.13	7.14	7.17	7.30	0.11	0.78
ADP (%)	34.77	33.94	34.15	34.91	0.50	0.61
GB (10 <sup>9</sup> x L)	9.36	9.09	10.31	10.81	0.67	0.26
Diferencial (% de GB)						
Neutrófilos	39.4	28.3	35.6	39.9	4.57	0.28
Linfocitos	55.5	66.0	59.7	55.5	4.82	0.39
Monocitos	0.12	0.63	0.25	0.13	0.28	0.57
Eosinófilos	5.03	5.05	4.32	4.51	0.89	0.91
Relación Neu:Lin	0.84	0.51	0.67	0.82	0.16	0.44

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

<sup>2</sup> GR, glóbulos rojos; Hb, hemoglobina; HTO, hematocrito; VCM, volumen corpuscular medio; HbCM, hemoglobina corpuscular media; ChbCM, concentración de hemoglobina corpuscular media; PLA, plaquetas; PTO, plaquetocrito; VPM, volumen plaquetario medio; ADP, amplitud de distribución plaquetaria; GB, glóbulos blancos.

**Tabla 7.** Perfil metabólico de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de carbohidratos

Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
Función metabólica						
Urea (mmol/L)	7.27	6.68	6.84	6.34	0.48	0.59
Creatinina (μmol/L)	79.1	77.4	75.8	79.7	2.0	0.54
Función hepática						
GGT (U/L)	21.8	24.3	22.2	24.9	1.5	0.38
FA (U/L)	40.9	42.2	37.9	47.7	2.7	0.10
Función endocrina						
Ca (mmol/L)	2.12	2.11	2.16	2.29	0.09	0.61
P (mmol/L)	1.71	1.85	1.91	1.77	0.11	0.64
Mg (mmol/L)	0.98	0.96	0.86	0.95	0.05	0.43
PPT (g/dL)	6.84	6.60	6.82	6.83	0.09	0.19
ALB (g/L)	3.42	3.17	3.32	3.31	0.08	0.19
GLO (g/L)	3.41	3.43	3.54	3.52	0.07	0.50
FB (mg/dL)	275	300	288	262	0.42	0.93
Relación ALB:GLO	1.02	0.94	0.97	0.95	0.04	0.49
(PPT-FB)/FB	5.84	5.60	5.81	5.83	0.09	0.19
NUL (mg/dL)	16.6	18.6	18.7	19.1	0.57	0.19

<sup>1</sup> Error estándar de la media.

<sup>2</sup> GGT, gamma glutamil transferasa; FA, fosfatasa alcalina; Ca, calcio; P, fósforo; Mg, magnesio; PPT, proteínas plasmáticas totales; ALB, albúmina; GLO, globulinas; FB, fibrinógeno; NUL, nitrógeno ureico en leche.

## Discusión

### *Caracterización química de los alimentos.*

La composición química del pasto kikuyo se encuentra dentro de los valores reportados por Correa et al (2008a). El menor contenido de almidón y las mayores concentraciones de FDA y pectina en el suplemento que incluyó la pulpa cítrica, respecto los restantes suplementos, obedecen al perfil de carbohidratos que caracteriza esta materia prima (Tabla 1). Para el grano de maíz, de sorgo y la raíz de yuca, la literatura (INRA, CIRAD, AFZ, FAO, 2012-2015) reporta valores de almidón y FDA fluctuando entre 67.5-78.8% y 1.8-7,1%, respectivamente. Estos mismos nutrientes en la pulpa cítrica corresponden al 2.3% y 19.7% de la MS, correspondientemente (Bampidis y Robinson, 2006). El maíz y el sorgo empleados en este trabajo presentaron contenidos de almidón (Tabla 2) inferiores a los valores previamente referenciados, lo que no sucedió con la yuca y la pulpa cítrica. En relación con la concentración de pectina, Bampidis y Robinson (2006) informaron un valor de 22.3%, inferior al cuantificado en el presente estudio (34.6%),

Los niveles de amilosa y amilopectina en el maíz, sorgo y yuca estuvieron acorde con lo reportado para dichas materias primas (Sang et al, 2008; Knowles et al, 2012). La pulpa cítrica, debido su bajo contenido de almidón, resulta de poco interés como fuente de amilosa y amilopectina, no obstante, las proporciones entre ambos polímeros, a favor de la amilopectina, presentó diferencia respecto a las proporciones de las restantes fuentes de carbohidratos evaluadas. Partiendo del hecho que la síntesis de amilopectina involucra la elongación de la cadena (sintetasa de almidón), seguida por la ramificación (enzimas ramificadoras), la mayor presencia de amilopectina en este subproducto puede obedecer a la mayor presencia de enzimas ramificadoras (Baguma et al, 2003).

Si bien los suplementos evaluados (Tabla 2) presentaron diferencias en el contenido de almidón, la concentración de CNF fue más semejante entre ellos, lo cual puede explicarse por el mayor contenido de azúcares totales en la pulpa cítrica, 24.1% de

la MS (Bampidis y Robinson, 2006), que se suma al aporte de pectina. De acuerdo con la literatura, en el maíz, el sorgo y la yuca, los azúcares representan el 2.1, 1.4 (INRA, CIRAD, AFZ, FAO, 2012-2015) y 4.9% (Lima et al, 2013), respectivamente. Los CNF incluyen ácidos orgánicos, azúcares, almidón y sustancias pecticas, en tanto que los carbohidratos no estructurales corresponden al contenido de almidón y azúcares (Stone, 2004). Se puede concluir entonces, que los suplementos evaluados presentaron diferencias en el contenido de CNE, pero no en su concentración de CNF.

#### *Consumo y digestibilidad de la materia seca.*

Los niveles reportados de CMS<sub>T</sub>, el CMS<sub>P</sub> y el CMS<sub>S</sub> (Tabla 3) estuvieron acorde con lo reportado por Correa et al (2008b) en el departamento de Antioquia. Adicionalmente, las diferentes fuentes de carbohidratos empleadas no tuvieron efecto sobre el CMS<sub>T</sub>, el CMS<sub>P</sub> y el CMS<sub>S</sub> (Tabla 3), lo cual es coincidente con los reportes de la literatura, especialmente en vacas en pastoreo (Delahoy et al, 2003; Knowles et al, 2012). De igual manera, Mosavi et al (2012) no encontraron diferencias en el CMS usando como fuentes de almidón el trigo, la cebada, el maíz y la papa en sistemas de producción con dietas totalmente mezcladas. Cabrita et al (2009) reportaron similar CMS en dietas que incluyeron maíz y trigo. Gozho y Mutsvangwa (2008) no observaron ningún efecto de la fuente del almidón sobre el consumo en vacas alimentadas con dietas basadas en trigo, cebada, maíz y avena. Contrariamente, Silveira et al (2007) reportaron altos CMS en vacas alimentadas con dietas basadas en maíz, respecto dietas basadas en trigo. En una revisión de Cabrita et al (2006) se encontraron resultados contradictorios sobre la fuente de almidón y su efecto sobre el CMS en vacas lactantes, que de acuerdo con los autores, obedecen a las concentraciones dietarias de maíz y cebada y, al alto contenido de almidón de las dietas basadas en maíz, las cuales incrementan la producción de AGV.

La relación F:C fluctuó entre 57.2/42.8 y 60.1/39.9 (Tabla 3), próxima al límite 60/40 recomendado por la literatura (Mertens, 2009). Esta relación puede variar en función del contenido de FDN de la dieta y del aporte proporcional de cada una sus fracciones (FDN proveniente del forraje y FDN proveniente del concentrado) (Mertens, 1997). Para los tratamientos con maíz, sorgo, yuca y pulpa cítrica, el consumo de FDN total representó el 38.5, 37.9, 39.4 y 38.6% del  $CMS_T$ , respectivamente, y entre 1.4-1.5% del PV, mientras el consumo de FDN proveniente del forraje fue del 31.6, 31.0, 31.9 y 30.9% del  $CMS_T$ , correspondientemente. Por tanto, la FDN aportada por el forraje fluctuó entre el 80.0 y 82.2% del consumo de FDN total. Para esos mismos tratamientos, el consumo de CNF representó el 26.4, 26.7, 25.0 y 26.1% del  $CMS_T$ . De acuerdo con el NRC (2001), los requerimientos de FDN para vacas lactantes, corresponden al 1.2% del PV, por lo cual el consumo de FDN del presente trabajo representó un factor protector de ARSA. Además, para prevenir problemas de ARSA, se sugiere restringir los CNF a 35-40% del  $CMS_T$  cuando predominan azúcares y almidones, o hasta 40-50%, cuando otros carbohidratos son representativos (Krause y Oetzel, 2006). En todos los tratamientos, el consumo de este nutriente fue inferior al límite superior recomendado. Igualmente, Stone (2004) considera que hay bajo riesgo de ARSA cuando el consumo de FDN total, FDN del forraje y CNF representa el 35, 27% y 30% del  $CMS_T$ , respectivamente, valores que en el presente estudio fueron superados en el caso de la FDN (total y del forraje), pero no para los CNF. De acuerdo con Mertens (1997), de la FDN total consumida, un 75% debe provenir del forraje para estimular la rumia, mantener un pH ruminal  $> 6.0$  y un porcentaje de grasa en leche de 3.6%. Para el caso de este trabajo, los valores siempre estuvieron por encima del valor sugerido para un óptimo funcionamiento ruminal. Se concluye entonces que la ausencia de diferencia en el CMS entre tratamientos es reflejo de su similitud en características nutricionales, sin afectar adversamente las condiciones de fermentación ruminal.

En la literatura, se le atribuye mayor digestibilidad al almidón de yuca vs. al de maíz y sorgo, lo cual se explica por su alta degradabilidad efectiva ocasionada por la falta

de pericarpio en su estructura, carencia de proteínas de matriz, menor asociación proteína-almidón, menor proporción de endospermo córneo y baja proporción de lípidos y de amilosa (Gomez et al, 2016). No obstante, en el presente trabajo, la ración incluyendo el suplemento con yuca fue la que registró menor DMS, lo cual puede atribuirse a la relación que puede tener dicho material con otros componentes de la dieta que fueron incluidos para balancearla en términos de nutrientes. La digestibilidad en la dieta incluyendo sorgo puede estar afectada en alguna medida por el contenido de taninos de este ingrediente, toda vez que estos compuestos secundarios forman una película que reduce el ataque de los microorganismos del rumen (Fernández et al, 2014). De acuerdo con Bampidis y Robinson (2006) la FDN de la pulpa cítrica tiende a fermentarse más rápidamente con respecto a otras fuentes de fibra, promoviendo un mejor ambiente ruminal y por ende una óptima actividad celulolítica. Estas características pueden explicar la superioridad de la DMS registrada en el tratamiento incluyendo este ingrediente.

#### *Producción de leche y calidad composicional y sanitaria.*

La mayor producción de sólidos totales y proteína con el tratamiento que incluyó yuca vs. pulpa cítrica fue resultado de la superior producción de leche exhibida por este tratamiento principalmente y, en menor medida, del ligero aumento en la concentración porcentual de ambos componentes.

Adicionalmente, las dietas que incluyeron almidones en mayor proporción (maíz, sorgo y yuca vs. pulpa cítrica), pudieron estimular la síntesis de proteína microbiana y con ello aumentar la disponibilidad de sustratos para la glándula mamaria. Sannes et al (2002) reportaron mayor producción de proteína microbiana y de proteína en leche cuando las vacas fueron alimentadas con almidones vs. sucrosa. Existe evidencia que la inclusión de pectina en la alimentación de vacas lactantes genera menor cantidad de proteína metabolizable que el almidón de fuentes como la yuca (Sutton et al, 1987). De acuerdo con la literatura, la degradación de la proteína del pasto kikuyo es variable y fluctúa entre  $0.031$  y  $0.078 \text{ h}^{-1}$  (Soto et al, 2005; Gaitan y

Pabon 2003). Teóricamente, una fuente de carbohidrato con una tasa de degradación semejante podría ser la mejor opción para optimizar la captura de nitrógeno cuando las vacas están pastoreando dicho forraje. Offner et al (2003) reportaron que los almidones del maíz y la yuca se degradan a una tasa de 0.059 y 0.14 h<sup>-1</sup>, respectivamente. Hall et al (1999) reportaron una tasa de degradación de las pectinas de 0.15 h<sup>-1</sup>. Con base en los resultados se puede inferir que la combinación de maíz (lenta degradación) y yuca (rápida degradación) en el suplemento proporciona una tasa de degradación más compatible con las características nutricionales del pasto. Contrariamente, la combinación de maíz con pulpa cítrica no generó dicho efecto, confirmando la hipótesis de que la suplementación con concentrados basados en el almidón pueden ser más beneficiosos que concentrados basados en pectinas (Cawood, 2016).

La respuesta favorable a la inclusión de la yuca puede ser explicada por una mayor velocidad de fermentación ruminal, incrementando con ello la disponibilidad de ácido propiónico (Orskov, 1986), la absorción neta de energía y la síntesis de glucosa hepática, reduciendo la utilización de aminoácidos. De acuerdo con Cabrita et al (2006), la yuca es considerada una materia prima de rápida degradación comparada con el maíz y el sorgo. En este mismo sentido, los autores compararon diferentes fuentes de almidón y evaluaron su efecto sobre la producción de leche, concluyendo que existieron efectos marcadamente diferentes cuando se usaron materias primas de rápida vs. lenta degradación.

La velocidad de degradación de la pectina (0.15 h<sup>-1</sup>) es similar a la del maíz y el sorgo (Hall et al, 1999). Sin embargo, estos alimentos difieren en el tipo y cantidad de nutrientes metabolizables. La fermentación de la pectina produce poco o nada de lactato, lo cual afecta la relación acetato:propionato e incrementa los precursores lipogénicos (Hall et al, 1999). Contrariamente, la fermentación del almidón tiende a producir mayor proporción molar de propionato (Orskov, 1986), el cual es precursor importante de glucosa y ésta, a su vez, de lactosa, originando un estímulo osmótico mayor para la producción de leche (Vazquez-Añon, 1994). En conclusión, la menor

producción de leche en el tratamiento incluyendo pulpa cítrica pudo estar relacionada con su perfil de fermentación, que redujo la disponibilidad de precursores glucogénicos desde la dieta. Varios estudios han demostrado que la inclusión de pulpa cítrica, en reemplazo del maíz, reduce la producción de leche (Broderick et al, 2002; Leiva et al, 2000).

El CCS en todos los tratamientos estuvo por debajo del rango considerado anormal e indicativo de mastitis subclínica (De Villiers et al, 2000). Usualmente, las diferencias en CCS son el resultado de la salud individual de la vaca más que la respuesta a los tratamientos. Sin embargo, los niveles bajos de CCS por tratamiento soportan el argumento que los animales participantes del estudio no presentaron signos compatibles con mastitis subclínica.

#### *Eficiencia alimenticia.*

La EA refleja el nivel de producción de leche por unidad de materia seca consumida. En óptimas condiciones debe fluctuar entre 1.4-1.8 kg de LCG al 3.5% por cada kilogramo de MS consumida (Hutjens, 2005). La EA obtenida en este trabajo está acorde con estos valores. La ausencia de diferencia estadística entre tratamientos, se corresponde con los resultados de Dann et al (2014), quienes al reemplazar el grano de maíz por subproductos de cosecha (pulpa de remolacha, salvado de trigo) en vacas lactantes no observaron efectos adversos sobre la EA.

#### *pH ruminal, temperatura rectal y score de locomoción.*

De acuerdo con Krause y Oetzel (2006), la acidosis ruminal aguda se presenta cuando los valores de pH ruminal son inferiores a 5.0 y cuando hay acumulación de ácido láctico. La ARSA se caracteriza por presentar valores de pH inferiores a 5.6 varias horas al día. Con base en estos conceptos, ninguno de los tratamientos reportados en la tabla 5 originaron ARSA. El hecho que los mínimos valores de pH

en los cuatro tratamientos nunca estuvieron por debajo de 6.0 es un indicador de salud ruminal. Los valores numéricamente superiores para las variables área bajo la curva y tiempo (min/24 h) con  $\text{pH} < 6$  en los tratamientos incluyendo sorgo y pulpa cítrica obedecieron a la presencia de dos animales (uno por cada tratamiento) que repetidamente presentaron menor pH que las restantes unidades experimentales. Por tanto, esos resultados se debieron a una característica individual y no a un efecto propiamente derivado de la aplicación de los tratamientos. Aún con esos hallazgos, el área bajo la curva y el tiempo en que el pH fue inferior a 6, no fueron representativos como para ocasionar disturbios ruminales. De acuerdo con Danscher et al (2015), la inducción de la ARSA se logra con depresiones del pH por debajo de 5.6 durante 180 min/d, lo cual no fue evidenciado en este trabajo.

La digestión de la fibra ocurre en rangos de pH ruminal que oscilan entre 6.0-6.9 (Kolver et al, 1998). Cuando el pH desciende a 5.8-6.2 por períodos de corta duración, una reducción en la digestibilidad de la fibra puede ocurrir. No obstante, la digestión de este nutriente se suspende cuando los valores de pH ruminal son menores de 5.0 (Mould et al, 1984). La reducción en la degradación ruminal de la fibra puede desencadenar reducción en la grasa láctea. En el presente trabajo no se observaron cambios en la cantidad y concentración de grasa en leche (Tabla 4), ni tampoco en la relación grasa proteína, lo cual, según Khafipour et al (2009), puede ser un signo asociado con ARSA. Se puede inferir que ninguno de los tratamientos afectó el pH ruminal, la digestibilidad de la fibra y la calidad composicional de la leche producida.

Lechartier y Peyraud (2011) estudiaron el efecto del tipo de carbohidrato (almidón vs. pectinas) y su nivel en el concentrado (bajo y alto, 25 y 41% de la MS, respectivamente) sobre el pH ruminal. Los autores demostraron que tanto el almidón como las pectinas disminuyeron el pH ruminal cuando se incluyeron con fuentes de rápida degradación (trigo) vs. lenta degradación (maíz). Este hallazgo puede explicar los resultados del presente trabajo, toda vez que las fuentes de carbohidrato

evaluadas reemplazaron parcialmente al maíz y no a otra fuente de mayor velocidad de degradación.

La ausencia de acidosis ruminal en el presente trabajo también puede sustentarse en los altos niveles de proteína que presentan las dietas de trópico alto, cuyos productos de degradación minimizan el descenso en el pH ruminal, en este caso causado por la fermentación del almidón y las pectinas incluidas en el concentrado (Dijkstra et al, 2012). La fermentación de la proteína y del nitrógeno no proteico (NNP) libera amoníaco ruminal ( $\text{NH}_3$ ), el cual es un potente buffer que se puede asociar con protones (hidrogeniones,  $\text{H}^+$ ) para incrementar el pH del medio (Wang y Fung, 1996). Esto sucede gracias a su valor de  $pK_a$  (9.21) y en el proceso se forma amonio ( $\text{NH}_4$ ) (Reynolds y Kristensen, 2008), que cuando abandona el rumen lleva consigo un protón asociado. Existe evidencia de que a un pH de 6.5 o más bajo, el  $\text{NH}_3$  es predominantemente absorbido como  $\text{NH}_4^+$  (Abdoun et al, 2007). Correa et al (2008a) reportaron un valor de proteína degradable en rumen para el pasto kikuyo de 56.4%, soportando el efecto amortiguador de pH que este alimento pudo generar en el presente trabajo. Adicionalmente, se han reportado niveles de nitrato para el pasto kikuyo de 5000 ppm (Correa et al, 2008a), los cuales pueden ser reducidos hasta amonio por los microorganismos del rumen, proceso en el cual también se capturan hidrogeniones y por ende se amortigua el pH ruminal.

No se detectaron diferencias en la temperatura rectal ni aumentos de temperatura compatibles con fiebre durante el periodo experimental. Lo anterior sugiere que los tratamientos no originaron una respuesta sistémica ocasionada por la traslocación de lipopolisacáridos (LPS) del rumen hacia la sangre. La traslocación de estos compuestos se asocia con fiebre y alteraciones del CMS (Kleen et al, 2003; Dionissopoulos, 2013), situaciones no registradas durante el presente estudio.

El score de locomoción no presentó variaciones importantes. Sus valores siempre estuvieron próximos a 1 (vacas sin alteración en la locomoción evidente). Cuando

hay traslocación de LPS, producto de la lisis de bacterias gramnegativas debido al pH bajo, se presentan problemas de hipoperfusión en los capilares de la pezuña de la vaca, generando alteraciones en la locomoción y laminitis (Nocek, 1997). La ausencia de alteraciones en el score de locomoción y de cojeras, en el presente trabajo, confirma la ausencia de ARSA.

#### *Parámetros hematológicos.*

En la ARSA se producen LPS en el rumen, que posteriormente alcanzan la circulación sistémica activando la inmunidad innata, aumentando la proliferación de leucocitos (Gomez et al, 2014). Durante el curso del experimento, los valores hematológicos estuvieron dentro de los valores de referencia (Jones y Allison, 2007; Russell y Roussel, 2007), con excepción de la HbCM y la ChbCM, que en todos los tratamientos experimentales superaron ligeramente el límite superior de 17.0 pg y 36%, respectivamente. Esto puede ser resultado de la compensación fisiológica que hacen los animales expuestos a mayor altura sobre el nivel del mar. Además, se detectaron niveles de fibrinógeno cercanos al límite inferior de 300 mg/dL (Jones y Allison, 2007) para todos los tratamientos, sin embargo, los animales no presentaron trastornos de la coagulación o patologías relacionadas como hematomas, sangrado de encías, hematuria o trombosis.

De igual manera se observaron bajos niveles de plaquetas en todos los tratamientos. A este respecto, se ha reportado que forrajes como el kikuyo contienen altos niveles de ácido linolénico (Dewhurst et al, 2001), el cual tiene un potente efecto anti-agregante plaquetario (Leaf, 2007) y que pudiera estar explicando los bajos niveles de plaquetas comunes a todos los tratamientos. Santos et al (2014) reportaron niveles de antioxidantes como los polifenoles en la pulpa cítrica de 78.4 mg/100 g de MS, los cuales han mostrado un efecto en la reducción de la presión sistólica y el nivel de colesterol plasmático en humanos y en animales, a través de la inhibición de la agregación plaquetaria con la subsecuente prevención de la trombosis (Georgiev et al, 2014). En ratas se ha demostrado que los ácidos grasos

*trans* provenientes del maíz tuvieron un efecto importante sobre los niveles de lípidos, presión sanguínea sistólica y agregación plaquetaria (Chiang et al, 1991). Teóricamente, la inclusión de maíz y pulpa cítrica podrían haber tenido algún efecto sobre los niveles de plaquetas observados en el T4, debido al mecanismo que uno o varios de sus nutrientes (polifenoles y ácidos grasos *trans*) hubiesen ejercido.

Los glóbulos blancos estuvieron dentro de los valores de referencia, aunque dichos estándares son bastante amplios y dependen en gran medida de la edad del animal (Jones y Allison, 2007). Los valores obtenidos permiten descartar un leucograma inflamatorio, de estrés o leucocitosis fisiológica, que pudieran estar indicando una activación del sistema inmune. Finalmente, se encontró una relación de neutrófilo/linfocito similar a los valores de referencia (Jones y Allison, 2007). En un estudio conducido en vacas no lactantes no se logró establecer cambios en los parámetros hematológicos cuando se les indujo SARA vs. vacas sanas (Rodríguez-Lecompte et al, 2014). Contrario a lo anterior, Riuzzi et al (2009) mostraron cambios en el perfil hematológico en parámetros como GR, Hb, HTO y PLA en vacas sanas (pH>5.8), los cuales mostraron niveles de  $5.05 \text{ cel} \times 10^6$ , 8.88 g/dL, 26.12% y  $434.5 \text{ cel} \times 10^3$ , respectivamente, frente a vacas con ARSA (pH<5.8) con valores de  $5.78 \text{ cel} \times 10^6$ , 10.18 g/dL, 30.04% y  $548.24.5 \text{ cel} \times 10^3$ , respectivamente.

#### *Perfil metabólico.*

Se han reportado anormalidades en el perfil bioquímico asociadas con la presencia de LPS en la circulación sistémica, sugiriendo una posible relación entre ARSA y metabolismo (Riuzzi et al, 2009). En el presente estudio, los análisis estuvieron dentro del rango de referencia reportado por Russell y Roussel (2007), con excepción de la creatinina. En todos los tratamientos se presentó ligera hipocreatininemia, que fisiológicamente se puede encontrar en animales emaciados con baja masa muscular (Russell y Roussel, 2007). La relación albúmina/globulina estuvo ligeramente alta. Dicho comportamiento resulta de la variación que pueden

tener las globulinas a través de la edad en vacas Holstein (Roussel et al, 1982). Dancher et al (2015) evaluaron el perfil metabólico en vacas que se les indujo ARSA vs. sanas, pero no encontraron diferencias en dichos componentes.

Con respecto a la eficiencia en el uso del nitrógeno, los tratamientos evaluados no mostraron diferencias en los niveles de NUL. De acuerdo con Ishler (2016), los valores de NUL óptimos para vacas lactantes en los primeros días de gestación varían entre 8 y 12 mg/dL, contrastando con los niveles hallados en el presente estudio. Tradicionalmente, valores altos en este parámetro han sido relacionados con alto contenido de proteína degradable en rumen (PDR, debido en gran parte a las altas tasas de fertilización nitrogenada) y baja concentración de CNF en el pasto kikuyo (Correa et al, 2008b). Para este material, Correa et al (2008a) reportaron una relación media PDR:CNF correspondiente a 1.28 g/g en promedio. Estudios previos en vacas en pastoreo y con suplementación reportaron valores de NUL de 19 mg/dL, variando en un rango de 14.8-37.6 (Khalili y Sairanen, 2000; Bargo et al, 2002), lo cual coincide con lo observado en este trabajo, que es resultado de los altos consumos de proteína desde el forraje y el suplemento.

## **Conclusión**

El efecto del reemplazo parcial de maíz por sorgo, yuca o pulpa cítrica, como parte de un suplemento energético garantizado a vacas Holstein en pastoreo, no afectó el pH ruminal ni la salud animal. Igualmente no se afectó el consumo de materia seca ni la eficiencia alimenticia. No obstante, la incorporación de yuca mejoró la producción de leche y su calidad composicional, a través de la mayor producción de proteína y sólidos totales, situación contraria a la evidenciada con la inclusión de pulpa cítrica. Los resultados del presente estudio ponen de manifiesto la importancia de valorar económicamente las dietas evaluadas, con el fin de detectar la que registre un mayor margen de rentabilidad.

## Referencias

Abdoun K, Stumpff F, Martens H. Ammonia and urea transport across the rumen epithelium: a review. *Anim Health Res Rev* 2007; 7:1–17.

Association of Official Analytical Chemist – AOAC. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Gaithersburg, MD. 2000.

Association of Official Analytical Chemist – AOAC. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Gaithersburg, MD. 2003.

Association of Official Analytical Chemist – AOAC. Official Methods of Analysis. 18th ed. AOAC, Gaithersburg, MD. 2005.

Baguma Y, Sun Ch, Ahlandsberg S, Mutisya J, Palmqvist S, Rubaihayo P, Magambo M, Egwang T, Larsson H, Jansson C. Expression patterns of the gene encoding starch branching enzyme II in the storage roots of cassava (*Manihot esculenta Crantz*). *Plant Sci* 2003; 164: 833-9.

Bampidis VA, Robinson PH. Citrus by-products as a ruminant feeds: A Review. *Animal Feed Sci Technol* 2006; 128:175-217.

Bargo F, Muller LD, Varga GA, Delahoy JE, Cassidy TW. Ruminant digestion and fermentation of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J Dairy Sci* 2002; 85: 2964-73.

Bevans DW, Beauchemin KA, Schwartzkopf-Genswein KS, McKinnon JJ, McAllister TA. Effect of rapid or gradual grain adaptation on subacute acidosis and feed intake by feedlot cattle. *J Anim Sci* 2005; 83:1116-32.

Boerman JP, Potts SB, VandeHaar MJ, Lock AL. Effects of partly replacing dietary starch with fiber and fat on milk production and energy partitioning. *J Dairy Sci* 2015; 98: 7264-76.

Broderick GA, Mertens DR, Simons R. Efficacy of carbohydrate sources for milk production by cows fed diets based on alfalfa silage. *J Dairy Sci* 2002; 85:1767-76.

Cabrita ARJ, Fonseca AJM, Dewhurst RJ, Abreu JM. Evaluation of the effects of synchronising the availability of N and energy on rumen function and production responses of dairy cows - a review. *Anim Res Sci* 2006; 1-24.

Cabrita ARJ, Vale JMP, Bessa RJB, Dewhurst RJ, Fonseca AJM. Effects of dietary starch source and buffers on milk responses and rumen fatty acid biohydrogenation in dairy cows fed maize-based diets. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 152: 267-77.

Cawood JG. Supplementing high fibre concentrates to Jersey cows grazing kikuyu pastures during summer. MSc thesis. 2016. Stellenbosch University, South Africa.

Chavan UD, Shahidi F, Naczk M. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *Food Chem* 2001; 75:509-12.

Chiang MT, Otomo MI, Itoh H, Furukawa Y, Kimura S, Fujimoto H. Effect of trans fatty acids on plasma lipids, platelet function and systolic blood pressure in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Lipids* 1991; 26:46-52.

Correa HJ, Pabón ML, Carulla JE. 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. *Livest Res Rural Dev* 2008a; 20(4) [en línea] [fecha de acceso 25 de mayo de 2016]. URL disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corra20059.htm>.

Correa HJ, Pabón ML, Carulla JE. Valor nutricional del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum* *Hoechst Ex Chiov.*) para la producción de leche en Colombia (Una revisión): II- Contenido de energía, consumo, producción y eficiencia nutricional.

Livest Res Rural Dev 2008b; 20(4) [en línea] [fecha de acceso 25 de mayo de 2016]. URL disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd20/4/corra20059.htm>.

Correa HJ, Pabón ML y Carulla JE. Estimación del consumo de materia seca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia. *Livestock Research for Rural Development* 2009. Volume 21, Article #59. Retrieved June 21, 2010, from <http://www.lrrd.org/lrrd21/4/corr21059.htm>.

Dancher AM, Shucong L, Andersen PH, Khafipour E, Kristensen NB, Plaizier JC. Indicators of induced subacute ruminal acidosis (SARA) in Danish Holstein cows. *Acta Vet Scand* 2015; 57:39.

Dann HM, Tucker HA, Cotanch KW, Krawczel PD, Mooney CS, Grant RJ, Eguchi T. Evaluation of low starch diets for lactating Holstein dairy cattle. *J Dairy Sci* 2014; 97:7151-61.

De Villiers P, Petzer IM Erasmus LJ. The use of milk recording information as a herd management tool. In: *Dairy herd improvement in South Africa*. ARC, Irene, South Africa 2000; 8:53-66.

Delahoy JE, Muller LD, Bargo F, Cassidy TW, Holden LA. Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture. *J Dairy Sci* 2003; 86:906-15.

Detmann E, Valadares Filho SC. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq Bras Med Vet* 2010; 62:980-84.

Dewhurst RJ, Scollan ND, Youell SJ, Tweed JKS, Humphreys MO. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass Forage Sci* 2001; 56:68-74.

Dijkstra J, Ellis JL, Kebreab E, Strathe AB, López S, France J, Bannink A. Ruminant pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Anim Feed Sci Technol* 2012; 172:22-33.

Dionissopoulos L. Understanding the molecular mechanisms involved in subacute ruminal acidosis and rumenitis. PhD Thesis 2013. University of Guelph, Guelph, ON, Canada.

Duncan JR, Prasse KW, Mahaffrey EA. Veterinary Laboratory Medicine. 3<sup>rd</sup> ed. Iowa State University Press 1994, USA.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. J Dairy Sci 1989; 72:68-78.

Fairfield AM, Plaizier JC, Duffield TF, Lindinger MI, Bagg R, Dick P, McBride BW. Effects of prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake, and milk production of transition dairy cows. J Dairy Sci 2007; 90:937-45.

Fernandez AE, Jersonsky R, Coria M. Metabolic utilization of whole sorghum grains with different tannin contents in British steers. Pastos y Forrajes 2014; 37:248-52.

Gaitán S, Pabon JD. Aplicación del modelo NRC 2001 en la caracterización energética y proteica de los pastos kikuyo (*Pennisetum clandestinum*, Hoechst), ryegras (*Lolium perenne*) y falsa poa (*Holcus lanatus*) en un hato lechero del oriente antioqueño; Trabajo de grado de Zootecnia, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Medellín 2003. 55 p

Georgiev V, Ananga A, Tsoлова V. Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals. Nutrients 2014; 6:391-415.

Giuberti G, Gallo A, Masoero F, Farraretto LF, Hoffman PC, Shaver RD. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. Starch 2014; 66:72-90.

Gomez LM, Posada SL, Olivera M. Sub-Acute Ruminant Acidosis and Non-Structural Carbohydrates. A Study Model in Nutritional Immunology. Revista MVZ CES 2014; 9:295-306.

Gomez LM, Posada SL, Olivera M. Starch in ruminant diets. *Rev Col Cienc Pec* 2016; 29:77-90.

Gozho GN, Mutsvangwa T. Influence of carbohydrate source on ruminal fermentation characteristics, performance, and microbial protein synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci* 2008; 91:2726-35.

Hall MB, Hoover WH, Jennings JP, Webster TKM. A method for portioning neutral detergent soluble carbohydrates. *J Sci Food Agric* 1999; 79:2079-86.

Hansen KM, Thuesen AB, Soderberg JR. Enzyme assay for identification of pectin and pectin derivatives, based on recombinant pectate lyase. *J AOAC Int* 2001; 84:1851-4.

Holdridge LR. *Life Zone Ecology*. Tropical Science Center, 1967. San José, Costa Rica

Huntington GB, Harmon DL, Richards CJ. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *J Anim Sci* 2006; 84 Suppl:E14-4.

Hutjens MF. Dairy Efficiency and Dry Matter Intake. Proceedings of the 7<sup>th</sup> Western Dairy Management Conference 2005; Reno, NV, USA.

INRA, CIRAD, AFZ, FAO. Feedipedia - Animal Feed Resources Information System - © 2012-2015. URL: <http://www.feedipedia.org>

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Productos químicos agrícolas. Método de ensayo para determinar el contenido de Calcio total. NTC 302. Bogotá D.C. 1998.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. NTC 4657. Bogotá D.C. 1999.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil. NTC 6888. Bogotá D.C. 2000.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de grasa. NTC 4969. Bogotá D.C. 2001a.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico. NTC 4981. Bogotá D.C. 2001b.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fibra cruda. Método con filtrado intermedio. NTC 5122. Bogotá D.C. 2002.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación de ceniza cruda. NTC 4648. Bogotá D.C. 2007.

International Organization for Standardization – ISO. Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine -- Determination of gross calorific value -- Bomb calorimeter method. ISO 9831. Geneva, Switzerland. 1998.

Ishler VA. Interpretation of milk urea nitrogen (MUN) values. Pennsylvania State University 2016.

Jones ML, Allison RW. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. Vet Clin North Am Food Anim Prac 2007; 23:377-402.

Kanani J, Philipp D, Coffey KP, Kegley EB, West CP, Gadberry S, Jennings J, Young AN, Rhein RT. Comparison of acid-detergent lignin, alkaline-peroxide lignin, and acid-detergent insoluble ash as internal markers for predicting fecal output and

digestibility. by cattle offered bermudagrass hays of varying nutrient composition. *J Anim Sci Biotechnol* 2014; 13:5:7.

Kellaway RC, Harrington T. Feeding concentrates-Supplements for dairy cows. 2<sup>nd</sup> Ed. CSIRO Publishing: Melbourne, Australia. 2004.

Khalili H, Sairanen A. Effect of concentrate type on rumen fermentation and milk production of cows at pasture. *Anim Feed Sci Technol* 2000; 84: 199-212.

Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *J Dairy Sci* 2009; 92:1060-70.

Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, Noordhuizen JP. Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2003; 50:406-14.

Knowles MM, Carulla JE, Pabon ML. Efecto de la fuente y el nivel de almidón en la dieta de vacas holstein lactantes sobre la producción y el contenido de proteína en la leche. Tesis de Maestría. 2012. Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.

Kolver ES, Muller LD, Barry MC, Penno JW. Evaluation and application of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System for dairy cows fed diets based on pasture. *J Dairy Sci* 1998; 77: 813-24.

Krause KM, Oetzel GR. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim Feed Sci Technol* 2006; 126: 215-36.

Leaf A. Prevention of sudden cardiac death by n-3 polyunsaturated fatty acids. *J Cardiovasc Med* 2007; 8:1:S27-29.

Lechartier C, Peyraud JL. The effects of starch and rapidly degradable dry matter from concentrate on ruminal digestion in dairy cows fed corn silage-based diets with fixed forage proportion. *J Dairy Sci* 2011; 94:2440-54.

Leiva E, Hall MB, Van Horn HH. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. *J Dairy Sci* 2000; 83:2866–75.

Li S, Khafipour E, Krause DO, Kroeker A, Rodriguez-Lecompte JC, Gozho GN, Plaizier JC. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95:294-303.

Lima HA, Sousa A, Sousa TM, Santos A, Silva R. Physicochemical properties of three sugary cassava landraces. *Ciencia Rural* 2013; 43: 792-6.

Lippke H. Estimation of Forage Intake by Ruminants on Pasture. *Crop Sci* 2002; 42:869-72. <http://crop.scijournals.org/cgi/reprint/42/3/869.pdf>

Marais JP. Factors affecting the nutritive value of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum*) a review. *Tropical Grasslands* 2001; 35: 65-84.

Mertens DR. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J Dairy Sci* 1997; 80:1463-81.

Mertens DR. Maximizing forage use by dairy cows. *Proceedings of Western Canadian Dairy Seminar* 2009; 191-204.

Mosavi GHR, Fatahnia F, Mirzaei HR, Mehrabi AA, H Darmani-Kohi. Effect of dietary starch source on milk production and composition of lactating Holstein dairy cows. *S Afr J Anim Sci* 2012; 42: 202-9.

Mottram T, Lowe J, McGowan, M, Phillips N. Technical note: A wireless telemetric method of monitoring clinical acidosis in dairy cows. *Comput Electron Agric* 2008; 64:45-8.

Mould FL, Ørskov ER, Mann SO. Associative effects of mixed feeds: Effects of type and level of supplement and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in

vivo and dry matter digestion of various roughages. *Anim Feed Sci Tech* 1984; 10:15-30.

National Research Council (NRC): *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7<sup>th</sup> rev Washington, DC: National Academy Press; 2001.

Nocek JE. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J Dairy Sci* 1997; 80:1005-28.

Offner A, Bach A, Sauvant D. Quantitative review of in situ starch degradation in the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 2003; 106:81-93.

O'Grady L, Doherty ML, Mulligan FJ. Subacute ruminal acidosis (SARA) in grazing Irish dairy cows. *Vet J* 2008; 176: 44-9.

Orskov ER. Starch digestion and utilization in ruminants. *J Anim Sci* 1986; 63:1624-33.

Penning PD, Johnson RH. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid detergent fibre. *J Agric Sci* 1983; 100: 133-8.

Plaizier JC, Krause DO, Gozho GN, McBride BW. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Vet J* 2009; 176:21-31.

Reynolds CK, Kristensen NB. Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis. *J Anim Sci* 2008; 86:E293-305.

Riuzzi SC, Cannizzo M, Gianesella M, Morgante M. Subacute ruminal acidosis in field conditions in the north of Italy: Epidemiology and systemic-metabolic effects investigation. Pages 105–107 in 14th Dairy Research Symposium 2009, University of Sydney: Current Topics in Dairy Production, Vol 14. Sydney, Australia.

Rodriguez-Lecompte JC, Kroeker AD, Ceballos-Marquez A, Li S, Plaizier JC, Gomez DE. Evaluation of the systemic innate immune response and metabolic alterations of nonlactating cows with diet-induced subacute ruminal acidosis. *J Dairy Sci* 2014; 97:7777-87.

Roussel JD, Aranas TJ, Seybt SH. Metabolic profile testing for Holstein cattle in Louisiana: reference values. *Am J Vet Res* 1982; 43:1658-60.

Russell KE, Roussel AJ. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2007; 23:403-26.

Sang Y, Bean S, Seib PA, Pedersen J, Shi YC. Structure and Functional properties of sorghum starches differing in amylose content. *J Agricult* 2008; 6680-5.

Santana A, Meireles A. New starches are the trend for industry applications: A review. *Food Public Health* 2014; 4:229-41.

Sannes RA, Messman MA, Vagnoni DB. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *J Dairy Sci* 2002; 85:900-8.

Santos GT, Lima LS, Schogor ALB, Romero JV, De Marchi FE, Grande PA, Santos NW, Santos FS, Kazama R. Citrus Pulp as a Dietary Source of Antioxidants for Lactating Holstein Cows Fed Highly Polyunsaturated Fatty Acid Diets. *Asian Australas J Anim Sci* 2014; 27:1104-13.

Silva LG, Torrecilhas JA, Garcia M, Eiras CE, Prado RM, Prado IN. Glycerin and essential oils in the diet of Nellore bulls finished in feedlot: animal performance and apparent digestibility. *Acta Scientiarum - Animal Sciences* 2014, 36: 177-84.

Silveira C, Oba M, Beauchemin KA, Helm J. Effects of grains differing in expected ruminal fermentability on the productivity of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90:2852-9.

Soto C, Valencia A, Galvis RD, Correa HJ. Efecto de la edad de corte y del nivel de fertilización nitrogenada sobre el valor energético y proteico del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*). *Rev Colom Cienc Pec* 2005; 18:17-26.

Sprecher DJ, Hosteler DE, Kaneene JB. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenol* 1997; 47:1179-87.

Stone WC. Nutritional Approaches to Minimize Subacute Ruminal Acidosis and Laminitis in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci* 2004; 87:E13-26.

Sutton JD, Bines JA, Morant SV, Napper DJ, Givens DI. A comparison of starchy and fibrous concentrates for milk production, energy utilization and hay intake by Friesian cows. *J. Agric Sci* 1987; 109:375-86.

Tukey J. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics* 1949; 5:99-114.

Van Soest PJ, Wine RH. Determination of lignin and cellulose in Acid-Detergent fiber with permanganate. *J AOAC Int* 1968; 51:780-85.

Vazquez-Añon M, Bertics S, Luck M, Grummer RR. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77:1521-52.

Wang J, Fung DY. Alkaline-fermented foods: A review with emphasis on pidan fermentation. *Crit Rev Microbiol* 1996; 22:101-38.

Weiss WP. Symposium: Prevailing concepts in energy utilization by ruminants. *J Dairy Sci* 1993; 76:1802-11.

Williams CH, David DJ, Iismaa O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J Agric Sci* 1962; 59:381-5.

Yun SH, Matheson NK. Estimation of amylose content of starches after precipitation of amylopectin by Concanavalin-A. *Starch/Starke* 1990; 42:302-5.

Zamudio-Sánchez, FJ, Alvarado-Segura AA. Análisis de diseños experimentales con igual número de submuestras. México: Universidad Autónoma Chapingo 1996: 83 p.

## CAPÍTULO 4

### EFFECTO DE VARIAS FUENTES DE CARBOHIDRATOS NO FIBROSOS SOBRE EL CONSUMO, DESEMPEÑO, PERFIL METABÓLICO, Y DIGESTIBILIDAD EN VACAS LACTANTES EN PASTOREO

Este capítulo está relacionado con el objetivo uno (valorar el efecto de la suplementación con diferentes fuentes de carbohidratos sobre el consumo y la digestibilidad de la materia seca, el desempeño productivo y la calidad láctea).

#### Introducción

El maíz (*Zea maíz*) ha sido el componente principal en los suplementos para ganadería de leche con el fin de incrementar la densidad energética de la dieta para proveer precursores de glucosa necesarios para la producción de leche y sustratos para la producción de proteína microbiana. Sin embargo, la competencia por el maíz está incrementando cada día debido al aumento de su uso para consumo humano, producción de biocombustibles y a las tendencias al alza en el precio de las materias primas (commodities) en la economía mundial (Edgerton, 2009). Por lo tanto, identificar alternativas que provean energía en los suplementos y mantengan la producción de leche o la mejoren, podrían disminuir la dependencia de este material, el cual, sigue siendo bastante atractivo a pesar del incremento en el precio. El maíz, contiene una concentración de carbohidratos no fibrosos (CNF), principalmente almidón, correspondiente al 72% del peso del grano (Huntington et al, 2006) y una elevada digestibilidad (92.6%) (Giuberti et al, 2014). No obstante, existen otras fuentes de CNF como el sorgo (*Sorghum vulgare*), la yuca (*Manihot esculenta*) y la pulpa cítrica (derivados del género *Citrus*), que por presentar menor costo y competencia con la alimentación humana, hacen atractiva su incorporación. En el caso del sorgo, el contenido de almidón (68%) es comparable con el del maíz pero con una digestibilidad ruminal del 78% (Huntington et al, 1997). La yuca, presenta mayores concentraciones de almidón (84%), una digestibilidad ruminal y total del 94 y 100%, respectivamente (Santana y Meireles, 2014). De otro lado, la

pulpa cítrica se caracteriza por presentar bajos contenidos de almidón (2.3%), pero mayor concentración de azúcares (24.1%) y pectinas (22.3%). Adicionalmente, tiene una alta concentración de fibra, la cual ha sido reportada en 23% como fibra en detergente neutra (FDN) digestible hasta en un 89% (Bampidis et al, 2006).

La necesidad de producir leche con una composición ajustada a los requerimientos específicos de calidad de cada país, ha ocasionado nuevas políticas de pago al productor basados no solo en el volumen sino en la concentración de cada uno de sus componentes. Existe interés en entender los mecanismos que afectan su composición en términos de concentración y producción de grasa, proteína y sólidos totales. Independiente de los mejoramientos en dichos parámetros ocasionados por los avances genéticos (Bittane et al, 2012), las diversas fuentes de carbohidratos de la dieta, afectan la disponibilidad de nutrientes y la tasa de utilización por la glándula mamaria. Dependiendo del tipo de CNF presente, se puede afectar también la digestibilidad total de los nutrientes como materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína cruda (PC), energía, extracto etéreo (EE), FDN y CNF. Mosavi et al (2012) reportaron digestibilidades más altas para la MS, MO, PC y EE y más bajas para FDN y la fibra en detergente ácido (FDA) para dietas basadas en maíz y trigo comparadas con dietas basadas en cebada y papa.

Varios estudios han mostrado el efecto de la dieta sobre la grasa de la leche (Palmquist et al 1993; Chilliard et al, 2007) y la proteína (DePeters y Cant, 1992; Firkins et al, 2006) pero pocos han mostrado el efecto o la influencia que dichos nutrientes tienen sobre el perfil metabólico en los animales lo que a su vez ayudaría a entender, al menos en parte, la relación entre la dieta, el metabolismo y el desempeño productivo tanto en términos de volumen como de calidad composicional (Hart, 1983). Lo anterior depende también en gran medida del estado de lactancia, el cual manifiesta los efectos del balance energético negativo (BEN) sobre la lipomovilización durante el primer tercio de la lactancia, asociado con altas concentraciones en sangre de ácidos grasos no esterificados (AGNE), cuerpos cetónicos como el betahidroxibutirato (BHB), acetoacetato, acetona y bajas concentraciones de glucosa y factor de crecimiento insulinoide (IGF-I) (Bertics et al,

1992; Blum et al, 2000). Los cuerpos cetónicos pueden ser tomados por la glándula mamaria para síntesis de leche o ser oxidados por el hígado, o esterificados de nuevo a triglicéridos en el hígado (Drackley, 1999) y funcionan como fuente de energía cuando los carbohidratos no están en suficiente cantidad y disponibilidad en la dieta. Durante la lactancia temprana, se presentan grandes cambios hormonales y metabólicos, que afectan el consumo de materia seca (CMS) y ocasionan desbalances de nutrientes que pueden dar lugar a ciertos desórdenes metabólicos como la hipocalcemia, la hiperlipidemia y los trastornos reproductivos (Garnsworthy et al, 2008).

Debido a las diferencias en las características de la digestión y de los productos de la fermentación, la fuente del CNF en la dieta, podría tener el potencial de alterar el CMS, la digestibilidad de los nutrientes, la producción y calidad composicional de la leche y el perfil metabólico en el animal. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución parcial de maíz por sorgo, yuca y pulpa cítrica en un concentrado isoproteico e isoenergético sobre el CMS, la producción y calidad composicional, la digestibilidad y el perfil metabólico en vacas de leche en pastoreo en el primer tercio de lactancia

## **Materiales y Métodos**

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia, Actas No. 76 (Mayo/2012) y No. 83 (Mayo/ 2013).

### *Localización.*

El experimento se realizó en la granja Betania (6°4'57.9" N, 75°28'23.8" W), propiedad de la empresa Solla S.A., la cual está ubicada en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia-Colombia). Esta zona se encuentra a 2600 msnm y presenta una temperatura promedio de 19.1°C, humedad relativa de 67.9% y

precipitación anual de 2400 mm, características de un bosque húmedo montano bajo (Holdridge, 1967).

#### *Animales y diseño experimental.*

Treinta y dos (32) vacas Holstein friesian (4 primíparas y 28 multíparas) de  $534.8 \pm 45.8$  kg de peso vivo (PV), edad de  $4.7 \pm 1.8$  años, con un mérito genético de  $6818 \pm 1182$  kg de leche en la lactancia previa ajustada a 305 días, fueron usadas en un diseño en bloques al azar con medidas repetidas en el tiempo. Los animales de primero y segundo parto fueron asignados al primer bloque y los de tres partos o más, al segundo bloque. Las vacas fueron asignadas aleatoriamente a cada bloque y cada uno estuvo representados por 16 vacas. Todas las unidades experimentales recibieron el mismo manejo que los animales restantes del hato. Los animales participaron del trabajo los primeros 105 días postparto, con períodos de colección de los datos cada 15 días para las variables de producción y calidad composicional (15, 30, 45, 60, 75, 90 y 105) y cada 25 días (25, 50, 75 y 100) para las variables de CMS, digestibilidad, PV, condición corporal (CC), perfil metabólico.

#### *Dietas experimentales y alimentación.*

Los animales consumieron pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) de 41 días de rebrote que presentó la siguiente composición química en MS: PC, 24.7%; EE, 3.7%; FDN 52.9%; fibra en detergente ácido (FDA), 29.8%; lignina, 4.6%; cenizas (MI), 9.6%; y CNF, 9.1%. Los animales pastorearon conjuntamente cada potrero durante 24 horas, garantizando una oferta forrajera de  $0.42 \pm 0.08$  kg de MS/m<sup>2</sup>,  $30.8 \pm 4.8$  kg de MS/vaca/d y un área efectiva de  $77 \pm 9$  m<sup>2</sup>/vaca. La producción de forraje promedio fue de 4200 kg/MS/ha. La suplementación concentrada se estableció con base en el promedio de producción de leche semanal, en una relación 3.0:1 (1kg de suplemento por cada 3.0 kg de leche) para las vacas de 1-2 partos y una relación 3.5:1 (1kg de suplemento por cada 3.5 kg de leche) para las vacas de 3 partos o más. El tratamiento 1 (T1) incluyó como fuente principal de

energía el maíz (*Zea maíz*), en los tratamientos 2, 3 y 4 aproximadamente el 50% de los nutrientes digestibles totales (NDT) aportados por el maíz fueron garantizados por otras fuentes de CNF, a saber, sorgo (*Sorghum vulgare*, T2), yuca (*Manihot esculenta*, T3) y pulpa cítrica deshidratada (*Citrus sp.*, T4). En la Tabla 1 se presentan los ingredientes y la descripción química de los suplementos. La suplementación se realizó dos veces al día, durante el ordeño, a las 04:00 y 14:00 horas. El agua se suministró *ad libitum*.

**Tabla 1.** Ingredientes y composición química de los cuatro suplementos concentrados

Ítem	Tratamientos experimentales			
	T1 ( <i>Z. maíz</i> )	T2 ( <i>S. vulgare</i> )	T3 ( <i>M. esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
<i>Ingredientes</i>				
Maíz	44.3	21.8	19.3	23.9
Sorgo <sup>1</sup>	-	22.5	-	-
Yuca	-	-	20.5	-
Pulpa cítrica	-	-	-	25.8
Maíz forraje	10.0	9.3	10.0	5.0
Salvado de trigo	11.2	10.0	11.8	10.0
Harina de arroz	8.6	10.8	11.7	7.6
Torta de girasol	8.0	8.0	5.0	8.0
Torta de soya	8.4	8.0	12.2	11.2
Melaza	4.4	4.4	4.4	4.4
Carbonato de calcio	3.7	3.7	3.7	2.3
Cloruro de sodio	0.86	0.89	0.91	0.81
Bicarbonato de sodio	0.30	0.30	0.30	0.30
Premezcla <sup>2</sup>	0.20	0.20	0.20	0.20
Fosfato tricálcico	0.17	0.10	-	0.58
<i>Composición química (%)<sup>3</sup></i>				
MS	89.7	89.5	91.5	89.4
PC	18.0	18.7	18.1	18.6
EE	4.3	4.3	4.3	4.6
MI	8.6	8.8	9.5	8.4
Ca	1.8	1.9	1.8	1.9
P <sub>t</sub>	0.7	0.7	0.7	0.7
FC	4.6	4.9	5.2	7.7
FDN	17.0	16.7	19.0	18.5
FDA	8.4	9.0	8.4	12.6
CNF <sup>4</sup>	52.2	51.6	49.1	49.9
Lignina	2.5	2.8	3.0	3.6
Almidón	30.4	31.8	25.6	21.2
Pectina <sup>5</sup>	1.4	<1.0	<1.0	8.9
EB, Mcal/kg	4.4	4.4	4.3	4.4
EN <sub>r</sub> <sup>6</sup> , Mcal/kg	1.6	1.6	1.6	1.6

NDT <sup>7</sup>	71.4	70.6	71.0	71.8
------------------	------	------	------	------

<sup>1</sup>Sorgo con contenido de 954.5 mg de Catequina/100g de muestra.

<sup>2</sup>Composición garantizada por cada kg de premezcla: vitamina A, 2.500.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 750.000 UI; vitamina E, 2.000 UI; Fe, 12.5 g; Cu, 2.5 g; Mn, 10 g; Zn, 10 g; I, 0.15 g; Co, 0.025 g; antioxidante BHT, 30 g.

<sup>3</sup>Expresada en el 100% de la materia seca (MS): PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; MI, material inorgánico (cenizas); Ca, calcio; P<sub>t</sub>, fósforo total; FC, fibra cruda; FDN, fibra detergente neutra; FDA, fibra detergente ácida; CNF, carbohidratos no fibrosos; EB, energía bruta; EN<sub>i</sub>, energía neta de lactancia; NDT, nutrientes digestibles totales.

<sup>4</sup>CNF = 100 – (PC+EE+FDN+MI).

<sup>5</sup>Cuantificado a partir de la concentración de ácido galacturónico

<sup>6</sup>EN<sub>i</sub> = (NDT\*0.0245)-0.12

<sup>7</sup>NDT = dvCNF + dvPC + (dvAG\*2.25) + dvFDN -7, donde AG= ácidos grasos (AG=EE-1) y dv = digestibilidad verdadera

### *Descripción química de los alimentos.*

Las muestras frescas de pasto se secaron en estufa de ventilación forzada a 60°C durante 72 horas. Posteriormente, estas muestras y las de suplemento concentrado se procesaron en molino estacionario Thomas-Wiley con tamiz de 1 mm (Arthur M. Thomas, Philadelphia, PA, USA) para su posterior análisis químico. Se determinó MS (ICONTEC, 2000; NTC 4888), PC (ICONTEC, 1999; NTC 4657), EE (ICONTEC, 2001a; NTC 4969), MI (ICONTEC, 2007; NTC 4648), FDN tratada con α-amilasa (AOAC, 2005; método 2002.04), FDA (AOAC, 2003; método 973.18) y lignina (Van Soest y Wine, 1968). En los suplementos adicionalmente se cuantificó fibra cruda (FC) (ICONTEC, 2002; NTC 5122), energía bruta (EB) en bomba calorimétrica (Model C5000, IKA®, Germany) (ISO 9831, 1998), Ca (ICONTEC, 1998; NTC 302) y P total (ICONTEC, 2001b; NTC 4981). Mediante el empleo del kit comercial MEGAZYME® se determinó el contenido de pectina por espectrofotometría (Hansen et al, 2001). Los CNF, como porcentaje de la MS, fueron obtenidos por la ecuación CNF= 100-(PC+EE+MI+FDN) (Detmann y Valadares Filho, 2010), el NDT fue estimado a partir del modelo multicompartimental del NRC (2001) y la EN<sub>i</sub> a partir de la ecuación descrita por Weiss (1993), EN<sub>i</sub> (Mcal/kg) = NDT(%)\*0.0245-0.12.

### *Variables respuesta.*

### *Consumo de materia seca*

El consumo de materia seca total ( $CMS_T$ ) correspondió a la suma del consumo de materia seca de pasto ( $CMS_P$ ) y de suplemento concentrado ( $CMS_S$ ), último valor establecido con base en la producción de leche. El  $CMS_P$  se determinó mediante la utilización de óxido de cromo ( $Cr_2O_3$ ) como marcador externo y materia seca indigestible (MSI) como marcador interno. El  $Cr_2O_3$  fue dosificado vía oral dos veces al día (5 g/dosis), al momento del ordeño según descrito por Penning y Johnson (1983). El suministro se realizó por 15 días, los primeros 10 días correspondientes al período de adaptación (equilibrio entre la ingestión y la excreción del indicador) y los últimos 5 días correspondientes al período de muestreo fecal, que se efectuó dos veces al día, al momento del ordeño y luego de dosificar el marcador. Porciones de aproximadamente 500 g de heces fueron colectadas directamente del ano, almacenadas en bolsas plásticas, identificadas y congeladas a  $-20^\circ C$ . Al término de los cinco días, se obtuvo una muestra compuesta por animal, que se secó en estufa de ventilación forzada ( $60^\circ C/72$  h) y se molió a 1 mm para posterior análisis de cromo mediante espectrofotometría de absorción atómica, conforme la metodología descrita por Williams et al (1962). La producción fecal (PF), en kg de MS/día, se estimó a partir de la fórmula:  $PF = \text{Cromo administrado (g/día)} \times \text{Recuperación del marcador en las heces (coeficiente)} / \text{Cromo en las heces (g/kg de MS)}$  (Lippke, 2002). Se asumió un porcentaje de recuperación del 80% (Correa et al, 2009).

La MSI en las muestras de pasto kikuyo, los suplementos concentrados y las heces, correspondió al residuo indigestible después de 144 h de incubación ruminal. Por cada material evaluado, se incubaron tres bolsas de nylon de 5 x 12 cm (3.0 g muestra/bolsa), las cuales se fijaron a una cadena de hierro galvanizado que fue insertada en el rumen de una vaca Holstein friesian canulada. Transcurridas 144 h, las bolsas fueron retiradas, lavadas con agua fría y secadas en estufa de ventilación forzada a  $60^\circ C$ . El porcentaje de MSI correspondió a la relación  $(MSI/MS \text{ incubada}) \times 100$  (Silva et al, 2014).

La concentración de MSI en las heces ( $\%MSI_H$ ) se multiplicó por la cantidad total de heces ( $H = \text{kg materia seca fecal}$ ) para obtener la cantidad total (kg) de este marcador en las heces (kg  $MSI_H$ ). Al restar esta cantidad de la proveniente del

suplemento concentrado ( $\text{kg MSI}_S = \text{CMS de suplemento (CMS}_S) \cdot \text{Concentración de MSI en el suplemento (\%MSI}_S)$ ) se obtuvo la cantidad de MSI en las heces proveniente del pasto, equivalente a la cantidad de MSI consumida con el pasto ( $\text{kg MSI}_P$ ). Finalmente, el  $\text{CMS}_P$  se determinó a partir de la siguiente ecuación:  $\text{CMS}_P = [(\%MSI_H \cdot H) - (\%MSI_S \cdot \text{CMS}_S)] / \%MSI_P$ , partiendo de la relación:  $\%MSI_H \cdot H = (\%MSI_P \cdot \text{CMS}_P) + (\%MSI_S \cdot \text{CMS}_S)$ .

A partir de los datos de  $\text{CMS}_P / \text{CMS}_S$  se estableció la relación forraje:concentrado (F:C). El CMS se expresó en kg/d, como porcentaje del PV y en g/kg  $\text{PV}^{0.75}/\text{d}$ , donde  $\text{PV}^{0.75}$  corresponde al peso metabólico.

#### *Producción de leche y calidad composicional y sanitaria.*

La leche obtenida de cada período (días en leche, DEL) de recolección fue diariamente pesada los siete últimos días usando un sistema automático (MM27BC, DeLaval International AB, Sweden). La producción registrada (PL) fue corregida al 3.5% de grasa (LCG, 3.5%) y por energía (LCE) a partir de las ecuaciones:  $\text{LCG, 3.5\%} = [(0.4324 \times \text{kg de leche}) + (16.216 \times \text{kg de grasa})]$  y  $\text{LCE} = [(0.327 \times \text{kg de leche}) + (12.95 \times \text{kg de grasa}) + (7.20 \times \text{kg de proteína})]$ , respectivamente (Boerman et al, 2015). Con el fin de evaluar la calidad composicional, y con la ayuda de un muestreador secuencial automático, de cada animal se colectaron muestras de leche (aproximadamente 250 mL) del ordeño am y pm (04:00 y 14:00 horas, respectivamente) durante los últimos tres días de cada período de recolección. De la cantidad total de leche muestreada, se tomó una alícuota de 50 mL que fue transportada en tubos plásticos conteniendo preservante (Bronopol 8 mg + Natamicina 0.30 mg) (D&F Control Systems, Massachusetts, USA), a 4°C, hasta el Laboratorio de Análisis de Leche de la Universidad de Antioquia. En las muestras obtenidas de cada animal y ordeño se analizó el contenido de proteína, grasa, lactosa y sólidos totales (valores expresados en %), mediante el empleo de MilkoScan FT+ (transformación de Fourier a partir de infrarrojo) (Foss, Hillerød, Dinamarca). La calidad sanitaria se evaluó a partir del conteo de células somáticas (CCS, valores expresados en miles de células por mL) por citometría de flujo

(Fossomatic™ FC, Foss Electric, Hillerød, Dinamarca). La producción de grasa, proteína, lactosa y sólidos totales (kg) se obtuvo del producto entre la producción de leche del respectivo ordeño (kg) y su composición analizada (%). La suma de los seis valores fue relacionada con la producción total de leche de los 3 días, con el fin de obtener la producción diaria (kg/d) y la concentración porcentual de cada uno de los componentes. La relación grasa proteína (G:P) fue calculada mediante el cociente entre la producción diaria de grasa y proteína (kg/d).

Con base en el desempeño productivo y el CMS<sub>T</sub> se determinó la eficiencia alimenticia (EA), expresada en kg de leche, LCG y LCE por kg de MS consumida.

*Perfil metabólico, nitrógeno ureico en leche, peso vivo y condición corporal.*

Los DEL 25, 50, 75 y 100 a las 09 horas, de cada animal se colectó muestra de sangre de la vena coccígea usando una jeringa de 2.5cm de acuerdo con las indicaciones de Jones y Allison, (2007). La muestra fue almacenada en un vacutainer de 5mL sin anticoagulante (Becton Dickinson, Rutherford, NJ) para análisis del perfil metabólico. La muestra sin anticoagulante permaneció a temperatura ambiente hasta su coagulación y luego fue centrifugada a 1000xg por 15 minutos (dentro de los 60 minutos siguientes a su colección). Con ayuda de pipeta Pasteur, se separó el suero, tomando aproximadamente 1.5mL de muestra que se almacenó en cuatro alícuotas en tubos Eppendorf. Todas las muestras fueron transportadas a -20°C hasta el Laboratorio de Bioanálisis de la Universidad de Antioquia, donde se evaluaron los siguientes parámetros: colesterol, lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), triglicéridos (TG) y aspartato aminotransferasa (AST) (Analizador automático A14, Biosystems Laboratories, Costa Brava, Barcelona Spain). Los AGNEs fueron evaluados en suero mediante método enzimático colorimétrico utilizando el kit comercial (Randox®, UK) y cuantificados a través de espectrofotometría (Microlab 200, Merck®). Estos datos se acompañaron del análisis de la concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL, expresado en mg/dL) usando MilkoScan FT+ (transformación de Fourier a partir de infrarrojo)

(Foss, Hillerød, Dinamarca) al igual que BHB en leche expresado en mmol/L mediante el empleo de MilkoScan FT+ (transformación de Fourier a partir de infrarrojo) (Foss, Hillerød, Dinamarca). La calibración del equipo fue llevada a cabo con el algoritmo indicado por Foss (The MathWorks Inc., Natick, MA) basado en 2123 espectros, de acuerdo con lo reportado por De Ross et al (2007). Las muestras de leche fueron las mismas obtenidas para el análisis de calidad composicional y sanitaria.

Todos los animales fueron pesados a las 09:00 horas. Simultáneamente con el pesaje, se calificó la condición corporal (CC) empleando una escala de 1 a 5, donde 1 = delgada y 5 = obesa (Edmonson et al, 1989). La pérdida de CC y de PV fueron calculados de la siguiente manera (Sakaguchi, 2009):

$$PVpe (\%) = ((PVp - PVdel)/PVp) * 100$$

Donde:

PVpe (%) es el PV perdido en porcentaje, PVp es el peso una semana antes del parto y PVdel es el PV en los días en leche en los cuales se realizó el pesaje.

$$CCpe (\%) = ((CCp - CCdel)/CCp) * 100$$

Donde:

CCpe (%) es la CC perdida en porcentaje, CCp es la CC una semana antes del parto y CCdel es la CC en los días en leche en los cuales se realizó la evaluación de CC.

#### *Digestibilidad de nutrientes.*

Muestras de suplemento, forraje y heces del día 50 postparto fueron analizadas para MS (ICONTEC, 2000; NTC 4888), PC (ICONTEC, 1999; NTC 4657), EE (ICONTEC, 2001a; NTC 4969), MI (ICONTEC, 2007; NTC 4648), FDN tratada con  $\alpha$ -amilasa (AOAC, 2005; método 2002.04) y energía en bomba calorimétrica (Model C5000, IKA®, Germany) (ISO 9831, 1998). Se calculó la digestibilidad de cada uno de los nutrientes (MS, MO, PC, EE, energía, CNF y FDN) a partir de la ecuación siguiente:

Digestibilidad del nutriente (%) =  $[(\text{Consumo de materia seca del pasto (CMSp)} \times \text{concentración del nutriente en el forraje (\% Np)}) + (\text{Consumo de materia seca del suplemento (CMSs)} \times \text{concentración del nutriente en el suplemento (\% Ns)}) - (\text{producción fecal} \times \text{concentración del nutriente en las heces (\%Nh)}) / (\text{CMSp} \times \%Np + \text{CMSs} \times \%Ns)] \times 100$ . Para el cálculo de los CNF se estimó a partir de la ecuación  $\text{CNF} = 100 - (\text{PC} + \text{EE} + \text{MI} + \text{FDN})$  (Detmann y Valadares Filho, 2010).

### *Análisis Estadístico.*

La estadística descriptiva está expresada como media  $\pm$  error estándar. Se realizaron transformaciones de Box-Cox para AST, BHB, AGNEs y CC; sobre la variable CCS se realizó transformación del logaritmo natural. Para los otros parámetros, el supuesto de normalidad y homocedasticidad fueron aceptables (Cerón-Muñoz et al, 2013). Por conveniencia, todos los datos descriptivos son presentados sin transformar.

Las variables respuesta se analizaron bajo un modelo de bloques al azar con medidas repetidas en el tiempo usando el comando PROC MIXED de SAS® (Littell et al, 2006). La vaca anidada dentro del tratamiento fue la unidad experimental y los DEL fueron las medidas repetidas. Tratamiento, DEL, número de partos (bloque), mes de entrada al ensayo y la interacción tratamiento por DEL fueron los efectos fijos; y la vaca fue el efecto aleatorio. Se usó la opción de *Kenward-Roger* para estimar el denominador de los grados de libertad (Miroslav y Lamberson, 2009). La estructura de varianza covarianza fue escogida para cada modelo estadístico de acuerdo con el mejor ajuste basado en el criterio bayesiano de *Schwarz*. Las medias de los mínimos cuadrados fueron estimadas y separadas usando la opción *pdiff* cuando los efectos fijos fueron significativos ( $p < 0.05$ )

El modelo empleado fue el siguiente:  $Y_{ijklm} = \mu + T_i + B_j + t_k + V_{l(i)} + M_m + Tt_{ik} + \epsilon_{ijkl}$ , donde:  $Y_{ijklm}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media global,  $T_i$  es el efecto fijo de los tratamientos ( $i = 1, 2, 3, 4$ ),  $B_j$  es el efecto fijo del bloque número de partos ( $j = 1, 2$ );  $V_{l(i)}$  es el efecto aleatorio de la vaca anidada en el tratamiento,  $t_k$  es el efecto

de los DEL (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7),  $M_m$  es el efecto fijo del mes de entrada al ensayo ( $l = 1, 2, 3, 4, 5$ ) y  $\varepsilon_{ijklm}$  es el error experimental.

Para las variables de digestibilidad, se empleó un diseño de bloques al azar usando el comando PROC MIXED de SAS®. El modelo incluyó la vaca, el tratamiento (la dieta), el bloque (número de partos) y el mes de ingreso al estudio. El modelo empleado fue el siguiente:  $Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j + V_{k(i)} + M_l + \varepsilon_{ijkl}$ , donde:  $Y_{ijkl}$  es la variable dependiente,  $\mu$  es la media global,  $T_i$  es el efecto fijo de los tratamientos ( $i = 1, 2, 3, 4$ ),  $B_j$  es el efecto fijo del bloque número de partos ( $j = 1, 2$ );  $V_{k(i)}$  es el efecto aleatorio de la vaca anidada en el tratamiento,  $M_l$  es el efecto fijo del mes de entrada al ensayo ( $l = 1, 2, 3, 4, 5$ ) y  $\varepsilon_{ijkl}$  es el error experimental.

Las medias fueron comparadas mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia estadística del 5% (Tukey, 1949).

## Resultados

En la tabla 2 se presenta la información correspondiente a PV, CC, CMS, y EA. Todas las variables mostraron equivalencia estadística con los tratamientos evaluados, con excepción del PV ( $p < 0.05$ ) a favor del tratamiento que incluyó pulpa cítrica. El efecto de los tratamientos sobre la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria se presenta en la tabla 3. Ninguna de las variables mostraron diferencias con excepción del porcentaje de grasa, relación G:P y porcentaje de sólidos totales, donde se detectó una interacción DEL x Fuente estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) (tabla 3 y figuras 1, 2 y 3, respectivamente). El porcentaje de grasa fue diferente en los DEL 15 entre las medias del tratamiento que incluyó yuca y el de pulpa cítrica (3.44 vs. 4.22  $p < 0.05$ , respectivamente).

La relación G:P y ST fueron diferentes estadísticamente en los DEL 15 entre las medias del tratamiento que incluyó yuca y la pulpa cítrica (1.08 vs. 1.31  $p < 0.05$ , respectivamente; 12.06 vs. 12.86  $p < 0.05$ , respectivamente) y tendió a ser diferente en los DEL 45 entre el tratamiento que incluyó sorgo y el de pulpa cítrica (12.09 vs.

11.48  $p=0.09$ , respectivamente), DEL 60 entre el tratamiento con maíz y el que incluyó sorgo (11.73 vs.11.06  $p=0.07$ ) y entre el tratamiento con maíz y el que incluyó yuca (11.73 vs. 11.08  $p=0.08$ , respectivamente).

En la tabla 4 se presenta el efecto de los diferentes tratamientos sobre las variables de glucosa, colesterol, HDL, LDL, VLDL, TG, AST, BHB, AGNEs, CC y PV. Se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $p<0.05$ ) en los valores de colesterol, HDL y LDL de las dietas con maíz y pulpa cítrica los cuales presentaron niveles mayores. La CC mostró una interacción DEL x Fuente estadísticamente significativa ( $p<0.05$ ), sin embargo, cuando se compararon las medias, no se detectaron diferencias entre tratamientos en los mismos DEL (figura 4)

En la tabla 5 se muestran los resultados de los tratamientos sobre las variables de digestibilidad de la MS, MO, energía, PC, CNF, EE y FDN para el DEL 50. La digestibilidad del EE y de la PC mostraron diferencias entre las dietas experimentales, siendo el tratamiento que incluyó sorgo y yuca los que presentaron valores más altos.

**Tabla 2.** Consumo, relación F:C y EA de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de CNF

Item	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p		
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		DEL	Fuente	DEL*Fuente
CMS <sub>T</sub>								
kg/d	16.00	16.50	16.23	17.05	0.14	<0.01	0.20	0.46
g/kg <sup>0.75</sup> /d	147.13	148.27	149.12	147.64	1.39	<0.01	0.98	0.55
%PV	3.08	3.08	3.13	3.03	0.03	0.01	0.87	0.57
CMS <sub>P</sub>								
kg/d	7.82	8.05	8.17	8.91	0.13	0.51	0.07	0.29
g/kg <sup>0.75</sup> /d	71.54	72.31	75.20	77.66	1.26	0.64	0.50	0.29
%PV	1.50	1.51	1.58	1.60	0.03	0.68	0.66	0.29
CMS <sub>S</sub>								
kg/d	8.25	8.47	8.06	8.14	0.10	<0.01	0.84	0.97
g/kg <sup>0.75</sup> /d	75.59	75.96	73.93	69.99	0.91	<0.01	0.42	0.99
%PV	1.58	1.58	1.55	1.44	0.02	<0.01	0.25	0.99
Relación F:C	48.50	48.57	50.20	52.35	0.57	0.11	0.34	0.56
Eficiencia alimenticia								
PL, kg/kg MS	1.99	1.95	1.90	1.90	0.03	0.06	0.31	0.64
LCG, kg/kg MS	2.00	1.91	1.87	1.93	0.03	0.04	0.48	0.91
LCE, kg/kg MS	2.20	2.10	2.07	2.12	0.04	0.03	0.50	0.89

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

<sup>2</sup>CC, condición corporal; CMS<sub>T</sub>, consumo de materia seca total; CMS<sub>P</sub>, consumo de materia seca del pasto; CMS<sub>S</sub>, consumo de materia seca del suplemento; F:C, forraje concentrado; DMS, digestibilidad de la materia seca; PL, producción de leche; LCE, leche corregida por energía; LCG, leche corregida por grasa

ab, medias de tratamiento con diferente letra en la misma fila difieren estadísticamente (p<0.05)

**Tabla 3.** Efecto de diferentes fuentes de CNF sobre la producción de leche, calidad composicional, sanitaria y NUL.

Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p		
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		DEL	Fuente	DEL x Fuente
PL, kg/d	32.06	31.89	30.69	32.50	0.36	<0.01	0.71	0.23
LCG, 3.5%, kg/d	32.11	31.24	30.27	32.99	0.40	<0.01	0.56	0.14
LCE, kg/d	35.39	34.39	33.54	36.27	0.43	<0.01	0.55	0.12
Grasa, %	3.48	3.27	3.33	3.48	0.04	<0.01	0.82	<0.01
Proteína, %	2.89	2.78	2.89	2.91	0.01	<0.01	0.49	0.98
Lactosa, %	4.71	4.64	4.60	4.66	0.01	0.67	0.47	0.37
Sólidos totales, %	11.91	11.51	11.63	11.84	0.05	<0.01	0.57	0.01
Grasa, kg/d	1.12	1.02	0.99	1.14	0.02	0.01	0.55	0.06
Proteína, kg/d	0.94	0.88	0.87	0.95	0.01	<0.01	0.63	0.21
Lactosa, kg/d	1.53	1.46	1.40	1.54	0.02	<0.01	0.57	0.09
Sólidos totales, kg/d	3.86	3.62	3.51	3.89	0.04	<0.01	0.54	0.13
Rel G:P	1.19	1.16	1.14	1.20	0.01	0.12	0.94	0.03
CCS (células x 1000)	118.14	164.21	238.36	152.74	23.98	0.64	0.87	0.90
NUL, mg/dL	20.61	19.44	18.88	19.96	0.23	<0.01	0.66	0.88

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

<sup>2</sup>DEL, días en leche; PL, producción de leche; LCE, leche corregida por energía; LCG, leche corregida por grasa; Rel G:P, relación grasa:proteína de leche; CCS, conteo de células somáticas  
ab, medias de tratamiento con diferente letra en la misma fila difieren estadísticamente (p<0.05)

**Tabla 4.** Perfil metabólico, función hepática y estado corporal de vacas lactantes suplementadas con diferentes fuentes de CNF

Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p		
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		DEL	Fuente	DEL x Fuente
Función metabólica								
Glucosa, mg/dL	68.97	72.66	67.35	72.33	0.92	0.06	0.26	0.08
Colesterol, mg/dL	263.80a	207.79b	195.44b	276.52a	8.49	<0.01	<0.01	0.37
HDL, mg/dL	145.89a	127.74b	119.94b	139.45a	2.62	<0.01	0.01	0.44
LDL, mg/dL	113.75a	70.90b	70.69b	133.58a	7.33	<0.01	0.02	0.23
VLDL, mg/dL	4.25	4.37	4.35	5.11	0.14	<0.01	0.36	0.32
TG, mg/dL	21.23	21.99	21.77	25.52	0.72	<0.01	0.37	0.31
BHB, mmol/L	0.08	0.04	0.08	0.29	0.04	0.91	0.34	0.99
AGNEs, mmol/L	0.35	0.45	0.32	0.27	0.02	<0.01	0.07	0.57
Función hepática								
AST, U/L	89.24	103.19	92.35	80.26	3.29	0.34	0.57	0.36
Estado corporal								
CC	3.03	3.09	3.01	2.98	0.02	<0.01	0.68	0.01
Cambio en CC, %	11.90	9.42	9.79	11.87	0.55	<0.01	0.80	0.01
PV, kg	524.22a	537.75ab	522.41a	564.59b	3.79	0.55	0.05	0.96
Cambio en PV, %	11.31	11.71	10.39	9.01	0.39	0.57	0.47	0.91

<sup>1</sup> Error estándar de la media.

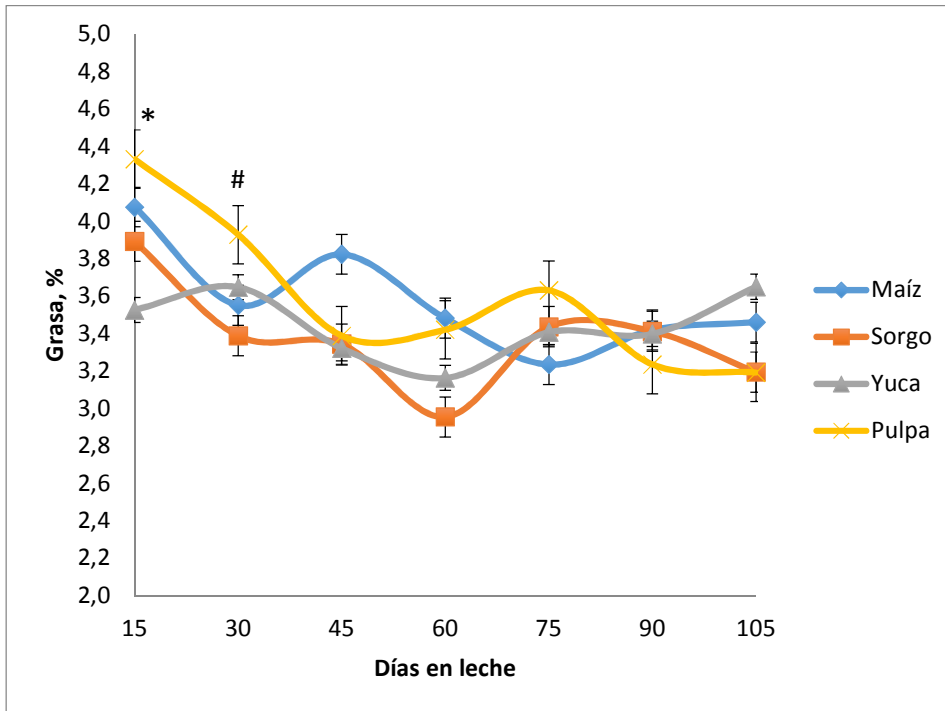
<sup>2</sup> DEL, días en leche; HDL, colesterol de alta densidad; LDL, colesterol de baja densidad; VLDL, colesterol de muy baja densidad; TG, triglicéridos; AST, aspartato aminotransferasa; BHB, beta hidroxibutirato; AGNEs: ácidos grasos no esterificados; CC, condición corporal; PV, peso vivo. ab, medias de tratamiento con diferente letra en la misma fila difieren estadísticamente (p<0.05)

**Tabla 5.** Efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad de los nutrientes

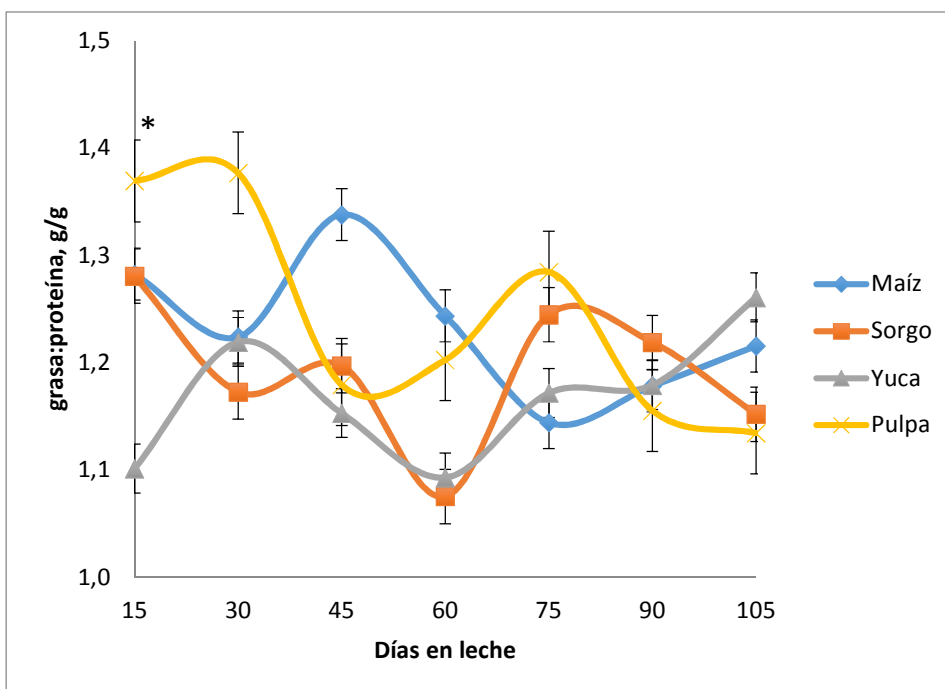
Item <sup>2</sup>	Tratamientos experimentales				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
Digestibilidad						
MS, %	62.47	65.07	65.63	60.01	0.99	0.08
MO, %	64.63	66.43	67.56	62.64	0.92	0.15
Energía, %	61.53	64.44	65.17	60.28	1.01	0.15
Proteína, %	64.08a	68.49b	70.11b	64.95a	0.90	0.02
CNF, %	84.23	83.93	86.34	83.94	0.70	0.55
EE, %	59.15a	67.69b	69.14b	57.24c	1.71	0.02
FDN, %	63.55	64.67	63.69	62.93	0.95	0.92

<sup>1</sup>Error estándar de la media.

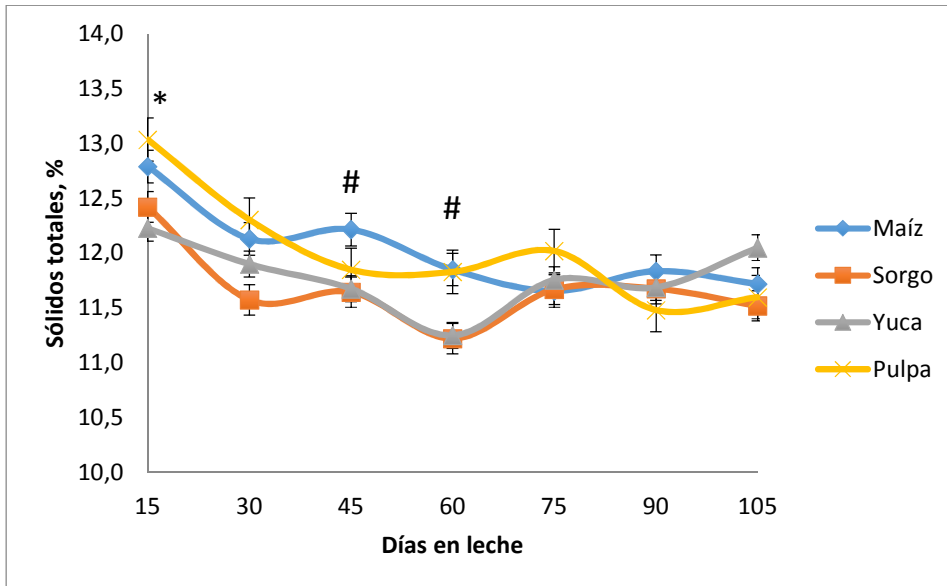
<sup>2</sup> MS, materia seca, MO, materia orgánica; CNF, carbohidratos no fibrosos, EE, extracto etéreo, FDN, fibra en detergente neutro. ab, medias de tratamiento con diferente letra en la misma fila difieren estadísticamente ( $p < 0.05$ ).



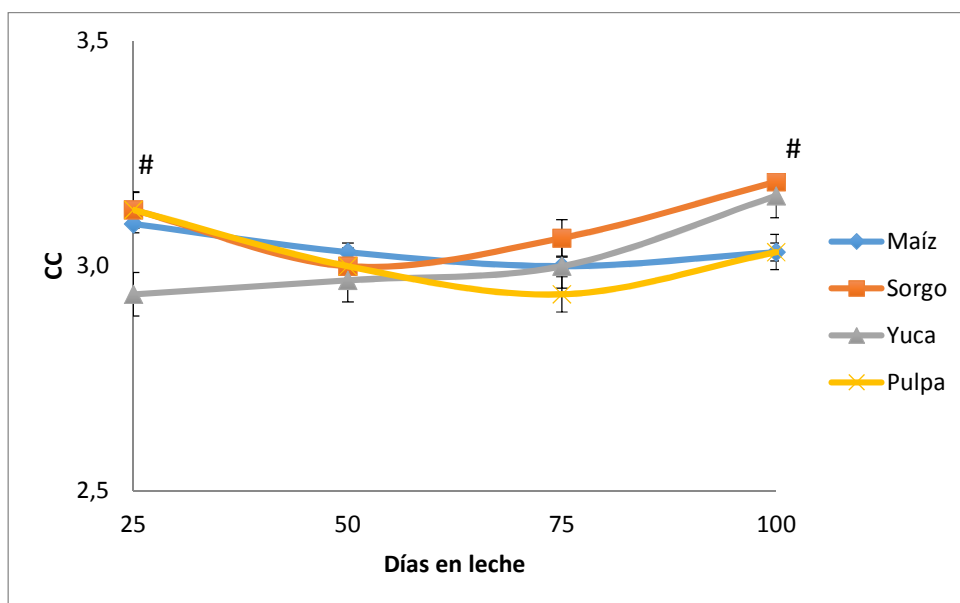
**Figura 1.** Porcentaje de grasa de leche con las diferentes fuentes de CNF durante los DEL evaluados. Los datos corresponden a las medias de los tratamientos y las barras representan el error estándar. Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el tratamientos que incluyó yuca vs. pulpa cítrica en el mismo DEL se indica con el asterisco (\*). La tendencia entre el tratamiento que incluyó sorgo vs. pulpa cítrica en el mismo DEL se indica con numeral (#) ( $p < 0.1$ ).



**Figura 2.** Relación G:P de la leche con las diferentes fuentes de CNF durante los DEL evaluados. Los datos corresponden a las medias de los tratamientos y las barras representan el error estándar. Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el tratamiento que incluyó yuca vs. pulpa cítrica en el mismo DEL se indica con el asterisco (\*).



**Figura 3.** Porcentaje de ST de la leche con las diferentes fuentes de CNF durante los DEL evaluados. Los datos corresponden a las medias de los tratamientos y las barras representan el error estándar. Diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el tratamiento que incluyó yuca vs. pulpa cítrica en el mismo DEL se indica con el asterisco (\*). La tendencia estadística ( $p < 0.1$ ) entre el tratamiento que incluyó sorgo vs. pulpa cítrica en el DEL 45, el tratamiento que incluyó maíz vs. sorgo y el tratamiento que incluyó maíz vs. yuca en el DEL 60 se indican con el símbolo numeral (#).



**Figura 4.** CC, condición corporal, durante el período de evaluación. Los datos corresponden a las medias de los tratamientos y las barras representan el error estándar. Se observó tendencia hacia la significancia estadística ( $p < 0.1$ ) entre el tratamiento que incluyó sorgo vs. yuca en el DEL 25 la cual se indica con el numeral (#) al igual que entre el tratamiento que incluyó sorgo vs. pulpa cítrica en el DEL 100.

## Discusión

### *Consumo de materia seca, relación F:C y EA.*

En el presente trabajo el  $CMS_T$ ,  $CMS_P$  y el  $CMS_C$  no fueron afectados por las dietas experimentales, lo cual podría ser explicado por la no afectación de las dietas sobre la fermentabilidad del almidón ni de las pectinas, similar a lo demostrado por Mosavi et al, 2012; Friggens et al, 1995; Leiva et al, 2000. Contrariamente, Pilachai et al (2012) reportó que dietas con inclusión de maíz y yuca con  $CMS_T > 18$  kg/d generó una concentración de lipopolisacáridos (LPS) en rumen  $> 88.0 \times 10^3$  EU/mL. Se podría inferir que el  $CMS_T$  en el presente estudio no alcanzó los niveles lo suficientemente altos como para generar cambios importantes a nivel ruminal como alteraciones del pH o en la concentración de AGV. Otros trabajos consultados muestran resultados controversiales; Lees et al (1990) y Valk et al (1990) reportaron incrementos en el  $CMS_T$  cuando se aumentó el almidón a expensas de las pectinas. Chester-Jones et al (1991) y Poorkasegaran y Yansari, (2014)

demonstraron incrementos cuando se aumentaron las fuentes de pectinas por las de almidón.

De acuerdo con Mertens (2009), la relación F:C se encuentra dentro de lo recomendado para vacas lactantes (entre 40/60 y 60/40), hallazgo importante porque demuestra el efecto que tiene el contenido de la FDN y la calidad de las pasturas sobre el CMS. De acuerdo con Posada et al (2014), la digestibilidad in vitro de la MS (DIVMS) del pasto kikuyo fue del 60%, la cual puede ser calificada como baja frente a otras pasturas como ryegrass (*Lolium perenne*) la cual ha sido reportada en 78% (Villalobos y Sanchez, 2010). De acuerdo con lo anterior, en pasturas de baja digestibilidad como el kikuyo, una relación F:C óptima estaría más próxima al valor 40:60 y para pasturas de alta digestibilidad el valor óptimo estaría cercano al 60:40 (Mertens, 2009).

Los valores de EA reportados en el presente trabajo fueron consecuencia de las altas producciones acordes con la etapa de lactancia, la baja relación F:C, el alto CMS<sub>s</sub> (explicado en gran parte por el plan de alimentación para vacas de primero y segundo parto), pérdida de CC y la alta proporción de concentrado con respecto al PV (Britt et al, 2003). Smith (2000), en una revisión de 27 trabajos en vacas en lactancia media en pastoreo, reportaron un CMS<sub>T</sub> de 2.82% del PV, lo cual es ligeramente inferior a lo encontrado en el presente trabajo.

#### *Producción de leche y calidad composicional y sanitaria.*

El aumento en el porcentaje de grasa y de sólidos totales de la leche al DEL 15 con la dieta que incluyó la pulpa cítrica y el sorgo al día 30 es un hallazgo importante por las implicaciones que tiene para el pago de la misma. El incremento podría ser explicado por el aumento en la producción de acetato así como en la disminución de la tasa acetato:propionato en el rumen como lo reportaron Strobel y Russell (1986) y posteriormente confirmaron por Ariza-Nieto (1998). También, puede ser explicado por el incremento en el consumo de fibra altamente digestible y del consumo mayor de FDN proporcionados por la pulpa cítrica y por el forraje. El consumo total de FDN fue de 5.5,

5.7, 5.8 y 6.2 kg/vaca/d para los tratamientos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. De igual manera, el consumo de pectinas fue de 0.12, 0.08, 0.08 y 0.72 kg/vaca/d para los tratamientos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Lo anterior significa un consumo mayor de aproximadamente el 12% en FDN y 6 veces mayor en el consumo de pectinas frente a los otros tratamientos. De acuerdo con lo anterior, es plausible biológicamente argumentar que la dieta que incluyó pulpa cítrica haya aumentado el porcentaje de grasa debido a los precursores acetogénicos tanto del suplemento como del forraje. De acuerdo con Heinrichs et al (2016) los porcentajes de grasa y proteína en la leche para la raza Holstein, deben estar aproximadamente en 3.65 y 3.06%, respectivamente; lo cual es más alto que los hallados en el presente trabajo. Sin embargo, los resultados están de acuerdo con el concepto de que una baja relación F:C (Tabla 2) está asociada con bajo contenido de grasa y proteína de la leche (Yang y Beauchemin, 2007).

De igual manera, el tratamiento que incluyó pulpa cítrica incrementó proporcionalmente la concentración de sólidos totales y la relación G:P de la leche. De acuerdo con Roche et al (2006) la relación G:P de la leche se puede afectar por la inclusión de almidón en el suplemento. Los autores establecieron una relación entre la cantidad de almidón consumido y la disminución en la relación G:P de la leche, proponiendo una disminución de 0.02 en dicha relación por cada kg de almidón consumido. Higgs et al (2013) mencionó que dicha relación se podría extender hasta 0.05 de disminución en la relación G:P de la leche por kg de almidón consumido. El consumo de almidón de las dietas evaluadas en el presente estudio fue de 2.9, 3.2, 2.6 y 2.2 kg/vaca/d para los tratamientos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. La diferencia entre el consumo de almidón en la dieta que incluyó yuca vs. la pulpa cítrica en el día 15, podría estar explicando las diferencias observadas en esta relación. Si bien las dietas que incluyeron maíz y sorgo fueron numéricamente superiores, estas no alcanzaron a ser diferentes estadísticamente.

El hallazgo importante de este trabajo fue la consistencia en el resultado entre la alta concentración de grasa (en porcentaje) de la leche junto con producciones de grasa diarias similares entre tratamientos lo cual confirma la teoría de McGuire et al (1995) que la insulina tiene poca o nula influencia sobre el control de la síntesis de grasa en la leche.

### *Perfil metabólico.*

Los perfiles metabólicos confirman que todas las vacas estuvieron en un buen estado de salud durante los períodos experimentales y que las dietas no afectaron el estatus general de los animales (Bertoni y Travesi, 2013).

La concentración de colesterol en la sangre es un índice de lipoproteínas circulantes (Bruss, 1997). Por lo tanto, la alta concentración de colesterol, HDL y LDL, observada en los tratamientos que incluyeron maíz y pulpa cítrica (Tabla 4) podrían ser tomados como un indicador de movilización y utilización de lípidos corporales de reserva como consecuencia de la demanda energética del animal en los primeros 100 días de lactancia. La alta movilización de lípidos en las vacas alimentadas con el suplemento que incluyó maíz y pulpa cítrica resultó en una mayor síntesis hepática de lipoproteínas para metabolizar más eficientemente los niveles circulantes de AGNE liberados durante la lipólisis del tejido adiposo. Es probable que las diferentes concentraciones de AGNE circulantes y BHB en leche durante algunos periodos de evaluación del presente trabajo podrían haber afectado la composición de la grasa de la leche (Rulquin y Delaby, 1997) aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas en la concentración en sangre tanto de AGNE como de BHB en leche, sus niveles estuvieron cercanos al límite fisiológico superior reportado por Bertoni y Trevisi (2013). Los niveles de BHB en sangre y en leche, guardan una alta correlación, siendo los BHB de la leche un 10-15% de los BHB circulantes en sangre (Duffield, 2000). De acuerdo con McArt et al (2012), los niveles de BHB de riesgo para una cetosis subclínica son de 1.2-2.9 mmol/L en sangre, lo cual muestra que los valores obtenidos en el presente trabajo estuvieron por debajo del valor mínimo (con excepción del tratamiento que incluyó la pulpa cítrica), asumiendo la bioequivalencia del 10-15% entre sangre y leche reportada previamente (Duffield, 2000). Aunque en el presente trabajo no se observaron diferencias significativas entre los BHB de la leche, se detectó una alta concentración de BHB en el tratamiento que incluyó la pulpa cítrica y lo cual podría asumirse con una cetosis subclínica. Sin embargo, no se observaron alteraciones en el CMS, ni en la relación G:P en la leche como para confirmar este hallazgo. Adicionalmente, la concentración de BHB en leche no es exclusivamente

de la lipomovilización sino que dependen también en gran proporción de los precursores butirogénicos de la dieta (DeFrain et al, 2004) lo cual fue corroborado por un estudio en vacas alimentadas con suplementos que incluyeron pulpa cítrica, reportando un incremento en la concentración ruminal de butirato, el cual es metabolizado por el epitelio ruminal a BHB y transportado hacia el plasma sanguíneo (Broderick y Clayton, 1997).

Aunque los valores de AGNE y de BHB no fueron estadísticamente diferentes, sí se presentó una interacción entre DEL x fuente de CNF, en el valor de CC y de cambio en la CC, la cual representó un puntaje más bajo y un cambio más pronunciado para el tratamiento que incluyó maíz y pulpa respectivamente, en el día 100 de lactancia (Tabla 4 y Figura 4).

La diferencia entre tratamientos en el PV de las vacas, podría sugerir que las dietas no cubrieron de igual manera los requerimientos nutricionales de dichos animales y que el balance energético no afectó de igual manera todos los tratamientos.

#### *Digestibilidad de nutrientes.*

La digestión de la grasa está influenciada por factores como la cantidad consumida y el grado de saturación de la misma (NRC, 2001). Igualmente, se ha reportado que los ácidos grasos insaturados son más digestibles que los saturados (Borsting et al, 1992). Si bien en el presente trabajo, los consumos de EE fueron similares entre ellos (entre 0.65 y 0.70 kg/vaca/d) el perfil de saturados e insaturados podría haber sido diferente. Por tanto, el incremento en la digestibilidad del EE podría ser explicado por el bajo grado de saturación de los tratamientos que incluyeron sorgo y yuca. La literatura reporta que, el sorgo y la yuca presentan niveles de grasa de 1.4 y 0.8%, respectivamente (INRA, CIRAD, AFZ, FAO, 2012-2015) y es posible que las diferencias sean ocasionadas más por la inclusión de la harina de arroz, la cual presenta un nivel aproximado de 17% de grasa y una relación de 3:1 de ácidos grasos insaturados vs. saturados la cual participó con niveles mayores en las dietas que incluyeron sorgo y yuca (Tabla 1).

El sorgo en su estado nativo, generalmente tiene la digestibilidad más baja de la MS y del almidón entre todos los cereales debido a su capa de endospermo periférico la cual es resistente a la digestión (Gomez et al, 2016). Sin embargo aquellos granos con bajas digestibilidades cuando sufren un proceso físico y térmico como la peletización (molienda +humedad temperatura), incrementan la susceptibilidad del almidón al ataque enzimático y a la digestión por romper la estructura del endospermo y de la matriz proteica que encapsula los gránulos de almidón y aumentan el grado de gelatinización de la región semi-cristalina (Kotarski et al, 1992). Particularmente en el sorgo, una gran proporción de los almidones puede escapar a la digestión ruminal las cuales pueden estar disponibles para la digestión, fermentación y absorción por el intestino delgado y grueso. Owens et al (1986) en una revisión de 40 experimentos, determinó que un 42% del almidón proveniente del sorgo pasó intacto por el rumen. De otro lado, Molan et al (2001) demostró que concentraciones de 400  $\mu\text{g/mL}$  o superiores de taninos condensados, redujeron el crecimiento bacteriano de cepas proteolíticas en el rumen lo cual podría retardar la degradación del N e incrementar el flujo de proteína hacia el duodeno, mejorando la eficiencia en la absorción tanto de proteína como de aminoácidos esenciales, lo cual es explicado por la unión que se produce entre tanino y proteína (Aerts et al, 1999). De acuerdo con Laverencic (2006) el efecto positivo que pueden tener los taninos condensados sobre las vacas de leche ha sido observado con concentraciones que no superan el 5% de la materia seca. La dieta que incluyó sorgo presentó un consumo total de taninos de 1.73 g (< del 1% del CMS<sub>T</sub>). Tomando todo lo anterior en conjunto, es factible afirmar la inclusión de sorgo en la dieta afectó positivamente la digestibilidad de la PC posiblemente por un escape de almidón y proteína al tracto digestivo posterior.

Las características asociativas de la yuca y el maíz (T3) produjeron una mejor digestibilidad de la PC lo cual es explicado por la casi completa digestión del almidón a nivel ruminal de la yuca, lo cual ocasiona un mejoramiento en la disponibilidad de energía en presencia de altas concentraciones de nitrógeno degradable en el rumen, optimizando la sincronía energía-N, contrario a lo que sucede con el suministro de las fuentes de almidón de manera individual (Haddad y Nasr, 2007).

## Conclusiones

Este estudio mostró que el reemplazo del maíz por sorgo, yuca y pulpa cítrica en el suplemento, resultó en  $CMS_T$ , relación F:C, producción de leche, LCG, LCE y EA similares. La dieta que incluyó pulpa cítrica mejoró el porcentaje de grasa en la leche en el DEL 15 postparto al igual que relación G:P y ST de la leche. La producción de colesterol, HDL y LDL fue mayor para los tratamientos que incluyeron maíz y pulpa cítrica. Ésta última dieta mostró un PV mayor frente a los otros tratamientos. La inclusión de sorgo y yuca incrementó la digestibilidad de la PC y del EE.

## Referencias

Aerts RJ, Barry TN, McNabb WC. Polyphenols and agriculture: Beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agric Ecosyst Environ* 1999; 75:1-12.

Ariza-Nieto P. Effect of carbohydrates and nitrogen sources on microbial fermentation in continuous culture. MSc Thesis 1998, University of Minnesota, St. Paul, USA.

Bampidis VA, Robinson PH. Citrus by-products as a ruminant feeds: A Review. *Animal Feed Sci and Technol* 2006; 128:175-217.

Bertoni, G., and E. Trevisi. Use of the Liver Activity Index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2013; 29:413-31.

Bittante G, Penasa M, Cecchinato A. Invited review: Genetics and modelling of milk coagulation properties. *J Dairy Sci* 2012; 95:6843–70.

Boerman JP, Potts SB, VandeHaar MJ, Lock AL. Effects of partly replacing dietary starch with fiber and fat on milk production and energy partitioning. *J Dairy Sci* 2015; 98: 7264-76.

Borsting CF, Weisbjerg MR, Hvelplund T. Fatty acid digestibility in lactating cows fed increasing amounts of protected vegetable oil, fish oil or saturated fat. *Acta Agric Scand Sect A Anim Sci* 1992; 42:148-56.

Britt JS, Thomas RC, Speer NC, Hall MB. Efficiency of Converting Nutrient Dry Matter to Milk in Holstein Herds. *J Dairy Sci* 2003; 86:3796-801

Broderick GA, Clayton MK. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *J Dairy Sci* 1997; 80:2964-71.

Bruss ML. Lipids and ketones. Pages 83–115 in *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 1997, 5th ed Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. ed Academic Press, San Diego, CA, USA.

Cerón-Muñoz MF, Galeano LF, Restrepo LF. Modelación Aplicada a las Ciencias Animales: Diseño experimental, con implementación del programa R-project. Fondo Editorial Biogénesis. Universidad de Antioquia 2013. Pp 84-97.

Chester-Jones H, Stern MD, Metwally HM, Linn JG, Ziegler DM. Effects of dietary protein-energy interrelationships on Holstein steer performance and ruminal bacterial fermentation in continuous culture. *J Anim Sci* 1991; 69:4956–66.

Correa HJ, Pabón ML y Carulla JE. Estimación del consumo de materia seca en vacas Holstein bajo pastoreo en el trópico alto de Antioquia. *Livestock Research for Rural Development* 2009. Volume 21, Article #59. Retrieved June 21, 2010, from <http://www.lrrd.org/lrrd21/4/corr21059.htm>.

De Ross APW, van den Bijgaart HJCM, Hørlyk J, de Jong G. Screening for Subclinical Ketosis in Dairy Cattle by Fourier Transform Infrared Spectrometry. *J Dairy Sci* 2007; 90:1761–66.

DeFrain JM, Hippen AR, Kalscheur KF, Schingoethe DJ. Feeding lactose increases ruminal butyrate and plasma beta-hydroxybutyrate in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87:2486-94.

Detmann E, Valadares Filho SC. On the estimation of non-fibrous carbohydrates in feeds and diets. *Arq Bras Med Vet* 2010; 62:980-84

Duffield T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Prac* 2000; 16:231-53.

Edgerton MD. Increasing crop productivity to meet global needs for feed, food, and fuel. *Plant Physiol* 2009; 149:7–13.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 1989; 72:68-78

Friggens NC, Emmans GC, Robertson S, Chamberlain DG, Whittemore CT, Oldham JD. The lactational responses of dairy cows to the amount of feed and to the source of carbohydrate energy. *J Dairy Sci* 1995; 78:1734-44.

Garnsworthy PC, Lock A, Mann GE, Sinclair KD, Webb R. Nutrition, metabolism, and fertility in dairy cows: 2. Dietary fatty acids and ovarian function. *J Dairy Sci* 2008; 91: 3824-33.

Giuberti G, Gallo A, Masoero F, Farraretto LF, Hoffman PC, Shaver RD. Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. *Starch* 2014; 66:72-90.

Gomez LM, Posada SL, Olivera M. Starch in ruminant diets. *Rev Col Cienc Pec* 2016; 29:77-90.

Haddad S, Nasr R. Partial replacement of barley grain for corn grain: associative effects on lambs' growth performance. *Small Ruminant Research* 2007; 72:92-5.

Hansen KM, Thuesen AB, Soderberg JR. Enzyme assay for identification of pectin and pectin derivatives, based on recombinant pectate lyase. *J AOAC Int* 2001; 84:1851-4.

Heinrichs J, Jones C, Bailey K. Milk Components: Understanding the Causes and Importance of Milk Fat and Protein Variation in Your Dairy Herd. Extension Department of Pennsylvania State University, 2016, code DAS 05-97.

Huntington GB. Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. J Anim Sci 1997; 75:852-67.

Huntington GB, Harmon DL, Richards CJ. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. J Anim Sci 2006; 84 Suppl:E14-4.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Productos químicos agrícolas. Método de ensayo para determinar el contenido de Calcio total. NTC 302. Bogotá D.C. 1998.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimento para animales. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo del contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl. NTC 4657. Bogotá D.C. 1999.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil. NTC 6888. Bogotá D.C. 2000.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de grasa. NTC 4969. Bogotá D.C. 2001a.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fósforo. Método espectrofotométrico. NTC 4981. Bogotá D.C. 2001b.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación del contenido de fibra cruda. Método con filtrado intermedio. NTC 5122. Bogotá D.C. 2002.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación - ICONTEC. Alimentos para animales. Determinación de ceniza cruda. NTC 4648. Bogotá D.C. 2007.

International Organization for Standardization – ISO. Animal feeding stuffs, animal products, and faeces or urine -- Determination of gross calorific value -- Bomb calorimeter method. ISO 9831. Geneva, Switzerland. 1998.

Jones ML, Allison RW. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet Clin North Am Food Anim Prac* 2007; 23:377-402.

Kotarski SF, Waniska RD, Thurn KK. Starch hydrolysis by the rumen microflora. *J Nutr* 1992; 122: 178–90.

Lees JA, Oldham ID, Haresign W, Gamsworthy PC. The effect of patterns of rumen fermentation on the response by dairy cows to dietary protein concentration. *Br J Nutr* 1990; 63:177-87.

Leiva E, Hall MB, Van Horn HH. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. *J Dairy Sci* 2000; 83:2866-75.

Lippke H. Estimation of Forage Intake by Ruminants on Pasture. *Crop Sci* 2002; 42:869-72. <http://crop.scijournals.org/cgi/reprint/42/3/869.pdf>.

Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD, Schabenberger O. *SAS for Mixed Models*. 2nd ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

McArt JA, Nydam DV, Oetzel GR. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J Dairy Sci* 2012; 95:5056-66.

McGuire MA, Griinari JM, Dwyer DA, Bauman DE. Role of insulin in the regulation of mammary synthesis of fat and protein. *J Dairy Sci* 1995; 78:816-824.

Miroslav K, Lamberson W. *Biostatistics for animal science* 2<sup>nd</sup> edition. CABI publisher 2009. Pp 307-335.

Molan AL, Attwood GT, Min BR, McNabb WC. The effect of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria in vitro and their possible mode of action. *Can J Microbiol* 2001; 47:626- 33.

Mosavi GHR, Fatahnia F, Mirzaei Alamouti HR, Mehrabi AA, Darmani Kohi H. Effect of dietary source on milk production and composition of lactating Holstein cows. *S Afr J Anim Sci* 2012; 42:201-9.

National Research Council (NRC): Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7<sup>th</sup> rev Washington, DC: National Academy Press; 2001.

Owens FN, Zinn RA, Kim YK. Limits to starch digestion in the ruminant's small intestine. *J Anim Sci* 1986; 63:1634-48.

Penning PD, Johnson RH. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid detergent fibre. *J Agric Sci* 1983; 100: 133-8.

Pilacha R, Schonewille JT, Thamrongyoswittayakul C, Aiumlamai S, Wachirapakorn C, Everts H, Hendriks WH. Starch source in high concentrate rations does not affect rumen pH, histamine and lipopolysaccharide concentrations in dairy cows. *Liv Sci* 2012; 150:125-42.

Poorkasegaran S, Yansari AT. Effects of different sources of carbohydrate on intake, digestibility, chewing, and performance of Holstein dairy cows. *J Anim Sci Biotechnol* 2014; 5:6

Posada SL, Ramirez JF, Rosero-Noguera R. Producción de metano y digestibilidad de mezclas kikuyo (*pennisetum clandestinum*) - papa (*solanum tuberosum*). *Agronomía Mesoamericana* 2014; 25:141-50.

Rulquin H, Delaby L. Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen-protected methionine. *J Dairy Sci* 1997; 80:2513-22.

Sakaguchi M. Differences between body condition scores and body weight changes in postpartum dairy cows in relation to parity and reproductive indices. *Can Vet J* 2009; 50:649-3.

Santana A, Meireles A. New starches are the trend for industry applications: A review. *Food Public Health* 2014; 4:229-41.

Silva LG, Torrecilhas JA, Garcia M, Eiras CE, Prado RM, Prado IN. Glycerin and essential oils in the diet of Nellore bulls finished in feedlot: animal performance and apparent digestibility. *Acta Scientiarum - Animal Sciences* 2014, 36: 177-84.

Strobel HJ, Russell JB. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *J Dairy Sci* 1986; 69:2941-47.

Tukey J. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics* 1949; 5:99-114.

Van Soest PJ, Wine RH. Determination of lignin and cellulose in Acid-Detergent fiber with permanganate. *J AOAC Int* 1968; 51:780-85.

Vazquez OP, Smith TR. Factors Affecting Pasture Intake and Total Dry Matter Intake in Grazing Dairy Cows. *J Dairy Sci* 2000; 83:2301-09.

Villalobos L, Sanchez JM. Evaluación agronómica y nutricional del pasto ryegrass perenne tetraploide (*Lolium perenne*) producido en lecherías de las zonas altas de Costa Rica. II. Valor nutricional. *Agronomía Costarricense* 2010; 34:43-52.

Weiss WP. Symposium: Prevailing concepts in energy utilization by ruminants. *J Dairy Sci* 1993; 76:1802-11

Williams CH, David DJ, Iismaa O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J Agric Sci* 1962; 59:381-5.

Yang WZ, Beauchemin KA. Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Chewing and ruminal pH. *J Dairy Sci* 2007; 90:2826-38.

Zhou Z, Blanchard C, Helliwell S, Robards K. Fatty Acid Composition of Three Rice Varieties Following Storage. *J Cereal Sci* 2003; 37:327-35.

## CAPÍTULO 5

### ANÁLISIS DE LA RENTABILIDAD DE LA PRODUCCIÓN DE LECHE VARIANDO LA FUENTE DE CARBOHIDRATO UTILIZADA EN EL SUPLEMENTO DE VACAS HOLSTEIN EN PASTOREO

Este capítulo está relacionado con el objetivo tres (cuantificar la rentabilidad derivada de la suplementación energética con diferentes fuentes de carbohidratos en sistemas de producción de leche especializada)

#### Introducción

En los últimos treinta años, la producción mundial de leche creció a una tasa anual promedio de 1.8%, pasando de 482 a 754 millones de toneladas entre los años 1982 y 2012, siendo la India el principal productor con el 16% de la participación, seguido por Estados Unidos, Rusia, Brasil y Nueva Zelanda, los cuales a su vez concentraron el 75% del total mundial (FAPRI, 2009; CONPES, 2010). A nivel de América Latina, Colombia ha conseguido ubicarse en el cuarto lugar, con un volumen aproximado de 6.500 millones de toneladas en el año 2014, estando por debajo de Brasil, México y Argentina, cuya producción representa el 66% del total de la región. A nivel mundial, Colombia se encuentra en el decimoquinto lugar del ranking total de productores (FEDEGAN, 2014). En el año 2008, los países que registraron mayor productividad, en términos de leche fresca por vaca, fueron: Estados Unidos con 30.6 kg/d, Francia con 20.7 kg/d y Suiza con 18.9 kg/d. Colombia presentó un rendimiento promedio de 6.1 kg/d (CONPES, 2010), valor altamente influenciado por los sistemas doble propósito, que generan el 55% de la producción nacional (FEDEGAN, 2009).

Globalmente, hay aproximadamente 300 millones de personas que dependen del ingreso diario por venta de leche. Si bien el desarrollo del mercado regional de leche es difícil de predecir, se considera que los países en vía de desarrollo, como Colombia, pueden beneficiarse de nuevas oportunidades, con un gran impacto social y económico (Banco Mundial, 2011). En el año 2012, la ganadería de leche en Colombia generó el 3.18% del

empleo total nacional, lo que correspondió al 13.92% de los empleos del sector agropecuario, el 10.2% del PIB pecuario y 0.9% del PIB nacional. La actividad agroindustrial de la leche proporcionó 13000 empleos directos, con una participación del 2% del empleo nacional y del 4% en la producción industrial (Jaramillo y Areiza, 2012).

Los costos de producción afectan negativamente la producción. Estos varían en función del nivel tecnológico aplicado en la granja, disponibilidad de mano de obra, agua y forrajes para el ganado, genética animal, entre otros (CONPES, 2010). Nueva Zelanda registra los costos de producción más bajos en el ámbito mundial. Contrariamente, Japón, Noruega y Suiza presentan altos costos de producción, debido a la falta de tierras para el ganado (CONPES, 2010). Los costos de producción en Colombia varían según la región y el sistema de producción. En el país, el costo promedio por litro para pequeños, medianos y grandes productores es de \$802, \$731 y \$774, respectivamente (Henao, 2011). Los rubros alimentación y mano de obra son los más importantes, representando el 75.8%. (Henao, 2011). El precio de los commodities, como el maíz, es uno de los factores que más influye en el costo de alimentación. Este ingrediente, debido a su alto contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF) (el almidón corresponde al 76% del peso del grano, Gómez *et al*, 2016) es muy demandado por el sector de alimentos para humanos y animales y, para la producción de biocombustibles (FAO, 2012). En este sentido, es necesario evaluar otras fuentes de energía para la elaboración de alimentos concentrados para animales, que a su vez permitan disminuir los costos de producción y, por ende, mejorar la rentabilidad.

El sorgo es una fuente importante de almidones (71.3%) (Gomez *et al*, 2016) para la ganadería de leche y su contenido de proteína cruda es más alto que el del maíz (Herrera-Saldana *et al*, 1990); no obstante, por presentar menor digestibilidad que éste último, se le atribuye menor valor nutricional. Esta característica no siempre resulta en disminución de la producción de leche. Hay reportes en la literatura que soportan la hipótesis de que el reemplazo de maíz por sorgo en dietas para vacas de alta producción no disminuye el desempeño productivo (Mitznert *et al*, 1994; Theurer *et al* 1999).

La yuca contiene entre 65-85% de CNF y se ha usado frecuentemente en la alimentación del ganado (Kanjapruithipong *et al*, 2001). Existe literatura que sugiere que los rumiantes responden favorablemente a la introducción de yuca en la dieta en reemplazo del maíz. Kanjanapruithipong *et al* (2001) demostró una mejor eficiencia alimenticia (EA) en producción de leche cuando se usó la yuca en el suplemento en reemplazo del maíz.

Los subproductos de cítricos son componentes importantes de los sistemas de alimentación de los rumiantes en muchas áreas del mundo y son una buena fuente de energía dietaria (Bampidis y Robinson, 2006). Uno de los subproductos cítricos más empleados es la pulpa cítrica, la cual contiene cantidades considerables de azúcar (12-40%) y carbohidratos fibrosos solubles en detergente neutro (22-45%) como las pectinas. (Hall *et al*, 2010). El reemplazo parcial de granos altamente fermentables por pulpa cítrica en la dieta del ganado lechero puede mejorar la salud ruminal y la eficiencia de la utilización del alimento para la producción (Arthington *et al*, 2002; Miron *et al*, 2002). Santos *et al* (2001) observaron un incremento en producción de leche cuando las vacas fueron alimentadas con pulpa cítrica en sustitución del 14% del maíz en dietas totalmente mezcladas. El efecto de la inclusión de pulpa cítrica bajo las condiciones de pastoreo que caracterizan la producción de leche en el trópico alto colombiano, no ha sido hasta el presente divulgado. Por tratarse de un subproducto agroindustrial, que puede registrar menores costos de comercialización respecto los granos de cereales tradicionalmente empleados en la alimentación del ganado, la inclusión de este ingrediente puede impactar la economía del sector productor de alimentos concentrados para animales y del productor pecuario dedicado a la actividad lechera.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la rentabilidad de la producción de leche en función de la fuente de carbohidrato utilizada para la suplementación de vacas Holstein en pastoreo.

## **Materiales y Métodos**

Los resultados experimentales del trabajo “Evaluación *in vitro* e *in vivo* de diversas estrategias nutricionales para mitigar las emisiones de metano y su impacto productivo,

reproductivo y económico en ganadería de leche especializada en el norte de Antioquia” aprobado por el Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia, Actas No. 76 (Mayo/2012) y No. 83 (Mayo/2013), constituyeron el insumo para establecer el precio de venta, los costos de producción y el análisis de rentabilidad asociado con la producción de leche que se presenta en este trabajo.

#### *Localización.*

El experimento se realizó en la granja Betania (6°4'57.9" N, 75°28'23.8" W), propiedad de la empresa Solla S.A., la cual está ubicada en el municipio de Santa Rosa de Osos (Antioquia-Colombia). Esta zona se encuentra a 2600 msnm y presenta una temperatura promedio de 19.1°C, humedad relativa de 67.9% y precipitación anual de 2400 mm, características de un bosque húmedo montano bajo (Holdridge, 1967).

#### *Animales y diseño experimental.*

Ocho (8) vacas Holstein friesian de  $534 \pm 34$  kg de peso vivo fueron usadas en un diseño en cuadrado latino replicado. El número de parto representó el efecto del cuadrado, de tal forma que los animales de tercer parto fueron asignados al primer cuadrado y los de cuarto y quinto parto, al segundo. Las unidades experimentales recibieron el mismo manejo de los restantes animales del hato. Los animales (efecto columna) participaron del trabajo los primeros 60 días posparto, por lo que la duración de cada período experimental (efecto fila) fue de 15 días; los primeros 10 días correspondientes al período de adaptación al tratamiento y los restantes 5 días, al período de medición.

#### *Dietas experimentales y alimentación.*

Los animales consumieron pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) de 41 días de rebrote que presentó la siguiente composición química en materia seca (MS): proteína cruda (PC), 24.7%; extracto etéreo (EE), 3.7%; fibra en detergente neutro (FDN), 52.9%; fibra en detergente ácido (FDA), 29.8%; lignina, 4.6%; cenizas (MI), 9.6%; y CNF, 9.1%. Los

animales pastorearon conjuntamente cada potrero durante 24 horas, garantizando una oferta forrajera de 31 kg de MS/vaca/d, aproximadamente. El consumo de materia seca de pasto (CMS<sub>P</sub>) se determinó a partir de marcadores, óxido crómico y materia seca indigestible (Penning y Johnson, 1983; Silva *et al*, 2014) y el consumo de materia seca del suplemento (CMS<sub>S</sub>) por diferencia entre la oferta y el rechazo. El consumo de materia seca total (CMS<sub>T</sub>) consistió en la suma del CMS<sub>P</sub> más CMS<sub>S</sub>.

Se garantizaron cuatro (4) diferentes suplementos isoenergéticos e isoproteicos, correspondientes a los tratamientos experimentales. El tratamiento 1 (T1) incluyó como fuente principal de energía el maíz (*Zea maíz*), en los tratamientos 2, 3 y 4 aproximadamente el 50% de los nutrientes digestibles totales (NDT) aportados por el maíz fueron garantizados por otras fuentes de CNF, a saber, sorgo (*Sorghum vulgare*, T2), yuca (*Manihot esculenta*, T3) y pulpa cítrica deshidratada (*Citrus sp.*, T4). En la Tabla 1 se presentan los ingredientes y la descripción química de los suplementos. La suplementación se realizó dos veces al día, durante el ordeño, a las 04:00 y 14:00 horas, y se estableció con base en el promedio de producción de leche semanal, en una relación próxima a 3.5:1 (1 kg de suplemento por cada 3.5 kg de leche). El agua se suministró *ad libitum*.

**Tabla 1.** Ingredientes y composición química de los cuatro suplementos concentrados

Ítem	Tratamientos experimentales			
	T1 ( <i>Z. maíz</i> )	T2 ( <i>S. vulgare</i> )	T3 ( <i>M. esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
<i>Ingredientes</i>				
Maíz	44.3	21.8	19.3	23.9
Sorgo <sup>1</sup>	-	22.5	-	-
Yuca	-	-	20.5	-
Pulpa cítrica	-	-	-	25.8
Maíz forraje	10.0	9.3	10.0	5.0
Salvado de trigo	11.2	10.0	11.8	10.0
Harina de arroz	8.6	10.8	11.7	7.6
Torta de girasol	8.0	8.0	5.0	8.0
Torta de soya	8.4	8.0	12.2	11.2
Melaza	4.4	4.4	4.4	4.4
Carbonato de calcio	3.7	3.7	3.7	2.3
Cloruro de sodio	0.86	0.89	0.91	0.81
Bicarbonato de sodio	0.30	0.30	0.30	0.30

Premezcla <sup>2</sup>	0.20	0.20	0.20	0.20
Fosfato tricálcico	0.17	0.10	-	0.58
<i>Composición química (%)<sup>3</sup></i>				
MS	89.7	89.5	91.5	89.4
PC	18.0	18.7	18.1	18.6
EE	4.3	4.3	4.3	4.6
MI	8.6	8.8	9.5	8.4
Ca	1.8	1.9	1.8	1.9
P <sub>t</sub>	0.7	0.7	0.7	0.7
FC	4.6	4.9	5.2	7.7
FDN	17.0	16.7	19.0	18.5
FDA	8.4	9.0	8.4	12.6
CNF <sup>4</sup>	52.2	51.6	49.1	49.9
Lignina	2.5	2.8	3.0	3.6
Almidón	30.4	31.8	25.6	21.2
Pectina <sup>5</sup>	1.4	<1.0	<1.0	8.9
EB, Mcal/kg	4.4	4.4	4.3	4.4
EN <sub>i</sub> <sup>6</sup> , Mcal/kg	1.6	1.6	1.6	1.6
NDT <sup>7</sup>	71.4	70.6	71.0	71.8

<sup>1</sup>Sorgo con contenido de 954.5 mg de Catequina/100g de muestra.

<sup>2</sup>Composición garantizada por cada kg de premezcla: vitamina A, 2.500.000 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 750.000 UI; vitamina E, 2.000 UI; Fe, 12.5 g; Cu, 2.5 g; Mn, 10 g; Zn, 10 g; I, 0.15 g; Co, 0.025 g; antioxidante BHT, 30 g.

<sup>3</sup>Expresada en el 100% de la materia seca (MS): PC, proteína cruda; EE, extracto etéreo; MI, material inorgánico (cenizas); Ca, calcio; P<sub>t</sub>, fósforo total; FC, fibra cruda; FDN, fibra en detergente neutro; FDA, fibra en detergente ácido; CNF, carbohidratos no fibrosos; EB, energía bruta; EN<sub>i</sub>, energía neta de lactancia; NDT, nutrientes digestibles totales.

<sup>4</sup>CNF = 100 – (PC+EE+FDN+MI).

<sup>5</sup>Cuantificado a partir de la concentración de ácido galacturónico

<sup>6</sup>EN<sub>i</sub> = (NDT\*0.0245)-0.12

<sup>7</sup>NDT = dvCNF + dvPC + (dvAG\*2.25) + dvFDN -7, donde AG= ácidos grasos (AG=EE-1) y dv = digestibilidad verdadera

### *Producción, calidad composicional, higiénica y sanitaria de la leche.*

La leche obtenida, tanto del ordeño am como pm, fue diariamente pesada los tres últimos días de cada período experimental (sistema automático MM27BC, DeLaval International AB, Sweden). La calidad composicional (proteína y grasa, valores expresados en porcentaje) y sanitaria (conteo de células somáticas, CCS, valores expresados en miles de células por mililitro) se determinó en el Laboratorio de Análisis de Leche de la Universidad de Antioquia. La calidad higiénica se evaluó mediante cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC), tomando la muestra de leche del tanque de enfriamiento de la granja durante todo el período experimental. Con base en el

desempeño productivo (producción de leche en litros) y el  $CMS_T$ , se determinó la EA, expresada en litros de leche por kilogramo de MS consumida. La conversión de kilogramos a litros de leche se realizó a partir de la densidad del producto (1032 g/litro).

#### *Ingreso por venta de leche.*

El precio de venta del litro de leche se basó en la Resolución 017 (Superintendencia de industria y comercio, 2012), por medio de la cual el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) estableció el sistema de pago de leche cruda al proveedor, de acuerdo con su calidad composicional e higiénico-sanitaria. En relación con la calidad composicional, el precio del litro de leche se determinó mediante el sistema de precio base del gramo de proteína y grasa, \$19.40 y \$6.46 (valores para el departamento de Antioquia). De acuerdo con la resolución 017 de 2012, el precio de venta del gramo de proteína triplica el valor asignado al gramo de grasa (Superintendencia de industria y comercio, 2012). La producción de proteína se estimó mediante la ecuación:  $Q_{gp} = [(Pr \cdot DL)/100]$ ; donde:  $Q_{gp}$ , g de proteína/litro de leche,  $Pr$ , g proteína/100 g de leche y,  $DL$  es la densidad de leche (1032 g/litro). De manera similar, se estimó la producción de grasa,  $Q_{gg} = [(Gr \cdot DL)/100]$ ; donde:  $Q_{gg}$ , g de grasa/litro de leche,  $Gr$ , g grasa/100 g leche y  $DL$  es la densidad de leche.

Las bonificaciones por calidad higiénica y sanitaria fueron sumadas al precio base por calidad composicional. Las bonificaciones que se cuantificaron fueron: certificación en buenas prácticas ganaderas (BPG, \$10, Certificado DTIIV-933 emitido por el Instituto Colombiano Agropecuario el 14 de junio de 2013), hato libre de brucelosis (\$10) y tuberculosis (\$10), unidades formadoras de colonias (UFC, valores fluctuando entre 0-25.000, \$79), CCS (valores inferiores a 400.000 cel/ml recibieron una bonificación de \$20 y por debajo de 200.000 cel/ml, de \$10 adicionales) y presencia de tanque de enfriamiento (\$15) (valores monetarios por cada litro de leche).

El costo de transporte correspondió al descuento que realizó el comprador al proveedor de leche, teniendo en cuenta el tipo de vehículo y la distancia planta de procesamiento-

unidad productiva (finca) (MADR, 2012). En el presente estudio, este costo correspondió a \$27 por cada litro de leche.

El precio de venta del litro de leche (P) fue hallado mediante la ecuación:  $P = ((V_{gp} \times Q_{gp}) + (V_{gg} \times Q_{gg}) + B_o) - T$ ; donde:  $V_{gp}$  = Valor del g de proteína,  $Q_{gp}$  = Cantidad de g de proteína contenidos en un litro de leche,  $V_{gg}$  = Valor del g de grasa,  $Q_{gg}$  = Cantidad de g de grasa contenidos en un litro de leche,  $B_o$  = Bonificaciones obligatorias,  $T$  = Costo de transporte. El precio de venta del producto se expresó en forma de índice, asignando el valor de 1 al tratamiento con mayor ingreso por litro de leche. Los valores restantes correspondieron a un porcentaje sobre ese valor.

#### *Costo de producción de leche.*

La estimación del costo de producción del litro de leche fue realizada mediante el concepto de costos diferenciales (costos fijos y costos variables). Los costos fijos incluyeron aquellos costos independientes del nivel de operación, tales como mano de obra, arrendamiento del terreno, servicios públicos, visita veterinaria, depreciación de instalaciones, equipos y animales. La depreciación de instalaciones y equipos se estimó considerando la vida útil; 15 años para el establo, la sala y los equipos de ordeño; 10 años para el tanque de enfriamiento y las canecas y, 5 años para las fumigadoras y el termo de enfriamiento de pajillas. La depreciación de los animales se calculó como [(valor comercial en la zona - valor residual)/ vida productiva de la vaca (7 años)]. El valor residual corresponde al valor de venta del animal de descarte. Todos los criterios de depreciación cumplieron con los parámetros establecidos en las normas internacionales de información financiera (2012).

Los costos variables incluyeron aquellos costos que se modificaron de acuerdo con el volumen de producción, esto es, insumos para el mantenimiento de las praderas, la sanidad y la alimentación animal. Los costos de alimentación incluyeron el costo del forraje y de los suplementos. El costo del forraje (\$/kg MS) se calculó a partir de la cantidad de insumos agropecuarios utilizados por pastoreo (fertilizante, pesticida) y de la mano de obra requerida para su aplicación (Osorio, 2004). La producción de 1 kg de MS

de forraje se valoró en \$73. El precio del suplemento correspondiente a los tratamientos 1, 2, 3 y 4 fue \$1050, \$1059, \$1021 y \$1416/kg MS, respectivamente.

Los costos fijos, variables y totales, por cada litro de leche, se expresaron en forma de índice. Al tratamiento que registró los menores costos se le asignó el valor de 1, el incremento porcentual en el costo de los restantes tratamientos se expresó con base en esa unidad.

A partir de la relación (1/EA) se calcularon los kilogramos de MS de alimento que se requieren para producir un litro de leche. Ese valor fue relacionado con la participación porcentual de forraje y suplemento en cada tratamiento, con el fin de determinar los kilogramos de MS de forraje y suplemento necesarios para producir el litro de leche. El producto de esas cantidades por el precio del kilogramo de MS de cada uno de los alimentos permitió estimar el costo de alimentación asociado con la producción del litro de leche. El costo de alimentación se expresó como porcentaje del costo total de producción en cada tratamiento experimental. Finalmente se estableció la diferencia: Precio venta/litro de leche-Costo alimentación/litro de leche.

#### *Análisis de rentabilidad.*

La rentabilidad se valoró a partir de diferentes parámetros, a saber, margen de utilidad bruta (MUB), margen porcentual (MP), relación precio de venta/costo de alimentación (PCA) y el índice de ingresos sobre costos de alimentación (ISCA).

El MUB se obtuvo por diferencia entre los ingresos por venta y el costo de producción del litro de leche. El MP resultó de la relación  $(\text{MUB}/\text{ingresos por venta del litro de leche}) \times 100$ .

La PCA correspondió al precio de venta de un litro de leche dividido por el costo de un kilogramo de materia seca (MS) de alimento (forraje más suplemento) (Wolf, 2010). Este indicador, por tanto, corresponde al número de kilogramos de MS de alimento que pueden ser comprados con los ingresos generados por la venta de un litro de leche. El costo del kilogramo de MS se obtuvo a partir de la relación forraje concentrado de cada tratamiento

y el costo correspondiente a estos alimentos. El precio de venta de la leche correspondió al obtenido para cada tratamiento, como fue descrito previamente.

El ISCA se calculó a partir de la ecuación:  $ISCA = [(\text{precio de venta de un litro de leche}) - (\text{costo de un kilogramo de materia seca total}) \cdot (1/EA)]$  (Wolf, 2010), donde EA corresponde a la eficiencia alimenticia, definida como los litros de leche producidos por kilogramo de MS consumida (Britt et al, 2003).

## Resultados

En la tabla 2 se muestra el efecto de los tratamientos sobre el CMS, la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria. No se presentaron diferencias estadísticas entre tratamientos ( $p > 0.05$ ) en las variables en estudio, sólo una tendencia estadística ( $p = 0.07$ ) en la producción de leche, que fue numéricamente superior e inferior para los tratamientos incluyendo yuca y pulpa cítrica, respectivamente. La EA fue similar entre los tratamientos T1 y T3 y entre los tratamientos T2 y T4, estos últimos presentando menores valores.

**Tabla 2.** Efecto de los tratamientos sobre el consumo de materia seca, la producción de leche y su calidad composicional y sanitaria.

Item	Tratamientos				EEM <sup>1</sup>	Valor p
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )		
CMS <sub>P</sub> , kg/animal/d	11.58	12.19	12.36	11.62	0.54	0.93
CMS <sub>S</sub> , kg/animal/d	7.78	8.59	8.13	8.30	0.22	0.16
CMS <sub>T</sub> , kg/animal/d	19.36	20.77	20.48	19.20	0.57	0.77
PL, litros/animal/d	32.15	31.33	33.54	30.63	1.11	0.07
Eficiencia, litros/kg MS	1.66	1.51	1.64	1.54	0.06	0.64
Grasa, %	3.50	3.67	3.83	3.72	0.14	0.52
Proteína, %	2.89	2.83	2.94	2.81	0.05	0.26
CCS (células x 1000)	150	231	269	309	52.8	0.63

<sup>1</sup>Error estándar de la media

El precio de venta del litro de leche para cada tratamiento se presenta en la tabla 3. El mejor precio de venta fue para el tratamiento que incluyó suplemento concentrado

formulado con yuca, respecto los suplementos que incluyeron maíz, sorgo y pulpa cítrica, los cuales presentaron precios similares entre ellos.

**Tabla 3.** Precio de venta del litro de leche para los tratamientos experimentales.

Item	Tratamientos			
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
Proteína, g/litro leche	29.82	29.21	30.34	29.00
Grasa, g/litro leche	36.12	37.87	39.53	38.39
<sup>1</sup> Precio de la proteína, \$/litro leche	578.6	566.6	588.6	562.6
<sup>1</sup> Precio de la grasa, \$/litro leche	233.3	244.7	255.3	248.0
<sup>2</sup> Precio base, \$/litro leche	812	811	844	811
<sup>3</sup> Precio de venta, \$/litro leche	939	928	961	928
<sup>4</sup> Indice	0.98	0.97	1.00	0.97

<sup>1</sup>El precio base de la proteína y la grasa fue calculado con los valores \$19.4 y \$6.46, respectivamente.

<sup>2</sup>Corresponde a la sumatoria del precio de la proteína y la grasa.

<sup>3</sup>Al precio base por calidad composicional se le suman bonificaciones por concepto de UFC, \$79; BPG, \$10; CCS, valores inferiores a 400.000 cel/ml recibieron una bonificación de \$20 y por debajo de 200.000 cel/ml recibieron bonificación de \$10; hato libre de Brucella y tuberculosis, \$20; frío, \$15. Se descuenta el costo de transporte, \$ (valores por cada litro de leche, comunes a todos los tratamientos).

<sup>4</sup>El valor 1 se asignó al tratamiento con mayor ingreso por litro de leche. Los restantes valores correspondieron a un porcentaje sobre ese valor.

En la tabla 4 se muestran los costos de producción por cada litro de leche. El tratamiento incluyendo pulpa cítrica presentó un costo total de producción 33% superior al tratamiento formulado con yuca, lo cual fue altamente influenciado por el costo variable del primero, que fue 43% superior respecto el tratamiento con yuca.

**Tabla 4.** Costo de producción del litro de leche para los tratamientos experimentales.

Item	Tratamientos			
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
Costo fijo, \$/litro leche	153.6	157.6	147.1	161.2
<sup>1</sup> Indice	1.04	1.07	1.00	1.10
Costo variable, \$/litro leche	345.1	383.5	334.3	476.9
<sup>1</sup> Indice	1.03	1.15	1.00	1.43
Costo total, \$/litro leche	498.7	541.1	481.4	638.1
<sup>1</sup> Indice	1.04	1.12	1.00	1.33

<sup>1</sup>Al tratamiento que registró los menores costos se le asignó el valor de 1, el incremento porcentual en el costo de los restantes tratamientos se expresó con base en esa unidad.

En la tabla 5 se muestra la proporción del costo de alimentación (forraje, suplemento) respecto los costos totales de producción. Los costos por consumo de forraje y de suplemento representaron el  $5.3 \pm 0.6\%$  y  $55.8 \pm 4.4\%$  de los costos totales de producción, respectivamente. El costo total de alimentación como proporción del costo total de producción fue superior para el tratamiento incluyendo pulpa cítrica, resultado del mayor costo asociado con el consumo de ese suplemento.

**Tabla 5.** Costo de alimentación y su participación en el costo total de producción

Item	Tratamientos			
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
Costo forraje, \$/litro leche	27.1	29.3	27.7	28.6
Costo suplemento, \$/litro leche	262.6	299.3	255.3	396.0
Costo total alimentación, \$/litro leche	289.7	328.6	283.1	424.6
Costo forraje/costo total, %	5.4	5.4	5.8	4.5
Costo suplementación/costo total, %	52.7	55.3	53.0	62.1
Costo alimentación/costo total, %	58.1	60.7	58.8	66.5
<sup>1</sup> Venta-Costo alimentación, \$	649.2	599.7	677.9	503.0

<sup>1</sup>Por cada litro de leche.

En la tabla 6 se presenta el análisis de rentabilidad de la producción de leche. El MUB y el MP por litro de leche fueron mayores en las dietas que incluyeron yuca. Los restantes indicadores de rentabilidad evaluados (PCA e ISCA) también estuvieron a favor del tratamiento incluyendo yuca. Los cuatro tratamientos superaron el punto de equilibrio y presentaron un MUB positivo.

**Tabla 6.** Análisis de rentabilidad de los cuatro suplementos concentrados

Item	Tratamientos			
	T1 ( <i>Z.maiz</i> )	T2 ( <i>S.vulgare</i> )	T3 ( <i>M.esculenta</i> )	T4 ( <i>Citrus sp.</i> )
MUB, \$/litro leche	440	387	480	289
MP, %	46.9	41.7	49.9	31.2
PCA, \$/\$	2.0	1.9	2.1	1.5
ISCA, \$	658	610	687	516

<sup>1</sup>Costo del suplemento: T1, \$1050; T2, \$1059; T3, \$1021; T4, \$1416 (valores por kg de MS)

<sup>2</sup>Costo del forraje: \$73/kg MS

## Discusión

El mayor precio base del litro de leche en el tratamiento con yuca (Tabla 3) obedeció a la superioridad numérica en producción de leche y concentración de grasa y proteína (Tabla 2). Esto demuestra la importancia de mejorar la calidad composicional del producto, como el principal elemento que determina el sistema de pago de la leche cruda en Colombia (Resolución 017, Superintendencia de industria y comercio, 2012). Los resultados del presente trabajo así lo confirman. Los atributos de la calidad composicional representaron más del 86% del precio de venta del litro de leche (Tabla 3). Este sistema, sumado a las bonificaciones por características higiénico-sanitarias promueve la optimización del producto para productores, industrializadores y consumidores, además de apuntar a la sustentabilidad y competitividad de toda la cadena láctea.

Los costos de producción afectan directamente las utilidades del negocio y son una variable importante en la toma de decisiones para mejorar la competitividad. En este sentido es necesario establecer el costo de producción sobre una medida comparable con cualquier otro productor, esto es, en términos de costo por litro de leche producido. De acuerdo con un reportaje divulgado en el año 2014 por el diario La República, en Colombia el costo promedio de producir un litro de leche era \$814/litro, mientras que en países como Argentina, India, Uruguay y Nueva Zelanda, los costos de producción promediaban \$675/litro (Delgado, 2014). Esto impacta negativamente el sector lácteo colombiano, que debe articularse exitosamente en los mercados internacionales y consolidarse en el mercado interno. El costo de producción del litro de leche del presente trabajo se encuentra por debajo de la media nacional reportada, lo cual obedece al mayor nivel de tecnificación asociado con los sistemas de lechería especializada. Si bien los costos fijos fueron los mismos para todos los tratamientos evaluados, las diferencias que se observan obedecen a la producción de leche exhibida por cada tratamiento. El tratamiento que incluyó pulpa cítrica en el suplemento fue el de menor nivel productivo y en esa medida el que registró mayor costo fijo/litro. Lo contrario sucedió con el tratamiento incluyendo yuca (Tabla 4). Los costos variables fueron los que más afectaron el costo total de producción, lo cual es altamente explicado por la utilización de suplemento. De acuerdo con el CONPES (2010), el rubro de suplementación representa entre 37.1 y

52.9% del costo total de producción para el caso de la ganadería de leche especializada en Antioquia y la sabana de Bogotá (CONPES, 2010). En el presente estudio, el costo de la suplementación varió entre 52.7 y 62.1% (Tabla 5), superando el anterior reporte. No obstante, debe tenerse en consideración que el período evaluado correspondió a los primeros 60 días de lactancia, donde la exigencia nutricional y metabólica del animal es elevada, dando lugar a una relación forraje concentrado promedio de 1.4:1 (59%/41%) (Tabla 2). Henao et al (2011), en un estudio realizado en 34 fincas del oriente y norte antioqueño, reportaron un costo de producción para grandes productores (>700 litros/d) muy superior (\$ 774/litro) al obtenido en el presente estudio.

Las diferentes fuentes de carbohidratos evaluadas en el presente trabajo afectaron el costo de producción. En la Tabla 1 se observa que los principales cambios en la formulación de los suplementos obedecieron a la fuente de carbohidrato empleada, y en esa medida, su disponibilidad y precio de comercialización explica las diferencias en el costo de suplementación respecto el costo total de producción. Esta situación se evidencia en el tratamiento que incluyó pulpa cítrica: 62.1% respecto un valor medio de 53.6% para los restantes tratamientos (Tabla 5). En Colombia, este ingrediente se encuentra concentrado en pocos productores de cítricos, los cuales tienen mínimo interés de comercializarlo debido al alto costo que implica su procesamiento y transporte. La baja oferta hace difícil su consecución, incrementa el costo e inviabiliza su uso en la formulación de alimentos para ganadería. La importación desde países que son grandes productores de cítricos, como Estados Unidos, Brasil y Costa Rica, tampoco es atractiva, ya que dicho subproducto no es ofrecido de manera constante durante todo el año y, al igual que el maíz, tiene un arancel del 63% (Comunidad Andina de Naciones, 2016). En el presente trabajo, el costo de la fórmula incluyendo pulpa cítrica se incrementó 34.9% respecto al suplemento formulado exclusivamente con maíz. En el caso del sorgo, el costo de la fórmula incrementó 0.9% y, con la introducción de yuca se redujo 2.8%. Como puede ser observado en la Tabla 5, el costo total de alimentación para producir un litro de leche depende en más del 90% del costo de la suplementación. La cantidad de forraje consumido para producir esa misma cantidad de leche sólo representó, en promedio, el 5.3% del costo total de producción y menos del 10% del costo total de alimentación.

La rentabilidad se refiere a la habilidad que tiene una empresa para generar un retorno económico neto con el uso de unos recursos o activos en particular (Hadley *et al*, 2002). El estudio de los efectos económicos de las estrategias de alimentación tendientes a mejorar el desempeño animal es fundamental para determinar si alguna de ellas tiene potencial de ser usada en la práctica, ya que las intervenciones nutricionales no sólo deben estar enfocadas a mejorar la producción, sino a optimizar el costo de producción y la rentabilidad. Los cálculos derivados del presente estudio mostraron que el MUB (retorno positivo de la inversión) por litro de leche fue 9.1% superior para el tratamiento que incluyó yuca (T3) respecto al tratamiento formulado exclusivamente con maíz (T1). El MUB para el tratamiento con pulpa cítrica (T4) fue 34.3% inferior respecto T1. La situación anterior se refleja en un MUB 39.8% superior para el tratamiento con yuca vs. el tratamiento con pulpa cítrica.

El comportamiento observado en el MUB y en el MP (superior para el tratamiento con yuca, seguido en orden descendente por maíz, sorgo y pulpa cítrica. Tabla 6), si bien depende del precio de venta del producto, es mayormente afectado por el costo total de producción del litro de leche. En la Tabla 2 se aprecia que el menor precio de venta correspondió al 97% del valor otorgado al tratamiento con yuca, mientras que en la Tabla 4 se observa que el costo de producción del litro de leche presentó mayor fluctuación respecto al costo del tratamiento con yuca. Este costo fue 4% superior en T1 (maíz) hasta 33% superior en T4 (pulpa cítrica).

La similitud en el PCA entre los tratamientos T1 (maíz) y T3 (yuca) (Tabla 6) obedece a la proximidad entre los valores de ingreso por venta y costo de producción por litro de leche. El precio de venta de T1 correspondió al 98% del valor asignado a T3 (Tabla 3); el costo de producción de T1 fue 4% superior al de T3 (Tabla 4). EL PCA corresponde al número de kilogramos de MS de alimento que pueden ser adquiridos con los ingresos generados por la venta de un litro de leche. En países como Estados Unidos, el PCA tradicionalmente fluctúa entre 2.5 a 3 (Wolf, 2010), superando los valores obtenidos en el presente trabajo. La tendencia en PCA es consistente con la dinámica observada en la diferencia (venta- costo de alimentación) por litro de leche (Tabla 5). El indicador PCA, por tratarse de una medida netamente económica, está afectada por la inflación relativa

que en el tiempo experimenten el precio de venta de la leche y el costo de alimentación. En este sentido, es necesario incorporar ingredientes en la dieta cuyo valor de adquisición sea competitivo, sin generar efectos negativos sobre el desempeño y calidad composicional de la leche producida, lo cual fue evidenciado en el presente experimento con la inclusión de yuca.

El ISCA es un indicador más real y confiable que PCA ya que, además de incluir el precio de venta y el costo de producción por cada litro de leche, considera la EA como un factor determinante de la rentabilidad. Comparativamente el T3 (yuca) presentó PCA 40% superior vs T4, mientras que en términos de ISCA, la superioridad fue del 33.1%.

## Referencias

Arthington JD, Kunkle WE, Martin AM. Citrus pulp for cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2002; 18:317-326.

Bampidis VA, Robinson PH. Citrus by-products as a ruminant feeds: A Review. *Animal Feed Sci Technol* 2006; 128:175-217.

Banco Mundial. Module 4- Smallholder dairy production. *Agriculture Investment Sourcebook* 2011. Disponible en <http://go.worldbank.org/LE880YAAH0>.

Britt JS, Thomas RC, Speer NC, Hall MB. Efficiency of converting nutrient dry matter to milk in Holstein herds. *J Dairy Sci* 2003; 86:3796-801.

Comunidad Andina de Naciones. Sistema Andino de Franja de Precios. Informe del 16 al 31 de Mayo de 2016. Disponible en:

<http://www.comunidadandina.org/Seccion.aspx?id=70&tipo=TE&title=franja-de-precios>

CONPES-Consejo Nacional de Política Económica y Social. Política nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano. 2010. Documento 3675.

República de Colombia. Departamento Nacional de Planeación. Bogotá D.C.

Delgado P. Producción de leche es un negocio poco rentable por altos costos y baja inversión. *Diario la República* Agosto 29, 2014. Disponible en:

[http://www.larepublica.co/producci%C3%B3n-de-leche-es-un-negocio-poco-rentable-por-altos-costos-y-baja-inversi%C3%B3n\\_162121](http://www.larepublica.co/producci%C3%B3n-de-leche-es-un-negocio-poco-rentable-por-altos-costos-y-baja-inversi%C3%B3n_162121)

FAO 2012. Producción de leche. Consultado el 3 feb 2016. Disponible en:

<http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/es/#.VrHQMNlhDIW>

FAPRI. Agricultural Outlook, World Dairy Products. 2009.

FEDEGAN. Estadísticas 2009. Disponible en

<http://www.fedegan.org.co/estadisticas/produccion-0>

FEDEGAN. Estadísticas 2014. Disponible en

<http://www.fedegan.org.co/estadisticas/produccion-0>

Gomez LM, Posada SL, Olivera M. Starch in ruminant diets: a review. Rev Colom Cienc Pec 2016; 29:77-90.

Hadley GL, Harsh S, Wolf C. Managerial and financial implications of major dairy farm expansions in Michigan and Wisconsin. J Dairy Sci 2002; 85:2053-64.

Hall MB, Larson CC, Wilcox CJ. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. J Dairy Sci 2010; 93:311-22.

Hadley GL, Harsh S, Wolf C. Managerial and financial implications of major dairy farm expansions in Michigan and Wisconsin. J Dairy Sci 2002; 85:2053-64.

Heno GA. Costos de producción de un litro de leche. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Administrativas, Corporación Universitaria Lasallista 2011, Caldas, Antioquia.

Herrera-Saldana R, Huber TJ, Poore MH. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. J Dairy Sci 1990; 73:2386-93.

Holdridge LR. Life Zone Ecology. Tropical Science Center 1967. San José, Costa Rica.

Jaramillo AR, Areiza AM. Análisis del mercado de la leche y derivados lácteos en Colombia (2008-2012). Superintendencia de industria y Comercio 2012. Disponible en:

[http://www.sic.gov.co/drupal/recursos\\_user/documentos/promocion\\_competencia/Estudios Economicos/Estudios Economicos/Estudio Sectorial Leche1.pdf](http://www.sic.gov.co/drupal/recursos_user/documentos/promocion_competencia/Estudios Economicos/Estudios Economicos/Estudio Sectorial Leche1.pdf)

Kanjanapruthipong J, Buatoug N, Kanto U, Juttupornpong S, Chaw-Uthai W. Cassava Chips and Ground Corn as Sources of Total Non-Fiber Carbohydrates in Total Mixed Rations for Dairy Cows. *Asian Australas J Anim Sci* 2001; 14:206-10.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). Sistema de Pago de Leche Cruda al Productor. Resolución 017 de 2012.

Miron J, Yosef E, Ben-Ghedalia D, Chase LE, Bauman DE, Solomon R. Digestibility by dairy cows of monosaccharide constituents in total mixed rations containing citrus pulp. *J Dairy Sci* 2002; 85:89-94.

Mitzner KC, Owen FG, Grant RJ. Comparison of sorghum and corn grains in early and midlactation diets for dairy cows. *J Dairy Sci* 1994; 77:1044-51.

Normas internacionales de información financiera (NIIF). Propiedades, Planta y Equipo. NIC 16. International Financial Reporting Standards 2012. Disponible en: <http://www.ifrs.org/IFRSs/IFRS-technical-summaries/Documents/Spanish2012/IAS16.pdf>

Osorio F. Efecto del manejo alimentario sobre el sistema especializado de producción lechera. En: memorias Seminario Nacional de Lechería Especializada: Bases Nutricionales y su Impacto en la Productividad. Eventos y Asesorías Agropecuarias, Auditorio de la Salud, Hospital General de Medellín 2004, Septiembre 1 y 2: 141-152.

Penning PD, Johnson RH. The use of internal markers to estimate herbage digestibility and intake. 2. Indigestible acid detergent fibre. *J Agric Sci* 1983; 100:133-8.

Santos FAP, Menezes Júnior MP, Simas JMC, Pires AV, Nussio CMB. Corn grain processing and its partial replacement by pelleted citrus pulp on performance, nutrient digestibility and blood parameters of dairy cows. *Acta Sci Anim Sci* 2001; 23:923-31.

Silva LG, Torrecilhas JA, Garcia M, Eiras, CE, Prado RM, Prado IN. Glycerin and essential oils in the diet of Nellore bulls finished in feedlot: animal performance and apparent digestibility. *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 2014; 36:177-84.

Superintendencia de industria y comercio. Diario oficial 48335, resolución 000017 de 2012. Sistema de pago de leche cruda al proveedor. Disponible en:[http://www.sic.gov.co/drupal/sites/default/files/normatividad/get\\_file%3Fuuid%3Ddef3be8c-7678-4ef8-bb7d-cb8643c3f07d%26groupid%3D10157.pdf](http://www.sic.gov.co/drupal/sites/default/files/normatividad/get_file%3Fuuid%3Ddef3be8c-7678-4ef8-bb7d-cb8643c3f07d%26groupid%3D10157.pdf)

Theurer CB, Huber JT, Delgado-Elorduy A, Wanderley R. Summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1999; 82:1950-9.

Wolf CA. Understanding the milk to feed price ratio as a proxy for dairy farm profitability. *J Dairy Sci* 2010; 93:4942-48.

## CONCLUSIONES GENERALES

La fermentación ruminal del almidón y las pectinas, determinan el valor nutritivo para los rumiantes. Se ha reportado que la tasa y extensión de la digestión ruminal del almidón altera el pH, la actividad celulolítica, la síntesis de proteína microbiana y la producción animal (Huhtanen y Sveinbjörnsson, 2006). Existe un gran interés por evaluar fuentes alternativas diferentes al almidón y que potencialmente mejoren la respuesta productiva en el animal. De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, la inclusión de maíz (*Zea maíz*), sorgo (*Sorghum vulgare*), yuca (*Manihot esculenta*) y pulpa cítrica deshidratada (*Citrus sp.*) no afectaron el pH ruminal, ni alteraron la salud ruminal y sistémica de la vaca a pesar de las diferencias en degradabilidad de cada una de las fuentes. Se ha reportado que el alto consumo de carbohidratos no fibrosos (CNF), puede activar una respuesta inflamatoria sistémica ocasionada por la alta producción de ácidos grasos volátiles (AGV), la concomitante disminución del pH y la lisis de bacterias gramnegativas liberando lipopolisacáridos (LPS) al rumen, las cuales pueden activar el sistema inmune, alterando el desempeño productivo y la salud de la vaca (Akira et al, 2006). En el presente trabajo no se observaron alteraciones en el consumo de materia seca (CMS), relación grasa proteína, score de locomoción, perfil metabólico y en el hemoleucograma. Adicionalmente, se observó una mejor respuesta productiva y un incremento en la producción de proteína en la leche con la inclusión de la yuca. Lo anterior es un hallazgo con implicaciones económicas importantes, porque mejora la rentabilidad asociada con la producción de leche debido al mejor precio de venta (en gran parte influenciado por la respuesta de éste tratamiento en la calidad composicional, higiénica y sanitaria de la leche) y el menor costo en la formulación debido al bajo precio de la yuca en el mercado colombiano. No obstante, los resultados de desempeño con la inclusión de la yuca, no fueron consistentes cuando se amplió el período de evaluación de 60 días a 105 días postparto, en donde no se observaron diferencias en producción de leche y proteína, pero sí un incremento en el porcentaje de grasa, relación grasa proteína y porcentaje de sólidos totales, con la inclusión de la pulpa cítrica en el inicio de la lactancia. El perfil metabólico mostró niveles superiores para las dietas que incluyeron

maíz y pulpa cítrica en algunos parámetros como colesterol, HDL y LDL aunque no observó una respuesta con la misma tendencia en el balance energético negativo o en la calidad composicional de la leche. La digestibilidad del extracto etéreo y de la proteína fue mejor para los tratamientos que incluyeron sorgo y yuca, lo cual es posiblemente debido a la gran proporción de almidones que pasan al intestino delgado con el sorgo y a la alta degradabilidad ruminal de la yuca aunque no siempre dichos incrementos están asociados a un mejor desempeño tal como fue descrito en este trabajo.

## **Referencias**

Huhtanen P, Sveinbjörnsson J. Evaluation of methods for estimating starch digestibility and digestión kinetics in ruminants. *Anim Feed Sci Technol* 2006; 130:95-113.

Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124:783-801.

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### Normas para sometimiento de artículos de la Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias

##### Author Guidelines

###### Types of articles and maximum length (spaces and references included):

1. Original Research Articles (30.000 characters)
2. Short Communications (10.000 characters)
3. Literature Reviews (40.000 characters)
4. Clinical Cases and Case Studies (15.000 characters)
5. Letters to the Editor (5.000 characters)

###### MANUSCRIPT FORMAT GUIDELINES

**Manuscripts must be written fully in English** (MS Word, Times New Roman, 12 font, and 1.5 line spacing). All pages and lines must be numbered. **Please number page lines consecutively from the first to the last page.**

The editor reserves the right to demand that authors revise the translation or to cancel the processing of the manuscript if it contains errors of spelling, punctuation, grammar, terminology, jargons or semantics that can either compromise good understanding or not follow the Journal standards. For papers originally written in a language different than English we strongly recommend that qualified native speakers of English make the translation. **We strongly recommend your manuscript to be edited by a highly qualified native speaker of American English before submission. Authors are encouraged to use a language-editing service, such as\*:**

Asia Science Editing: <http://www.asiascienceediting.com/>

Biomeditor: <http://www.biomeditor.com>

Bioscience Editing Solutions: <http://scienceditors.com>

BioScienceEditors: <http://www.bioscienceeditors.com>

BioScience Writers: <http://www.biosciencewriters.com/>

Editage: <http://www.editage.com>

Boston BioEdit: <http://www.bostonbioedit.com/>

English Manager Science Editing: <http://www.sciencemanager.com>

ESE - English Science Editing: <http://www.english-science.com>

Inter-Biotec: <http://www.inter-biotec.com>

International Science Editing: <http://www.internationalscienceediting.com/>

ScienceDocs: <http://www.sciencedocs.com>

Scriptoria: <http://www.script-edit.com>

SPI Publisher Services: <http://www.prof-editing.com/index.php>

SquirrelScribe.com: <http://www.squirrelscribe.com/>

Write Science Right: <http://www.writescienceright.com/>

*\*This is a partial list for informational purposes only. RCCP has no relationship with these services and neither endorses nor takes responsibility for their services. In addition, use of any of these services does not guarantee the acceptability of a manuscript for publication.*

## **1. ORIGINAL RESEARCH ARTICLE.**

These are unpublished manuscripts based on scientific and technological reports resulting from original research.

**Title.** Should be in English, Spanish, and Portuguese (centered and bold). Scientific names should be set in italics (e.g., *Bos indicus*, *Escherichia coli*, *Bruceella abortus*).

**Names of authors.** Should be centered and in the following order: first name, middle name initial and complete last name (without any punctuation marks between them), followed by a number (in superscript and italics) indicating the affiliation of the author. Use commas to separate academic degrees (abbreviated) of authors. Separate names of authors by semicolon (e.g., Jorge E Ossa<sup>1</sup>, MV, PhD; Fabio N Zuluaga<sup>2</sup>, MV, MSc).

**Affiliation.** Affiliations are placed below the authors, centered and with numbers corresponding to authors in superscript and italic font. Do not translate institutional names. Include complete affiliations for each author. E.g.:

Jorge E Ossa<sup>1</sup>, MV, PhD; Fabio N Zuluaga<sup>2</sup>, MV, MSc.

<sup>1</sup>BIOGENESIS Research Group, and Virology Laboratory, School of Medicine, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellin, Colombia.

<sup>2</sup>Medical Laboratory, Hospital Las Américas, Medellin, Colombia.

Please note: the name of the institution should not be translated into English (eg.: Universidad de Antioquia, Hospital Las Americas, etc).

**Corresponding author.** Must be referenced by an asterisk and placed as a footnote. Specify both mailing and e-mail addresses.

**Summaries (abstracts) and keywords must be prepared in three languages: Summary** (English), **Resumen** (Spanish), and **Resumo** (Portuguese):

Each Summary should be a single paragraph with up to 250 words, including the following subtitles (**bolded**): **Background**, **Objective**, **Methods**, **Results**, and **Conclusions**. Do not cite references in the summaries.

List 4 to 6 keywords in each language, separated by commas, and presented in alphabetical order and in italics. **Keywords should not be repeated in the title.**

**We strongly recommend to choose the keywords from a Thesaurus, e.g.,** MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>), DeCS (<http://decs.bvs.br/1/homepagei.htm>), AGROVOC (<http://aims.fao.org/standards/agrovoc>), UNESCO (<http://databases.unesco.org/thesaurus/>), National Agricultural Library Thesaurus (<http://agclass.nal.usda.gov/dne/search.shtml>), etc.

**Body of the manuscript:**

**Introduction.** The introduction should not exceed 400 words. It should present the most relevant literature associated with the main topic, tested hypotheses and objectives.

**Materials and methods.** This section can be divided into sub-sections and must include:

A statement of approval obtained from an institutional animal care and use committee (IACUC), or equivalent (including date of approval and code, protocol or approval number, if available). This IACUC statement must include the exact designation of the authorizing agency and should appear as the first item in the Materials and Methods section.

The manuscript should also describe care taken to minimize pain or discomfort during animal procedures and all drugs used to deal with animal pain or discomfort (i.e. tranquilizers, analgesics and anesthetics). Justification must be provided in the paper in case the study implied discomfort to the animals or stressful conditions.

Reports or studies involving client-owned animals (i.e. clinical cases or case reports in Veterinary Medicine) should be approved by the appropriate Hospital Board where the study was conducted and owners' written consent forms may be required by RCCP. The Journal reserves the right to reject manuscripts not complying with proper approval or because of animal welfare concerns. The Journal may request further information from authors regarding care and use of animals, including evidence of regulatory approval, client consent, or compliance with local regulations.

Describe the methods used or standardized by the authors. If a method has already been described by other authors do not include details but give the respective references. Methods modified by the authors should include the references and description of modifications made.

In case of subtitles describing procedures and protocols, proceed as follows:

*First order subtitle.* Type it in italic, do not use bold font. Begin the description of the procedure in the line below the subtitle.

*Second order subtitle.* Type it in italic, do not use bold font. Begin the description in the same line of the subtitle.

Methods should include:

Location of the study, type of study, species and number of animals used, statistical analysis (specifying the procedures used, the transformed data to facilitate analysis, statistical models applied, significance level, and error types).

**Abbreviations and Acronyms.** When a proper name is in a language other than the language of the manuscript, do not translate it. The name must be followed by its respective abbreviation in parentheses, e.g.: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Thereafter, use the abbreviation in the text without further explanation.

**Chemical compounds and equipment used** must be followed by the parent company, city, state and country between parentheses. E.g.: substance xx was used (Sigma, St Louis, MO, USA).

**Results.**

Titles and subtitles of this section follow the same rules previously described in Materials and Methods.

Results must be expressed in past tense. Statistical significance must be shown in parentheses, e.g.: (p<0.05).

Tables and figures are placed where they are mentioned in the text (please **do not place them at the end of the manuscript**).

All tables and figures must be referred into the text.

Photographs should be in high quality format (TIFF or EPS) with a **minimum of 300 dpi**.

Express units of measurement according to the International System of Units (SI).

Use a space between the number and the unit, except for the symbol for percentage (%) and currency (\$).

Abbreviated units should always be singular (e.g.: 3 cm. Do not write: 3 cms).

Do not use a period after a unit of measurement, except at the end of a sentence.

Do not repeat abbreviated units when expressing multiple amounts (e.g.: 3 to 5 kg. Do not write: 3 kg to 5 kg).

Use a period, and not a comma, to separate decimals (e.g.: 3.5. Do not write: 3,5).

All tables and figures (photographs included) should be identified by an Arabic number followed by a period. The table title must be located above the table and the figure title below the image. The first word for column and row headings should be capitalized.

Tables must only have horizontal lines between the title and subject headings (see examples of tables from previously published journal articles). Do not use vertical lines. Use Times New Roman font for the tables.

Units included in the headings should be set in parentheses. Numbers, letters or asterisks indicating notes placed below the table, statistical measures or particular meanings, should be written by superscript and set in italic font. Likewise, and just in special cases, explanatory notes about the methodology used can be placed underneath a table in italics.

#### **Discussion.**

The discussion is independent from the results section. It should interpret and discuss the results obtained with relevant data from the literature. This section should include detailed discussions associated only with the results presented in the manuscript.

*References within the text.* Give the author(s)' last name(s) followed by the year of publication.

E.g.: (Jaramillo, 2006; Zuluaga y Tobón, 2008; Botero *et al.*, 2009) or Muñoz *et al.* (1998).

This section must include a final paragraph with the conclusions of the study.

#### **Acknowledgments.**

You can mention institutions and people who financed or assisted in conducting the study, and also the grants awarded.

**Conflicts of interest.**

Declare potential conflicts of interest for all authors. If there are no conflicts of interest, please write:

The authors declare they have no conflicts of interest with regard to the work presented in this report.

.....

**References****How To Write The Reference List**

Journal names must be abbreviated according to the *Index Medicus* guidelines, with no period at the end of abbreviations. References should be listed according to the following examples:

**A. Original Research Articles****1. *Original Article, e.g.:***

Cushman RA, Allan MF, Kuehn LA, Snelling WM, Cupp AS, Freetly HC. Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: Investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. *J Anim Sci* 2009; 87: 1971-1980. <http://www.animal-science.org/content/87/6/1971.full>

**2. *Organization or Institution, e.g.:***

Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164: 282-284.

**3. *Reference with no Identified Author, e.g.:***

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994; 84:15.

**4. *Journal Supplement, e.g.:***

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-282.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1566900/>

**5. *Reference with neither Volume nor Number, e.g.:***

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993:325-33.

**B. Books****1. *Author(s), e.g.:***

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

**2. *Book chapter, e.g.:***

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Raven Press; 1995. p.465-78.

**3. Editor(s) or Compiler(s) as Author(s), e.g.:**

Norman DJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

**4. Organization, e.g.:**

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medical program. Washington: The Institute; 1992.

**C. Proceedings, e.g.:**

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

**D. Personal Communication**

Cite personal communications in text only (do not include them in the reference list). Give the author's name, affiliation and provide a date when the communication took place, e.g.:

P. Jones (personal communication, April 15, 2005):

**E. Electronic Reference, e.g.:**

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. Emerg Infect Dis 1995; [access date:...]  
URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

.....  
**2. SHORT COMMUNICATION**

Short communications have the same content as original research articles but should be significantly shorter than regular research articles.

**3. LITERATURE REVIEWS**

Critical analysis of the published literature about a subject of interest. It should focus preferentially on animal sciences, including animal health and husbandry. Manuscripts must follow the previous rules, except for Materials and Methods, Results, and Discussion; instead, use titles and subtitles about the review topic. Authors should discuss in detail the current literature; furthermore, authors should give a critical opinion about strengths, weaknesses, and research opportunities related to the proposed topic.

**4. CLINICAL CASES and CASE STUDIES**

Include the following: title, author(s) name(s), affiliation, abstracts in the three languages (not exceeding 150 words each), and keywords.

Abstracts must be organized by subtitles (in **bold**), including: **Anamnesis, Clinical and laboratory findings, Treatment approach, and conclusion.**

The body of the paper must include the following titles: **Introduction, Patient examination** (with the following subtitles: *anamnesis, clinical findings, and diagnostic aids used*), **Treatment approach, Discussion, and Conclusions.**

References within the text should be cited as in Original Research Articles.

**5. LETTERS TO THE EDITOR**

Authors are free of choosing the writing style they prefer as long as it meets the editorial guidelines previously stated.

+++++

**AUTHOR AGREEMENT**

Authors are required to fill, sign, and submit the form titled "Author Agreement" along with the manuscript.

It is acceptable to submit a packet of several independent forms that include the total of authors (e.g. if authors are at different locations they can sign separate forms).

**COPYRIGHT NOTICE**

The authors enable RCCP to reprint the material published in it. In case an author wants to translate or use a partial or complete publication of our Journal, the author must obtain written permission from the Director of the Journal.

Neither the Universidad de Antioquia nor the Journal are responsible for the concepts in the published articles. The authors remain responsible for the content of their articles.

**PRIVACY STATEMENT**

The names and email addresses entered in RCCP journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.

The ISSN of the printed version (ISSNp) of RCCP is: **0120-0690**

The ISSN of the online version (ISSNe) of RCCP is: **2256-2958**

## ANEXO 2

### Normas para sometimiento de artículos de la Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia

#### Instructions to authors

The production, application and divulgation of academic and scientific knowledge, are priorities in universities, involving constant and rigorous pursuit of knowledge and understanding of basic research and specific problem solving with applied research, finding optimal, effective and economical alternative solutions to problems in the area starting with theoretic fundamentals.

Therefore, the disclosure of this knowledge must be an element on a local, national and international level; for it and with the social responsibility that we commits us, the Faculty of Veterinary Medicine in 2006 founded the journal CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, which is a biannual online publication and with open access, which seeks to divulgate academic and scientific information in the areas of veterinary medicine and animal production.

Manuscripts submitted to the journal CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, must be original and not previously published, therefore articles that are published or submitted for peer review to other journals in the local, national or international context, will not be accepted.

#### Pair review process

The evaluation process for all manuscripts postulated to the CES journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry is double-blinded, and the process is as follows:

Receipt of manuscripts (see section document delivery).

Review by technical editors and the editorial board of the relevance and the basic structure of manuscript submission (maximum 15 calendar days).

If the item is not relevant, it is returned to the author or authors.

If the item is relevant but not structured according to the rules of the magazine, it is returned to the author or authors for the required modifications.

When the editorial board approves the relevance and basic structure of the article, there will be a double-blind evaluation, with two pairs of national or international experts on the specific subject. Pair reviewers will have a maximum time of delivery to the editorial board of suggestions and comments of 30 calendar days. At no time and under no circumstances will the authors have knowledge of the reviewers of the article evaluated. And, also at no time and under no circumstances the author or authors will have knowledge of who the pair of reviewers of the article evaluated are.

If reviewers have a consensus and approve the article with modifications, it will be immediately sent to the author or the authors to modify the article and will have a maximum of 30 calendar days to send it back to the Journal. The editorial committee will revise the incorporation of the suggestions made by the pair reviewers, and if necessary send it back to the pair reviewer or reviewers for their concept. In case of failure to carry out the suggestions, it will be returned to the author or authors to modify the article.

Should the author or authors disagree with one or more suggestions or comments by the pair reviewers, they should

send a letter defending their position, to be considered by the editorial board and the respective pairs.

If one reviewer rejects the document and the other accepts it (with or without modification), it will be sent to a third evaluation expert on the subject at the national or international scope, who unknowingly decides the approval or disapproval of the document.

#### Contents

The contents of the journal are the following:

Editorial. Space reserved for communications by the publisher.

Letters to the editor. Opinions on recently published discussion topics.

Responses from the editor and / or author (s) Space reserved for responding to readers queries.

Original article. A document that presents, in detail, the original results of completed research projects. The structure usually contains four elements: introduction, methodology, results and conclusions.

Reflection article. Document presents completed research results from an analytical, interpretative or critical perspective, on a specific topic using original sources.

Review article. A document resulting from a completed investigation, analyzing, systematizing and integrating published or unpublished research findings, on the field of science or technology, in order to account for the progress and trends of development. It is characterized by a careful review of the literature of at least 50 references.

Short article. A short document which presents preliminary or partial original results of scientific or technological research, which usually require a quick diffusion.

Clinical case report. Document that presents the results of a study on a particular situation in order to present the technical and methodological experiences considered in a specific clinical case. Includes an annotated systematic review of the literature in similar cases.

Subject review. Document resulting from the critical review of the literature on a particular topic, very innovative in its emphasis on depth. A thorough review of the literature of at least 50 references must be carried out.

Reflection article not derived from research. A document which presents research results completed from an analytical, interpretative or critical perspective on a specific topic using original sources.

Research summaries. Summaries of published or unpublished research of high relevance and scientific value.

Space for academic and scientific diffusion. Consists of a document prepared by the author, in which ideas and concepts are presented on a specific academic or institutional topic.

## Form and preparation of manuscripts

### General rules of publication

Scientific names. To be written in italics, should be capitalized at the initial letter of the genera and lower at the initial letter of the species (e.g. *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*)

Drafting of document. This should be performed according to international standards for writing scientific papers, in terms of syntax, abbreviations, symbols, acronyms, atomic, zoological, botanical, and chemical nomenclatures, among others. You must use the International System of Units (SI). Names written in a different language should be in italics.

Type of units. The International System of Units (SI) will be used. You must leave a space between number and unit, except for the percent (%) and dollars (\$) sign that will always be attached to the figure. Units of measure should not be used in the plural or use a point (e.g. kg instead of kg, kg.). When a unit of measurement applies to several numbers, it accompanies only the last value (e.g. 2 to 4 kg instead of 2 kg - 4 kg). The decimal comma must be expressed.

Citations and references. Quotations in the document should be numbered in superscript and in alphabetical order, just as with references

Conflicts of interest. We do not accept articles that have conflicts of interest between public and private companies, universities, or any natural or legal person.

### General structure of publication of the contents

#### Original article.

Title. Should be written in Spanish or Portuguese and English, in Arial 14, centered, with only the first letter capitalized, bold and not to exceed 25 words. Scientific names included in it should be in italics (e.g. *Bos taurus*, *Clostridium tetani*, *Brucella abortus*) (see general rules of publication section).

Authors. The names must be centered and should be written as follows: full names, not including punctuation between them, followed by the superscript in italics indicating the affiliation of each author, followed by a coma and abbreviated academic degrees, separated by coma. Each author should be separated by semicolons (e.g. Maria Patricia Arias<sup>1</sup>, DVM, PhD; Jhon Didier Ruiz Buitrago<sup>2</sup>, DVM, MSc). The name of each author must have a link to the resume in the CvLAC (if have CvLAC). If it is the corresponding author, note it with superscript asterisk after the affiliation (e.g. Maria Patricia Arias<sup>1\*</sup>).

Affiliation and correspondence. Should go under the authors, focused and starting with the superscript for each author. Include full personal details (eg: 1Grupo INCA-CES, line of research is pathophysiology, Faculty of Veterinary Medicine, University CES). If the corresponding author, you must specify the complete postal and electronic address (e.g. 1\* Grupo INCA-CES, line of research is pathophysiology, Faculty of Veterinary Medicine, University CES, Calle 10 No. 43 A 50, office 235, the Village Quarter, Medellin, Colombia. E-mail: xxxxxxx@xxxxxx.com).

**Abstract.** This title should be lowercase and bold and its content not in bold. It should include the researched problem, objective, concise description of the materials and methods, results and conclusions. The limit is 250 words and must be an analytical summary.

**Key words.** This title should be in boldface, followed by a colon. The keywords must be in alphabetical order, and without boldface lowercase. There should be three to six words (not sentences) related to a topic. You must use keywords that are included in the MeSH (Medical Subject Headings) or other specific descriptor in the area of research.

**Introduction.** The title must be in lowercase and bold. It should contain the current state of knowledge of the subject matter, tested hypotheses, objectives and rationale.

**Materials and methods.** This title should be lowercase and bold. This section can be subdivided into subheadings. If you include subtitles they should proceed as follows: first-order subtitles in italics, not bold, and starting on the next line, a description of the procedure. Second-order Subtitle also written in italics and without bold, with a period and the description made immediately after.

All teams used shall include in parentheses the headquarters and the host city (e.g. Equipment X, Medellín). Always refer to the active and not trade names, if required to make a strict reference to a trade name, it should be cited in a footnote.

This section should include the following:

**Endorsement of the Ethics Committee for animal experimentation:**

Enter the date, number of certificate of approval of the Ethics Committee for animal experimentation, the concept of the type of risk with which it was granted and the institution that owns the committee.

**Type of Study:**

Indicate the type of study, the study objective and sample size used.

**Location:**

If it was a field study, the geographical position should be described, the coordinates of the site, weather conditions, area of life, among others, leading the reader to have an accurate idea of geo-climatic conditions of the experiments, to allow reproducibility thereof.

**Methods:**

Those methods used by authors, should be described completely. If a method has been described by other authors, make the respective reference. Those methods modified by the authors, should be referenced including the exact description of the modifications and should be described with sufficient precision so as to be reproducible. You must use the International System of Units (SI).

**Statistical analysis:**

The procedure used, the changes made to data to facilitate analysis, the statistical models, the significant level and types of mistakes made must be clearly outlined. Include the names of the software used and its respective license number

**Results.** This title should be lowercase and bold. Headings and subheadings in this section shall be governed as indicated in Materials and Methods.

The results chapter should be completed in past tense. The level of statistical significance must be enclosed in parentheses (eg,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p > 0.05$ ). Levels greater than 99.9% reliability is quoted as ( $p < 0.01$ ). Tables and figures should be cited or referenced in this section in strict order of appearance. The citation in the text can be done in two ways: as seen in table 3, and the results showing no statistically significant differences (see table 2).

Tables and figures (including photographs), will have Arabic numerals followed by a dot and in bold. The name of the table or figure should not be in bold and end with a point (Table 1. Xxxxx. Or Figure 1. Xxxxx.). The title should be placed at the top, center, if a table or on the bottom and centered, if a Fig. The first letter of the column headings and rows will be capitalized. Tables should carry only horizontal lines between the title and the box, between it and the contents of the table, and between content and sources

Do not use vertical lines. Headers units should be indicated in parentheses. The numbers, letters or asterisks refer to the foot of the table or figure, or particular statistical meanings shall be in Arial 10 and superscript. Also, in special cases, at the foot of the table with Arial 10 specific comments on the explanatory table or figure, such as the meaning of acronyms may be made.

**Discussion.** This title should be in lowercase and bold. It is a separate section to the results and includes the major contributions of the authors, explaining and contrasting their results with other work. Differences are interpreted to raise the relevant assumptions, conclusions and recommendations. Avoid speculation and refer to issues or hypotheses that are related to the subject of the document.

**Conclusions.** This title should be lowercase and bold. They are specific statements about the results and discussion of them should not be speculative.

**Acknowledgements.** This title should be lowercase and bold. It may mention institutions, individuals or corporations who funded or supported the research in some way.

**References.** This title should be in lowercase and bold. In the "References" section, they are cited in alphabetical order with Arabic numerals. In the text, references should be cited in Arabic numerals in superscript, the end point must follow the numeric citations (e.g. problem compatible with renal failure 1, 5, 9.).

The wording of the references should conform to the Vancouver citation style, taking into account that the names of journals are abbreviated according to Index Medicus parameters, with no points after each abbreviation. They should be written in their original language. The international abbreviations can be found in "List of journals indexed in Index Medicus"; the Spanish journals, in the catalog of "Instituto Carlos III".

Example of citation:

Original articles

Original articles (1 - 5 authors):

Author/s. Article title. International journal abbreviation year; volumen (number):initial - final page of the article

Vásquez NA, López YS, Escobar EE. Regulación de la maduración del oocito bovino por ampc. Rev CES Med Vet y Zootec 2006; 1(1): 100 - 109.

Original articles (> 5 authors):

It should be written exactly like to point 1 until the sixth autor, after you must add *et al.*, in italics.

Arias MP, Sánchez H, Coral E, Acosta L, Zuluaga J, et al. Estimación de La intensidad de trabajo en un grupo de caballos criollos Colombianos de diferentes andares. Rev CES Med Vet y Zootec 2006; 1(2): 18 - 32.

Institution or organization as author:

Universidad CES. Manejo de praderas en trópico alto. Rev CES Med Vet y Zootec 2012; 1(2): 15 - 23.

Does not indicate the autor name:

Fertilización en gramíneas (editorial). Rev CES Med Vet y Zootec 2008; 3(1): 25 - 35.

Volume with supplement:

Cabrera PA, Ordóñez OE, Cortés JA, Rodríguez JM, Villamil LC. Prevalencia de parásitos gastrointestinales zoonóticos (helmintos y protozoarios) en caninos del Centro de Zoonosis de Bogotá. Rev Biomédica 2003; 23(Suppl.1):153-162.

Books:

Personal author:

Cordero CM, Rojas F. Parasitología Veterinaria. 1ra ed. España: Mc Graw Hill; 1999.

Editor as author:

Canovas FM, editor. Avances en el metabolismo del nitrógeno: bioquímica, fisiología y biología molecular. 1 ra ed. España: Agapea; 2000.

**Book chapter:**

Carroll EW. Control genético de la función celular y herencia. En: Porth CM. Fisopatología: salud- enfermedad: un enfoque conceptual. 7ª ed. España: Panamericana; 2006. p. 119 - 134.

**Monographs and thesis:**

Restrepo JS, Escobar AF. evaluación de algunos parámetros fisiológicos del Raygrass bestfor (*Lolium perenne*), bajo condiciones de estrés hídrico. Tesis de pregrado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, universidad CES, Medellín, 2007. 51 p.

**Online references:**

Upton SJ. Animal Parasitology. Topic 32. Haemogregarines (suborder: Adeleorina). KansasState University 1999; [acceso: 26 de noviembre de 2007]. URL: <http://www.k-state.edu/parasitology/classes/625protozoa32.html>.

**Material unpublished:**

Cid, M. S. ; Fernández Grecco, R. C. ; Oesterheld, M. ; Paruelo, J. M. ; Cibils, A. F. ; Brizuela, M. A. Grass-fed beef production system of Argentina's flooding Pampas: understanding ecosystem heterogeneity helps improve livestock production. Outlook on agricultural in press 2010.

**Personal communication:**

They are cited in the text only (no references) indicating the author, affiliation and year.

**Reflection article.**

The structure of a reflective paper will be: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, topic development, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication. The development of the issue will be structured in a coherent and independently by the authors.

**Review article.**

The structure of a review article will be: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, theme development, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication. The development of the theme will be structured in a coherent and independently by the authors.

**Short article.**

Must conform in substance to the sections and standards established for original research articles, but differ from these in that its size is significantly smaller.

#### Clinical case report.

The structure of a clinical case report is: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, evaluation of the patient (with subtitles: anamnesis, clinical examination findings, diagnostic aids), treatment approach, discussion, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication.

#### Subject review.

The structure of a topic review will be: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, topic development, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication. The development of the issue will be structured in a coherent and independently by the authors.

#### Reflection articles not derived from research.

The structure of a reflection article not derived from research will be: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, topic development, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication. The development of the issue will be structured in a coherent and independently by the authors.

#### Research Summaries.

The structure of a research summary will be: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, topic development, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication.

#### Space for academic and scientific diffusion.

The structure of the space for academic and scientific diffusion will be: title, affiliation and correspondence, abstract, keywords, introduction, topic development, conclusions and references; retaining the format described for original research articles and the general rules of publication. The development of the issue will be structured in a coherent and independently by the authors.

#### Acceptance and publication of manuscripts

Receipt of items does not imply the obligation of the Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia to publish them. They are subject to review by the editorial board and subjected to double-blind evaluation by national and international peer reviewers. The evaluation process is anonymous, both for the author, and for the evaluator seeking to ensure fairness, academic excellence and scientific rigor throughout the editorial process of the Journal

As soon as the manuscript is finally adopted by the editorial committee, it is included as material for publication of the Journal Veterinary Medicine CES according to available space in the volume to be published.

Neither the Faculty of Veterinary Medicine or the Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, are responsible for the concepts expressed in published articles, the responsibility lies with the authors.

#### Copyright and diffusion

In the case that the document is accepted for publication, the author must sign the "author's record", where the originality of the document is affirmed and authorizes the CES Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry to exercise all rights of publishing and reproduction, on websites and databases locally, nationally and internationally.

#### Frequency of publication

The CES Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry was founded in 2006 and is published twice a year. The three issues per year are published in June and December.

#### Open access ability

The CES Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry provides free access to its website and all published volumes. Users can read, download, copy, distribute, print, search, or link to the full texts of the articles in this magazine without prior permission of the publisher or author. This is consistent with the definition of open access BOAI, thus fulfilling the scientific, academic and social commitment to the development, socialization and free exchange of basic and applied knowledge.

#### Statement of editorial ethics and good practice

The CES Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry is committed to conducting a fair and objective editorial process for all the authors who trust us with their valuable publications based on the principles of honesty, scientific quality, editorial quality and positive feedback of knowledge. This ensures high standards of ethics in the double-blind review process and takes all necessary measures to prevent fraud and plagiarism.

#### Privacy Statement

The names, emails and addresses published in the CES Journal of Veterinary Medicine and Animal Husbandry will be used exclusively for the stated purposes of the magazine.

#### Sending of manuscripts

The receipt of documents does not imply the obligation to publish, and they will be subject to review by the editorial board and will have a double-blind assessment. Authors should adhere strictly to the following guidelines:

The documents must be written in english, spanish or portuguese.

The manuscript must be written in Word, Arial 12 with 1.5 spaces.

All pages must be numbered in the upper right.

Documents must be original and must not have been sent for publication in another journal. To do this, the author or authors must enclose the format of "agreement of the authors", duly signed, which accepts the conditions of publication and are proof of the above.