



## Evaluación de la fermentación ruminal en vacas lecheras en pastoreo otoñal utilizando muestras de líquido ruminal obtenidas por rumenocentesis

### Evaluation of rumen fermentation in autumn grazing dairy cows using rumen fluid samples obtained by rumenocentesis

Miguel Ruiz-Albarran<sup>1\*</sup>, Oscar A Balocchi<sup>2</sup>, Fernando Wittwer<sup>3</sup>, Rubén G. Pulido<sup>4</sup>

#### RESUMEN

Para evaluar los parámetros de fermentación ruminal se prefieren técnicas menos invasivas como la rumenocentesis. Este método se utilizó para evaluar el pH, la concentración de N-NH<sub>3</sub> y los ácidos grasos volátiles (AGVs) en vacas lecheras. Las vacas pastorearon en dos ofertas de pradera (17 y 25 kg MS/vaca/día) y recibían ensilaje de pradera (EP) o ensilaje de maíz de planta entera (EMPE) (a razón de 6,2 kg MS/vaca/día). Los resultados mostraron que la inclusión de ensilaje de maíz en la dieta en comparación con el ensilaje de pradera provocó cambios en el pH ruminal ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, no hubo cambios significativos en las concentraciones de N-NH<sub>3</sub> y AGVs debido al efecto de la oferta de pradera o tipo de ensilaje en la dieta. En conclusión, la rumenocentesis es una técnica menos invasiva que puede utilizarse para comparar dietas de vacas lecheras. El análisis de muestras de rumen obtenidas por rumenocentesis mostró que el ensilaje de maíz disminuyó el pH ruminal con una mayor proporción de ácidos glucogénicos.

Palabras clave: AGVs, N-NH<sub>3</sub>, pastoreo, rumen, vacas lecheras.

**Autor para correspondencia:** miguel.ruiz@docentes.uat.edu.mx **Fecha de recepción:** 22 de enero de 2024

**Fecha de aceptación:** 31 de enero de 2024

**Fecha de publicación:** 31 de enero de 2024

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México.

<sup>2</sup>Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

<sup>3</sup>Instituto de Producción Animal, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

<sup>4</sup>Instituto de Ciencia Animal, Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

#### ABSTRACT

To evaluate rumen parameters of fermentation, less invasive techniques such as rumenocentesis are preferred. This method was used to evaluate the pH, concentration of NH<sub>3</sub>-N, and volatile fatty acids (VFAs) in dairy cows. The cows were grazing on two pasture allowances (17 and 25 kg MS/cow/day) and receiving either grass silage (PS) or corn silage (CS) (at a rate of 6.2 kg DM/cow/day). The results showed that including corn silage in the diet compared to grass silage caused changes in rumen pH ( $p < 0.05$ ). However, there were no significant changes in the concentrations of NH<sub>3</sub>-N and VFA due to the effect of the pasture supply or type of silage in the diet. In conclusion, rumenocentesis is a less invasive technique that can be used to compare diets of dairy cows. The analysis of rumen samples obtained by rumenocentesis showed that corn silage decreased rumen pH with a higher ratio of glucogenic acids.

Keywords: VFAs, N-NH<sub>3</sub>, grazing, rumen, dairy cows.

## INTRODUCCIÓN

En todo el mundo, se ha considerado que el pastoreo representa uno de los métodos de manejo alimenticio más económicos para la producción de leche (Batistel et al., 2021). En vacas lecheras, el pastoreo se ha definido como el proceso de defoliación de las plantas por parte de los animales. Este proceso, involucra una serie de interacciones de ingestión, digestión, así como estímulos hormonales y metabólicos (Gregorini, 2012) que determinan la respuesta productiva en la vaca lechera. Estas interacciones influyen en el consumo de materia seca y energía de vacas lecheras y representan una limitante para la producción y composición de leche (Albarrán-Portillo et al., 2019). El consumo de materia seca y de nutrientes puede evaluarse a partir del comportamiento de ingestión y digestión que ocurren durante el proceso de pastoreo, ya que las vacas adoptan este comportamiento de acuerdo a las características físicas de las pasturas (Pérez-Prieto & Delagarde, 2013) y varios factores como el contenido de materia seca, energía, fibra detergente neutro, carbohidratos solubles y proteína cruda, que en consecuencia, generan los estímulos de los productos de la fermentación ruminal (el pH, N-NH<sub>3</sub> y ácidos grasos volátiles), las hormonas del hambre (greлина), la saciedad (leptina), el llenado ruminal, las consecuencias postingestivas provocadas por la composición química de los forrajes, suplementos así como el estado fisiológico y nutricional de la vaca (Gregorini, 2012).

En vacas lecheras, a través del manejo del pastoreo y la suplementación con alimentos concentrados y ensilajes, producen cambios en digestión ruminal al producir un aumento en las concentraciones de propionato y menores concentraciones de acetato y butirato, que resulta en menos energía entérica de metano y pérdidas de calor (Muñoz et al., 2010; Vargas et al., 2022). Además, la combinación del tiempo de asignación de pastura fresca y la asignación de suplementos podría usarse como estrategia para alterar la producción de leche y la excreción de N debido a sus efectos individuales sobre el consumo de materia seca (CMS) del pasto, la ingesta de nutrientes y la fermentación ruminal (Beltrán et al., 2021). Además, se ha informado que el aumento de la fermentabilidad de la dieta en vacas lecheras, que reciben distintas ofertas de pradera, puede aumentar la síntesis de proteínas microbianas en el rumen (Ruiz-Albarrán et al., 2012), esto reduce la necesidad de fuentes suplementarias de proteínas no degradables en las raciones. El aumento de la producción de proteínas microbianas podría disminuir la concentración N-NH<sub>3</sub> en el rumen, y el nitrógeno ureico en plasma (Sotelo et al., 2012; Wittwer, 2021) así como la excreción de nitrógeno ureico en vacas lecheras (Beltrán et al., 2021).

En períodos donde la disponibilidad de forraje es baja, el manejo de la oferta de pradera y la suplementación con concentrado y/o ensilajes son prácticas comunes para mejorar el estado nutricional y, por lo tanto, la producción de leche en pastoreo (Peyraud & Delagarde 2013). El pastoreo y la suplementación con ensilaje de pradera en el sur de Chile se caracterizan por un alto nivel de proteína cruda que es rápidamente degradable en el rumen y genera una falta de sincronía ruminal entre la energía y la proteína de la dieta, que requieren del suministro de carbohidratos fermentables, necesarios para la síntesis de proteína microbiana (Hall & Huntington, 2008). Si bien el ensilaje de pradera es el complemento más utilizado en este periodo, su calidad es muy variable, siendo el ensilaje de maíz (*Zea mays L.*) de planta entera una alternativa a utilizar. El uso de ensilaje de maíz y suplementación con concentrado se ha propuesto como una estrategia para incrementar el consumo de materia seca, energía y mayor producción de leche en vacas lecheras en pastoreo debido a una mayor ingesta de almidón (Ruiz-Albarrán et al., 2016).



Las técnicas de campo comunes para recolectar líquido ruminal y realizar la valoración de la actividad de fermentación ruminal incluyen la rumenocentesis mediante aspiración percutánea con aguja y sonda estomacal oral (Noro et al., 2013). La rumenocentesis es mejor que el uso de una sonda estomacal oral para determinar el pH del rumen, porque esta última técnica es susceptible a la contaminación salival, aumentando así el pH de la muestra (Gianessella et al., 2010).

El objetivo de este estudio fue evaluar el pH, amoniaco y ácidos grasos volátiles (AGVs) en líquido rumen obtenido mediante rumenocentesis dorsal para determinar el estado nutricional de vacas lecheras pastoreando dos ofertas de pradera y suplementadas con dos tipos de ensilaje.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio experimental

El experimento se realizó en el predio "Vista Alegre" de la Universidad Austral de Chile (latitud 39°47'46'' y longitud 73°13'13'') en el otoño del 2011, con una duración de 63 días.

### Vacas y tratamientos

Un total de dieciséis vacas lecheras multíparas de la raza Holstein-Friesian fueron empleadas en este estudio, agrupadas según producción de leche, días en leche y peso vivo. Fueron asignados aleatoriamente a cuatro tratamientos dietéticos resultantes de la combinación de dos OP (medida sobre el nivel del suelo) (17 o 25 kg MS/vaca/día) y dos tipos de ensilajes (TS) (ensilaje de pradera = EP y ensilaje de maíz = EMPE) suministrándose a una cantidad de 6.25 kg MS/vaca/día. Las vacas lecheras permanecieron en la pradera, según cada OP, por un período de 63 días. Para esta parte del estudio se empleó una submuestra de 16 vacas lecheras, cuatro vacas por tratamiento dietario. Los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Bioética para el "uso de animales en experimentación" de la Universidad Austral de Chile.

El pastoreo se realizó sobre una pastura de raigrás perenne (*Lolium perenne* L.) en una superficie total de 13.5 ha disponibles para este experimento, Las vacas permanecieron en las pasturas manejadas por un cerco eléctrico, según las ofertas de pradera y tipo de ensilaje asignado. Todos los animales tuvieron acceso a nuevas pasturas (09:00 y 17:00 horas) después de cada ordeño.

Durante el experimento, las vacas recibieron como complemento al pastoreo un ensilaje de una pradera permanente proveniente de un segundo corte de la primavera del año anterior. La pastura se cortó y luego se pre marchitó durante 24 horas antes de almacenarlo en silos bolos de 500 kg, aproximadamente. Además, las vacas recibieron EMPE con un tamaño de partícula de aproximadamente 1.0 cm, almacenado en un silo tipo pastel, apisonándose con un tractor y sellándose con un plástico negro el mismo día la elaboración del ensilaje. Todas las vacas recibieron ensilaje de pradera o maíz, según tratamiento individualmente después del ordeño (08:00 h y 16:00 h). El concentrado comprendía (% de MS) 75% de grano de maíz, 5% de grano de sorgo, 5% de grano de trigo, 10% de salvado de trigo, 5% de remolacha azucarera y se ofrecía en el ordeño. Todas las vacas recibieron 3.6 kg de MS/día de suplementación con concentrado. Una mezcla mineral (Producción Anasal Alta, ANASAC: Ca 140 g/kg, P 100 g/kg, Mg 60 g/kg, Na 40 g/kg, S 2 g/kg, Zn 5000 mg/kg, Cu 1500 mg/kg, Co 20 mg/kg, I 200 mg/kg) se ofreció con el concentrado a razón de 0.25 kg/vaca/día. Todas las vacas tuvieron acceso *ad libitum* al agua en los potreros y en la sala de ordeño.

## Procedimientos experimentales

### *Asignación de la oferta de pradera*

El área de pastoreo fue asignada, según la oferta de pradera. Se calculó diariamente sobre la base de la disponibilidad de forraje. La disponibilidad de forraje pre pastoreo y pos pastoreo se estimó a partir de 100 mediciones, se utilizó un plato medidor de altura comprimida (Ash Grove Plate Meter, Meter Hamilton, New Zeland) en cada potrero siguiendo un patrón en “W”.

### *Composición química de los alimentos*

Las muestras de pasturas se tomaron mediante la técnica de hand-plucking a la altura similar a la que pastoreaban las vacas. Se analizó el forraje pastoreado, ensilaje y concentrado ofrecido para poder determinar materia seca (MS) (AOAC, 1985), ceniza (AOAC, 1985). Para determinar proteína cruda (PC) se obtuvo la concentración de nitrógeno y se multiplicó por el factor 6.25 (AOAC, 1985), fibra detergente ácida (ADF) (AOAC, 1985), materia orgánica digerible (MO) en base a MS (DOMD; Tilley & Terry, 1963) y fibra detergente neutra (NDF) (Van Soest et al., 1991). La energía metabolizable (EM) se estimó mediante regresión utilizando una DOMD (materia orgánica digerible/MS × 100), y se determinó *in vitro* de acuerdo con los procedimientos establecidos por Tilley & Terry (1963).

### *Determinación del pH, nitrógeno amoniacal y ácidos grasos volátiles*

Se obtuvieron muestras de líquido ruminal mediante la técnica de rumenocentesis dorsomedial realizada a las 16:30 h en el día 42 del experimento para determinar el pH ruminal, AGVs y la concentración de amoníaco. El pH ruminal se midió inmediatamente con un electrodo de vidrio (Modelo HI 98127, Hanna Instruments Inc., Woonsocket Rhode Island, 02895, EE. UU.). La concentración en líquido ruminal de los AGVs se determinó mediante cromatografía de gases (Shimadzu GC-2010 Plus High-end GC, equipado con columna capilar GC, SGE, BP21 (FFAP), rango de temperatura (C) = 35 a 240/250, Unidad de medida = (EA). La concentración de amoníaco ruminal se determinó mediante espectrofotometría (espectrofotómetro Spectronic Genesys 5®, Milton Roy, Ivyland, PA, EE. UU) como lo describen Bal et al. (2000).

## Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental en un arreglo factorial 2x2; dos ofertas de pradera x dos tipos de ensilaje suplementado para analizar las variables de pH, AGVs y amoníaco en rumen, utilizando un análisis de varianza bajo el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + P_i + TE_j + OPT_{E_{ij}} + a_i + e_{ijk}$$

donde  $Y_{ijkl}$ =variable dependiente,  $\mu$ =intersección,  $P_i$ =efecto fijo de la  $i$ -ésima oferta de pradera,  $TE_j$ =efecto del  $j$ -ésimo tipo de ensilaje,  $OPT_{E_{ij}}$ =efecto de la interacción entre la oferta de pradera y el tipo de ensilaje,  $a_i$ = efecto aleatorio del  $i$  animal y  $e_{ijk}$ =efecto aleatorio residual  $\sim N(0, \sigma^2)$ .

## RESULTADOS

Las vacas, independientemente de la oferta diaria de pradera y el tipo de ensilaje suplementado, pastorearon a una disponibilidad pre-pastoreo de 1710 kg MS/ha y el residuo de pradera pos-pastoreo fue de 1470 kg de MS/ha en los cuatro tratamientos, con un porcentaje de utilización de la pradera del 31%.

En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis químico proximal de las pasturas pastoreadas, se encontró  $14.2 \pm 0.8\%$  de MS,  $28 \pm 0.8\%$  de PC, así como el análisis de fibras de  $42.7 \pm 0.4$  para FDN y  $24.4 \pm 0.5$  para FDA, y energía metabolizable (EM) de  $2.7 \pm 0.03$  Mcal, siendo los promedios muy semejantes ( $p > 0.05$ ) entre ambas ofertas de pradera ofrecida. El ensilaje de pradera tuvo mayor concentración de proteína cruda, fibra neutro detergente y extracto etéreo ( $p > 0.05$ ) y menos almidón en comparación con el EMPE. El alimento concentrado contenía un  $83.3\%$  de MS,  $15.2\%$  de PC y  $3.14$  Mcal de EM.

■ Tabla 1. Composición química y suplementos ofrecidos durante todo el estudio. Los datos son presentados en % de MS.

	Oferta de pradera		Tipo de ensilaje		Concentrado
	17 kg MS	25 kg MS	EMPE	EP	
	X±DE	X±DE	X±DE	X±DE	X±DE
Materia seca (%)	13.6±3.1	14.8±4.0	30.7±1.2	28.9±3.6	86.2±1.0
Proteína Cruda (%)	27.4±2.0	28.6±1.3	7.1±0.5	15.9±3.4	14.8±7.6
Fibra detergente Neutro (%)	43.0±4.6	42.4±4.1	43.3±3.9	47.6±0.9	14.0±3.8
Fibra detergente acida (%)	24.8±2.0	24.1±1.4	24.6±2.9	30.8±0.3	4.5±1.5
Cenizas (%)	9.4±0.8	9.6±0.4	3.6±0.6	7.4±0.1	4.8±3.7
Energía Metabolizable (Mcal/kg DM)	2.75±0.01	2.75±0.03	2.76±0.13	2.71±0.01	3.14±0.21
pH			3.8±0.1	4.2±0.1	
NH <sub>3</sub> -N			6.2±0.9	9.9±0.9	

pH= Potencial de Hidrogeno, NH<sub>3</sub>= Amoníaco, X= promedio, DE desviación estándar

Los promedios de las variables de pH en líquido ruminal, las concentraciones de amoníaco y de los AGVs se muestran en la Tabla 2. El pH, las concentraciones de N-NH<sub>3</sub>, las proporciones de propionico, butirico y la concentración total de AGVs no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ), por el contrario, la proporción de acetato y la relación A:P fue mayor significativamente ( $p < 0.05$ ) para el pastoreo de distintas ofertas de pradera.

En relación con el tipo de ensilaje suplementado, los promedios para las variables de pH por tipo de ensilaje fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ). Las concentraciones de N-NH<sub>3</sub>, las proporciones de los principales AGVs y la concentración total de AGVs no fueron diferentes ( $p > 0.05$ ) por el tipo de ensilaje suplementado.

Una interacción significativa ( $p < 0.05$ ) entre la oferta de pradera y tipo de ensilaje ofrecido se reportó para la variable de la proporción de acetato y la relación A:P en muestras de líquido ruminal obtenido por rumenocentesis. Para el resto de las variables analizadas no se encontraron interacciones estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ).

■ Tabla 2. Promedio de pH, N-NH<sub>3</sub>, AGVs de líquido ruminal obtenido mediante ruminocentesis en vacas lecheras en pastoreo recibiendo 17 o 25 kg de MS como oferta diaria de pradera y suplementadas con ensilaje de maíz o pradera y alimento concentrado.

Ítem	Oferta de pradera		Tipo de ensilaje		EEM	Significancia		
	17 kg MS	25 kg MS	Pradera	EMPE		OP	TE	Interacción
pH	6.14	6.06	6.35	5.85	0.06	0.457	0.001	0.245
N-NH <sub>3</sub> mmol/L	27.49	21.01	25.73	22.76	4.59	0.348	0.66	0.454
Acético %	63.41	69.01	68.26	64.15	1.7	0.048	0.126	0.046
Propiónico %	18.29	16.52	16.73	18.08	0.7	0.115	0.211	0.159
Butírico %	14.77	12.3	11.88	15.19	1.31	0.221	0.112	0.157
Total AGVs mmol/L	124.22	146.21	119.06	151.38	28.3	0.598	0.443	0.181
A:P	3.49	4.27	4.18	3.58	0.296	0.03	0.081	0.040

pH= Potencial de Hidrogeno, NH<sub>3</sub>= Amoníaco, AVGs= Ácidos Grasos Volátiles, EEM = error estándar de la media, OP = Oferta de pradera, TE = Tipo de ensilaje, EMPE = ensilaje de maíz de planta entera, A:P= Relación Acético-Propiónico.

OP= oferta de pradera. TE= tipo de ensilaje

## DISCUSIÓN

En condiciones de pastoreo otoñal, las vacas expresan una conducta de pastoreo donde se ven forzadas a defoliar los estratos más bajos de las plantas, aumentando la dificultad de pastorear, disminuyendo considerablemente la tasa de consumo y aumentando el tiempo de pastoreo, debido a una importante reducción del tamaño de mordida (Pérez-Prieto et al., 2013).

La oferta de pradera asignada no afectó el valor nutritivo del forraje consumido, pero sí tuvo las características típicas de una pradera de otoño precedida de un verano seco con bajo porcentaje de materia seca, alto en energía y alto en proteína cruda. Estas son caracterizadas por pasturas en estado vegetativo de alta calidad, compuestas por hojas y tallos jóvenes con una baja presencia de material muerto en los estratos bajos de las praderas, una composición química similar a lo reportado por Keim et al. (2015) y Morales et al. (2014).

En contraste, con otras épocas del año o regiones las praderas más maduras generalmente se asocian con proporciones reducidas de hojas vivas, una digestibilidad baja de la materia orgánica (DMO) y un aumento de fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FND) (Wims et al., 2010).

### Evaluación del pH, amoníaco y AGV

El pH es el resultado de la fermentación de las pasturas y los suplementos, así como mantener el equilibrio de la producción, las tasas de eliminación de productos acidificantes y la capacidad amortiguadora. Se esperaba que con un bajo contenido en fibra de las praderas pastoreadas características del otoño del Sur de Chile (Keim et al., 2014) fuera un factor que promovería la dismi-

nución del pH ruminal, modificando la función del rumen. No obstante, con las características de estas pasturas y ofertas de pradera asignadas no se observaron modificaciones en el pH ruminal manteniendo un pH cercano a 6.0. Las dietas de estas vacas se caracterizaron por un alto porcentaje de forraje y un mayor porcentaje de fibra digestible consumido. La utilización de la fibra por parte del rumiante es la función más importante de los procesos microbianos del rumen. Una característica de la hidrólisis de la celulosa es que se realiza a través de una enzima bacteriana llamada celulasa, cuya acción disminuye cuando la dieta es rica en almidón, azúcares simples y otros azúcares solubles. El producto final de la hidrólisis de la celulosa es el ácido acético, pero también pueden producirse en forma indirecta ácido propiónico y ácido butírico. Bajo las condiciones experimentales de este estudio, el aumento de la oferta de pradera resultó en mayores producciones de ácido acético sin modificar la concentración total de AGVs, así como una mayor relación de A:P.

Los valores de las concentraciones totales de AGVs en todos los tratamientos fueron altos con respecto a otros estudios reportados para vacas en pastoreo otoñal y suplementadas con ensilajes de pradera, de acuerdo con lo reportado por Ruiz-Albarran et al. (2012), las mayores concentraciones de AGVs estuvieron asociados a un incremento en el consumo de materia, como fue reportado por Wilkinson et al. (2020) y el valor nutricional de los alimentos ofrecidos durante el experimento.

El ensilaje de pradera se ofrece comúnmente a las vacas lecheras durante períodos de escasez de forraje, pero otros ensilajes como el ensilaje de maíz de planta entera se han convertido en una alternativa a ensilaje de pradera (Beltrán et al., 2021). Se ha informado que el ensilaje de pradera aumenta el CMS total (Kennedy et al., 2011) y rendimiento de leche, debido a su alta proporción de hojas, una alta digestibilidad y de moderado a alto contenido de proteínas (Habib et al., 2006). Como han informado Phillips (2023) y Kennedy et al. (2011), en vacas lecheras en pastoreo la concentración de proteínas en la leche tiende a reducirse mediante la inclusión de ensilaje de pradera en la dieta. Esto podría deberse a la reducción en la ingesta total de energía o a la baja retención de nitrógeno del ensilaje de pradera, en comparación con el forraje fresco y los concentrados (Beltrán et al., 2021).

Por el contrario, ensilaje de maíz suministra más almidón y menos PC (Habib et al., 2006) en comparación con EP. Además, la EMPE ofrece una mejor fuente de carbohidratos degradables en el rumen, que pueden mejorar la utilización microbiana del N en el rumen y disminuir la cantidad de N excretado.

Se encontró una interacción entre OP X TE para el porcentaje de ácido acético, así como para la relación A:P en rumen puede ser explicada a partir de que las vacas que pastaban 17 kg MS/vaca/día y recibían EMPC produciendo una menor concentración de acético que las vacas que recibían EP. Además, estos valores podrían ser un aumento en la ingesta de energía y el suministro de almidón a partir del EM que se sincronizan con el alto contenido de proteína cruda del forraje. Por lo tanto, la suplementación con EMPE mejoró la fermentación ruminal debido a una utilización más eficiente de los nutrientes aportados por el forraje.

En este experimento, los AGVs totales y las proporciones molares de AGVs siguieron patrones normales para vacas en pastoreo que consumían forraje de pastos templados descritos por Peyraud y Delagarde (2013) y Sotelo et al. (2012).



## CONCLUSIONES

La obtención de líquido ruminal mediante rumenocentesis permitió evaluar la actividad de fermentación ruminal de vacas lecheras con distintas ofertas de pradera y suplementadas con dos tipos de ensilaje ofrecido. La mayor oferta de pradera aumentó la concentración de ácido acético y la relación de ácidos cetogénicos. Por su parte, el ensilaje de maíz de planta entera disminuyó pH en líquido ruminal y la relación A:P pastoreando de menores ofertas de pradera.

## AGRADECIMIENTOS

Se reconoce a CONICYT por otorgar una beca de doctorado al primer autor de este artículo. Este estudio fue financiado por FONDECYT N° 1100513. También se agradece a todo el personal de la Estación Experimental Vista Alegre, especialmente al señor Miguel Ortega y Erico Benavides por el cuidado de los animales en experimentación, y especialmente agradecen a la Dra Mirela Noro por apoyo en el muestreo de líquido ruminal de las vacas, así como al Dr. Ociel Muñoz por los análisis químicos de laboratorio.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Confirmamos que el manuscrito ha sido leído y aprobado por todos los autores nombrados, y que no hay otras personas que cumplan con los criterios de autoría.

## REFERENCIAS

- Association of Official Analytical Chemists. (1985). *Official methods of analysis of the aoac* (13a ed.). Association of Official Analytical Chemist.
- Albarrán-Portillo, B., López-González, F., Ruiz-Albarrán, M., & Arriaga-Jordán, C. M. (2019). Respuesta productiva y económica a la suplementación con concentrados de vacas lecheras en pastoreo con alta carga animal. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(4), 855-869. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i4.4787>
- Bal, M. A., Shaver, R. D., Jirovec, A. G., Shinnors, K. J., & Coors, J. G. (2000). Crop processing and chop length of corn silage: effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1264-1273. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74993-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74993-9)
- Batistel, F., de Souza, J., Vaz Pires, A., & Santos, F. A. P. (2021). Feeding grazing dairy cows with different energy sources on recovery of human-edible nutrients in milk and environmental impact. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 642265. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.642265>
- Beltrán, I., Ruiz-Albarrán, M., Von Stillfried, N., Balocchi, O., Wittwer, F., & Pulido, R. G. (2021). The timing of pasture allocation and grass silage supplementation affect pasture intake, milk production and nitrogen partitioning of dairy cows. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 19(2). <https://doi.org/10.5424/sjar/2021192-16264>
- Gianesella, M., Morgante, M., Stelletta, C., Ravarotto, L., Giudice, E., & Van Saun, R. J. (2010). Evaluating the effects of rumenocentesis on health and performance in dairy cows. *Acta Veterinaria Brno*, 79(3), 459-468. <https://doi.org/10.2754/avb201079030459>
- Gregorini, P. (2012). Diurnal grazing pattern: its physiological basis and strategic management. *Animal Production Science*, 52(7), 416-430. <https://doi.org/10.1071/AN11250>



- Habib, M., Syed, J. S., & Leaver, J. D. (2006). Choice of grass or maize silages by lactating dairy cows: influence of supplementary protein, concentrate level and milk yield. *Animal Science*, 82(04), 469-477. <https://doi.org/10.1079/asc200651>.
- Hall, M. B., & Huntington, G. B. (2008). Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *Journal of Animal Science*, 86 (suppl. 14), E287-E292. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0516>
- Keim, J. P., López, I. F., & Balocchi, O. A. (2015). Sward herbage accumulation and nutritive value as affected by pasture renovation strategy. *Grass and Forage Science*, 70(2), 283-295. <https://doi.org/10.1111/gfs.12115>
- Keim, J. P., López, I. F., & Berthiaume, R. (2014). Nutritive value, in vitro fermentation and methane production of perennial pastures as affected by botanical composition over a growing season in the south of Chile. *Animal Production Science*, 54(5), 598. <https://doi.org/10.1071/an13026>
- Kennedy, E., Curran, J., Mayes, B., Mcevoy, M., Murphy, J. P., & Odonovan, M. (2011). Restricting dairy cow access time to pasture in early lactation: the effects on milk production, grazing behavior and dry matter intake. *Animal*, 5(11), 1805-1813. <https://doi.org/10.1017/s1751731111000826>
- McEvoy, M., Delaby, L., Murphy, J. P., Boland, T. M., & O'Donovan, M. (2010). Effect of herbage mass and allowance on sward characteristics, milk production, intake and rumen volatile fatty acid concentration. *Grass and Forage Science*, 65(3), 335-347. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.2010.00752.x>
- Morales, Á., Grob, D., Balocchi, O., & Pulido, R. (2014). Productive and metabolic response to two levels of corn silage supplementation in grazing dairy cows in early lactation during autumn. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74(2), 205-212. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392014000200012>
- Muñoz, C., Hube, S., Morales, J. M., Yan, T., & Ungerfeld, E. M. (2015). Effects of concentrate supplementation on enteric methane emissions and milk production of grazing dairy cows. *Livestock Science*, 175, 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.02.001>
- Noro, M., Sepúlveda, P., Cárdenas, F., Chihuailaf, R. H., & Wittwer, F. (2013). Dorsomedial rumenocentesis: a safe procedure for collecting ruminal fluid samples from grazing dairy cows. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45(1), 25-31. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2013000100005>
- Pérez-Prieto, L. A., & Delagarde, R. (2013). Meta-analysis of the effect of pasture allowance on pasture intake, milk production, and grazing behavior of dairy cows grazing temperate grasslands. *Journal of Dairy Science*, 96(10), 6671-6689. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6964>
- Peyraud, J. L., & Delagarde, R. (2013). Managing variations in dairy cow nutrient supply under grazing. *Animal*, 7 (suppl. 1), 57-67. <https://doi.org/10.1017/S1751731111002394>
- Phillips, C. (2023). *The encyclopedia of animal nutrition* (2da. ed.) CABI. <https://doi.org/10.1079/9781789247282.0001>
- Ruiz-Albarrán, M., Balocchi, O. A., Noro, M., Wittwer, F., & Pulido, R. G. (2012). Effect of increasing pasture allowance and grass silage on animal performance, grazing behaviour and rumen fermentation parameters of dairy cows in early lactation during autumn. *Livestock Science*, 150(1-3), 407-413. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2012.09.023>
- Ruiz-Albarrán, M., Balocchi, O. A., Noro, M., Wittwer, F., & Pulido, R. G. (2016). Effect of the type of silage on milk yield, intake and rumen metabolism of dairy cows grazing swards with low herbage mass. *Animal Science Journal*, 87(7), 878-884. <https://doi.org/10.1111/asj.12513>
- Sotelo, J., Noro, M., Wittwer, F., Smulders, J. P., & Pulido, R. G. (2012). Evaluación de la oferta de pradera y tipo de concentrado sobre algunos parámetros ruminales en vacas lecheras en pastoreo otoñal. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 44(2), 167-172. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2012000200010>

- Tilley, J. M. A., & Terry, D. R. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass and Forage Science*, *18*(2), 104-111. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2494.1963.TB00335.X>
- Vargas, J., Ungerfeld, E., Muñoz, C., & DiLorenzo, N. (2022). Feeding strategies to mitigate enteric methane emission from ruminants in grassland systems. *Animals*, *12*(9), 1132. <https://doi.org/10.3390/ani12091132>
- Wilkinson, J. M., Lee, M. R., Rivero, M. J., & Chamberlain, A. T. (2020). Some challenges and opportunities for grazing dairy cows on temperate pastures. *Grass and Forage Science*, *75*(1), 1-17. <https://doi.org/10.1111/gfs.12458>
- Wims, C. M., Deighton, M. H., Lewis, E., O'loughlin, B., Delaby, L., Boland, T. M., & O'donovan, M. (2010). Effect of pregrazing herbage mass on methane production, dry matter intake, and milk production of grazing dairy cows during the mid-season period. *Journal of Dairy Science*, *93*(10), 4976-4985. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3245>
- Wittwer, F. (2021). Manual de patología clínica veterinaria. Ediciones Universidad Austral de Chile.