

PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LECHE DE VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

Production and Chemical Composition of Milk from Holstein x Zebu F₁ Cows Supplemented with Two Non-Protein Nitrogen Sources

Ana María Herrera-Angulo^{1*}, Robert Emilio Mora-Luna¹, Juan Carlos Isea-Chávez², José Fernando Eslava-Tovar² y Aquiles Enrique Darghan³

¹Coordinación de Investigación Agropecuaria. Decanato de Investigación, Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET). Venezuela. ²Departamento de Ingeniería de Producción Animal-UNET. Venezuela. ³Departamento de Agronomía. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. *Correo electrónico: anamariaherreraangulo@yahoo.com

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de dos fuentes nitrógeno no proteico (NNP) sobre ganancia diaria de peso (GDP), cambios en condición corporal (CCC), producción de leche total (PLT) y su composición química (proteína cruda: PCL, proteína verdadera: PVL, grasa: GL y urea: UL) en vacas lactantes, se realizó un experimento en el suroeste Venezolano. Se utilizaron 31 vacas F₁ Holstein x Cebú con dos o más partos, 419 ± 46 kg de peso vivo, 51 ± 18 días (d) de lactancia, 17,1 ± 3,3 kg leche·animal⁻¹·d⁻¹ pastando en potreros establecidos con *Urochloa humidicola*, *U. decumbens* y *U. brizantha*, divididas en dos grupos y asignados por 91 d a dos tratamientos: 1) 59 g·animal⁻¹·d⁻¹ de urea como fuente de NNP de degradación rápida (DR); y 2) 64 g·animal⁻¹·d⁻¹ de Optigen II® como fuente de NNP de liberación controlada (DC). La GDP y CCC se evaluaron cada 28 d. La PLT fue determinada por pesajes semanales y su composición química se evaluó cada 14 d en ordeños a.m. y p.m. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con medidas repetidas en el tiempo. No hubo diferencias (P>0,05) entre NNP-DR y NNP-DC sobre las variables GDP (504,4 ± 97,5 y 524,9 ± 90,3 g·animal⁻¹·d⁻¹, respectivamente), CCC (0,002 ± 0,001 y 0,004 ± 0,001), PLT (15,2 ± 0,62 y 14,7 ± 0,60 kg·animal⁻¹·d⁻¹), PVL (1,98 ± 0,09 y 2,10 ± 0,09%) y UL (40,9 ± 0,74 y 41,2 ± 0,79 mg·100 mL⁻¹). La PCL con NNP-DC resultó superior (P<0,05) al grupo NNP-DR (3,05 ± 0,03 vs. 2,95 ± 0,03%). La GL presentó diferencias (P<0,01) entre ordeños a.m. (3,62 ± 0,12%) y p.m. (3,96 ± 0,12%). El NNP-DC favoreció la síntesis de PCL bajo las condiciones del ensayo sin aumento de la PVL.

Palabras clave: Ganancia de peso; química en leche; suplementación nitrogenada; vacas lactantes.

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of two non-protein nitrogen sources (NPN) on average daily gain (ADG), changes in body condition (CBC), total milk yield (TMY) and their chemical composition (crude protein: MP, true protein: MTP, fat: MF, and urea: MU) in lactating cows, an experiment was conducted in Venezuelan southwestern with 31 F₁ Holstein x Zebu cows with two or more calvings, 419 ± 46 kg body weight, 51 ± 18 days (d) in milk, 17.1 ± 3.3 kg milk·animal⁻¹·d⁻¹ and grazing on pastures established *Urochloa humidicola*, *U. decumbens* and *U. brizantha*, divided into two groups and assigned for 91 d to two treatments: 1) 59 g·animal⁻¹·d⁻¹ of urea as a source of NPN for rapid degradation (RD), and 2) 64 g·animal⁻¹·d⁻¹ of Optigen II® as a controlled release of NPN (CR). The ADG and CBC were evaluated every 28 d; the TMY was determined by weekly weighing of milk. The chemical composition of milk was evaluated every 14 d a.m./p.m. It was used a completely randomized design with repeated measures over time. There were no differences (P>0.05) between NPN-RD and NPN-CR in the variables ADG (504.4 ± 97.5 and 524.9 ± 90.3 g·animal⁻¹·d⁻¹, respectively), CBC (0.002 ± 0.001 and 0.004 ± 0.001, respectively), TMY (15.2 ± 0.62 and 14.7 ± 0.60 kg·animal⁻¹·d⁻¹, respectively) and MU (40.9 ± 0.74 and 41.2 ± 0.79 mg·100 mL⁻¹). The MP with NPN-CR was higher (P<0.05) to NPN-RD group (3.05 ± 0.03 and 2.95 ± 0.03 %, respectively). The MF showed significant differences (P<0.01) between a.m. (3.62 ± 0.12%) and p.m. (3.96 ± 0.12%) milking. The NPN-CR, favored the synthesis of crude protein in milk under test conditions without increase of the milk true protein.

Keywords: Weight gain; chemistry milk; nitrogen supplementation; lactating cows.

INTRODUCCIÓN

En Venezuela existen grandes extensiones de pasturas dedicadas a la ganadería bovina (*Bos indicus* y *B. taurus*), enfrentando determinadas limitaciones por una marcada estacionalidad, gran variabilidad de suelos y baja calidad de los recursos fibrosos disponibles, que afectan la producción y productividad del hato [28, 42, 44, 45].

La prioridad de hacer de estos sistemas de producción, en condiciones de pasturas con fibra de baja calidad, empresas sustentables, hace necesario establecer alternativas para la alimentación animal, que permitan mejorar la eficiencia en el aprovechamiento de esos recursos fibrosos [28, 56, 57].

La suplementación con fuentes de proteína, energía u otros, son prácticas poco difundidas en la ganadería, por lo que la disminución de los efectos negativos del ambiente se orienta, fundamentalmente, en el mejoramiento de pasturas y de su manejo [22, 56]. Bajo estas circunstancias, en animales económicamente estratégicos, la suplementación es necesaria para el mantenimiento de la eficiencia del hato ganadero [22, 57]; considerando entre los nutrientes limitantes, el nitrógeno, el cual ha permitido generar al ser suplementado, en forma económica, respuesta significativa de carácter productivo (crecimiento o reproducción) de bovinos a pastoreo en el trópico latinoamericano [23, 57].

Para que cumpla con el objetivo planteado, la suplementación nitrogenada, debe tener efecto potenciador que aumente la digestibilidad del material forrajero y su capacidad de ingestión [34], a través del suministro mínimo y adecuado de nutrientes, que puedan promover el máximo desarrollo de la función ruminal dentro de las circunstancias que impone el ambiente ecológico del animal [23].

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar variables productivas y química en leche de vacas lactantes F₁ Holstein x Cebú suplementadas con dos fuentes de nitrógeno no proteico (NNP), con diferentes tasas de degradabilidad bajo pastoreo en condiciones del suroeste venezolano así como evaluar la cantidad y calidad de la pastura durante el periodo experimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y manejo de los animales

El ensayo se realizó en la unidad de producción Mata de Mamón, Agropecuaria ASUBRI S.A., ubicada en Santa Bárbara de Barinas, estado Barinas-Venezuela, en un período de 91 días (d).

El lote estuvo conformado por 31 vacas F₁ Holstein x Cebú, de dos o más partos, con peso vivo (PV) promedio de 419,4 ± 46,6 kg; 51 ± 18 d de lactancia y producción de leche inicial de 17,1 ± 3,3 kg.

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con dos tratamientos previamente balanceados por PV y condición corporal (CC) [60], que consistieron en: 1) Pastoreo *ad libitum* + Alimento Concentrado (AC) + 59 (g)·animal⁻¹·d⁻¹ de urea (160 g de proteína·animal⁻¹·d⁻¹) como fuente de NNP de degradación rápida (NNP-DR) y 2) Pastoreo *ad libitum* + AC + 64 g·animal⁻¹·d⁻¹ de Optigen II® (160 g de proteína·animal⁻¹·d⁻¹) como fuente de NNP de degradación controlada (NNP-DC). La suplementación con las diferentes fuentes nitrogenadas se realizó de forma individual durante los ordeños a.m. (04:00 horas (h)) y p.m. (16:00 h), fraccionando en dos partes iguales el total ofrecido por animal⁻¹·d⁻¹.

El rebaño se manejó bajo pastoreo rotativo (1 d de ocupación y 32 d de descanso) *ad libitum*, en potreros establecidos con las especies de *Urochloa humidicola* (Pasto Aguja), *U. decumbens* (Pasto Barrera) y *U. brizantha* (Pasto Marandú), con carga animal de 2,12 unidad animal (UA)·ha⁻¹. Adicionalmente consumieron 4 kg·animal⁻¹·d⁻¹ de AC (15% de proteína cruda); y una mezcla de alimento cuya composición consistió en: 108 g·animal⁻¹·d⁻¹ de suplemento mineral (%: 18,6 Ca; 4,02 P; 7,96 Mg; 2,96 Na; 0,15 Cu; 1,42 Zn; 0,4 Fe y 0,4 Mn), 108 g·animal⁻¹·d⁻¹ de grasa sobrepasante y 60 g·animal⁻¹·d⁻¹ de melaza, subproducto de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

Evaluación de la dieta basal

Se tomaron muestras de forrajes en potreros al inicio del ensayo y posteriormente cada 14 d, lanzando al azar cuadros metálicos de 0,375 m² de acuerdo a la metodología descrita por Paladines [53]. Se midió la altura del forraje con una regla graduada con precisión de 1 milímetro (mm), y la cobertura aérea como el porcentaje de suelo cubierto por forraje [66]. Las muestras fueron deshidratadas (estufa Thelco®, modelo 6M, EUA) a 60°C hasta alcanzar peso constante, para la determinación de biomasa presente en materia seca (MS) (kg MS·ha⁻¹) y biomasa disponible (kg MS·ha⁻¹·UA⁻¹). Adicionalmente se registró para el período experimental (91 d), la precipitación de la zona.

Luego del secado del forraje, se tomaron sub-muestras (50 g) de cada punto de muestreo y mediante la metodología descrita por Chacón y col. [12] se determinó el porcentaje de material verde, seco (senescente + inflorescencia), hoja, tallo y las relaciones entre dichos materiales (verde:seco y hoja:tallo). Todas las muestras tomadas fueron molidas (molino Thomas Wiley®, modelo 4, EUA) y pasadas por un tamiz de 1 mm de diámetro. En el forraje se determinó: nitrógeno por método de Kjeldahl según la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [5] para la estimación de proteína cruda (PC, Nitrógeno x 6,25), fibra en detergente neutro (FDN) por el método de Van Soest y Wine [71] y fibra en detergente ácido (FDA) por el método descrito por Van Soest [70].

Para de la determinación de Ca, Mg, Na, K y S, las muestras fueron sometidas a digestión con ácido nítrico, ácido perclórico y ácido clorhídrico 6N (3/2/3, vol/vol/vol) y se determinó la concentración mineral por espectrofotometría de absorción atómica [5] en un equipo AAnalyst 100 (Perkin Elmer, EUA),

mientras que el azufre se determinó por el método turbidimétrico descrito por Tabatabai y Bremner [65]. Para la determinación de P y los microminerales (Cu, Zn Fe y Mn), las muestras fueron digeridas con ácido nítrico y perclórico (2/2, vol/vol) y se determinó el contenido de los microminerales por espectrofotometría de absorción atómica [5] y el P se determinó por colorimetría [13].

Variables evaluadas en los animales

Cada 28 d se realizaron pesajes de los animales (romana Tru-Test®, Modelo SR 2000, Nueva Zelanda, precisión 1 kg), para determinar ganancia diaria de peso (GDP) en cada período de muestreo y se calificó la CC de cada uno de los animales del ensayo, usando la metodología descrita por Edmonson y col. [20]. A partir de la puntuación en CC se calculó y se evaluó el cambio en condición corporal (CCC) entre el primer y último período de muestreo.

La producción de leche total (PLT) se determinó a partir de la sumatoria de pesajes de leche a.m. y p.m. semanal por cada vaca en ambos grupos, producto del ordeño mecánico empleando pesadores (Tru-Test®, Nueva Zelanda) con precisión de 0,5 kg. El porcentaje de grasa en leche (GL), proteína cruda en leche (PCL) y urea en leche (UL) se determinaron a partir de muestras tomadas por vaca cada 14 d, directamente del pesador del ordeño mecánico, tanto en el ordeño a.m. como p.m. La determinación de GL se realizó según el método de Gerber [32]. La PCL se estimó por Kjeldahl (Nitrógeno x 6,38), según la metodología descrita por AOAC [4]. Para la determinación de UL, las muestras se desgrasaron por refrigeración a 4 °C (refrigerador Bosch®, Modelo KSR39, Alemania) por 48 h y se tomó 1 mL de leche desgrasada de cada muestra, el cual se depositó en microtubos Eppendorff® y fue congelado a -20 °C (congelador Bosch®, Modelo GSD32, Alemania) para su posterior análisis. Previo a la determinación de urea, las muestras de leche se descongelaron y desproteinizaron mediante la adición de ácido tricloroacético al 10%, en una relación 1:11 [76] y centrifugadas a 2348 x g (Eppendorf®, Modelo 5424, Dinamarca), posteriormente, en el sobrenadante se determinó la urea por método colorimétrico con Kit comercial (Bioscience®, Venezuela). Las lecturas fueron determinadas en un espectrofotómetro (OMEGA IV®, EUA). La proteína verdadera en leche (PVL) fue estimada a partir de la ecuación propuesta por Correa [15] a partir de la concentración

de nitrógeno ureico en leche, para lo cual las concentraciones de UL fueron divididas entre el factor 2,14 para ser expresadas como nitrógeno ureico.

Análisis estadístico

Las variables biomasa presente, biomasa disponible, altura de la pastura, relación hoja:tallo y composición química se analizaron por ANAVAR [41], considerando la época de muestreo como fuente de variación. En caso de diferencias estadísticas se realizó prueba de medias de Tukey [19].

La cobertura aérea y relación verde:seco por no cumplir con los supuestos del ANAVAR, se analizaron empleando Kruskal-Wallis [19] considerando como factor la época de muestreo.

Las variables GDP, CC, producción y composición química de la leche, fueron analizadas bajo un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo [17], y se analizó por medio del programa SPSS 15. Para las variables PCL, GL y UL se incluyó como factor adicional, la hora de muestreo (a.m. y p.m.). En caso de diferencias se utilizó la prueba de medias de Bonferroni [19]. Se establecieron correlaciones de Pearson entre las variables de composición química de la leche con la producción de leche en los respectivos ordeños a.m. y p.m [19].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Precipitación y dieta basal

La precipitación durante el periodo experimental fue de: 66 mm del d 1 al 14; 12 mm del d 15 al 28; 42 mm del d 29 al 42; 11 mm del d 43 al 56; 11 mm del d 57 al 70 y 5 mm del d 71 al 91; identificando el período desde el inicio del ensayo al d 42 como transición lluvia-sequía y del d 43 al 91 como sequía.

La biomasa presente y disponible disminuyó ($P<0,05$) a lo largo del ensayo (TABLA I), observándose dos períodos (d 56 y 91) con valores de biomasa presente por debajo de los 2000 kg MS·ha⁻¹ considerados como mínimos para no afectar el consumo de forrajes a potrero [40], e inferiores a 30 kg MS·UA⁻¹·d⁻¹ que deber ser ofertados para asegurar el 90% del potencial de las vacas a pastoreo [33].

TABLA I
BIOMASA PRESENTE, DISPONIBLE Y ESTRUCTURA DEL FORRAJE DURANTE EL ENSAYO

Variables en pasto	Día						
	0	14	28	42	56	70	91
Biomasa presente (kg MS·ha ⁻¹)	4569,6 ^a	4274,3 ^{ab}	2556,7 ^{abc}	2416,1 ^{abc}	1832,1 ^{bc}	2214,8 ^{abc}	1513,0 ^c
Biomasa disponible (kg MS·UA ⁻¹ ·d ⁻¹)	65,28 ^a	61,00 ^{ab}	36,52 ^{abc}	35,51 ^{abc}	26,17 ^{bc}	31,64 ^{abc}	21,60 ^c
Altura (cm)	37,20 ^a	38,30 ^a	29,60 ^{ab}	32,70 ^{ab}	20,20 ^b	27,50 ^{ab}	25,90 ^{ab}
Cobertura aérea (%)	95,30 ^a	90,00 ^a	76,30 ^{ab}	68,30 ^b	66,60 ^b	66,30 ^b	64,10 ^b
Relación verde:seco	1,43	1,61	2,14	1,01	---	1,28	1,09
Relación hoja:tallo	2,22	3,08	3,30	3,41	---	2,39	3,24

a, b, c Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas ($P<0,05$).

La altura y cobertura aérea de la pastura presentaron un comportamiento en el tiempo similar al de la biomasa disponible (TABLA I), disminuyendo cercano a los 56 d de ensayo ($P < 0,05$). La altura, pudo afectar el consumo voluntario cercano a los 56 d de ensayo, de acuerdo a lo reportado por Ruiz y col. [59], quien demostró que el 94% del forraje consumido por vacas lactantes a potrero es obtenido de un estrato ubicado por encima de los 20 cm de altura; sin embargo según Hodgson y col. [29], la cantidad de biomasa cosechada por el rumiante es considerada como el principal determinante de la ingesta diaria de forraje, y está influenciada principalmente por la profundidad del mordisco, siendo el área del mordisco relativamente menos sensible a la variación en la altura del pastizal [16].

La relación verde:seco (TABLA I) disminuye al final del ensayo, sin alcanzar diferencias ($P > 0,05$), asociado a la disminución de la altura de la pastura, considerando que la mayor cantidad de material senescente se encuentra ubicado en los estratos inferiores de la misma. Valores inferiores han sido reportados para las mismas especies en época de lluvia [27]. Está demostrado que el material senescente contribuye insignificadamente en la producción del animal, ya que es poco consumido cuando es ofrecido material verde [10, 11, 68].

Por su parte, la relación hoja:tallo no presentó oscilaciones relevantes durante el ensayo (TABLA I), manteniendo una proporción adecuada de hoja para los pastos. De acuerdo a esta estructura de la pastura se puede afirmar que, no se presentó limitación en el consumo, sabiendo que el mismo puede ser afectado por valores inferiores a los observados, ya que la hoja es más consumida que el tallo de la planta aún con similares características en MS y digestibilidad [48], asociadas a menor retención de la primera en el rumen para su digestión comparada con el tallo [39].

La PC del forraje (TABLA II) durante la transición lluvia-sequía fue igual al valor de 7% considerado por Milford y Minson [38] como mínimo para no afectar negativamente el consumo de forraje, sin embargo aumentó ($P < 0,05$) durante el inicio de la sequía. Los componentes estructurales de la pared celular de la planta no mostraron variaciones entre épocas (TABLA II), con valores de FDN inferiores a los observados por algunos autores en Venezuela [18, 42, 44] y superiores a los observados por Juárez-Lagunes y col. [31] en forrajes de la misma especie (69,8% FDN). Los valores de la fracción FDA son inferiores a los reportados para las mismas especies en condiciones tropicales, los cuales oscilan entre 41,5 y 50,5% [9, 63, 67] y superiores a los reportados por Lopes y col. [35] con valores entre 36,2 y 38,2%.

TABLA II
COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FORRAJE DURANTE EL EXPERIMENTO

Composición química	Época	
	Transición lluvia-sequía	Sequía
PC	7,08 ± 1,69 ^b	9,61 ± 2,73 ^a
FDN	73,65 ± 1,82	73,14 ± 1,31
FDA	40,78 ± 2,05	40,85 ± 2,73
Ca	0,10 ± 0,02	0,15 ± 0,03
P	0,28 ± 0,02	0,24 ± 0,03
Mg	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01
Na	0,12 ± 0,04	0,02 ± 0,04
K	0,72 ± 0,06	0,58 ± 0,07
S	0,09 ± 0,02	0,09 ± 0,02
Cu	2,15 ± 0,39	3,4 ± 0,45
Zn	46,5 ± 3,59	58,0 ± 4,16
Fe	374 ± 66,1	305 ± 76,4
Mn	203 ± 57,2	201 ± 66,0

^{a, b} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$).

El contenido mineral del forraje se observa en la TABLA II. No hubo diferencias en las concentraciones minerales entre las épocas evaluadas. El P y Zn presentan valores que se encuentran dentro del rango de referencia para vacas lecheras, los cuales son 0,25-0,48% y 30-40 ppm, respectivamente, según National Research Council (NRC) [46]. Las concentraciones de Mg y Cu fueron inferiores a las necesidades de 0,20-0,25% y 10 ppm, respectivamente [46], sin embargo, el suplemento mineral oral aportó cantidades de estos elementos, suficientes para cubrir el déficit del forraje. Las concentraciones de Ca, Na, S fueron inferiores a las necesidades según NRC [46] de 0,43-0,77; 0,18% y 0,20-0,25%, respectivamente, y además, las cantidades aportadas de estos elementos, a través de la suplementación mineral oral no resultaron suficientes para cubrir el déficit del forraje. El K fue inferior a las necesidades (0,90-1,0%) [46], sin embargo las manifestaciones de su deficiencia en vacas lecheras ocurren cuando la dieta contiene entre 0,06-0,15% de este mineral [36, 55].

El contenido de Fe y Mn fue superior a los requerimientos de las vacas [46] de 50 y 40 ppm, respectivamente, lo cual coincide con otros autores [18, 42, 43, 45] y fueron inferiores al límite tóxico considerado por NRC [47] de 500 y 2000 ppm para Fe y Mn, respectivamente.

El muy bajo contenido de Ca y Cu respecto a las necesidades coincide con lo observado por Mora y col. [42] en *Urochloa humidicola* en esa misma zona del estado Barinas, con valores muy similares en contenido de K.

Ganancia de peso y condición corporal

La GDP (TABLA III), no fue afectada por el tipo de suplementación nitrogenada ($P>0,05$) con promedio general de $514,6 \pm 66,4$ g·d⁻¹, sin embargo presentó variación en el tiempo ($P<0,05$), con tendencia a disminuir (712,6; 421,1 y 410,2 g·vaca⁻¹·d⁻¹ para los 28; 56 y 91 d, respectivamente). Este comportamiento está asociado con la disminución de la oferta forrajera a partir de los 56 d de ensayo. Experiencias anteriores describen que vacas suplementadas con urea tendieron a perder peso corporal [69], esto asociado al estado de lactación [73].

TABLA III
GANANCIA DIARIA DE PESO EN VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

Tratamiento	Peso Inicial (kg)	Ganancia diaria de peso (g·d ⁻¹)			
		Día			Promedio
		28	56	91	
NNP-DR	415,33	690,48	431,55	391,03	504,35±97,52
NNP-DC	423,19	734,69	410,71	429,36	524,92±90,29
Promedio		712,59±119,87 ^a	421,13±77,93 ^{ab}	410,19±47,73 ^b	514,64±66,45

^{a, b}. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas ($P<0,05$).

Los CCC no presentaron diferencias ($P>0,05$) en relación a la fuente de NNP, con promedios de 0,002 y 0,004 para NNP-DR y NNP-DC, respectivamente. A través del tiempo presentaron diferencias ($P<0,05$), coincidiendo el comportamiento (0,05; 0,03; y 0,01 a los d 28, 56 y 91, respectivamente), con la variación en GDP durante el ensayo. Acosta y Randel [1] y Sevilla y Lacandula [62], observaron comportamientos similares en vacas lactantes, las cuales perdieron peso y condición corporal. Veerkamp y Brotherstone [73] observaron correlación positiva entre estas variables en vacas lecheras.

Producción y composición química de la leche

La PLT no presentó variación en relación a la degradabilidad del NNP empleado ($P>0,05$), con promedios de 15,2 y 14,7 kg·d⁻¹ para animales suplementados con NNP-DR y NNP-DC, respectivamente, para un promedio general de $14,97 \pm 0,433$ kg·d⁻¹. Comportamiento similar se observó en rebaño de vacas mestizas Jersey consumiendo suplemento con sustitución parcial de harina de soya (*Glycine max*) por Optigen II® [44]. Se observó una disminución de PLT a través del tiempo ($P<0,05$), lo cual está asociado al estado de lactancia del rebaño empleado, el cual se

encontraba en el pico de lactancia al inicio del ensayo (FIG. 1), el cual puede encontrarse entre los 45-56 d [52, 77]. Schutz y col. [61] plantean este comportamiento de la curva de lactancia como fisiológicamente normal hasta llegar al secado del animal.

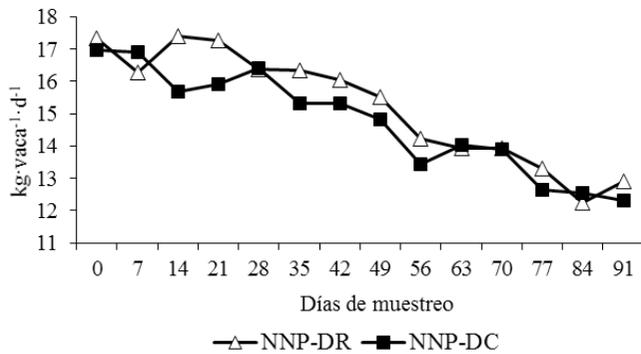


FIGURA 1. PRODUCCIÓN DE LECHE EN VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

La GL no varió en relación a las fuentes de NNP empleadas (P>0,05), con promedios de 3,70 y 3,87 % para NNP-DR y NNP-DC, respectivamente; valores similares y superiores son

referenciados por Vásquez-Yañez y González-Rodríguez [72] y González [24], respectivamente para ganado Holstein (3,8 y 3,5%, respectivamente).

La GL presentó diferencias entre ordeños a.m. y p.m. y a través del tiempo (P<0,05) con incrementos hacia el final del ensayo (TABLA IV). Según Weiss [74], después del ordeño una cierta cantidad de grasa permanece en los alvéolos y en el sistema de conducto de la leche, esta grasa no se traslada a la cisterna y sólo cuando se produce una nueva eyección de leche esta grasa se desplaza a la cisterna; y se diluye menos si se expulsa menos leche, como es el caso del presente experimento donde la producción de leche de la tarde fue más baja respecto a la mañana (7,3 vs 7,6 kg; P= 0,05) lo que pudo favorecer el incremento en la GL p.m. Adicionalmente Ahrné y Björck [2] observaron una mayor concentración de grasa en la leche del ordeño p.m. señalando una asociación entre la lipólisis (mayor concentración de ácidos grasos libres en la leche) con la actividad de la lipoproteína lipasa en la grasa de la leche, con mayor actividad de esta enzima el ordeño p.m. La variación a través del tiempo responde en primera instancia a la producción de leche, ya que en la medida que disminuye dicha producción se van concentrando los sólidos presentes [72].

**TABLA IV
CONCENTRACIÓN DE GRASA EN LA LECHE (%) A.M. Y P.M. PARA VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PRÓTEICO**

Tratamiento	Tiempo (días)							Promedio
	0	14	28	42	56	70	91	
p.m.								
NNP-DR	3,60	5,04	3,11	4,10	3,49	3,52	3,98	3,96±0,12 ^A
NNP-DC	3,70	4,34	4,10	4,00	4,25	4,23	3,90	
a.m.								
NNP-DR	2,95	3,08	3,47	3,94	3,70	4,01	3,76	3,62±0,12 ^B
NNP-DC	2,89	3,65	3,34	4,00	3,81	3,93	4,07	
Promedio	3,29 ±0,18 ^b	4,03 ±0,20 ^a	3,51 ±0,15 ^{ab}	4,01 ±0,18 ^{ab}	3,82 ±0,14 ^{ab}	3,92 ±0,15 ^{ab}	3,93 ±0,11 ^a	3,79 ±0,85

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas (P< 0,05).

^{A, B} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas (P<0,05).

Promedios ajustados a producción de leche inicial.

A pesar de la elevación de la concentración porcentual de grasa en leche, la cantidad de la misma (TABLA V), expresado en g·vaca⁻¹·d⁻¹ disminuye en el tiempo (P<0,05), lo cual responde

a la disminución de la PLT observada hacia el final del ensayo asociado al estado de lactancia.

TABLA V
GRASA EN LECHE EN VACAS (g·vaca⁻¹·día⁻¹) F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

Tratamientos	Tiempo (días)							Promedio
	0	14	28	42	56	70	91	
NNP-DR	605,55	739,20	580,47	682,77	539,17	542,47	484,20	596,26±20,22
NNP-DC	550,28	584,62	599,22	645,41	512,16	561,53	454,81	558,29±19,58
Promedio	577,92 ±32,78 ^{ab}	661,91 ±28,97 ^a	589,84 ±50,68 ^{ab}	664,09 ±44,82 ^a	525,66 ±24,68 ^{ab}	551,99 ±21,55 ^{ab}	469,51 ±15,18 ^b	577,27±14,07

^{a, b} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas (P< 0,05). Promedios ajustados a producción de leche inicial.

La composición química de la leche en relación a la PCL presentó diferencias en relación a la degradabilidad de la fuente nitrogenada (P<0,05), con promedios de 2,96 y 3,05% para NNP-DR y NNP-DC, respectivamente. Una mejora en la PCL puede ser inducida en animales que siendo suplementados aumenten el consumo energético [64], sin embargo la PVL estimada a partir de la excreción de nitrógeno ureico fue similar con promedios de 1,98 y 2,10% (NNP-DR y NNP-DC, respectivamente), lo que puede indicar que la diferencia entre tratamientos para la PCL

puede ser debida a un aumento en la fracción de NNP de la leche. En el transcurso del ensayo, la PCL total aumentó (P<0,05) en la medida en que la producción de leche disminuyó (TABLA VI); con valores similares a los reportados para ganado Holstein cuyo rango se encuentra entre 3,0-3,2% [24, 75]. Proteína en leche con valores superiores fueron reportados por Vásquez-Yañez y González-Rodríguez [72]. La PVL no presentó variación en el tiempo (P>0,05).

TABLA VI
CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA (PCL) Y PROTEÍNA VERDADERA ESTIMADA (PVL) EN LECHE (%) DE VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

Tratamientos	Tiempo (días)							Promedio
	0	14	28	42	56	70	91	
NNP-DR	2,75	2,90	2,86	2,91	3,05	3,02	3,23	2,96±0,31 ^A
NNP-DC	2,95	2,92	2,96	3,06	3,10	3,10	3,29	3,05±0,32 ^B
Promedio PCL	2,85 ±0,035 ^e	2,91 ±0,037 ^{de}	2,91 ±0,030 ^{de}	2,98 ±0,022 ^{cd}	3,08 ±0,026 ^b	3,06 ±0,032 ^{bc}	3,26 ±0,032 ^a	3,01±0,22
Promedio PVL	2,12 ±0,122	2,00 ±0,119	1,92 ±0,082	2,15 ±0,081	1,99 ±0,102	2,09 ±0,183	2,02 ±0,11	2,04±0,06

^{a, b, c, d, e} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas (P< 0,05).

^{A, B} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (P< 0,05). Promedios ajustados a producción de leche inicial y días de lactancia.

Por otro lado, la cantidad de PCL presentó promedios de 454,8 y 446,3 g·vaca⁻¹·d⁻¹ para suplementación con NNP-DR y NNP-DC, respectivamente (P>0,05), lo cual expresado en función de la producción láctea, corresponde en el mismo orden a 29,9 y 30,3 g·L⁻¹. Según Wittwer [75], la proteína en leche debe ser

mayor a 30 g·L⁻¹ en condiciones de adecuado aporte energético en la dieta. En el comportamiento en el tiempo (TABLA VII) se observa una disminución en las últimas semanas (P< 0,05), lo cual está asociado a la disminución de la PLT.

TABLA VII
PROTEÍNA EN LECHE PROMEDIO (G·VACA⁻¹·DÍA⁻¹), EN VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

Tratamientos	Tiempo (días)							Promedio
	0	14	28	42	56	70	91	
NNP-DR	483,19	454,65	466,60	488,76	440,78	434,83	414,7	454,78±10,02
NNP-DC	492,90	472,22	450,53	466,60	420,58	413,37	407,52	446,25±9,69
Promedio	488,05 ±13,74 ^a	463,43 ±18,50 ^a	458,57 ±10,71 ^{ab}	477,68 ±10,59 ^{ab}	430,68 ±9,81 ^{abc}	424,10 ±13,15 ^{bc}	411,09 ±12,93 ^c	450,51±6,94

^{a, b, c} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias estadísticas significativas (P< 0,05). Promedios ajustados a producción de leche inicial.

La UL no presentó variación en relación a la fuente de NNP (P>0,05), con promedios de 40,9 y 41,2 mg·100 mL⁻¹ para suplementación con NNP-DR y NNP-DC, respectivamente; sin embargo, se observó efecto de la hora de ordeño, con valores más elevados en la urea p.m. respecto a la a.m. (45,0 y 37,2 mg·100 mL⁻¹, respectivamente), adicionalmente se observó interacción (P<0,01) hora de ordeño x d de muestreo (FIG. 2), con diferencias más marcadas a partir del d 42 (49,0 vs 40,9 mg·100 mL⁻¹), comportamiento que se mantuvo hasta el d 91 (49,0 vs 37,6 mg·100 mL⁻¹). La diferencia en la concentración de urea matutina y vespertina coincide con lo reportado por otros autores [3, 8, 30]. La igualdad entre las concentraciones de UL y PVL entre tratamientos puede indicar que el incremento en la PCL pudo ser debido a un incremento de otros componentes del NNP de la leche.

proteína:energía en la dieta [51] así como por desbalance en el consumo de proteína degradable y/o proteína no degradable en el rumen [58], ya que parte del nitrógeno absorbido y no utilizado se convierte en urea en el hígado [6, 26], lo que aumenta el gasto energético de los animales [50].

En el presente experimento, la muestra de leche se tomó en el momento del ordeño coincidiendo con el suministro de alimento (12 h después del último consumo de alimento concentrado y NNP), adicionalmente, el pico de urea en leche ocurre 3 a 4 h posteriores al consumo de alimento [25], por lo cual los animales durante las primeras 4 h posteriores al consumo pudieron presentar concentraciones de UL más elevadas que los promedios reportados al momento del ordeño, y por tanto muy superiores a los valores de referencia.

En la composición química de la leche a.m. se observaron correlaciones negativas entre la producción de leche y la PCL en porcentaje (r= -0,43; P<0,0001), producción de leche con UL (r= -0,22; P=0,001), y correlación positiva entre PCL (%) y UL (r= 0,25; P=0,0002). En la composición química de la leche p.m. de igual forma se observaron correlaciones negativas entre producción de leche y PCL en porcentaje (r= -0,35; P<0,0001), producción de leche con UL (r= -0,18; P=0,007), y correlaciones positivas entre PCL (%) y UL (r= 0,19; P=0,005) y GL con UL (r= 0,25; P=0,0002). Los coeficientes de correlación disminuyeron en la leche p.m. Broderick y Clayton [8] de igual forma observaron correlación negativa producción de leche y UL, mientras que Arunvipas y col. [4] y Fatehi y col. [21] observaron una asociación inversa entre el porcentaje de PCL y GL respecto UL. Los coeficientes de correlación negativos entre producción de leche y PCL fueron superiores al observado por Berry y col. [7] (r= -0,28).

El porcentaje de GL a.m. no mostró correlación con ninguna de las variables, así como en la leche p.m. no se correlacionó con la producción de leche (r= -0,12; P=0,07) ni PCL (r= 0,07; P=0,33) y solo se correlacionó con UL, lo cual es contrario a lo observado

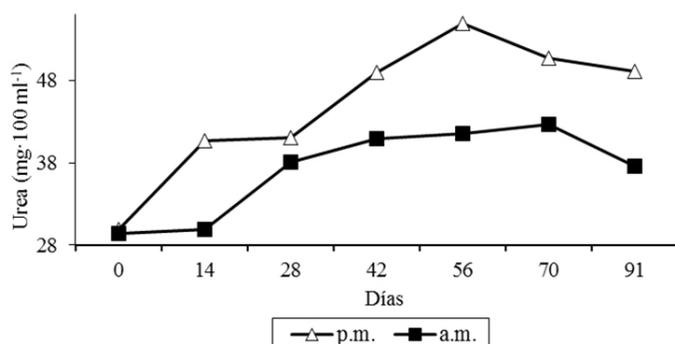


FIGURA 2. CONCENTRACIONES DE UREA EN LECHE A.M. Y P.M. EN VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO.

Los promedios de UL p.m. son superiores a valores de referencia reportados por Contreras [14] y Wittwer [75] (15,06 – 42,16 mg·100 mL⁻¹), lo cual puede indicar un elevado consumo de proteína en la dieta [49], sin embargo, otros autores señalan que la urea en leche es afectada principalmente por la relación

por Berry y col. [7] quienes reportan correlación entre el contenido de grasa en leche y la producción de leche ($r = -0,12$), de igual forma contrario a Melzer y col. [37], quienes reportan correlación positiva entre GL y PCL y ninguna correlación entre GL y UL.

En la FIG. 3 se observa el comportamiento de la UL promedio del rebaño evaluado, en contraste con la disponibilidad de biomasa durante el período experimental, notándose que al deprimirse la producción de biomasa, entre los d 42 y 91 ($<2000 \text{ kg MS}\cdot\text{ha}^{-1}$), los niveles de UL se elevan como consecuencia de un menor aprovechamiento del NNP suplementado. Al respecto Wittwer [75] y Peres [54], comprobaron que los niveles de UL superiores a $38 \text{ mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ son consecuencia de elevadas y bajas cantidades de proteína soluble y energía en la dieta, respectivamente.

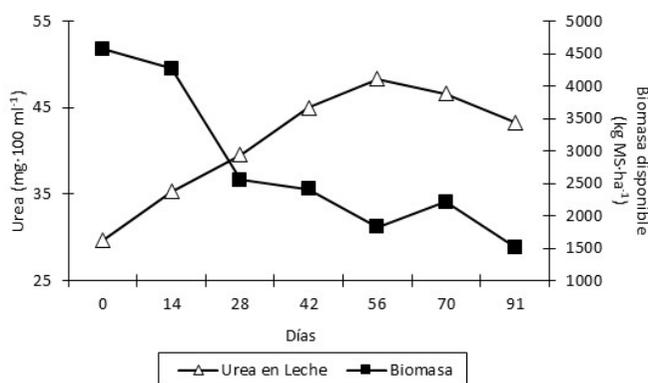


FIGURA 3. RELACIÓN ENTRE BIOMASA DISPONIBLE Y NIVELES DE UREA EN LECHE DE VACAS F₁ HOLSTEIN X CEBÚ SUPLEMENTADAS CON DOS FUENTES DE NITRÓGENO NO PROTEICO

CONCLUSIONES

La suplementación con fuente de NNP con diferentes tasas de degradabilidad no generó respuestas contrastantes en las variables productivas y GL de vacas lactantes F₁ Holstein x Cebú bajo las condiciones del ensayo. El NNP-DC favoreció la síntesis de PCL sin aumento en la PVL y con igualdad en la excreción de UL, lo que puede implicar un aumento de otros componentes de NNP de la leche.

La biomasa presente, altura de la pastura y cobertura aérea pudieron limitar el comportamiento de rumiantes a pastoreo al final del experimento, con proporciones adecuadas de material verde y hoja en relación al material seco y tallo presente, respectivamente. El valor nutricional de la pastura se considera bajo por las elevadas cantidades de FDN y FDA, y deficiencias en Ca, Mg, Na, S y Cu.

AGRADECIMIENTO

Se agradece al Decanato de Investigación de la Universidad Nacional Experimental del Táchira por su apoyo en la ejecución del proyecto identificado con los N° 02-009-08 y 02-008-08, y a Alltech de Venezuela S.C.S.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ACOSTA, R.A.; RANDEL, R.D. Primer celo postparto en vacas *Bos indicus* y *Bos taurus* pastoreando pasto Yaragua (*Hyparrhenia rufa*) (Nees) (Stapt) en los llanos del estado Guárico. **Zoot. Trop.** 10(1): 5-35. 1992.
- [2] AHRNÉ, L.; BJÖRCK, L. Lipolysis and the distribution of lipase activity in bovine milk in relation to stage of lactation and the time of milking. **J. Dairy Res.** 52(1): 55-64. 1985.
- [3] ALVES, M.; GONZÁLEZ, F.; CARVALHO, N.; MÜHLBACH, P.; LIMA, V.; CONCEIÇÃO, T.R.; WALD, V. Feeding dairy cows with soybean by-products: effects on metabolic profile. **Cien. Rural.** 34(1): 239-243. 2004.
- [4] ARUNVIPAS, P.; DOHOO, I.R.; VANLEEUEWEN, J.A.; KEEFE, G.P. The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen levels in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. **Prev. Vet. Med.** 59(1-2): 83-93. 2003.
- [5] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST (AOAC). Metals in plants y Animal Feed. Official Methods of Analysis. 15th Ed. Arlington, Virginia. EUA. Pp 42; 69-90. 1990.
- [6] BACH, A.; CALSAMIGLIA, S.; STERN, M.D. Nitrogen metabolism in the rumen. **J. Dairy Sci.** 88(E. Suppl.): E9-E21. 2005.
- [7] BERRY, D.P.; COUGHLAN, B.; ENRIGHT, B.; COUGHLAN, S.; BURKE, M. Factors associated with milking characteristics in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 96(9): 5943-5953. 2013.
- [8] BRODERICK, G.A.; CLAYTON, M.K. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **J. Dairy Sci.** 80(11): 2964-2971. 1997.
- [9] CANCHILA, E.R.; SOCA, M.; OJEDA, F.; MACHADO, R. Evaluación de la composición bromatológica de 24 accesiones de *Brachiaria* spp. **Past. y Forr.** 32(4): 1-9. 2009.
- [10] CHACÓN, E. Comportamiento ingestivo del vacuno a pastoreo. **Mundo Pec.** VII(3): 130-144. 2011.
- [11] CHACÓN, E. Consumo, selección de dieta y componentes del consumo de rumiante a pastoreo. **Mundo Pec.** VIII. (2): 107-120. 2012.
- [12] CHACÓN, E.; STOBBS, T.; HAYDOCK, K. Estimation of leaf and stem contents of oesophageal extrusa samples from cattle. **J. Aust. Inst. Agric. Sci.** 43: 73-75. 1977.

- [13] CHEN, P.S.; TORIBARA, T.Y.; WARNER, H. Microdetermination of phosphorus. **Anal. Chem.** 28: 1756-1758. 1956.
- [14] CONTRERAS, P. Indicadores do metabolismo proteico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: **Perfil Metabólico em Ruminantes: Seu uso em nutrição e Doenças Nutricionais**. González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (Eds.). Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. Pp 23-30. 2000.
- [15] CORREA, H.J. Simulación del metabolismo del nitrógeno en vacas lactantes. **Rev. Col. Cien. Pec.** 16(3): 220-227. 2003.
- [16] DA SILVA, S.C.; CARVALHO, P.C. Foraging behaviour and herbage intake in the favourable tropics/sub tropics. In: **Proceeding of the XX International Grassland Congress**. McGilloway, D.A. (Ed.). Dublin. 06-07/26-01. Ireland. Pp 81-96. 2005.
- [17] DAVIS, C.S. Normal – Theory Methods: Repeated Measure ANOVA. In: **Statistical Methods for the Analysis of Repeated Measurements**. Springer-Verlag. New York, USA. Pp 103-123. 2002.
- [18] DEPABLOS, L.; ORDÓÑEZ, J.; GODOY, S.; CHICCO, C.F. Suplementación mineral proteica de novillas a pastoreo en los llanos centrales de Venezuela. **Zoot. Trop.** 27(3): 249-262. 2009.
- [19] DÍAZ, A. Supuestos y alternativas del análisis de varianza y Comparaciones múltiples. En: **Diseño Estadístico de Experimentos**. 2^{da} Ed. Editorial Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Pp 70-94; 95-119. 2009.
- [20] EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **J. Dairy Sci.** 72: 68-78. 1989.
- [21] FATEHI, F.; ZALI, A.; HONARVAR, M.; DEGHAN-BANADAKY, M.; YOUNG, A.J., GHIASVAND, M.; EFTEKHARI, M. Review of the relationship between milk urea nitrogen and days in milk, parity, and monthly temperature mean in Iranian Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 95(9): 5156–5163. 2012.
- [22] GARMENDIA, J.; GODOY, S.; CHICCO, C. Complementación y suplementación, estrategias alimenticias para bovinos a pastoreo. **VII Cursillo sobre Bovinos de Carne**. Plasse, D.; Peña de Borsotti, N.; Arango, J. (Eds.). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay 10/17-18. Venezuela. Pp 141-167. 1991.
- [23] GODOY, S.; CHICCO, C. Suplementación con urea y niveles crecientes de harina de algodón en bovinos alimentados con forraje de pobre calidad. **Zoot. Trop.** 9(2): 105-129. 1991.
- [24] GONZÁLEZ, F. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: **Uso do Leite para Monitorar a Nutrição e o Metabolismo de Vacas Leiteiras**. González, F.H.D.; Durr, J.; Fontanelli, R. (Eds.). Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. Pp 5-22. 2001.
- [25] GUSTAFSSON, A.H.; PALMQUIST, D.L. Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. **J. Dairy Sci.** 76(2): 475-484. 1993.
- [26] HAYASHI, H.; KAWAI, M.; NONAKA, I.; TERADA, F.; KATOH, K.; OBARA, Y. Developmental changes in the kinetics of glucose and urea in Holstein calves. **J. Dairy Sci.** 89(5): 1654-1661. 2006.
- [27] HERRERA, P.; BIRBE, B.; COLMENARES, O.; DOMÍNGUEZ, C.; MARTÍNEZ, N. Uso de bloques multinutricionales y respuesta animal en sabanas bien drenadas de los Llanos Centrales. **I Simposio de Tecnologías Apropriadas para la Ganadería de los Llanos de Venezuela**. En: Espinoza, F.; Domínguez, C. (Eds.). Valle de la Pascua 04/18-19. Venezuela. Pp 111-127. 2007.
- [28] HERRERA, P.; BIRBE, B.; MARTÍNEZ, N. Suplementación estratégica con bloques multinutricionales. **XI Cursillo Sobre Bovinos de Carne**. Plasse, D.; Peña de Borsotti, N.; Arango, J. (Eds.). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Maracay 10/10-20. Venezuela. Pp 129-158. 1995.
- [29] HODGSON, J.; CLARK, D.A.; MITCHELL, R.J. Foraging behavior in grazing animals and its impact on plant communities. In: **Forage Quality, Evaluation and Utilization**. Fahey, G.C. (Ed.). Wisconsin, USA. Pp 828-868. 1994.
- [30] HWANG, S.Y.; LEE, M.J.; PEH, H.C. Diurnal variations in milk and bood urea nitrogen and whole bood ammonia nitrogen in dairy cows. **Asian-Aust. J. Anim. Sci.** 14(12): 1683-1689. 2001.
- [31] JUAREZ-LAGUNES, F.I.; FOX, D.G.; BLAKE, R.W.; PELL, A.N. Evaluation of tropical grasses for milk production by dual-purpose cows in tropical México. **J. Dairy Sci.** 82: 2136-2145. 1999.
- [32] KLEYN, D.H.; LYNCH, J.M.; BARBANO, D.M.; BLOOM, M.J.; MITCHELL, M.W. Determination on fat in raw and processed milks by the Gerber method: Collaborative study. **J. AOAC Int.** 84(5): 1499-1508. 2001.
- [33] LAMELA, L. Sistemas de producción de leche. **II Curso sobre Producción e Investigación en Pastos Tropicales**. Clavero, T. (Ed.). Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Maracaibo 04/29-30. Venezuela. Pp 151-160. 1992.
- [34] LAZZARINI, I.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C.B.; PAULINO, M.F.; VALADARES-FILHO, S.; SOUZA, M.A.; OLIVEIRA F.A. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **R. Bras. Zoot.** 38(10): 2021-2030. 2009.

- [35] LOPES, F.C.; PACIULLO, D.S.; MOTA, E.F.; PEREIRA, J.C.; AZAMBUJA, A.A.; MOTA, A.C.; RODRIGUES, G.S.; DUQUE, A.C. Composição química e digestibilidade ruminal *in situ* da forragem de quatro espécies do gênero *Brachiaria*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** 62(4): 883-888. 2010.
- [36] MALLONE, P.G.; BEEDE, D.K.; SCHNEIDER, P.L.; CAPUTO, S.J.; WILCOX, C.J. Acute response of lactating Holstein cows to dietary potassium deficiency. **J. Dairy Sci.** 61(Suppl. 1): 112. 1982.
- [37] MELZER, N.; WITTENBURG, D.; HARTWIG, S.; JAKUBOWSKI, S.; KESTING, U.; WILLMITZER, L.; LISEC, J.; REINSCH, N.; REPSILBER, D. Investigating associations between milk metabolite profiles and milk traits of Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 96(3): 1521-1534. 2013.
- [38] MILFORD, R.; MINSON, D.J. Intake of tropical pasture species. In: **Proceeding of the IX International Grassland Congress**. Sao Paulo 01/7-20. Brasil. Pp 815-822. 1965.
- [39] MINSON, D.J. Forage Quality: Assessing the plant-animal complex. In: **Proceeding of the XIV International Grassland Congress**. Smith, A.; Hays, V. (Eds.). Lexington 06/14-24. USA. Pp 23-29. 1981.
- [40] MINSON, D.J. Intake of grazed forage. In: **Forage in Ruminant Nutrition**. Cunha, T. (Ed.). Academic Press, Inc. San Diego, U.S.A. Pp. 60-89. 1990.
- [41] MONTGOMERY, D.C. Experiments with a single factor: The analysis of variance. In: **Design and Analysis of Experiments**. John Wiley & Sons, INC. New Yor, EUA. Pp 21-54. 2013.
- [42] MORA, R.E.; CHICCO, C.F.; HERRERA, A.M.; GODOY, S.; GARMENDIA, J. Suplementación con fuentes de proteína degradable y no degradable en el rumen en vacas alimentadas con *Urochloa humidicola*. I. Cambios de peso vivo, condición corporal, preñez y química sanguínea en vacas Brahman de primer parto a pastoreo. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XXIV(6): 563-576. 2014.
- [43] MORA, R.E.; HERRERA, A.M.; GARCÍA, M.J.; CHICCO, C.F.; PÉREZ, R.J. Suplementación parenteral con cobre y zinc en bovinos Brahman en crecimiento en la región Sur Occidental de Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XX(5): 519-528. 2010.
- [44] MORA, R.E.; HERRERA, A.M.; PLAZA, D.; VARELA, A.; ARAQUE, H.; RODRÍGUEZ, U.E.; ALCEDO, N.; HERRERA, P.; VITO, J.R. Sustitución parcial de harina de soya por nitrógeno no proteico y adición de levadura en ganado bovino. **Rev. Argent. Prod. Anim.** (Supl.1) 34: 461. 2014.
- [45] MORA, R.; HERRERA, A.; SÁNCHEZ, D.; CHICCO, C.; GODOY, S.; DEPABLOS, L. Suplementación parenteral con cobre y zinc en vacunos machos mestizos Brahman en los Llanos Occidentales de Venezuela. **Rev. Fac. Agron. (UCV).** 36(3): 83-94. 2010.
- [46] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Minerals. Nutrient requirements of Dairy Cattle.** 7th Ed. National Academy of Science. Washington, D.C. Pp 105-161. 2001.
- [47] NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Iron y Manganese. In: **Mineral Tolerance of Animals.** 2nd Ed. National Academy Press, Inc. Washington, D.C. USA. Pp 199-209; 224-234. 2005.
- [48] NORTON, B. Differences between species in forage quality. In: **Proceeding of an International Symposium Held: Nutritional Limits to Animal Productions from Pastures.** Hacker, J.B. (Ed). Queensland 08/24-28. Australia. Pp 89-100. 1982.
- [49] NOUSIAINEN, J.; SHINGFIELD, K.J.; HUHTANEN, P. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. **J. Dairy Sci.** 87(2): 386-398. 2004.
- [50] OLDHAM, J.D. Protein-Energy interrelationships in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 67(5): 1090-1114. 1984.
- [51] OLTNER, R.; WIKTORSSON, H. Urea concentrations in milk and blood as influenced by feeding varying amounts of protein and energy to dairy cows. **Livest. Prod. Sci.** 10(5): 457-467. 1983.
- [51] OSORIO-ARCE, M.; SEGURA-CORREA, J. Factores que afectan la curva de lactancia de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* en un sistema doble propósito en el trópico húmedo de Tabasco, México. **Tec. Pec. Méx.** 43(1): 127-137. 2005.
- [52] PALADINES, O. Medida de la producción primaria de los potreros bajo condiciones de pastoreo. En: **Metodologías de Pastizales.** Serie Metodología Manual. N° 1: Pastos y forrajes. Convenio Ecuatoriano-Alemán. Quito. Ecuador. Pp 71-81. 1992.
- [53] PERES, J. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: **Uso do Leite para Monitorar a Nutrição e o Metabolismo de Vacas Leiteiras.** González, F.H.D.; Durr, J.W.; Fontanelli, R.S. (Eds.). Porto Alegre, Brasil. Pp 30-45. 2001.
- [54] PRADHAN, K.; HEMKEN, R.W. Potassium depletion in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 51: 1377-1381. 1968.
- [55] REIS, R.A.; BARBERO, R.P.; KOSCHECK, J.F.W. Manejo de pastagens tropicais e suplementação alimentar para bovinos. In: **VI Congresso Latino-Americano de Nutrição Animal.** Colégio Brasileiro de Nutrição Animal. Sao Paulo 09/23-26. Brasil. Pp 1-25. 2014.
- [56] REIS, R.A.; RUGGIERI, A.C.; OLIVEIRA, A.A.; AZENHA, M.V.; CASAGRANDE, D.R. Suplementação como Estratégia de Produção de Carne de Qualidade em Pastagens Tropicais. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.** 13(3): 642-655. 2012.

- [57] ROSELER, D.K.; FERGUSON, J.D.; SNIFFEN, C.J.; HERREMA, J. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk non protein nitrogen in Holstein cows. **J. Dairy Sci.** 76(2): 525-534. 1993.
- [58] RUIZ, R.; CAIRO, J.; MARTÍNEZ, R.; HERRERA, R. Milk production of cow's grazing coast cross N° 1 Bermuda grass (*Cynodon dactylon*) sward structure and productive potential. **Cuban. J. Agr. Sci.** 15: 133-144. 1981.
- [59] RUIZ, M.; WILCOX, C.; PEZO, D.; TAYLOR, R.; CHAVES, C.; ROSERO, O. Recomendaciones sobre sistemas de alimentación. En: **Nutrición de Rumiantes: Guía Metodológica de Investigación**. Ruiz, M.; Ruiz, A. (Eds.). Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). San José, Costa Rica. Pp 299-309. 1990.
- [60] SCHUTZ, M.M.; HANSEN, L.B.; STEUERNAGEL, G.R. Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 73: 484-493. 1990.
- [61] SEVILLA, C.; LACANDULA, B. Effects of concentrate and urea-molasses-mineral block on the body conditions and milk production of dairy cows. In: **Annotated Bibliography on Philippine Biodiversity Livestock and Poultry (Agrobiodiversity) 1949-1997 Dairy Cattle** National Academy of Science and Technology. Castillo, L. (Ed.). Philippines. Pp 53-54. 2001.
- [62] SOUZA-SOBRINHO, F.; CARNEIRO, H.; DA SILVA LÉDO, F.; SOUZA, F.F. Produtividade e qualidade da forragem de *Brachiaria* na Região Norte Fluminense. **Pesq. Aplic. & Agrotecnol.** 2(3): 7-12. 2009.
- [63] SUTTON, J.D.; MORANT, S.V. A review of the potential of nutrition to modify milk fat and protein. **Livest. Prod. Sci.** 23: 219-237. 1989.
- [64] TABATABAI, M.A.; BREMNER, J.M. A simple turbidimetric method of determining total sulfur in plant materials. **Agron. J.** 62: 805-806. 1970.
- [65] TOLEDO, J.; SHULTZE-KRAFT, R. Metodología para la evaluación agronómica de pastos y forrajes. En: **Manual para la Evaluación Agronómica**. Toledo J.M. (Ed.). Red internacional de evaluación de pastos y forrajes, CIAT. Cali, Colombia. Pp 91-110. 1982.
- [66] TORRES, R.; CHACÓN, E.; CAPÓ, E.; GARCÍA, E.; PÉREZ, E.; TERÁN, N. Patrones de utilización de la vegetación de sabanas moduladas por bovinos a pastoreo. III. Valor nutritivo del recurso pastura. **Zoot. Trop.** 8(2): 3-16. 1990.
- [67] VALLENTINE, J.F. Plant selection in grazing. In: **Grazing Management**. 2nd Ed. Academic Press, Inc. USA. Pp 261-302. 1990.
- [68] VAN HORN, H.; FOREMAN, C.; RODRIGUEZ, J. Effect of high-urea supplementation on feed intake and milk production of dairy cows. **J. Dairy Sci.** 50(5): 709-714. 1967.
- [69] VAN SOEST, P.J. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. **J. AOAC Int.** 46(5): 829-835. 1963.
- [70] VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. **J. AOAC Int.** 50(1): 50-55. 1967.
- [71] VÁSQUEZ-YAÑEZ, O.P.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A. La alimentación y la composición de la leche en explotaciones gallegas. **Pastos.** XXXVI(2): 217-240. 2006.
- [72] VEERKAMP, R.F.; BROTHERSTONE, S. Genetic correlations between linear type traits, food intake, live weight and condition score in Holstein Friesian dairy cattle. **Anim. Sci.** 64:385-392. 1997.
- [73] WEISS, D.; HILGER M.; MEYER, H.H.D.; BRUCKMAIER, R.M. Variable milking intervals and milk composition. **Milchwissenschaft.** 57(5): 246-250. 2002.
- [74] WITTEWER, F. Diagnostico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: **Perfil Metabólico em Ruminantes: Seu uso em nutrição e Doenças Nutricionais**. González, F.H.D.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.O. (Eds.). Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. Pp 9-22. 2000.
- [75] WITTEWER, F.; REYES, J.M.; OPITZ, H.; CONTRERAS, P.A.; BÖHMWALD, H. Determinación de urea en leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Arch. Med. Vet.** XXV (2): 165-172. 1993.
- [76] WOOD, P. Breed variations in the shape of the lactation curve of cattle and their implications for efficiency. **Anim. Prod.** 31: 131-141. 1980.