

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación de la alimentación con forrajes tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche en vacas doble propósito del trópico seco colombiano

José Edwin Mojica Rodríguez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia
2017

Evaluación de la alimentación con forrajes tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche en vacas doble propósito del trópico seco colombiano

José Edwin Mojica Rodríguez

Tesis o trabajo de investigación presentada (o) como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias - Producción animal

Director:

Carlos Eduardo Lascano Aguilar PhD

Codirector:

Juan Evangelista Carulla Fornaguera PhD

Línea de Investigación:

Nutrición de rumiantes

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Bogotá, Colombia

2017

*A mi hija Sara Sofía, mi esposa Maria Cecilia,
mis hermanos John y Nelly y a toda mi familia*

Agradecimientos

A la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, por el apoyo para realizar mis estudios de doctorado y el trabajo de grado.

A la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá por la formación recibida en mis estudios de posgrado.

Al Dr. Carlos Lascano por su paciencia, sus consejos, su excelencia y por el apoyo dado en la formación doctoral y en el desarrollo del proyecto de grado.

Al Dr. Juan Carulla por su valiosa asesoría, su excelencia y el apoyo académico ofrecido durante los estudios de doctorado.

A la Dra. Martha Pabón por sus sabios consejos y por su apoyo.

A Caroll Cortés y Luisa Sarmiento por el acompañamiento en los análisis realizados en el laboratorio de nutrición de la Universidad Nacional.

A Edwin Castro Rincón, amigo y compañero de trabajo, que me apoyó en el desarrollo de este trabajo.

A todas las personas que de una u otra manera me apoyaron para la realización de estos estudios y este trabajo.

Por último, a la vida por brindarme esta oportunidad.

Resumen

En estudios agronómicos de corte se evaluó el efecto de la edad de rebrote sobre el perfil de ácidos grasos (AG) en gramíneas (capítulo 2), leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales (capítulo 3). En ensayos de pastoreo se evaluó el efecto sobre la producción, composición de la leche y perfil de AG en la grasa láctea en vacas Gyr x Pardo suizo de primer, segundo y tercer tercio de lactancia con los cultivares Mulato II, Tanzania y Toledo (capítulo 4), intensidad de pastoreo (1,0 y 2,0 y 3,0 an/ha) (capítulo 5) en pasto Tanzania. Finalmente, se evaluó la suplementación con heno de leguminosas (experimento 1) y niveles de inclusión de heno de Canavalia (experimento 2) (capítulo 5) sobre producción, composición y perfil de AG de la leche de vacas Gyr x Pardo en primer tercio de lactancia. Los resultados mostraron diferencias en el contenido de AG en los forrajes evaluados y además que a medida que aumentaba la edad de rebrote disminuyeron ($P < 0,05$) los contenidos de AG en el tejido. El pasto Tanzania y la leguminosa arbustiva *Cajanus cajan* (Guandúl) presentaron un mayor ($P < 0,05$) contenido de precursores (linoleico + linolénico) de ácido linoleico conjugado (ALC c9 t11 18:2) que otras especies. Se presentó una mayor ($P < 0,05$) concentración de ALC y de ácidos poliinsaturados en la grasa de la leche en vacas pastoreando Tanzania y Toledo. El tercio de lactancia no afectó ($P > 0,05$) la concentración de ALC en la grasa de la leche. En las intensidades de pastoreo evaluadas con el pasto Tanzania, la producción y composición de la leche fue similar ($P > 0,05$). El tercio de lactancia tendió ($P < 0,10$) a incrementar la concentración de sólidos totales y grasa en la leche. La grasa de la leche de las vacas en pasto Tanzania manejado con intensidad de pastoreo de 2,0 y 3,0 an/ha tuvo una concentración mayor ($P < 0,05$) de ALC y de ácidos grasos poliinsaturados, pero el tercio de lactancia no afectó ($P > 0,05$) las concentraciones de ALC y de ácidos poliinsaturados. La suplementación con henos de leguminosas (experimento 1) no afectó ($P > 0,05$) la producción, composición de la leche ni la mayoría de AG en la grasa de la leche. La producción de leche vendible fue mayor ($P < 0,05$) con la inclusión de heno de Canavalia al 1,5% MS del PV (experimento 2), pero no se afectó ($P > 0,05$) la calidad composicional de la leche ni la mayoría de AG en la grasa de la leche. Se concluye que el perfil de AG en gramíneas y leguminosas tropicales varía debido a especie y a edad de rebrote. El cultivar de gramínea e intensidad de pastoreo modifican la concentración de ALC y de ácidos poliinsaturados en la grasa de la leche.

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, alimentación, bovinos, doble propósito, gramíneas, grasa, leche, leguminosas

Abstract

In agronomic cutting trials, the effects of stage of maturity on fatty acid (FA) profile in tropical grasses (Chapter 2), herbaceous legumes and shrub (Chapter 3) was evaluated under different cutting frequencies. In grazing trials, the effect on milk production, composition and FA profiles in milk fat of Gyr x Brown Swiss cows in three stages of lactation was evaluated with cultivars Mulato II, Tanzania and Toledo (Chapter 4). In another grazing experiment milk production, composition and profile of FA in milk fat was evaluated in that grass Tanzania under different grazing intensities (1,0 and 2,0 and 3,0 an/ha) (Chapter 5). Finally, the effect of supplementation on milk production, composition and FA profile in milk fat was evaluated with supplementation of different legume hay species (experiment 1) and levels of inclusion of one legume hay (experiment 2) (chapter 5). Results showed differences due to grass and legumes species in FA content in foliar tissue and that the level of FA decreased as stage of maturity increased. Tanzania grass and the shrub legume *Cajanus cajan* (Guandúl) had higher ($P < 0,05$) content of precursors (linoleic + linolenic acid) of conjugated linoleic acid (CLA c9 t11 18:2) than other species. Milk production was similar ($P > 0,05$) in grasses evaluated under grazing and as expected decreased ($P < 0,05$) as stage of lactation progressed. The concentration of fat and protein in milk was higher ($P < 0,05$) in Tanzania and Mulato II, but the stage of lactation did not affect ($P > 0,05$) milk composition. Results also showed higher ($P < 0,05$) concentration of CLA (c9 t11) and polyunsaturated FA in milk fat in cows grazing Tanzania and Toledo. Grazing Tanzania with different grazing intensities did not affect ($P > 0,05$) milk production and composition. However, CLA and polyunsaturated FA was higher in Tanzania grass managed with higher grazing intensities (2 and 3 an/ha). Supplementation with legume hays (experiment 1) did not affect ($P > 0,05$) production, milk composition and most FA in milk fat. On the other hand, milk production increased ($P < 0,05$) with the inclusion of 1,5% DM of BW of Canavalia hay (experiment 2), but composition and most FA in milk fat were not affected. It is concluded that the profile of FA in tropical grasses and legumes is affected by species and stage of maturity. Milk composition and concentration of CLA and polyunsaturated acids in milk fat is affected by grass cultivar and by grazing intensity.

Keywords: conjugated linoleic acid, food, cattle, dual purpose, grasses, fat, milk, legumes

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XIV
Lista de Símbolos y abreviaturas	XVI
Introducción	19
1. Producción y composición de la leche bovina en sistemas de producción doble propósito en el trópico seco	23
1.1 Sistemas de producción doble propósito	26
1.2 Factores que afectan la producción y calidad composicional de la leche en bovinos.....	27
1.2.1 Efecto de la oferta de forraje de especies de clima templado y tropical sobre la producción y calidad composicional de la leche.....	27
1.2.2 Efecto de la madurez (edad de rebrote) en forrajes de climas templados y tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche.....	30
1.2.3 Efecto de leguminosas de clima templado y tropical sobre la producción y calidad composicional de la leche	32
1.3 Composición de ácidos grasos en gramíneas y leguminosas de climas templados y tropicales.....	37
1.3.1 Gramíneas de clima templado y tropical	37
1.3.2 Leguminosas de clima templado y tropical	40
1.4 Efecto de diferentes especies forrajeras de clima templado y tropical sobre la composición de la grasa en la leche bovina	42
1.5 Conclusiones de la revisión de bibliografía	46
1.6 Bibliografía.....	46
2. Efecto de la edad de rebrote sobre el perfil de ácidos grasos en gramíneas tropicales	56
2.1 Introducción	58
2.2 Materiales y métodos.....	60
2.2.1 Aval comité de bioética	60
2.2.2 Localización	60
2.2.3 Especies forrajeras y edades de rebrote	60
2.2.4 Áreas experimentales.....	61
2.2.5 Establecimiento de las especies	61
2.2.6 Variables medidas.....	61

X Evaluación de la alimentación con forrajes tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche en vacas doble propósito del trópico seco

2.2.7	Diseño experimental y análisis estadístico	63
2.3	Resultados	63
2.3.1	Producción de forraje	63
2.3.2	Calidad nutricional	66
2.3.3	Perfil de ácidos grasos	69
2.4	Discusión	72
2.5	Conclusiones	75
2.6	Bibliografía	76
3. Efecto de especie y edad de rebrote sobre el perfil de ácidos grasos en leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales		80
3.1	Introducción	82
3.2	Materiales y métodos	83
3.2.1	Aval comité de bioética	83
3.2.2	Localización	83
3.2.3	Especies forrajeras y edades de rebrote	84
3.2.4	Áreas experimentales	84
3.2.5	Establecimiento de las especies	84
3.2.6	Variables medidas	85
3.2.7	Diseño experimental y análisis estadístico	86
3.3	Resultados	86
3.3.1	Producción de forraje	86
3.3.2	Calidad nutricional	89
3.3.3	Perfil de ácidos grasos	91
3.4	Discusión	95
3.5	Conclusiones	97
3.6	Bibliografía	97
4. Efecto de gramíneas tropicales y tercio de lactancia sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas en pastoreo en el trópico seco		101
4.1	Introducción	103
4.2	Materiales y métodos	104
4.2.1	Aval comité de bioética	104
4.2.2	Localización	104
4.2.3	Tratamientos	105
4.2.4	Establecimiento de las especies y manejo del pastoreo	105
4.2.5	Animales experimentales	106
4.2.6	Variables medidas en las pasturas	106
4.2.7	Variables medidas en los animales	107
4.2.8	Diseño experimental y análisis estadístico	109
4.3	Resultados	109
4.3.1	Disponibilidad y composición botánica del forraje en oferta	109
4.3.2	Calidad de las gramíneas	110
4.3.3	Perfil de ácidos grasos en gramíneas	111
4.3.4	Producción y composición de la leche	111
4.3.5	Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche	113
4.4	Discusión	115
4.4.1	Efecto de cultivares sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche	116

4.4.2	Efecto del tercio de lactancia sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche	119
4.4.3	Ácidos grasos en la leche de vacas en gramíneas tropicales vs templadas y salud humana.....	120
4.5	Conclusiones	122
4.6	Bibliografía.....	122
5.	Efecto de la intensidad de pastoreo y tercio de lactancia sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas pastoreando la gramínea guinea cv. tanzania en el trópico seco.....	130
5.1	Introducción	132
5.2	Materiales y métodos.....	133
5.2.1	Aval comité de bioética	133
5.2.2	Localización	133
5.2.3	Tratamientos	134
5.2.4	Establecimiento y manejo de la gramínea	134
5.2.5	Animales experimentales	135
5.2.6	Variables medidas en las pasturas.....	135
5.2.7	Variables medidas en los animales	136
5.2.8	Diseño experimental y análisis estadístico	138
5.3	Resultados.....	138
5.3.1	Disponibilidad y composición botánica del forraje	138
5.3.2	Calidad del pasto Guinea cv. Tanzania	139
5.3.3	Perfil de ácidos grasos en pasto Guinea cv. Tanzania	140
5.3.4	Producción y composición de la leche.....	140
5.3.5	Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche.....	142
5.4	Discusión	144
5.4.1	Efecto de la intensidad de pastoreo en pasto Guinea cv. Tanzania sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche.....	145
5.4.2	Efecto del tercio de lactancia sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche	147
5.4.3	Implicaciones del perfil de ácidos grasos sobre la salud humana.....	148
5.5	Conclusiones	149
5.6	Bibliografía.....	149
6.	Efecto de la suplementación con heno de leguminosas tropicales sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas en pastoreo en época seca	156
6.1	Introducción	158
6.2	Materiales y métodos.....	159
6.2.1	Aval comité de bioética	159
6.2.2	Localización	159
6.2.3	Experimentos y tratamientos	159
6.2.4	Manejo de las pasturas	160
6.2.5	Elaboración y manejo de heno de leguminosas	160
6.2.6	Animales experimentales	161
6.2.7	Variables medidas en pasturas y henos.....	161
6.2.8	Variables medidas en los animales	162
6.2.9	Diseño experimental y análisis estadístico	163
6.3	Resultados.....	164
6.3.1	Experimento 1	164
6.3.1	Disponibilidad y composición botánica del forraje.....	164

XII Evaluación de la alimentación con forrajes tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche en vacas doble propósito del trópico seco

Consumo de heno.....	165
Calidad y perfil de ácidos grasos en el pasto Colosuana y heno de leguminosas.....	166
Producción y calidad composicional de la leche	167
Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche	168
6.3.2 Experimento 2.....	170
Producción y calidad composicional de la leche	172
Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche	173
6.4 Discusión.....	174
Efecto de la suplementación de heno de leguminosas sobre la producción y composición de la leche en pastoreo de Colosuana	175
Efecto de la suplementación de heno de leguminosas sobre la concentración de ácidos grasos en la leche de vacas en pastoreo de Colosuana	176
Implicaciones del perfil de ácidos grasos sobre la salud humana	177
6.5 Conclusiones.....	178
6.6 Bibliografía	178
7. Conclusiones y recomendaciones	184
7.1 Conclusiones.....	184
7.2 Recomendaciones.....	186

Lista de figuras

	Pág.
Figura 2-1: Producción de hojas de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte sometidas a tres edades de corte	64
Figura 2-2: Producción de tallos de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte sometidas a tres edades de corte	65
Figura 2-3: Relación hoja: tallo de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte sometidas a tres edades de corte	66
Figura 2-4: Concentración de (A) ácido linoleico (C18:2) y (B) linolénico (C18:3) en diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte.....	71
Figura 2-5: Contenido (g/kg MS) de ácidos grasos (Palmítico C16:0, linoleico C18:2, linolénico C18:3, Precursores ALC (PRE)) en diferentes especies de gramíneas de corte (GC) y de pastoreo (GP) (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte.	72
Figura 3-1: Producción de hojas de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte	87
Figura 3-2: Producción de tallos de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte	88
Figura 3-3: Relación hoja: tallo de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte	89
Figura 3-4: Concentración (hojas + tallos) de (A) ácido mirístico (C14:0), (B) linolénico (C18:3) y (C) precursores de ALC (linoleico + linolénico) en especies en leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades corte.	93
Figura 3-5: Concentración (hojas + tallos) de los principales ácidos grasos (Palmítico C16:0, linoleico C18:2, linolénico C18:3, Precursores ALC (PRE)) en leguminosas herbáceas (LH) y leguminosas y no leguminosas arbustivas (A) en diferentes edades de rebrote.....	94

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1: Calidad nutricional de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte.....	68
Tabla 2-2: Contenido de ácidos grasos totales (AG) y perfil de ácidos grasos en gramíneas de pastoreo y de corte (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte.....	70
Tabla 3-1: Calidad nutricional (hojas + tallos) de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte.....	90
Tabla 3-2: Degradabilidad in situ (hojas + tallos) de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas.....	91
Tabla 3-3: Concentración (hojas + tallos) de ácidos grasos totales (AG) y perfil de ácidos grasos en especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte	92
Tabla 4-1: Oferta de materia seca (MS), materia seca verde (MSV) y composición botánica en pasturas con cultivares de gramíneas tropicales.....	110
Tabla 4-2: Calidad nutricional de tres cultivares de gramíneas tropicales evaluados bajo pastoreo.....	110
Tabla 4-3: Contenido de ácidos grasos totales y perfil de ácidos grasos en tres cultivares de gramíneas tropicales.....	111
Tabla 4-4: Producción de leche de vacas en pastoreo en función de cultivares gramíneas tropicales y tercios de lactancia	112
Tabla 4-5: Calidad composicional de la leche vendible de vacas en tres cultivares de gramíneas tropicales y en función de tercio de lactancia	112
Tabla 4-6: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas alimentadas con cultivares de gramíneas tropicales	114
Tabla 4-7: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en diferentes tercios de lactancia en pastoreo de cultivares de gramíneas tropicales	115
Tabla 5-1: Oferta de materia seca (MS), materia seca verde (MSV) y composición botánica en pastura de Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes	139
Tabla 5-2: Calidad nutricional del pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes.....	139
Tabla 5-3: Contenido de ácidos grasos totales y perfil de ácidos grasos en pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes.....	140
Tabla 5-4: Producción de leche de vacas en pastoreo en Guinea cv. Tanzania en función de intensidad de pastoreo y tercio de lactancia.....	141

Tabla 5-5: Calidad composicional de la leche vendible de vacas en pastoreo de Guinea cv. Tanzania en función de la intensidad de pastoreo y tercio de lactancia	141
Tabla 5-6: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes	143
Tabla 5-7: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en diferentes tercios de lactancia en tres intensidades de pastoreo de Guinea cv. Tanzania	144
Tabla 6-1: Oferta de materia seca (MS) y composición botánica en pasturas de Colosuana en los diferentes tratamientos de suplementación con heno de leguminosas	165
Tabla 6-2: Consumo de materia seca y de nutrientes de henos de Clitoria, Canavalia y Leucaena utilizadas para suplementar vacas pastoreando pasto Colosuana	165
Tabla 6-3: Calidad nutricional y perfil de ácidos grasos en pasto Colosuana y heno de leguminosas suplementadas a vacas	167
Tabla 6-4: Producción y calidad composicional de leche de vacas suplementadas con tres leguminosas tropicales henificadas en pastoreo de Colosuana	168
Tabla 6-5: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en pasto Colosuana suplementadas con tres leguminosas tropicales henificadas	169
Tabla 6-6: Oferta de materia seca (MS) y composición botánica en pasturas de Colosuana (<i>Bothriochloa pertusa</i>) en los tratamientos de suplementación con inclusión de heno de <i>C. brasiliensis</i>	170
Tabla 6-7: Consumo de materia seca y de nutrientes de heno de Canavalia en diferentes niveles de inclusión en la dieta de vacas pastoreando pasto Colosuana	171
Tabla 6-8: Calidad nutricional y perfil de ácidos grasos en pasto Colosuana y heno de Canavalia	172
Tabla 6-9: Producción y calidad composicional de leche de vacas en pasto Colosuana suplementadas con niveles de inclusión de heno de Canavalia en la dieta	173
Tabla 6-10: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en pasto Colosuana suplementadas con niveles de inclusión de Canavalia en la dieta	174

Lista de Símbolos y abreviaturas

Abreviaturas

Abreviatura	Término
-------------	---------

AG	Ácidos grasos
ALC	Ácido linoleico conjugado
DISMS	Digestibilidad <i>in situ</i> de la materia seca
EE	Extracto etéreo
FDA	Fibra detergente ácido
FDN	Fibra detergente neutro
P	Fósforo
G	Gramo
Ha	Hectárea
Kg	Kilogramo
L	Litro
MS	Materia seca
M	Metro
μl	Microlitro
Mg	Miligramo
Mm	Milímetros

Abreviatura Término

N Nitrógeno

PV Peso vivo

K Potasio

PC Proteína cruda

Introducción

En Colombia la producción de leche bovina fue de 6623 millones de litros en el año 2015 (Fedegan 2015). Se estima que el sistema de producción doble propósito aporta el 57,5% de la producción nacional de leche (Fedegan 2013), lo que demuestra la importancia de este sistema en la cadena láctea del país.

El sistema de producción doble propósito se caracteriza por utilizar cruces de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* con producciones de leche por animal y por lactancia bajas. En el departamento del Cesar, Colombia, la producción de leche promedio por animal se estima en 3,5 l/v/d y 1100 litros/lactancia (300 días). En la microrregión Valle del Cesar se ha reportado una producción de leche promedio de 4,8 l/v/d (Silva et al. 2011). Estas bajas producciones de leche se explican por la baja cantidad y/o calidad de las pasturas, deficientes sistemas de suplementación tanto en época de lluvia como de sequía, y a la falta de definición de un biotipo racial con alto potencial para la producción de leche bajo condiciones tropicales (Parra et al. 1998).

La leche en los sistemas de producción bovino de doble propósito se caracteriza por tener altos contenidos de sólidos totales, proteína y grasa cuando se compara con la leche producida en el sistema especializado con predominancia de vacas Holstein y Pardo Suizo. Sin embargo, la calidad composicional de la leche producida en estos sistemas presenta variación entre regiones. Por ejemplo, los resultados de un estudio realizado en fincas ganaderas con sistemas de producción doble propósito en el trópico seco en Colombia, indican que, en el Norte del Cesar, el 26,4% de los predios evaluados (n = 200) producen leche con concentraciones inferiores a 12,6% de sólidos totales, el 10,9% tienen leche con concentraciones inferiores a 3,8% de grasa y el 15,9% producen leche con concentraciones inferiores a 3,3% de proteína (CORPOICA 2010). Esta variabilidad en la calidad composicional de la leche en el sistema de doble propósito aunada a la baja producción de leche por animal y unidad de área, afectan los ingresos

económicos de los productores sobre todo si se tiene en cuenta el sistema de pago de leche cruda por calidad (Resolución 017 del 2012) (MADR 2012), que valora la concentración de sólidos totales o de proteína y grasa por litro de leche.

Los estudios sobre calidad composicional de la leche bovina se han enfocado a manipular el contenido de grasa y proteína en sistemas especializados (Auld et al. 2000, Bargo et al. 2002). En varios estudios se han identificado péptidos, oligonucleótidos y ácidos grasos (AG) en la leche bovina, que son catalogados como compuestos nutraceuticos por los efectos positivos sobre la salud humana (Gagliostro 2004, Bauman et al. 2006, Jenkins y McGuire 2006, Guerrero y Betancourt 2008).

La alimentación afecta la concentración de AG poliinsaturados en carne y leche con efecto nutraceutico (Harfoot 1981). Entre estos AG, se han identificado isómeros del ácido linoleico conjugado que poseen efectos anticarcinogénicos y antiaterogénicos (Bessa et al. 2000). Estos compuestos presentes en productos de origen animal pueden contribuir a incentivar el consumo per cápita tanto de leche como de carne por una población cada vez más consciente de la necesidad de consumir alimentos saludables.

Con el uso de forrajes como principal fuente de alimento en sistemas lecheros se observa una mayor concentración de AG poliinsaturados en la leche en comparación con sistemas de alimentación basados en concentrados (Ellis et al. 2006). Por ejemplo, en lecherías especializadas de Colombia, el contenido de AG poliinsaturados en la leche de vacas que pastorean pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) es alto, debido a que esta gramínea es una fuente rica en ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) (Rico et al. 2007, Pabón y Carulla 2008, Aguilar et al. 2009). Sin embargo, existen pocos estudios en los cuales se haya evaluado el efecto de forrajes tropicales sobre el perfil de AG de la leche producida en sistemas doble propósito.

Se ha identificado que diversos factores modifican la composición de AG en forrajes entre las cuales se encuentran la especie, la época del año, la edad de rebrote, la fertilización nitrogenada, la intensidad de la luz y la temperatura ambiental (Chilliard et al. 2001, Boufaied et al. 2003, Elgersma et al. 2004, Glasser et al. 2013), pero la mayoría de

estudios se han realizado con forrajes de zonas templadas y pocos con forrajes tropicales.

En forrajes de clima templado se ha observado variación en el contenido de los AG por efecto de la especie (Elgersma et al. 2013) y disminución por efecto de la edad de rebrote (Dewhurst et al. 2001).

En leguminosas tropicales se ha observado un efecto moderado de la edad de rebrote sobre la composición química (Sanchez et al. 2007), en contraste con el efecto marcado de este factor sobre la composición química en gramíneas tropicales (Cáceres y Santana 1988), lo que sugiere que la edad de rebrote puede modificar en menor medida la composición de AG en leguminosas en comparación con las gramíneas tropicales.

Con base en lo anterior, se plantea que se justifica evaluar los factores que afectan la concentración de AG en diferentes especies de gramíneas y leguminosas tropicales, así como también el efecto de estas especies forrajeras sobre la producción de leche, concentración de sólidos totales, proteína y perfil de AG en la leche producida en el sistema doble propósito del trópico seco.

En este trabajo se plantearon las siguientes hipótesis:

1. El perfil y la concentración de AG en gramíneas tropicales varían con la especie y la concentración disminuye a medida que aumenta la edad de rebrote, independientemente de la especie.
2. El perfil y la concentración de AG en leguminosas herbáceas y arbustivas (leguminosas y no leguminosas) tropicales herbáceas varían entre especies, pero no cambia con la edad rebrote
3. La producción de leche y la concentración de sólidos totales de la leche en vacas de primer y segundo tercio de lactancia es superior cuando las vacas se alimentan con pasto *Brachiaria* híbrido cv. mulato II y *Megathyrsus maximus* cv. Tanzania, debido a un mayor nivel de proteína y digestibilidad en el forraje en oferta, en comparación con *Brachiaria brizantha* cv. Toledo.
4. El perfil de AG en la leche varía en función de la especie forrajera y el contenido de ácido linolénico conjugado c9 t11 (ALC) en la grasa de la leche de las vacas está

asociado con la concentración de ácido linoleico y linoleico en cada una de las especies evaluadas.

5. La producción de leche, concentración de sólidos totales en la leche y contenido de ALC en la grasa de la leche de vacas en primer y segundo tercio de lactancia se reduce con la alimentación de *Megathyrsus maximus* cv. Tanzania manejado con intensidad de pastoreo alta (3,0 an/ha).
6. La producción, concentración de sólidos totales y el contenido de ALC en la grasa de la leche de vacas en pastoreo de pasto Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) aumenta con la suplementación de henos de leguminosa, independientemente de la especie.
7. La producción de leche, concentración de sólidos totales y el contenido de ALC en la grasa de la leche de vacas en pastoreo de pasto Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) aumenta con niveles altos de inclusión de heno de *Canavalia brasiliensis* en la dieta.

Para probar estas hipótesis se planteó como objetivo general de este estudio, evaluar el efecto de factores alimenticios sobre la producción y la calidad composicional de la leche en vacas en sistemas doble propósito en el trópico seco, y los siguientes objetivos específicos:

- I) determinar el efecto de la edad de rebrote de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte y leguminosas herbáceas y arbustivas sobre su perfil de AG,
- II) determinar el efecto de tres especies de gramíneas sobre la producción de leche, composición de la leche y perfil de AG en la grasa de la leche de vacas Gyr x Pardo Suizo en diferentes tercios de lactancia,
- III) determinar el efecto de la intensidad de pastoreo en *Megathyrsus maximus* cv. Tanzania sobre la producción de leche, composición de la leche y perfil de AG en la grasa de la leche en vacas Gyr x Pardo Suizo en diferentes tercios de lactancia y
- IV) determinar el efecto de la inclusión de heno de leguminosas tropicales sobre la producción de leche, composición de la leche y perfil de AG en la grasa de la leche en vacas Gyr x Pardo Suizo.

1. Producción y composición de la leche bovina en sistemas de producción doble propósito en el trópico seco

Resumen

El sistema de producción bovino doble propósito en el trópico seco colombiano hace un importante aporte a la producción nacional de leche. La leche producida en el sistema doble propósito presenta mayores contenidos de sólidos totales, proteína y grasa en comparación con la leche producida en el sistema especializado. En la grasa de la leche bovina se han identificado ácidos grasos (AG) con efecto nutracéutico en humanos y la alimentación de las vacas modifica su concentración. Se realizó una revisión de literatura de los principales factores alimenticios que afectan la producción y calidad composicional de la leche con énfasis en el perfil de AG en la leche de vacas del sistema doble propósito y de los factores que afectan el perfil de AG en forrajes tropicales. Los trabajos realizados con vacas en sistemas doble propósito demuestran un efecto positivo de gramíneas y leguminosas mejoradas sobre la producción de leche y contenido de grasa. Sin embargo, no existe información sobre el efecto de especies de gramíneas y leguminosas mejoradas o de otros factores, como por ejemplo la oferta de forraje, sobre el perfil de AG en la grasa de la leche de vacas doble propósito. El efecto de la alimentación sobre la concentración de AG en leche se ha evaluado en sistemas especializados con forrajes de zonas templadas. Los resultados indican que el perfil de AG de la leche se modifica por efecto de la oferta de forraje y de la especie con forrajes de zonas templadas. Por lo anterior, se postuló que era necesario evaluar el efecto de factores de manejo sobre la concentración de AG en gramíneas y leguminosas tropicales y el efecto de estos forrajes sobre la producción, calidad composicional y la concentración de AG en la grasa de la leche en vacas del sistema doble propósito. Un mejor conocimiento sobre cómo diferentes gramíneas tropicales afectan la composición

de la grasa de la leche de vacas en sistemas doble propósito haría que estos sistemas sean más competitivos teniendo en cuenta la valoración que pueda hacer la lactoindustria y consumidores de leches funcionales.

Palabras clave: ácidos grasos, gramíneas, leguminosas, pastoreo, suplementación

Production and bovine milk composition in dual-purpose system in dry tropic

Abstract

The dual-purpose bovine system in Colombian dry tropic makes important contributions to national milk production. Milk of cows in dual-purpose system is higher in fat, protein and total solids concentration than in milk from specialized dairy system. In the milk fat, there are acids (FA) with nutraceutical properties for human that can be modified through feeding. A literature review was carried out to define what feeding factors affect the production and compositional quality of milk emphasizing FA in milk fat of cows in tropical dual-purpose system and the factors that affect the FA content of tropical grasses and legumes. The review identified that there was a positive effect on milk production and fat content when feeding improved tropical grasses and legumes. On the other hand, the review indicated that FA profile in milk fat in specialized dairy systems can be modified by species and level of offer of grasses and legumes of temperate zones. No such information is available for tropical grasses and legumes fed to cows in dual purpose systems. Therefore, it was postulated that there is need to evaluate how management factors of different tropical grasses and legumes affect production, compositional quality and FA concentration in milk fat of cows in dual-purpose system. A better knowledge on how tropical grasses affect milk fat composition in cows of dual-purpose system would improve the competitive value of milk from dual purpose systems when the industry and consumers start demanding milk with nutraceutical properties.

Key words: Fatty acids, grasses, legumes, grazing, supplementation

1.1 Sistemas de producción doble propósito

En Colombia, el inventario bovino es de aproximadamente 22,5 millones de cabezas (ICA 2015). Según el DANE (2013), 2,4 millones de animales se explotaron en el sistema especializado y 7,8 millones en el sistema doble propósito en el año 2012. Con base a estas estadísticas, se infiere que aproximadamente el 35% del total del inventario de ganado bovino en Colombia se encuentra en el sistema doble propósito, el cual produce el 57,5% de la leche del país.

En el trópico seco representado en Colombia por el Norte del departamento del Cesar (Ideam et al. 2007), la producción de leche en el sistema doble propósito es de 3,5 l/v/d en promedio mientras que en la microrregión Valle del Cesar el promedio es de 4,8 l/v/d (Silva et al. 2011). Estos niveles de producción son muy similares a los reportados (3 a 5 l/v/d) en otras regiones del Caribe Colombiano (i.e. departamentos de Sucre y Córdoba) donde predomina el sistema doble propósito (Mojica 2007).

La baja producción de leche en los sistemas doble propósito en el trópico seco se debe principalmente a una deficiente alimentación asociada a la baja cantidad y calidad nutricional de gramíneas naturalizadas (*Bothriochloa pertusa*) o introducidas (*Megathyrus maximus*, *Dichanthium aristatum*) particularmente en la época seca (Lascano y Hollmann 1997). La falta de definición de un biotipo racial que posea un alto potencial de producción de leche es otro factor que influye en la baja producción de leche en sistemas doble propósito (Parra et al. 1998).

En Colombia los grupos raciales que predominan en el sistema doble propósito son el cruce de razas cebuínas con razas europeas especializadas en producción de leche (i.e. Holstein y Pardo suizo) y con razas criollas con vocación lechera (i.e. Costeño con Cuernos) (Gamarra 2004). En el Valle del Sinú, se han reportado producciones de 3,1 l/v/d en la raza Cebú; 2,8 a 3,0 l/v/d en vacas del cruce de Cebú con la raza criolla Costeño con Cuernos; 5,3 l/v/d en vacas del cruce de Cebú con Holstein y 4,3 l/v/d en el cruce de Cebú con Pardo Suizo (Pardo y Sánchez 1990). Estos resultados muestran la variación en producción de leche por animal que existe en los sistemas de producción

doble propósito debido a grupo racial, pero también indican cómo mediante cruces apropiados se pueden lograr aumentos en producción de leche.

1.2 Factores que afectan la producción y calidad composicional de la leche en bovinos

La producción y calidad composicional de la leche puede variar por factores genéticos, tercio de lactancia y por la calidad y la cantidad de alimento suministrado a los animales (Sandoval et al. 1997). A continuación, se resumen diferentes factores alimenticios relacionados con la producción y calidad composicional de la leche con énfasis en proteína, perfil lipídico y su relación con la concentración de ácidos grasos (AG) en forrajes.

1.2.1 Efecto de la oferta de forraje de especies de clima templado y tropical sobre la producción y calidad composicional de la leche

La mayoría de estudios tanto a nivel internacional como nacional donde se ha evaluado el efecto de oferta de forraje (kg MS/vaca/d) sobre la producción y la calidad de la leche se han realizado en lecherías especializadas. En esos estudios se ha identificado que la oferta de forraje influye significativamente sobre la producción y la concentración de proteína y caseína en la leche (O'Brien et al. 1997). Por ejemplo, en Nueva Zelanda se encontró una mayor concentración de proteína y caseína en leche de vacas Holstein que pastorearon a voluntad (>45 kg MS/vaca/d) ryegrass (*Lolium perenne*) asociado con trébol blanco (*Trifolium repens*) en comparación con vacas que tenían oferta restringida (18 kg MS/vaca/d) de forraje (Auld et al. 2000). En ese mismo país, Macdonald et al. (2008) evaluaron diferentes ofertas de pasto ryegrass (22,5; 18,3; 17,2; 13,7 y 12,9 kg MS/vaca/d) por medio de la modificación de la carga animal (2,2; 2,7, 3,1; 3,7 y 4,3 an/ha) sobre la producción y calidad composicional de leche en vacas Holstein durante tres años. La producción de leche por animal y por hectárea disminuyó y aumentó, respectivamente, en forma lineal ($P < 0,05$) a medida que aumentó la carga animal (disminución de la oferta de forraje). En ese mismo estudio el contenido de proteína disminuyó en forma lineal ($P < 0,05$), pero el contenido de grasa en la leche no se afectó ($P > 0,05$) conforme aumentó la carga animal. En Francia, Filho et al. (2005) evaluaron dos ofertas diarias de forraje (20 y 35 kg MS/vaca/d) en pasturas de ryegrass solo y

asociado con trébol blanco sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein. En la pradera asociada en comparación con el ryegrass solo (promedio de las dos ofertas), se redujo la producción de leche (-1,3 kg/vaca/d) y la concentración de proteína (-0,06 puntos), pero no hubo efecto en la concentración de grasa. Estos resultados estuvieron asociados a una menor altura del forraje en la pradera asociada, lo cual disminuyó posiblemente el consumo de materia seca. La oferta de 35 kg MS/vaca/d incrementó la producción de leche (13%) y el contenido de proteína (1,1 puntos), pero redujo el contenido de grasa (-0,35 puntos) (promedio de las dos praderas).

En Colombia, en lecherías especializadas se ha evaluado el efecto de la oferta de forraje sobre la producción y calidad composicional de la leche en vacas Holstein, principalmente con pasto kikuyo (*C. clandestinus*). En una pastura de kikuyo, Escobar y Carulla (2003) encontraron un aumento de 22,4 y 21,8% en la producción de leche por vaca/d y un aumento de 14 y 21% en la concentración de proteína en la leche de vacas Holstein al pasar de una oferta de 3 a 5 y de 3 a 7 kg de MS/100 kg de peso vivo (PV), respectivamente. Posteriormente, Mojica et al. (2009) evaluaron tres ofertas de forraje de pasto kikuyo (2,6; 3,3 y 4,0 kg MS/100 kg PV) con vacas Holstein en primer y segundo tercio de lactancia. Los resultados mostraron un incremento lineal en la producción de leche a medida que se incrementó la oferta de forraje en vacas de primer tercio de lactancia. Sin embargo, la calidad composicional de la leche no varió con los niveles de oferta evaluados. Estos estudios sugieren que ofertas entre 3,5 y 4,0 kg MS/100 kg PV sería el rango optimo para mejorar la producción y la calidad composicional de la leche en vacas Holstein.

En otro estudio, Mendoza et al. (2011) evaluaron el efecto de variaciones diarias de la oferta de pasto kikuyo sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein en fincas de la Sabana de Bogotá. El nivel de oferta de forraje (2 a 36 kg MS kg/vaca/d) explicó en un 45% la variación en la producción diaria de leche observada, pero solo en un 12% de la variación observada en concentración de proteína. No hubo efecto de nivel de oferta de forraje sobre la concentración de grasa en la leche.

En otros estudios en los que se ha variado la oferta de forraje se han reportado incrementos en producción de leche, pero no sobre la proteína en la leche (Virkajarvi et

al. 2002, Álvarez et al. 2006). El efecto positivo de una mayor oferta de forraje sobre el volumen y la composición de la leche, se ha asociado con un mayor consumo de energía digestible (O'Brien et al. 1997, Audist et al. 2000, Bargo et al. 2002, Escobar y Carulla 2003).

En el sistema de producción doble propósito del trópico seco, la información sobre el efecto de oferta de forraje sobre la calidad composicional de la leche es escasa. En estos sistemas de producción, pero desarrollados en otros ambientes, la investigación se ha dirigido principalmente a evaluar el efecto de especies forrajeras sobre la producción de leche, sólidos totales y grasa, y en menor medida sobre la concentración de proteína de la leche. En Santander de Quilichao (Cauca), Argel et al. (2007) reportaron producciones de leche en vacas mestizas pastoreando *Brachiaria brizantha* cv Toledo, *Brachiaria* Híbrido cv Mulato y Mulato II, de 7,9; 7,5 y 8,3 l/v/d con concentración de grasa de 3,9; 4,2 y 4,3% y de sólidos no grasos de 8,8; 8,9 y 8,9%, respectivamente. Con base en estos resultados el pasto Mulato II sería una especie promisoría para mejorar la producción y composición de la leche en sistemas de producción doble propósito.

Con la introducción de nuevos cultivares de gramíneas (*Brachiaria* híbrido cv. Mulato y de *B. brizantha* cv. Toledo) en regiones de Centro América, se reportaron incrementos de 16 a 26% en producción de leche en comparación con gramíneas tradicionales, lo cual se asoció a la mayor calidad nutricional de los nuevos cultivares (Argel 2006). En México, Guiot (2005) encontró un incremento en producción de leche individual del 12% en vacas Pardo Suizo en pasturas de Mulato II en comparación con Mulato I. Un mayor aporte de proteína cruda en el pasto Mulato II (19 a 21%) respecto al Mulato I (16 a 20%) explica en parte esa respuesta. En Nicaragua, Pastora y Navarrete (2007) evaluaron el efecto del pasto *Brachiaria* híbrido cv. Mulato sobre la producción de leche y observaron que con este pasto había un 26% de incremento de leche (5,8 l/v/d) en comparación con el pasto *Andropogon gayanus* cv. Gamba. Finalmente, Aguirre y Zabala (2014) encontraron una producción de leche similar en vacas Jersey en pastoreo de pasto Mulato II (17,4 l/v/d) y pasto Cayman (16,8 l/v/d) en el trópico seco en Honduras, lo que demuestra el potencial de producción de leche con esos forrajes mejorados.

Con base en lo anterior, se infiere que la introducción de cultivares mejorados de gramíneas es una alternativa para aumentar la producción individual y por unidad de área

y el contenido de grasa y sólidos no grasos en el sistema de producción de doble propósito en el trópico seco. Teniendo en cuenta que con gramíneas templadas aumentos de oferta de forraje puede resultar en aumentos en producción y en niveles de proteína en la leche en sistemas especializados, se esperaría que este mismo efecto se observe con gramíneas tropicales en sistemas doble propósito en el trópico seco.

1.2.2 Efecto de la madurez (edad de rebrote) en forrajes de climas templados y tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche

El efecto de la madurez del forraje sobre la producción y calidad composicional de la leche bovina se ha evaluado utilizando gramíneas de zonas templadas. En Irlanda, Kennedy et al. (2007) evaluaron dos edades de rebrote (49 y 90 días de rebrote) de ryegrass (*Lolium perenne*) sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein. Con la menor edad de rebrote del forraje se incrementó la producción de leche (2,4 kg/v/d) y la concentración de proteína (0,14 puntos) y lactosa (0,08 puntos) en la leche. El mayor contenido de proteína cruda y una mayor digestibilidad de la materia orgánica en la edad menor de rebrote explica en parte esa respuesta. En otro estudio en el mismo país, Curran et al. (2010) midieron la producción y calidad composicional de la leche en vacas Holstein en pasturas de ryegrass con dos niveles de oferta (1600 y 2400 kg MS/ha), que representaban a su vez dos edades de rebrote. La producción de leche se incrementó en 0,9 kg/v/d con el forraje de menor edad de rebrote (menor cantidad de forraje por hectárea) en uno de los periodos evaluados. Sin embargo, la oferta o madurez del forraje no afectaron la calidad composicional de la leche. En Nueva Zelanda, Hoogendoorn et al. (1992) evaluaron dos niveles de masas de hierba (2,5 y 5,3 t MS/ha), que representaron dos edades de rebrote y dos ofertas de forraje (47,8 y 12,2 kg MS/vaca/d) de una pastura de ryegrass asociado con trébol blanco en vacas Jersey x Holstein. La menor masa de hierba (menor edad de rebrote) y la mayor oferta de forraje incrementaron la producción diaria de leche en 19% y 23,3%, respectivamente.

En Ecuador, Rocha y Changoluisa (2011) evaluaron una mezcla forrajera compuesta por pasto rye grass, pasto azul, trébol blanco y llantén a dos edades de rebrote (30 y 45 días) sobre la producción de leche en vacas Holstein cruzadas y se encontró un incremento de 7% en la producción diaria de leche individual de las vacas al consumir la

mezcla con menor edad de rebrote con relación a la de mayor edad, corroborando los resultados de los trabajos anteriores. En este estudio no se evaluó la calidad composicional de la leche.

En Francia, Filho et al. (2003) evaluaron dos edades de rebrote (19 y 35 días) en pasturas de ryegrass solo y asociado con trébol blanco sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein. La producción diaria de leche individual de las vacas fue mayor (12%) al consumir la gramínea sola, pero no hubo efecto sobre la concentración de proteína y grasa. La menor edad de rebrote en las dos pasturas incrementó la producción de leche (14%), pero no modificó el contenido de proteína y grasa.

En Colombia se han realizado pocos estudios en los que se ha evaluado el efecto de edad del pasto sobre la producción y calidad composicional de la leche. Uno de los estudios reportados se realizó en la Sabana de Bogotá (Aguilar et al. 2009). Los resultados mostraron que cuando el pasto kikuyo tenía 50 días de rebrote comparado con 70 días, en una oferta constante (4 kg MS /100 kg peso vivo), hubo una mayor (18,9%) producción de leche y tendencia a mayor (7,9%) concentración de proteína en leche de vacas Holstein. Sin embargo, en otro estudio donde se evaluaron dos edades de rebrote (45,5 y 79,5 días) con una oferta de 3 kg MS/100 kg de peso vivo de pasto kikuyo no se observaron cambios en la producción ni en la calidad composicional de la leche de vacas Holstein (Correa et al. 2011). Los resultados contrastantes entre estos dos estudios se explican por falta de cambios notorios en la calidad nutricional del pasto kikuyo en las dos edades de rebrote en el estudio de Correa et. al. (2011) en comparación con el estudio de Aguilar et al. (2009) en donde se observó una mejor calidad nutricional en la menor edad de rebrote evaluada.

El efecto de la edad rebrote con forrajes tropicales sobre la producción y calidad composicional de la leche en sistemas doble propósito ha sido poco estudiado. En un estudio realizado en Cuba se evaluó el efecto de dos edades de rebrote (45 y 60 días) del pasto Cuba CT 115 (*Pennisetum purpureum*) bajo pastoreo sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas mestizas Holstein (Carrasco et al. 2002). La producción de leche (7,5 l/v/d) fue mayor en el pasto con menor edad de rebrote (45 días) en relación a la producción (6,4 l/v/d) en el pasto con mayor edad de rebrote (60

días). En este estudio la edad de rebrote del pasto no tuvo efecto sobre la concentración de grasa y proteína en la leche.

Con base en la revisión se puede inferir que, con pasturas de zonas templadas cuando el forraje en oferta no es limitante, una menor edad de rebrote del forraje en oferta incrementa la producción de leche y el contenido de proteína en la leche. Se debe evaluar si con especies tropicales existe un efecto de edad de rebrote de la pastura sobre componentes de calidad de la leche como se ha observado con especies templadas, ya que los pocos estudios que se reportan muestran un efecto positivo sobre la producción de leche, pero no reportan efecto sobre la concentración de proteína o grasa en la leche de vacas doble propósito.

1.2.3 Efecto de leguminosas de clima templado y tropical sobre la producción y calidad composicional de la leche

La utilización de leguminosas de clima templado en la dieta de vacas lecheras ha tenido un impacto positivo sobre la producción de leche, pero efectos contrastantes sobre la calidad composicional de la leche. En Suiza, Bertilsson et al. (2003) evaluaron ensilajes de ryegrass (*Lolium perenne*) 100%, trébol rojo (*Trifolium repens*) 100% y blanco 100% (*Trifolium pratense*) y sus mezclas (trébol rojo 50% - ryegrass 50% y trébol blanco 50% - ryegrass 50%) sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein. La producción de leche se incrementó con las dos mezclas (2,2 l/v/d), pero la concentración de grasa en leche se redujo (- 0,3 puntos) con la mezcla de ryegrass + trébol blanco en comparación con solo ryegrass (testigo). Por otro lado, en EE. UU., Broderick et al. (2002) usando dietas isoproteicas mostraron que en dietas totalmente mezcladas con la inclusión de alfalfa (51,2%) se incrementó la producción de leche (5,8 l/v/d) y tendió a incrementar la concentración de proteína (0,15 puntos) en leche de vacas Holstein en comparación con ensilaje de ryegrass (40,6%). En el Reino Unido, Moorby et al. (2009) evaluaron diferentes proporciones de ensilaje de ryegrass y trébol blanco (100 - 0%, 66 - 34%, 34 - 66%, 0 - 100%) suministrado a voluntad a vacas Holstein. La introducción de ensilaje de trébol blanco en la dieta de gramínea incrementó la producción de leche comparada con solo ryegrass, pero la mezcla 34 - 66% de ryegrass + trébol fue la que mostró el mayor aumento en producción de leche (1,3 l/v/d). En este estudio, las concentraciones de proteína y grasa en la leche disminuyeron a medida que

se incrementó la proporción de trébol en los ensilajes y se presentaron mayores concentraciones de proteína (3,1%) y grasa (3,8%) al suministrar el ensilaje de solo ryegrass. La mayor concentración de proteína en la leche con solo ryegrass estuvo asociada con una mayor eficiencia en la utilización de nitrógeno en el rumen que resultó en más proteína microbiana. En Finlandia, Vanhatalo y Gaddnas (2006) evaluaron la suplementación de granos de cebada y avena y dos tipos de ensilajes (uno de gramíneas - *Festuca pratensis* y *Phleum pratensis* y el otro, con las mismas gramíneas, pero mezcladas con trébol blanco) sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Ayrshire. La producción de leche se incrementó (1,1 l/v/d) por la inclusión de trébol blanco en el ensilaje, pero el aumento mayor (8,5%) se observó con el suplemento de grano de avena en comparación con el grano de maíz. Sin embargo, no hubo efecto sobre la concentración de proteína o grasa con los ensilajes evaluados, pero sí con el uso de los granos. Con grano de cebada se observó una mayor concentración de proteína en la leche (3,4%) en comparación al nivel encontrado con el grano de avena (3,2%).

En Colombia los trabajos en los que se ha evaluado mezclas de gramíneas y leguminosas en producción y calidad composicional de la leche se han realizado en lecherías especializadas y en menor grado en sistemas doble propósito. En la Sabana de Bogotá, Castro et al. (2008) evaluaron el efecto de una pastura asociada de gramíneas (*Festuca arundinacea* + *Cenchrus clandestinus*) y de una pastura asociada con leguminosa (*Festuca arundinacea* + *Lotus uliginosus*) sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein. Se observó una mayor producción de leche (3,6 l/v/d) y una mayor concentración de proteína (0,4 puntos) cuando los animales consumieron la pastura asociada con leguminosa en comparación con la pastura de solo gramíneas. En otro trabajo, en la Sabana de Bogotá, León (2011) evaluó el efecto de pasturas de *Cenchrus clandestinus* y *Festuca arundinacea* cada una asociada con *L. uliginosus* sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein. En la asociación de *F. arundinacea* y *L. uliginosus* se incrementó la producción de leche (1,1 l/v/d) pero no la concentración de proteína ni de grasa en la leche en comparación con *F. arundinacea*. Por otro lado, en la asociación de *C. clandestinus* + *L. uliginosus* se incrementó la producción de leche (5,1 l/v/d) pero se redujo la concentración de proteína (- 0,1 punto) en comparación con *C. clandestinus*. Este mismo autor (León 2011) realizó otro experimento en la Sabana de Bogotá donde evaluó el efecto de *C. clandestinus* solo

y asociado con *Trifolium pratense* sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas Holstein. La producción de leche se incrementó (1,4 l/v/d) y los sólidos totales aumentaron (0,2 puntos) en la pradera asociada con la leguminosa.

Con base en los resultados de los estudios indicados anteriormente, se concluye que la utilización de leguminosas de clima templado (frescas o ensiladas) incrementan la producción de leche, pero con efectos variables sobre la concentración de proteína y grasa en la leche de las vacas en comparación con dietas a base de gramíneas.

En el sistema doble propósito, el uso de leguminosas tropicales ha sido principalmente en bancos de proteína, en asociaciones con gramíneas y como forraje conservado (heno, ensilaje). En México, Saucedo et al. (1980) evaluaron la utilización de leucaena, como banco de proteína, como suplemento de pasto bermuda (*Cynodon dactylon*), con lo cual se incrementó en 17% la producción de leche en comparación con los animales en el tratamiento testigo. La leucaena mejoró el aporte de proteína degradable en el rúmen en la dieta de los animales. En este estudio, no se analizó el efecto de la leguminosa sobre la calidad composicional de la leche. En Australia, Stobbs (1971) encontró una reducción en la producción de leche y en la concentración de sólidos no grasos, pero un aumento en el contenido de la grasa de la leche en vacas Jersey en pasturas puras de leguminosas (*Phaseolus atropurpusi*, *Desmodium intortum*) en comparación con las leguminosas asociadas con pasto pangola (*Digitaria decumbens*). El bajo consumo de energía digestible en las pasturas de solo leguminosas fue un factor limitante en la producción de leche. En Costa Rica, González et al. (1996) encontraron que la concentración de proteína en la leche aumentó con relación a la pastura sola cuando las vacas pastorearon una asociación de estrella (*Cynodom nlemfuensis*) con maní forrajero (*Arachis pintoi*). Sin embargo, la proteína de la leche no aumentó cuando las vacas pastaron la misma gramínea asociada con *Desmodium ovalifolium* con niveles altos de taninos. Estos resultados podrían explicarse por la mayor degradabilidad en el rumen de la proteína del *Arachis* en comparación con la proteína de *Desmodium*, lo cual a su vez pudo modificar la eficiencia de utilización de la proteína metabolizable en el animal. En Venezuela, Diannelis et al. (2006) evaluaron la producción y calidad composicional de la leche de vacas criollo limonero en una asociación de leucaena y pasto estrella en comparación con la gramínea sola. La producción y composición de la leche en las vacas

fueron similares en los dos tratamientos. Sin embargo, la producción de leche por hectárea fue superior en la asociación gramínea - leguminosa debido a que ese sistema soportó una mayor carga animal.

En Colombia, Mosquera y Lascano (1992) evaluaron el efecto de *B. decumbens* sola y complementada con bancos de proteína de *Centrosema macrocarpum* y *Centrosema acutifolium* sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas mestizas (cebú x europeo). Se realizaron tres fases de medición y solo en una fase se observó una tendencia hacia mayor producción de leche cuando las vacas tuvieron acceso a los bancos de proteína. En ninguna fase de medición se observó efecto de los bancos de leguminosa sobre la concentración de proteína y sólidos grasos en leche. La falta de respuesta positiva en producción y calidad composicional de la leche se explicó en parte porque los animales presentaron altos niveles de urea en leche, lo cual es indicativo de excesos de proteína o un desequilibrio en energía – proteína en la dieta. En Florencia, Colombia, Cipagauta et al. (1998) evaluaron la producción y calidad de la leche en vacas mestizas en una pradera nativa, *Brachiaria decumbens* sola y asociada con leguminosas (*Arachis pintoii*, *Desmodium ovalifolium*, *Centrosema macrocarpum*, *Stylosanthes guianensis*). No se encontraron diferencias en la producción de leche, pero sí en la concentración de grasa en la leche, siendo superior en las vacas que pastaron la asociación de gramínea y leguminosas. En Costa Rica, Romero y Gonzalez (2001) evaluaron la producción y calidad de la leche en vacas Jersey en pasturas de *B. decumbens* asociadas con *Hyparrhenia rufa*, *B. decumbens* sólo y asociada con *Arachis pintoii*. La pastura asociada presentó la mayor producción de leche (9,3 kg/v/d), pero la composición de la leche no presentó variación debida a los diferentes tratamientos.

En el departamento del Cesar, Colombia, Roncallo et al. (2009) evaluaron el efecto de *Leucaena leucocephala* asociada con pasto kikuyina (*Bothriochloa pertusa*) o con pasto guinea (*Megathyrsus maximus* cv. Tanzania) y kikuyina sola (testigo) sobre la producción de leche de vacas doble propósito. Los resultados mostraron una mayor producción de leche (15%) por animal, pero no por hectárea (- 65,3%) en la asociación de leucaena con kikuyina en comparación con lo observado en pasto guinea. En este estudio el nivel de grasa en la leche se incrementó en 0,68 y 0,71 unidades porcentuales en las asociaciones de leucaena con guinea y con kikuyina, respectivamente. Además, se

encontró que los sólidos totales fueron superiores en las dos asociaciones con leucaena (13,4%) en relación al tratamiento testigo (12,3%).

En Santander de Quilichao, Lascano et al. (2001) evaluaron el forraje de *Cratylia argentea* como suplemento en vacas lecheras mestizas Holstein x Cebú bajo un sistema de pastoreo directo asociado con *B. decumbens* o en corte y acarreo. Se presentó un incremento en producción de leche de las vacas de 22,9% y 9,8% en la época de mínima precipitación y de 15,8% y 4,7% en la época de máxima precipitación en el pastoreo directo y en el sistema de corte y acarreo de *Cratylia*, respectivamente, con relación al tratamiento de solo pastoreo de *B. decumbens*. El contenido de grasa y de sólidos no grasos en la leche de las vacas no fueron afectados por los tratamientos en ninguna de las dos épocas de evaluación.

En otros estudios se ha evaluado el efecto de leguminosas como alternativa de sustitución de alimentos balanceados sobre la producción y calidad composicional de la leche de vacas en sistemas doble propósito. En Venezuela, Ojeda y Escobar (1997), evaluaron el efecto de sustituir cascarilla de soya en un alimento balanceado (PC 20,7%, FDN 57,6%) por forraje de matarratón (*Gliricidia sepium*) sobre la producción de leche y concentración de grasa en vacas consumiendo pasto estrella (*Cynodon nlenfluensis*). La producción de leche y el contenido de grasa de la leche fueron similares con ambos suplementos, por lo que se concluyó que el forraje de matarratón puede reemplazar fuentes tradicionales de proteína en suplementos de vacas doble propósito. En ese mismo país, Clavero et al. (1996) evaluaron diferentes niveles de harina de matarratón (0; 0,5 y 1,0 kg MS) para sustituir alimento balanceado (PC 20%) en vacas mestizas con predominio de Pardo Suizo. La producción de leche aumentó en 9,3 y 8,7% y el contenido de grasa en leche incrementó un 10,9 y 17,7% respectivamente, con la suplementación de 0,5 y 1,0 kg MS de harina de matarratón por concentrado con relación al tratamiento con solo concentrado. En Costa Rica, Ibrahim et al. (2001) evaluaron la utilización en época seca de forraje fresco de *Cratylia argentea* como sustituto de pollinaza en un suplemento a base en caña forrajera y salvado de trigo suministrado a vacas doble propósito que pastoreaban pasturas de *Hypharrenia rufa*. La producción de leche y la concentración de proteína, grasa y lactosa fueron similares en los dos tratamientos. Sin embargo, se observó una tendencia de más grasa en la leche con C.

argentea. También en Costa Rica, Argel et al. (2000) evaluaron el uso de forraje de *Cratylia argentea* suministrada fresca y ensilada como alternativa de sustitución de un suplemento balanceado comercial sobre la producción y calidad composicional de la leche en vacas Jersey. La producción de leche no varió debido a los tratamientos, pero el contenido de grasa en la leche se incrementó en 0,2 y 0,3 unidades porcentuales al suplementar los animales con *Cratylia* fresca y ensilada, respectivamente.

En Colombia, Bernal et al. (2008) evaluaron el efecto de mezclas de henos de *Vigna unguiculata* y *Calliandra callothyrsus* sobre la producción de leche de vacas Holstein x cebú en pasturas de *Paspalum notatum*. Los resultados mostraron una mayor producción de leche (5,3 kg/v/d) con el heno de 100% de *Vigna unguiculata* y una menor producción (3,6 kg/v/d) con el heno de 100% de *Calliandra callothyrsus* que es una leguminosa arbustiva alta en taninos. En este estudio, no se presentaron diferencias en el contenido de grasa y sólidos no grasos de la leche.

Con base a la literatura consultada, se puede concluir que las leguminosas de zonas templadas y tropicales producen efectos positivos sobre la producción de leche, pero en la concentración de proteína en la leche se presentan efectos variables. La concentración de proteína en la leche aumenta cuando se logra una mayor disponibilidad de proteína a nivel ruminal que contribuye a la producción de proteína microbiana o a un aumento en la proteína de sobrepeso que contribuye al aporte de proteína metabolizable. El incremento en la concentración de la grasa de la leche de las vacas se observa principalmente con el uso de leguminosas de clima tropical.

1.3 Composición de ácidos grasos en gramíneas y leguminosas de climas templados y tropicales

1.3.1 Gramíneas de clima templado y tropical

Los lípidos en granos de cereales y oleaginosas se encuentran presentes principalmente como triglicéridos y en el forraje se presentan en forma de galactolípidos (Van Soest 1994). Se ha identificado que la especie, la edad de rebrote, la temperatura y la intensidad de la luz son factores que afectan la concentración de ácidos grasos (AG) en forrajes (Elgersma et al. 2003).

En gramíneas de clima templado los AG poliinsaturados representan el 50% de la fracción lipídica (French et al. 2000). En Suiza, Wyss et al. (2006) encontraron un contenido de AG de 15,3 g/kg MS y una concentración de 13,8; 15,0 y 64,0% de ácido palmítico, linoleico y linolénico respectivamente, en los AG de una mezcla de gramíneas compuesta por *Lolium sp.*, *Dactylis glomerata*, *Festuca sp.* y *Phleum pratense*. Con relación a la especie, en el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) se ha reportado concentraciones de ácido linolénico de 59,5% comparado con 49,8% en los AG del pasto ryegrass (*Lolium sp.*) a una edad de rebrote relativamente similar (45 y 50 días, ryegrass y kikuyo, respectivamente) con un contenido de extracto etéreo de 2,7% (Aguilar et al. 2009). Glasser et al. (2013) reportaron que el pasto ryegrass presentó un mayor contenido de ácido linolénico (61%), seguido del pasto festuca (55,9%), azul orchoro (51,8%) y timothy (49,9%). Sin embargo, la concentración de extracto etéreo fue mayor en el pasto ryegrass (3,3%), seguido por el pasto azul orchoro (3,1%) y festuca (2,8%). De otro Gilliland et al. (2002) reportaron diferencias en el contenido de AG totales y de ácido linoleico y linolénico en los AG en doce variedades de ryegrass. Elgersma et al. (2003) observaron el mismo resultado en cultivares de pasto ryegrass, identificando una mayor concentración de ácido linolénico (C18:3) en el cultivar barlet (74,8%) en comparación con el cultivar magella (71,1%) y con relación al ácido linoleico (C18:2), ese último cultivar presentó una mayor concentración (12,3%) en comparación con el primer cultivar (10,2%), pero sin diferencias en el contenido de grasa total (barlet; 2,6 y magella 2,4%). En ese mismo trabajo Elgersma et al. (2003), identificaron diferencias en la concentración de AG en otros seis cultivares de pasto ryegrass, en donde la concentración del ácido linolénico (C18:3) presentó un rango entre 71 a 77% y la concentración del ácido linoleico entre 7,9 a 11,7%, pero no observaron diferencias en el contenido de grasa total (rango 20,3% a 24,1%). Finalmente, Boufaied et al. (2003) encontraron un mayor contenido de AG totales y ácido linolénico (C18:3) en el pasto azul orchoro (*Dactylis glomerata*) (17,9 y 10,3 mg/g MS, respectivamente) en comparación con el pasto Timothy (*Phleum pratense*) (11,5 y 8,4 mg/g MS, respectivamente).

Se encuentran pocos estudios donde se haya analizado el efecto de la época del año en gramíneas de clima templado. Bauchart et al. (1984) demostraron que las gramíneas de clima templado contienen una concentración mayor de AG en primavera que en otoño y Boufaied et al. (2003) observaron un contenido mayor de AG totales y de ácido linoleico

(C18:2) y linolénico (C18:3) en la época de verano en comparación con la de primavera en *Dactylis glomerata* y *Phleum pratense*.

Existen estudios donde se ha analizado en gramíneas templadas la influencia de la edad de rebrote sobre el perfil de los AG en el forraje (Chilliard et al. 2001, Dewhurst et al. 2001). Por ejemplo, en el Reino Unido, Dewhurst et al. (2001) encontraron que al modificar la edad de rebrote de 20 a 38 días en tres variedades de ryegrass, se produjo un descenso en el contenido de AG totales y del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). En otro estudio, en Canadá, se encontró que una menor edad del forraje en oferta en pasturas de *Phleum pratense* estuvo asociada con aumentos en la concentración (mg/g MS) de AG totales y del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) (Boufaied et al. 2003). En Colombia, Aguilar et al. (2009) encontraron el mismo comportamiento en la concentración de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en el pasto kikuyo. Sin embargo, no hubo diferencia en la concentración del extracto etéreo. En otros estudios en los que se han comparado edades de rebrote de especies templadas se ha encontrado una concentración mayor de grasa, ácido oleico, linoleico y linolénico en plantas jóvenes de *Dactylis glomerata* y *Lolium perenne* en comparación con *Festuca arundinacea* (Mir et al. 2006).

En gramíneas templadas el perfil de AG en el forraje también se ha medido en función de manejo de la fertilización. Por ejemplo, en ryegrass se encontró una relación positiva entre la concentración (g/kg MS) de AG totales, ácido linoleico y linolénico con la fertilización nitrogenada (Elgersma et al. 2005).

Se encuentra poca información sobre el contenido de AG totales y la composición de AG en el forraje de gramíneas tropicales. Por ejemplo, en la fracción lipídica de *Megathyrus maximus cv. tricoglume* la concentración de ácido palmítico (C16:0) fue alrededor del 30%, seguido por el ácido linoleico (C18:2) con una concentración de 28% y por el ácido linolénico (C18:3) con una concentración de 22% y en *Paspalum distichum*, *Chloris gayana*, *Cenchrus ciliaris*, *Dichanthium sericum*, se han reportado concentraciones de 34 a 36% del ácido linolénico (C18:3) y alrededor del 25% en el ácido linoleico y palmítico en la fracción lipídica (O'Kelly y Reich 1976). En estas especies se presentó variación en el contenido de lípidos totales (g/100 g MS) presentando los mayores valores en *Cenchrus ciliaris* (4,5%) y *Dichanthium sericum* (4,4%) y el menor valor en *Paspalum distichum*

(3,1%). Khan et al. (2015) encontraron variación en el contenido de AG totales e individuales entre especies y disminución en el contenido de AG totales y en la concentración de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) por efecto de madurez en *Pennisetum purpureum*, *Panicum antidotale*, *Panicum coloratum*, *Panicum maximum*, *Setaria anceps*. El efecto de la época también ha sido poco estudiado. O'Kelly y Reich (1976), indicaron que en especies de clima tropical se presentan mayores concentraciones de AG totales en época de sequía en comparación con la época de lluvia.

Existe evidencia experimental que sugiere que hay diferencias en la concentración de AG entre gramíneas tropicales y templadas. Medeiros (2002) reportó una menor concentración de ácido linolénico (C18:3) en *Brachiaria decumbens* en comparación con gramíneas de clima templado (cultivares de ryegrass) (Elgersma et al. 2003). En Colombia, el grupo de investigación en nutrición animal de la Universidad Nacional de Colombia determinó el perfil de AG en gramíneas templadas y tropicales utilizadas en los sistemas de producción y los resultados indicaron una mayor concentración de ácido linolénico (C18:3) en gramíneas templadas en comparación con las gramíneas tropicales (estudios no publicados).

1.3.2 Leguminosas de clima templado y tropical

Existen pocos estudios reportados donde se haya medido el contenido y la composición de AG en leguminosas templadas y tropicales. Un estudio con la fracción lipídica de leguminosas templadas realizado en EE.UU. por Clapham et al. (2005) reportaron un contenido de AG totales de 30,7 mg/g MS y concentraciones de 14,4; 9,2 y 69,6% de los ácidos palmítico, linoleico y linolénico en los AG de la leguminosa galega (*Galega officinalis*) y un contenido de AG totales de 37,0 mg/g y concentraciones de 15,3; 18,3 y 58,3% en los mismos AG en el trébol blanco. En otro estudio realizado en Canadá, Boufaied et al. (2003) evaluaron el efecto climático (primavera vs. verano) en la concentración de AG en alfalfa y trébol rojo. No se encontraron diferencias en la concentración de AG por efecto de la época climática, pero si hubo diferencias entre especies, siendo los contenidos de AG totales (17,3 mg/g MS) y de ácido linolénico (3,6 mg/g MS) menores en alfalfa en comparación con trébol rojo (20,5 y 4,2 mg/g MS). En

Colombia, el grupo de investigación en nutrición animal de la Universidad Nacional de Colombia encontró variación en la composición de los AG entre especies de leguminosas (datos no publicados). Por ejemplo, la concentración de ácido linolénico en los AG fue mayor en *Trifolium repens* (55,6%) comparado con *Medicago sativa* (30,0%). En un estudio reciente, Glasser et al. (2013) también encontró variación en el contenido de ácido linolénico (C18:3) en leguminosas templadas. El trébol blanco presentó la mayor concentración (58,0%), seguido por el trébol rojo (49,0%) y la alfalfa (41,7%).

En leguminosas tropicales la concentración de AG se ha analizado principalmente en el grano. Por ejemplo, en el grano de *Canavalia ensiformis*, se encontraron concentraciones de ácido palmítico entre 16,0 y 22,0%; ácido oleico entre 37,0 y 47,4%; ácido linoleico entre 12,0 y 18,0% y ácido linolénico entre 7,0 y 13,3% (Siddhuraju y Becker 2001). Por otro lado, Mohan y Janardhadian (1995) reportaron concentraciones de 27, 20 y 32% de ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico, respectivamente, en los AG del grano de *Mucuna utilis*. Los mismos autores reportaron concentraciones de 14,6; 7,3; 20,7 y 18,2% en el ácido palmítico, esteárico, ácido linoleico y ácido linolénico, respectivamente, en los AG del grano de frijol caupí (*Vigna unguiculata*).

Existen muy pocos estudios en los que se ha medido la fracción lipídica en el follaje de leguminosas tropicales (O'Kelly y Reich 1976, Khan et al. 2015). En uno de esos estudios O'Kelly y Reich (1976), reportaron en *Macroptilum acropurpureum* concentraciones de 5,7% de lípidos totales, 42% de ácido linolénico y de 20% del ácido linoleico y palmítico en los AG. Khan et al. (2015) observaron un contenido mayor de AG totales (20,5 mg/g MS) ácido linoleico (C18:2) (4,0 mg/g MS) y linolénico (C18:3) (10,9 mg/g MS) en la leguminosa tropical *Trifolium alexandrinum* en comparación con *Medicago sativa* (16,8; 2,9 y 8,0 mg/g MS, respectivamente). A medida que avanzó la edad de rebrote se disminuyó el contenido de AG totales y de esos dos AG en las dos especies.

En general, en leguminosas tropicales se ha observado un efecto moderado de la edad de rebrote sobre la composición química (Sanchez et al. 2007), en contraste con el efecto marcado de este factor sobre la composición química en gramíneas tropicales (Cáceres y Santana 1988), lo que puede indicar que la edad de rebrote modifica en menor medida la composición de AG en leguminosas en comparación con las gramíneas tropicales.

Con base en la revisión de literatura, el ácido linolénico (C18:3) es el AG que se encuentra en mayor proporción en el follaje de gramíneas y leguminosas templadas. Se presenta diferencias entre especies. La época del año afecta la concentración de AG en gramíneas, por ejemplo, mayor concentración de ácido linoleico (C18:2) en la época de verano, pero no tiene influencia significativa en la concentración de AG en las leguminosas. En gramíneas y leguminosas tropicales se ha analizado en menor medida los factores que afectan el contenido de AG en el forraje. Al igual que en especies de clima templado, en los pocos trabajos reportados en especies tropicales, se observa efecto de la especie y la edad de rebrote sobre la concentración de AG (i.e. disminución en la concentración de ácido linoleico y linolénico).

1.4 Efecto de diferentes especies forrajeras de clima templado y tropical sobre la composición de la grasa en la leche bovina

Se ha identificado que ciertos ácidos grasos en la leche y en particular el ácido linoleico conjugado (ALC) tienen efectos benéficos para la salud humana. Estos beneficios se relacionan con actividad anticarcinogénica y propiedades antidiabetogénicas, antiadipogénicas y antiteratogénicas (Pariza y Hargreaves 1985, Belury 2002).

El ALC es producido por la bio-hidrogenación incompleta en el rúmen del ácido linoleico y linolénico presente en los alimentos consumidos por los rumiantes. Sin embargo, en la glándula mamaria es donde se sintetiza alrededor de un 90% del principal isómero (c9 t11) de este ácido graso presente en la leche. Esta síntesis es mediada por acción de la enzima delta 9 desaturasa sobre el ácido vaccénico que es intermediario de la biohidrogenación del ácido linoleico y linolénico en el rumen (Kay et al. 2004).

En lecherías especializadas de zonas templadas se ha demostrado que la concentración de ALC en la leche es mayor en animales alimentados con dietas altas en gramíneas comparado con dietas altas en granos (Dhiman et al. 1999, Loor et al. 2003, Ward et al. 2003).

El efecto de la asociación de leguminosas y gramíneas sobre la concentración de AG en la leche bovina se ha evaluado en diferentes trabajos (Collomb et al. 2002a, León 2011). Por ejemplo, Collomb et al. (2002a), demostraron que en pasturas (*Lolium perenne*, *Dactylis glomerata*, *Festuca pratensis*, *Festuca rubra*, *Lolium hybridum*, *Phleum pratense*, *Anthoxanthum odoratum*) asociadas con leguminosas (*Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus*) hubo un incremento en los contenidos de ALC en la leche de vacas Holstein comparados con los niveles encontrados en la leche de vacas en pasturas de solo gramíneas. Este efecto se relacionó con la presencia de compuestos secundarios (polifenoles, terpenoides, extractos etanólicos y aceites esenciales) en algunas especies de leguminosas que pueden inhibir los microorganismos que biohidrogenan los ácidos grasos linoleico y linolénico en el rumen (Durmic et al. 2008). Esta inhibición resulta en un aumento en el flujo de ácido vaccénico C18:1 trans 11 desde el rumen hacia la glándula mamaria (Lourenco et al. 2008). En otros trabajos en zonas templadas también se ha mostrado que cuando en la dieta abundan leguminosas, se presentan incrementos en los niveles de ALC (c9 t11) en la leche de bovinos (Collomb et al. 2002b). El consumo de especies de leguminosas como *Leontodon hispidus*, *Lotus corniculatus* y *Trifolium pratense* se han correlacionado positivamente con las concentraciones de ALC (c9 t11) y ácidos poliinsaturados en la grasa de la leche bovina (Collomb et al. 2002b). Sin embargo, no todas las leguminosas de zonas templadas resultan en aumentos en ALC en la leche. Por ejemplo, en un trabajo que se realizó con ovejas se encontró una concentración más alta de ALC (c9 t11) en la leche al alimentarlas en pasturas de ryegrass con o sin la leguminosa sulla (*Hedysarum coronarium*) en comparación con pasturas de solo sulla (Cabiduu et al. 2005). La falta de respuesta positiva en el incremento del ALC en la leche cuando incluyó solo sulla en la dieta, estuvo posiblemente relacionado con los contenidos bajos de ácido linoleico y linolénico que son precursores del ALC en la leche en comparación con los altos niveles que se ha reportado en ryegrass (Piredda et al. 2002).

Factores de manejo (i.e. oferta forrajera y edad de rebrote) en las praderas pueden modificar el contenido de ALC en la grasa de la leche bovina. En Irlanda, Stanton et al. (1997) evaluaron el efecto de tres ofertas de forraje de ryegrass (16, 20 y 24 kg MS/v/d) sobre la concentración de ácido linoleico conjugado (c9 t11) en leche de vacas Holstein. La concentración de ALC se incrementó en 74,3% al pasar de una oferta de forraje de 16 (3,9 mg/g de grasa) a 20 kg/v/d (6,8 mg/g de grasa) y en un 46% al pasar de una oferta

de forraje de 16 a 24 kg/v/d (5,7 mg/g de grasa). En otro estudio realizado en EE.UU., Dhiman et al. (1999) evaluaron el efecto de diferentes proporciones forraje: concentrado (33:67, 66:33 y 100:0) sobre la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de vacas Holstein. El forraje en pastoreo estaba compuesto por una mezcla de *Poa pratensis*, *Elytrigia repens*, *Bromus inermis*, *Trifolium repens*. Los resultados mostraron un incremento de 148% en la concentración de ALC con la dieta de 100% de forraje en comparación con la dieta restringida al 33%.

En Francia, Ferlay et al. (2006) reportaron un aumento de 8,0 a 17,2 mg/g de ALC (c9 t11) en la grasa de leche vacas Montbéliarde, al pasar de una pastura nativa donde predominaba *Festuca rubra* con 42 días de rebrote a una con 21 días de rebrote. En Irlanda, Paladino et al. (2009) evaluaron dos niveles de oferta de forraje (16 y 20 kg MS/v/d) de pasto ryegrass. Los resultados mostraron que el ALC (c9 t11) en la leche no se afectó con los niveles de oferta de forraje.

En Colombia, Aguilar et al. (2009) encontraron que el ALC aumentó de 14,4 a 22,4 mg/g de grasa en la leche de vacas Holstein al disminuir la edad de rebrote de 70 a 50 días en pasto kikuyo. El incremento de la concentración de ALC en la grasa de la leche bovina debida a una menor edad de rebrote del forraje en oferta se asoció con una mayor concentración de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en el forraje dado que estos dos ácidos grasos son precursores del ALC. En otro trabajo, en la Sabana de Bogotá, León (2011) encontró una mayor concentración de ALC (c9 t11) en la leche de vacas Holstein al consumir pasto kikuyo (25,1 mg/g de grasa) comparado con la asociación de kikuyo y *Lotus uliginosus* (17,1 mg/g de grasa).

La utilización de suplementos alimenticios a vacas en pastoreo ha sido evaluada sobre el perfil de AG en la grasa de la leche en sistemas lecheros especializados. Gaston et al. (2014) evaluaron el efecto del aceite de palma, harina de arroz y semilla entera de algodón con vacas Holstein en pastoreo de pasto kikuyo (*C. clandestinus*) con una oferta de 4 kg/100 kg PV. La harina de arroz incrementó la concentración de ácido vaccénico y ALC (c9 t11) en comparación con el aceite de palma y la semilla de algodón. En otro estudio, Parales (2015) observó un mayor incremento en la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de vacas Holstein con la suplementación de aceite de maíz

puro en comparación con una mezcla de aceite maíz 75% y aceite de palma 25%. Estos resultados se explicaron por un mayor contenido de ácido linoleico (C18:2) en el aceite de maíz puro lo cual resulta en aumento de ácido transvaccénico en rumen (estudio *in vitro*) que posteriormente es sintetizado a ALC en la glándula mamaria (Parales 2015).

Para el sistema de producción doble propósito se encuentra poca información sobre el efecto de la alimentación en el perfil de AG en la grasa de la leche y específicamente sobre el contenido de ALC (c9 t11). Mahecha et al. (2008) observaron efectos positivos en la concentración de ALC en la grasa de la leche con uso de grasa sobrepasante en diferentes niveles en la dieta de vacas en sistemas silvopastoriles (SSP) con leucaena (*L. leucocephala*). Sin embargo, no se tuvo una dieta control con solo pasturas para poder definir el efecto de la suplementación lipídica. Prieto (2015) encontró niveles de 2,1 mg/g grasa ALC en la grasa de la leche en vacas mestizas alimentadas con pasto estrella (*C. pleistostachyus*) y/o pasto guinea (*Megathyrsus maximus*) con suplemento comercial en fincas doble propósito.

El Grupo de Investigación en Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia – sede Bogotá, midió el perfil de ácidos grasos de dos gramíneas tropicales (*B. decumbens* y *Cynodon nlemfluensis*) utilizadas en los sistemas de producción doble. Los resultados mostraron una menor concentración del ácido linolénico en ambas especies en comparación con especies templadas (datos sin publicar). Estos resultados sugieren que la leche proveniente de sistemas doble propósito podría presentar una menor concentración de ALC (c9 t11) en comparación con la leche de sistemas especializados (Carulla y Pabón 2010). Sin embargo, se deben realizar estudios en los que se determine el efecto de diferentes especies de forrajes tropicales bajo diferentes sistemas de manejo sobre el perfil de ácidos grasos y el contenido del principal isómero (c9 t11) del ácido linoleico conjugado (ALC) en la leche bovina en sistemas doble propósito.

Con base en la revisión realizada se infiere que, con dietas basadas en forrajes en comparación con dietas altas en concentrados, se incrementa la concentración de ALC (c9 t11) en la leche bovina. En el caso de gramíneas su efecto en la concentración de ALC en la leche está asociado con la concentración del ácido linoleico y linolénico, precursores de ese AG en la grasa de la leche. Con la poca evidencia que existe se

sugiere que los precursores de ALC en la leche es mayor en especies de gramíneas templadas que tropicales.

En el caso de algunas leguminosas la presencia de metabolitos secundarios (i.e. taninos) puede alterar la bio-hidrogenación de ácidos grasos en el rumen y potencialmente modificar la concentración de ALC en la leche bovina.

1.5 Conclusiones de la revisión de bibliografía

El contenido de proteína y el perfil de ácidos grasos en la leche de bovinos tiene relevancia debido a exigencias actuales y futuras de los procesadores industriales de leche y a la posibilidad de manipular la concentración de estos compuestos mediante la alimentación, lo cual tiene implicaciones económicas y sobre la salud humana.

Las gramíneas y leguminosas templadas aportan altos contenidos de ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) que son precursores de ALC en la grasa de la leche. Por otra parte, se sabe que existen diferencias entre especies y edad de rebrote o madurez, especialmente en las gramíneas, en precursores de ALC en la grasa de la leche, que se conoce tiene efectos positivos sobre la salud humana (anticancerígenos, antiaterogénicos).

Existe poca investigación en lecherías en sistemas doble propósito sobre el efecto de forrajes tropicales sobre la calidad composicional de la leche. Sin embargo, con la evidencia disponible para sistemas especializados en zonas templadas es posible inferir que cultivares mejorados de gramíneas tropicales y la utilización de leguminosas tropicales podrían tener efectos positivos sobre la producción y perfil lipídico de la leche. Factores de manejo de gramíneas y leguminosas tropicales también podrían afectar precursores de ALC en la leche.

1.6 Bibliografía

1. Aguilar OX, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2009. Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raygrass (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoleico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. *Livestock Research for rural development*. 21. 4.

2. Aguirre JD, Zabala AC. 2014. Establecimiento y evaluación de la germinación, crecimiento, producción de biomasa y respuesta en la producción de leche de los pastos Mulato II (*Brachiaria* híbrido cv. CIAT 36087) y Caymán (*Brachiaria* híbrido cv. CIAT BR 02/1752) bajo condiciones del trópico seco. Tesis de grado Universidad de Zamorano.
3. Alvarez HJ, Dichio L, Pece M, Cangiano C, Galli J. 2006. Producción de leche bovina con distintos niveles de asignación de pastura y suplementación energética. Cien. Inv. Agr.; 33(2): 99-107.
4. Argel PJ. 2006. Contribución de los forrajes mejorados a la productividad ganadera en sistemas de doble propósito. Archivos latinoamericanos de producción animal. Volumen 14 No. 2. Pp. 65-72.
5. Argel PJ, Lobo M, Romero F, González J, Lascano CE, Kerridge P, Holmann. 2000. Silage of *Cratylia argentea* as a dry season feeding alternative in Costa Rica. FAO. Electronical conference on tropical silage.
6. Argel P, Miles J, Guiot J, Cuadrado H, Lascano C. 2007. Cultivar Mulato II (*Brachiaria* híbrido CIAT 36087): Gramínea de alta calidad y producción forrajera, resistente a salivazo y suelos tropicales ácidos bien drenados. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 22p.
7. Auldism MJ, Thomson NA, Mackle TR, Hill JP, Prosser CG. 2000. Effects of pasture allowance on the yield and composition of milk from cows of different β lactoglobulin phenotypes. J. Dairy Science. 83:2069-2074.
8. Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. J. Dairy Sci.; 85: 1777-1792.
9. Bauchart D, Verite R, Remond B. 1984. Long-chain fatty acid digestion in lactating cows fed fresh grass from spring to autumn. Canadian journal of animal science. 64: 330-331. Supplement 1.
10. Bauman DE, Mather EH, Wall RJ, Lock LA. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. Journal of Dairy Science. 89:1235-1243.
11. Belury MA. 2002. Dietary conjugated acid linoleic in health: Physiological effects and mechanism of action. Ann Rev. Nutr. 22:505-531.
12. Bernal L, Ávila P, Ramirez G, Lascano C. 2008. Efecto de la suplementación con heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* sobre la producción de leche por vacas Holstein x cebú en Colombia. Asociación Latinoamericana de Producción Animal. Volumen 16. 3. 109-114.
13. Bertilsson J, Murphy M. 2003. Effects of feeding clover silages on feed intake, milk production and digestion in dairy cows. Grass and Forage Science. 309 – 322.

14. Bessa RJB, Silva J, Ribeiro JMR, Portugal AB. 2000. Retículo rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*. 63: 201-211.
15. Boufaied H, Chouinard PY, Tremblay GF, Petit HV, Michaud R, Belanger. 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science*. 83. 501–511.
16. Broderick GA, Koegel RG, Walgenback RP, Kraus TJ. 2002. Ryegrass or Alfalfa Silage as the Dietary Forage for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci*. 85. 1894 – 1901.
17. Cabiduu A, Decandia M, Addis M, Piredda G, Pirisi A, Molle G. 2005. Managing mediterranean pastures in order to enhance the level of beneficial fatty acids in sheep milk. *Small Ruminant Research*. 59: 169-180.
18. Cáceres O, Santana H. 1988. Influencia de la edad de cosecha sobre el valor nutritivo y rendimientos de nutrimentos de tres gramíneas forrajeras. *Pastos y Forrajes*. 11. 2. 183 – 189.
19. Carrasco E, López G, Valeria E, Damaris F. 2002. Comparación de dos tiempos de reposo en el pastoreo de CT-115 (*Pennisetum purpureum*) para la producción de leche en el periodo poco lluvioso. Resultados preliminares. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Vól. 36- No. 4. 337 – 340.
20. Carulla J, Pabón M. 2010. Alimentación de la vaca lechera y componentes funcionales en la leche. Disponible en: http://www.cundinamarca.gov.co/Cundinamarca/Archivos/FILE_ENTIDADES/FILE_ENTIDADES54933.pdf
21. Castro RE, Mojica RJE, León JM, Pabón ML, Carulla FJE, Cárdenas REA. 2008. Productividad de pasturas y producción de leche bovina bajo pastoreo de gramínea y gramínea + *Lotus uliginosus* en MosqueraCundinamarca. *Red. Med. Vet. Zoo. Universidad Nacional de Colombia*. 55. 9 – 21.
22. Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*. 70. 31-48.
23. Cipagauta M, Velásquez J, Pulido J. 1998. Producción de leche en tres pasturas del Piedemonte amazónico del Caquetá, Colombia. *Pasturas Tropicales*. Vol 20. No. 3.
24. Clapham W, Foster G, Neel P, Fedders M. 2005. Fatty Acid Composition of Traditional and Novel Forages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 10068 – 10073.
25. Clavero TJ, Obando O, Van Pragg R. 1996. Efecto de la suplementación con *Gliricidia sepium* en vacas lecheras en producción. *Pastos y forrajes*. Vol. 19. No. 1.

26. Collomb M, Bütikofer U, Sieber R, Jeangros B, Bosset JO. 2002a. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high resolution gas chromatography. *International Dairy Journal*, 12, 649–659.
27. Collomb M, Bütikofer U, Sieber R, Jeangros B, Bosset JO. 2002b. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal* 12. 661–666.
28. CORPOICA. 2010. Informe de avance proyecto “Evaluación y mejoramiento de la calidad composicional, higiénica, sanitaria y residual de la leche bovina cruda en el sistema de producción doble propósito del trópico bajo colombiano”. 49 p.
29. Correa CHJ, Jaimes LJ, Pabón ML, Carulla JE. 2011. Efecto de la edad de rebrote del pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción, la calidad de la leche y el balance de nitrógeno en vacas Hostein. Resumen. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Volumen 24. No. 3. Septiembre. P 475.
30. Curran J, Delaby L, Kennedy E, Murphy JP, Boland TM, O'Donovan M. 2010. Sward characteristics, grass dry matter intake and milk production performance are affected by pre-grazing herbage mass and pasture allowance. *Livestock Science*. 127: 144 – 154.
31. DANE. 2013. Encuesta Nacional Agropecuaria. www.dane.gov.co
32. Dewhurst RJ, Scollan ND, Youell SJ, Tweed JKS, Humpreys MO. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science*. 56: 84-74.
33. Dhiman TR, Anand GR, Satter LD, Pariza MW. 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of milk from cows fed Different Diets, *J Dairy Science*. 82: 2146-2156.
34. Diannellis U, Avila C, Cañas H, Castro F, Moreno P. 2006. Comparación del sistema silvopastoril y gramínea sobre la producción y calidad de leche en vacas criollo limonero. Simposio Taller Experiencias en Agroforestería ejecutadas o en proceso por el INIA. Zulia. Venezuela.
35. Durmic Z, McSweeney CS, Kemp GW, Hutton P, Wallace RJ, Vercoe PE. 2008. Australian plants with potencial to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. *Animal Feed Science and Technology*. 145: 271-284.
36. Elgersma A, Ellen G, Van Der Horst H, Muuse BG, Boer H, Tamminga S. 2003. Influence of cultivar and cutting date on the fatty acid composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science*. 58: 323-331.
37. Elgersma A, Maudet P, Witkowska IM, Wever AC. 2005. Effects of nitrogen fertilization and regrowth period on fatty acid concentration in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Ann Appl Biol*. 147: 145-152.

38. Ellis KA, Innocent G, Grove-White D, Cripps P, McLeann WG, Howard CV, Mihm M. 2006. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Science*. 89: 1938-1950.
39. Escobar A, Carulla J. 2003. Efecto de la oferta de forraje sobre los parámetros productivos y composicionales de la leche en la sabana de Bogotá. *Rev Col Cienc Pec Vol. 16, Suplemento*.
40. Fedegan. 2013. Federación Nacional de Ganaderos. www.fedegan.org.co
41. Fedegan. 2015. Federación Nacional de Ganaderos. www.fedegan.org.co
42. Ferlay A., Martin B, Pradel P, Coulon JB, Chilliard Y. 2006. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbeliarde cow breeds. *Journal of Dairy Science*, 89, 4026–4041.
43. Filho R, Delagarde R, Peyraud L. 2003. Inclusion of white clover in strip-grazed perennial ryegrass swards: herbage intake and milk yield of dairy cows at different ages of sward regrowth. *Animal Science*. 77: 499 – 510.
44. Filho R, Delagarde R, Peyraud L. 2005. Herbage intake and milk yield of dairy cows grazing perennial ryegrass swards or white clover/perennial ryegrass swards at low- and medium-herbage allowances. *Animal Feed Science and Technology*. 119. 13 - 27.
45. French P, Stanton C, Lawless F, O’Riordan EG, Monahan FJ, Caffrey PJ, Moloney AP. 2000. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate- based diets. *J. Anim. Sci*. 78: 2849–2855.
46. Gagliostro GA. 2004. Control nutricional del contenido de ácido linoleico conjugado CLA en leche y su presencia en alimentos funcionales naturales¹. Efectos sobre la salud humana. *Rev Arg Prod Anim*. 24:113.
47. Gamarra JR. 2004. Eficiencia técnica relativa de la ganadería doble propósito en la Costa Caribe. Documentos de trabajo sobre economía regional. Banco de la República. No. 53. Centro de Estudios Regionales. Cartagena.
48. Gastón AC, Pabón ML, Carulla JE. 2014. Concentration of trans-vaccenic and rumenic acids in the milk from grazing cows supplemented with palm oil, rice bran or whole cottonseed. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 43: 6. 315 – 326.
49. Gilliland TJ, Barrett PD, Mann RL, Agnew RE, Fearon AM. 2002. Canopy morphology and nutritional quality traits as potential value indicators for *Lolium perenne* varieties. *J. Agric*. 139. 257 – 273.
50. Glasser F, Doreau M, Maxin G, Baumont R. 2013. Fat and fatty acid content and composition forages. *Animal Feed Science and Technology*. 185. 19 – 34.

51. González MS, Van H, Romero F, Pezo DA, Argel PJ. 1996. Producción de leche en pasturas de estrella africana. *Pasturas tropicales*. 18:1.
52. Guerrero LC, Betancourt AD. 2008. Biopeptidos alimenticios: Nuevos promotores de la salud. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. Volumen 9. No. 2. abril - junio.
53. Guiot JD. 2005. Evaluación de híbridos de brachiaria bajo pastoreo para producción de leche en Huimanguillo. Tabasco. XVIII. Reunión Científica Tecnológica Forestal y Agropecuaria. Tabasco, México. PP 100 – 107.
54. Harfoot CG. 1981. Anatomy physiology and microbiology of the ruminant digestive tract. In: Christie W.W. (Ed) *Lipid metabolism in ruminant animals*. New York: Pergamon Press Inc. P 1-19.
55. Hoogendoorn CJ, Holmes CW, Chu CP. 1992. Some effects of herbage composition, as influenced by previous grazing management, on milk production by cows grazing on ryegrass/white clover pastures. 2. Milk production in late spring/summer: effects of grazing intensity during the preceding spring period. *Grass and Forage Science*. 47: 316 – 325.
56. Ibrahim M, Franco M, Pezo DA, Camero A, Araya J. 2001. Promoting intake of *Cratylia argentea* as a dry season supplement for cattle grazing *Hyparrhenia rufa* in the subhumid tropics. *Agroforestry Systems* 51: 167–175.
57. ICA (Instituto Colombiano Agropecuario). 2015. Censo Pecuario Nacional.
58. IDEAM, IGAC, IAvH, Invemar, Sinchi, IIAP. 2007. Ecosistemas continentales, costeros y marinos de Colombia. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales, Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Investigaciones Ambientales del Pacífico Jhon von Neumann, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés e Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas Sinchi. Bogotá, D. C., 276 p.
59. Jenkins TC, McGuire MA. 2006. Mayor advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*. 89: 1302-1310.
60. Kay JK, Mackle TR, Auldish MJ, Thompson NA, Bauman DE. 2004. Endogenous synthesis of cis-9 trans 11 conjugated acid linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *Journal of Dairy Science*. 87:369-378.
61. Khan NA, Farooq NW, ALI M, Suleman M, Ahmad N, Sulaiman SM, Cone NW, Hendriks WH. 2015. Effect of species and harvest maturity on the fatty acids profile of tropical forages. *The Journal of Animal of Plant Sciences*. 25 (3). 739 – 746. ISSN: 1018-7081.
62. Kennedy E, Donovan MO, Murphy JP, Delaby L, O'Mara FP. 2007. Effect of Spring Grazing Date and Stocking Rate on Sward Characteristics and Dairy Cow Production During Midlactation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2035 – 2046.

63. Lascano CE, Holman F. 1997. Conceptos y metodologías de investigación en fincas con sistemas de producción animal de doble propósito. Cali (Colombia): Centro Internacional de Agricultura Tropical; Consorcio Tropiclleche. 285 p. Publicación CIAT; No. 296.
64. Lascano C, Toro P, Avila P. 2001. Evaluación de sistemas de uso de *Cratylia argentea* para la producción de leche. En: Sistemas de alimentación con leguminosas para intensificar fincas lecheras. Consorcio Tropiclleche. 119 p.
65. León CJM. 2011. Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche. Tesis de maestría en producción animal. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.
66. Loor JJ, Soriano FD, Lin X, Herbein JH, Polan CE. 2003. Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9, trans11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Animal Feed Science and Technology*. 109:105–119.
67. Lourenco M, Van Ranst G, Vlaeminck B, De Smet S, Fievez V. 2008. Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology*. 145: 418–437.
68. MADR (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural). 2012. Resolución 017 del 2012. Disponible en: www.minagricultura.gov.co
69. Mahecha L, Angulo J, Salazar B, Cerón M, Gallo J, Molina CH, Molina EJ, Suarez JF, Lopera JJ, Olivera M. 2008. Supplementation with bypass fat in silvopastoral systems diminishes the ratio of milk saturated/unsaturated fatty acids. *Tropical Animal Health and Production*. 40: 209 – 216.
70. McDonald KA, Penno JW, Lancaster JAS, Roche JR. 2008. Effect of Stocking Rate on Pasture Production, Milk Production, and Reproduction of Dairy Cows in Pasture-Based Systems. *J. Dairy Science*. 91: 2151-2163.
71. Medeiros SR. 2002. Ácido Linoléico Conjugado: Teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ac. graxos modificados. Tese (Doutorado) –Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.
72. Mendoza C, Pabón M, Carulla F. 2011. Variaciones diarias de la oferta forrajera, efecto sobre la producción y calidad de la leche. *Rev. MVZ. Córdoba*. 16 (3): 2721 – 2732.
73. Mir PS, Bittman S, Hunt D, Entz T, Yip B. 2006. Lipid content and fatty acid composition of grasses sampled on different dates through the early part of the growing season. *Canadian Journal of Animal Science*, 86, 279–290.

74. Mohan VR, Janardhanan K. 1995. Chemical analysis and nutritional assessment of lesser known pulses of the genus *Mucuna*. *Food Chem* 52. 3. 275–80.
75. Mojica FJ, Cabezas RT, Castellanos D, Bernal L. 2007. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico de la cadena láctea colombiana. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Proyecto Transición de la Agricultura. Bogotá D.C.
76. Mojica JE, Castro E, León J, Cárdenas EA, Pabón ML, Carulla JE. 2009. Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción y calidad composicional de la leche bovina. *Livestock Research for rural development*. 21(01).
77. Moorby JM, Lee MR, Davies DR, Kim EJ, Nute GR, Ellis NM, Scollan ND. 2009. Assessment of dietary ratios of red clover and grass silages on milk production and milk quality in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92. 1148 – 1160.
78. Mosquera P, Lascano C. 1992. Producción de leche de vacas en pasturas de *Brachiaria decumbens* solo y con acceso controlado a bancos de proteína. *Pasturas tropicales*. 14: 2 – 10.
79. O'Brien B, Murphy JJ, Conolly JF, Mehra RK, Guinee P, Stakelum J. 1997. Effect of altering of dairy herbage allowance in mid lactation of the composition and processing characteristics. *Journal of Dairy Research*. 64:621-626.
80. Ojeda A, Escobar A. 1997. Manejo de vacas doble propósito con asociación de gramíneas y *Gliricidia sepium*. *Revista Facultad Agronomía*. 14: 641-648.
81. O'Kelly JC, Reich HP. 1976. The fatty acid composition of tropical pastures. *Journal of Agricultural Science*. 86: 427-429.
82. Pabón ML, Carulla J. 2008. Compuestos lipídicos benéficos para la salud humana asociados a la nutrición animal. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 21. No. 1.
83. Paladino RA, O'Donovan M, Murphy J, McEvoy M, Callan J, Bollan TM, Kenny DA. 2009. Fatty acid intake and milk fatty acid composition of Holstein dairy cows under different grazing strategies: Herbage mass and daily herbage allowance. *J. Dairy Sci.* 92: 5212 – 5223.
84. Parales J. 2015. Efecto de la suplementación de aceites vegetales y sus mezclas sobre la fermentación ruminal y el perfil de ácidos grasos en leche. Tesis de maestría en Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.
85. Pardo O, Sánchez J. 1990. Evaluación de leche y/o carne de diferentes grupos raciales en el trópico bajo colombiano. Ecosistema valle medio del Sinú. Trabajo de Grado. Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional sede Bogotá.
86. Pariza MW, Hargreaves WA. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7, 12 dimethylbenz(a) anthracene. *Carcinogenesis*. Vol. 6. 4:591-593.

87. Parra JL, Martínez M, Pardo H, Vargas S. 1998. Mastitis y calidad de la leche en el piedemonte del Meta y Cundinamarca. Boletín de Investigación No. 2. CORPOICA. C.I. La Libertad.
88. Pastora JD, Navarrete BA. 2007. Producción de leche y beneficio económico neto en pasturas de *Brachiaria híbrido cv. Mulato* en la zona pacífica Norte de Nicaragua (Resumen). Reunión anual programa cooperativo centroamericano para el mejoramiento cultivos y animales. p 122.
89. Piredda G, Banni S, Carta G, Pirisi A, Addis M, Molle G. 2002. Influencia dell'alimentazione al pascolo sui livelli di acido rumenico in latte e formaggio ovino. Progr. Nutr. 4 (3), 231–235.
90. Prieto E. 2015. Efecto de la suplementación con aceites vegetales a vacas pastoreando con/sin sistema silvopastoril intensivo con leucaena sobre los ácidos grasos en la leche y la producción de metano *in vitro*. Tesis de Doctorado en Ciencias Animales. Universidad de Antioquia.
91. Rico JE, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2007. Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 20:30-39.
92. Rocha SG, Changoluisa EM. 2011. Evaluación de una mezcla forrajera (Ray grass, Pasto Azul, Trébol Blanco y Llantén), a los 30 y 45 días de rebrote, más suplemento concentrado en vacas lactantes en la Hcda. San Jorge, Parroquia Machachi – Sector “Aloag”. Trabajo de Grado Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Técnica de Cotopaxi. México.
93. Romero F, Gonzalez G. 2001. Evaluación de *Brachiaria decumbens* asociada con *Arachis pintoi* y en monocultivo sobre la producción de leche y sus componentes. En: Sistemas de alimentación con leguminosas para intensificar fincas lecheras. https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/54342/Sistemas_alimentacion_leguminosas_intensificar_fincas_lecheras.pdf?sequence=1#page=15
94. Roncallo F, Barros J, Bonilla R, Murillo J, Del toro R. 2009. Evaluación de arreglos silvopastoriles en explotaciones ganaderas de la microrregión bajo Magdalena. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 10 (1): 60-69.
95. Sanchez A, Gonzalez J, Faria J. 2007. Evolución comparada de la composición química con la edad al corte en las especies *Leucaena leucocephala* y *L. trichodes*. Zootecnia Trop. 25. 3: 233 – 236.
96. Sandoval CA, Leaver JD, Anderson S. 1997. Manejo de la nutrición de la vaca y de la relación-vaca ternero. En: Conceptos y metodologías de investigación en fincas con sistemas de producción animal de doble propósito. Cali (Colombia): Centro Internacional de Agricultura Tropical; Consorcio Tropileche. 285 p. Publicación CIAT; No. 296.

97. Saucedo G, Alvarez FJ, Jimenez N, Arriaga A. 1980. *Leucaena leucocephala* as supplement for milk production on tropical pastures with dual purpose cattle. *Trop Anim Prod.* 5:1. 38-42.
98. Siddhuraju P, Becker K. 2001. Species/variety differences in biochemical composition and nutritional value of Indian tribal legumes of the genus *Canavalia*. *Nahrung* 45:224–33.
99. Silva ZJ, Pulido J, Ballesteros H, Abuabara Y, Benavides O, Rodríguez G, Roncallo B, Abadia B, Molina J. 2011. Modelos tecnológicos y calidad de leche en sistemas bovinos de doble propósito en la región Caribe. CORPOICA. Boletín Técnico. ISBN: 978-958-740-071-7.
100. Stanton C, Lawless F, Kjellmer G, Harrington D, Devery R, Connolly JF, Murphy J. 1997. Dietary Influences on Bovine Milk cis-9, trans-11-Conjugated Linoleic Acid Content. *Journal of Food Science.* 62. 5. 1083 – 1086.
101. Stobbs TH. 1971. Production and composition of milk from cows grazing siratro (*Phaseolus atropurpusi*) and greenleaf *Desmodium* (*Desmodium intortus*). *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry.* 11 (50) 268-273.
102. Vanhatalo A, Gaddnas T. 2006. Microbial protein synthesis, digestion and lactation responses of cow to grass or grass-fed clover silage diet supplemented with barley or oats. *Agricultural and Food Science.* 15. 252 – 267.
103. Van Soest PJ. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2 ed Ithaca. Cornell University.
104. Virkajarvi P, Sairanen A, Nousiainen JI, Khalili H. 2002. Effect of herbage allowance on pasture utilization, regrowth and milk yield of dairy cows in early mid and late season. *Animal feed science and technology.* 97: 23 – 40.
105. Ward AT, Wittenberg KM, Froebe HM, Przybylski R., Malconlmsom L. 2003. Fresh forage and Solin Supplementation on Conjugated Linoleic Acid Levels in Plasma and Milk. *J. Dairy Sci.* 86: 1742-1750.
106. Wyss U, Morel I, Collomb M. 2006. Fatty acid content of three grass/clover mixtures. *Grassland Science in Europe* 11, 348–350.

2. Efecto de la edad de rebrote sobre el perfil de ácidos grasos en gramíneas tropicales

Resumen

Se evaluó el efecto de tres edades de rebrote (3, 6 y 9 semanas) sobre la producción de forraje, calidad nutricional y perfil de ácidos grasos (AG) en gramíneas de pastoreo (*Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola* cv. *humidicola*, *Brachiaria humidicola* cv. *dictyoneura*, *Brachiaria brizantha* cv. *toledo*, *Brachiaria híbrido* cv. *mulato II*, *Megathyrsus maximus* cv. *tanzania*, *Megathyrsus maximus* cv. *mombasa*, *Bothriochloa pertusa*, *Cynodom nlemfuensis*, *Dichanthium aristatum*, *Andropogon gayanus*) y en gramíneas de corte (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides* cv. *king grass verde*, *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides* cv. *king grass morado*, *Pennisetum purpureum*, *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum glaucum*). Se utilizó un diseño de parcelas divididas con bloques al azar donde la parcela principal fue la especie forrajera y la sub-parcela la edad de rebrote. Los AG predominantes presentes en las gramíneas de corte y pastoreo fueron el palmítico (C16:0), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). Hubo diferencias en el contenido de AG entre gramíneas de corte y de pastoreo y la edad de rebrote modificó los contenidos de AG en los dos grupos. El cultivar Tanzania presentó un mayor contenido de precursores de ácido linoleico conjugado (ALC) en comparación con las otras especies de gramínea evaluadas. Esto sugiere que el uso del cultivar Tanzania en la alimentación de bovinos en sistemas doble propósito podría resultar en concentraciones más altas de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche en comparación con otros cultivares de gramíneas comerciales.

Palabras clave: alimentación, forrajes, grasa, leche, rumiantes

Effect of stage of maturity on fatty acid profile in tropical grasses

Abstract

The effect of three stages of maturity (3, 6 and 9 weeks) on forage yield, nutritional quality and fatty acid (FA) profile were evaluated in pasture grasses (*Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicola* cv. *humidicola*, *Brachiaria humidicola* cv. *dictyoneura*, *Brachiaria brizantha* cv. *toledo*, *Brachiaria híbrido* cv. *mulato II*, *Megathyrsus maximus* cv. *tanzania*, *Megathyrsus maximus* cv. *mombasa*, *Bothriochloa pertusa*, *Cynodon nlemfuensis*, *Dichanthium aristatum*, *Andropogon gayanus*) and in cut and carry grasses (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides* cv. *king grass verde*, *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides* cv. *king grass morado*, *Pennisetum purpureum*, *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum glaucum*). A replicated split plot design was used, in which the forage specie was the main plot and the stage of maturity the subplot. The principal FA present in the grasses were palmitic acid (C16:0), linoleic (C18:2) and linolenic acid (C18:3). The FA concentration in grass tissue was affected by stage of maturity in pasture and cut and carry grasses, but the effects were not the same for all species. Except for the cultivar Tanzania that exhibited a higher content of precursors of conjugated linoleic acid (CLA), all other species had similar content of CLA precursors, suggesting that the use of Tanzania in dual purpose cattle systems could result in high concentration of CLA (c9 t11) in milk fat as compared to other commercial grass cultivars.

Keywords: food, forage, fat, milk, ruminants

2.1 Introducción

Las gramíneas constituyen la base de la alimentación de los rumiantes en el sistema de producción bovino doble propósito en el trópico seco de Colombia. La composición de los ácidos grasos (AG) en gramíneas tiene especial importancia por el efecto que tienen sobre el perfil lipídico en la carne y leche de rumiantes (Dhiman et al. 1999, White et al. 2001, Ward et al. 2003, Loores et al. 2003, Shingfield et al. 2013). Se ha comprobado que ciertos AG (vaccénico, linoleico, linolénico) en la leche tienen efectos benéficos en la salud humana. El ácido linoleico conjugado (ALC) se ha relacionado con actividad anticarcinogénica y propiedades antidiabetogénicas, antiadipogénicas y antiteratogénicas (Pariza y Hargreaves 1985, Ip et al. 1999, Belury 2002).

El ácido linoleico conjugado (ALC) es producido por la biohidrogenación incompleta en el rumen del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) presente en los alimentos y principalmente por su síntesis en la glándula mamaria a partir del ácido transvaccénico. El aporte de sustratos por medio del alimento es una manera para incrementar los precursores de ALC en leche y/o carne (Dhiman et al. 1999). Con el uso de forrajes como principal fuente de alimento se ha observado una mayor concentración de AG poliinsaturados en la leche en comparación con sistemas de alimentación basados en concentrados (Ellis et al. 2006). En lecherías especializadas de Colombia, el contenido de AG poliinsaturados en la leche de vacas que pastorean pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) es alto, debido a que esta gramínea es una fuente rica en ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) (Dewhurst et al. 2006, Rico et al. 2007, Pabón y Carulla 2008, Aguilar et al. 2009).

Diversos factores modifican la composición de AG en forrajes entre las cuales se encuentran la especie, la época del año, la edad de rebrote, la fertilización nitrogenada, la intensidad de la luz y la temperatura ambiental (Chilliard et al. 2001, Boufaied et al. 2003, Elgersma et al. 2004, Varadyova et al. 2008, Glasser et al. 2013).

En el forraje (hojas + tallos) de gramíneas de zonas templadas se ha reportado que el perfil de AG se modifica en función de la especie. Por ejemplo, en el pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) se han reportado concentraciones de ácido linolénico (C18:3) entre el 15 y 40% comparado con 55 a 65% en el pasto ryegrass (*Lolium sp.*) (Chilliard et

al. 2001). En otros estudios el pasto ryegrass presentó la mayor concentración (61%) de ácido linolénico (C18:3) seguido por el pasto festuca (55.9%), azul orchoro (51,8%), y timothy (49,9%) (Glasser et al. 2013). También se han reportado diferencias en las proporciones de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en los AG de variedades (12) de ryegrass (Gilliland et al. 2002).

La edad de rebrote también modifica el perfil de AG en el forraje (hojas + tallos) de gramíneas de zonas templadas (Chilliard et al. 2001, Dewhurst et al. 2001). En el Reino Unido, Dewhurst et al. (2001) encontraron que al aumentar la edad de rebrote de 20 a 38 días en tres variedades de ryegrass, se produjo un descenso en la concentración de AG, principalmente el linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). En Canadá, se encontró que una menor edad de rebrote del forraje en oferta en pasturas de *Phleum pratense* estuvo asociada con aumentos en la concentración del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) (Boufaied et al. 2003). En Colombia se encontró también que la concentración de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) fue mayor en rebrote joven del pasto kikuyo (*Cenchrus clandestinus*) (Aguilar et al. 2009).

Existen pocos trabajos publicados donde se haya medido la concentración de AG en especies de gramíneas tropicales. En uno de esos estudios, se encontró que en la fracción lipídica de *Megathyrsus maximus cv. tricoglume* la concentración de ácido palmítico (C16:0) fue alrededor del 30% (porcentaje AG del total de AG), seguido por el ácido linoleico (C18:2) con una concentración de 28% y por el ácido linolénico (C18:3) con una concentración de 23% (O'Kelly y Reich 1976). Recientemente, Khan et al. (2015) reportaron que los principales AG, expresados como g/kg de materia seca (MS), en el forraje (hojas + tallos) de gramíneas tropicales (*Pennisetum purpureum*, *Panicum antidotale*, *Panicum coloratum*, *Megathyrsus maximus*, *Setaria anceps*, *Sorghum almum*) fueron el ácido linolénico (C18:3), linoleico (C18:2), oleico (C18:1) y palmítico (C16:0) y que con la edad de rebrote disminuyeron los contenidos de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3).

En Colombia no se han realizado estudios controlados para evaluar la influencia de especie y de factores de manejo en el contenido de AG en gramíneas tropicales utilizadas en sistemas bovino doble propósito en el trópico seco. Por lo tanto, el objetivo

de este estudio fue evaluar el efecto de la edad de rebrote en diferentes especies de gramíneas de corte y pastoreo en la microrregión Valle del Cesar.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Aval comité de bioética

La investigación fue aprobada por el comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional (Acta 08, 6 septiembre del 2012).

2.2.2 Localización

El experimento se desarrolló en el Centro de Investigación Motilonia de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA ubicada a 10° 0' 7" de latitud norte y 73° 14' 51" de longitud oeste en el Municipio de Codazzi en la microrregión Valle del Cesar del Departamento del Cesar. La zona presenta una temperatura promedio anual de 28,7 °C, humedad relativa de 70% y una precipitación anual promedio de 1600 mm con distribución bimodal de los meses de mayo a junio y de septiembre a diciembre.

2.2.3 Especies forrajeras y edades de rebrote

Se evaluaron especies de gramíneas de pastoreo y de corte con tres edades de corte (3, 6 y 9 semanas) durante la época de máxima precipitación. Las gramíneas de pastoreo se cortaron a una altura de 5 cm (especies de crecimiento postrado), 10 cm (especies de crecimiento semierecto) y 25 cm (especies de crecimiento erecto) desde el nivel del suelo. Las gramíneas de corte se cortaron a nivel del suelo.

Las gramíneas de pastoreo evaluadas fueron el pasto amargo (*Brachiaria decumbens*), humidicola (*Brachiaria humidicola* cv. humidicola), llanero (*Brachiaria humidicola* cv. dictyoneura), toledo (*Brachiaria brizantha* cv. toledo), mulato II (*Brachiaria* híbrido cv. mulato II), tanzania (*Megathyrsus maximus* cv. tanzania), mombasa (*Megathyrsus maximus* cv. mombasa), colosuana (*Bothriochloa pertusa*), estrella (*Cynodom nlemfuensis*), ángleton (*Dichanthium aristatum*) y carimagua (*Andropogon gayanus*).

Las gramíneas de corte evaluadas fueron los pastos king grass verde (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*), king grass morado (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum typhoides*), elefante (*Pennisetum purpureum*) y maralfalfa (*Pennisetum purpureum* x *Pennisetum glaucum*).

2.2.4 Áreas experimentales

Los suelos del área experimental tienen una estructura franco arenosa, con pH entre 6,4 a 6,6; materia orgánica de 0,5 a 1,5%, sin saturación de aluminio y con buen drenaje. El área total para el experimento fue de 4454 m². La parcela principal fue la especie forrajera, la cual tuvo una dimensión de 14 m de largo x 4 m de ancho (56 m²). Dentro de la parcela principal, se establecieron sub-parcelas (edad de rebrote) de 4 m de largo x 4 m de ancho (16 m²) con una separación física por una calle de 1 m de ancho. Se establecieron dos repeticiones de todas las especies forrajeras.

2.2.5 Establecimiento de las especies

Para la preparación de terreno se realizó un pase de cincel, dos pases de rastra y un pase de pulidor. El establecimiento de las gramíneas del género *Brachiaria* y *Megathyrsus* se realizó con semilla comercial (4 a 8 kg/ha) sembradas a distancias de 0,5 m entre surcos y 0,5 m entre plantas en cada parcela. Las gramíneas *Bothriochloa pertusa*, *Cynodom nlemfluensis*, *Dichanthium aristatum* y *Andropogon gayanus* se sembraron a una distancia de 0,5 m entre surcos y 0,5 m entre plantas con material vegetativo recolectado en fincas de la región. Las gramíneas de corte se sembraron con material vegetativo a distancias de 1 metro entre surcos y dentro de estos se sembró a chorrillo continuo. Con todas las especies, se realizó una fertilización de establecimiento con N 50, P 25 y K 20, kg/ha.

2.2.6 Variables medidas

Para medir la cantidad de forraje en hojas y tallos en las gramíneas de pastoreo se cosechó el forraje contenido en un marco de 1 m² y en las gramíneas de corte se cosechó el forraje en 3 m lineales en cada sub-parcela (edad de rebrote) a las alturas de corte especificadas según el habito de crecimiento de las especies. El forraje cosechado de hojas y tallos se secó en horno durante 48 horas a una temperatura de 55°C.

Posteriormente, se tomó una muestra compuesta (tallos + hojas) representativa de la relación hoja – tallo en cada edad de rebrote para la determinación de proteína cruda (PC) por el método de Kjeldahl (AOAC 2010), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest et al. 1991), grasa total (EE) por extracción con éter (AOAC 2010), perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases (Garcés y Mancha 1993) y degradabilidad *in situ* de la materia seca a las 48 horas (Orskov et al. 1980).

La concentración de ácidos grasos (AG) en los forrajes (hojas + tallos) se estimó a partir del extracto etéreo (EE) multiplicado por 0,5 (Palmquist y Jenkins 1980) y se expresó como g/ kg MS. Con base en la concentración de AG y el perfil lipídico (porcentaje de un AG en relación al total de AG) se expresó en g/kg MS el contenido de cada AG que se identificó en el cromatograma.

Para definir el perfil lipídico de las especies de gramíneas se realizó la extracción y metilación de los ácidos grasos adaptando las técnicas descritas por Garcés y Mancha (1993) y por Yamasaki et al. (1999). Al forraje (50 mg) se le adicionaron 2150 μ l de metanol absoluto, 990 μ l de tolueno, 66 μ l de ácido sulfúrico al 99,9 %, 1000 μ l de N, N dimetilformamida y 2 ml de n-hexano; la mezcla se colocó en un baño de María (2 h a 80°C), se dejó en reposo (5 - 10 min), se agitó y se recuperó el sobrenadante. El hexano del sobrenadante se evaporó mediante corriente de Nitrógeno. Al residuo se le adicionaron 300 μ l de diclorometano y se llevó a un vial con inserto cónico. Los ésteres de ácidos grasos metilados (FAMES) de la grasa del forraje fueron cuantificados por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC2014 con auto inyector AOC20i y auto muestreador AOC20C. Los FAMES fueron separados en columna capilar (Rt 2560; 100 m x 0,25 mm di x 0,2 μ m espesor de la capa; Restek®). Las temperaturas del inyector y del FID fueron 260 °C y 270 °C respectivamente. El programa de temperatura fue: 140 °C por 5 min, se incrementó 4 °C / min hasta 190 °C y se mantuvo por 32,5 min. El Split ratio fue de 1: 100 y el He fue el gas de arrastre con una presión de 40,4 psi. Los tiempos de retención fueron comparados con estándares conocidos (Food Industry FAMEX Mix cat 35007).

2.2.7 Diseño experimental y análisis estadístico

Los tratamientos se incluyeron en un diseño replicado de parcelas divididas con bloques al azar, donde la parcela principal fue la especie forrajera y la sub-parcela la edad de rebrote (Steel y Torrie 1999). El modelo fue $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \varepsilon_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \theta_{ik}$, donde Y_{ijk} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto de la especie ($i = 1$ a 15), ρ_j es el efecto del bloque ($j = 1, 2$), ε_{ij} es el error aleatorio asociado a la especie, β_k es el efecto de la edad de rebrote ($k = 1$ a 3), $(\alpha\beta)_{jk}$ es el efecto de la interacción especie x edad de rebrote ($ik = 1$ a 45) y θ_{ik} es el error aleatorio asociado a la edad de rebrote. El análisis estadístico se realizó con el PROC MIXED del software SAS (versión 9,3). La comparación de medias se realizó con el test de Tukey con un nivel de significancia al 5%. Para separar medias cuando se presentó una interacción significativa de la especie x la edad de rebrote se calculó la diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia al 5%.

2.3 Resultados

2.3.1 Producción de forraje

Como era de esperar, en todas las especies la cantidad de forraje en base seca de hojas (Figura 2-1) y tallos (Figura 2-2) se incrementó a medida que avanzó la edad de rebrote, siendo la excepción el pasto tanzania que presentó una menor producción de hojas a las 9 semanas en comparación con la semana 6 (Figura 2-1).

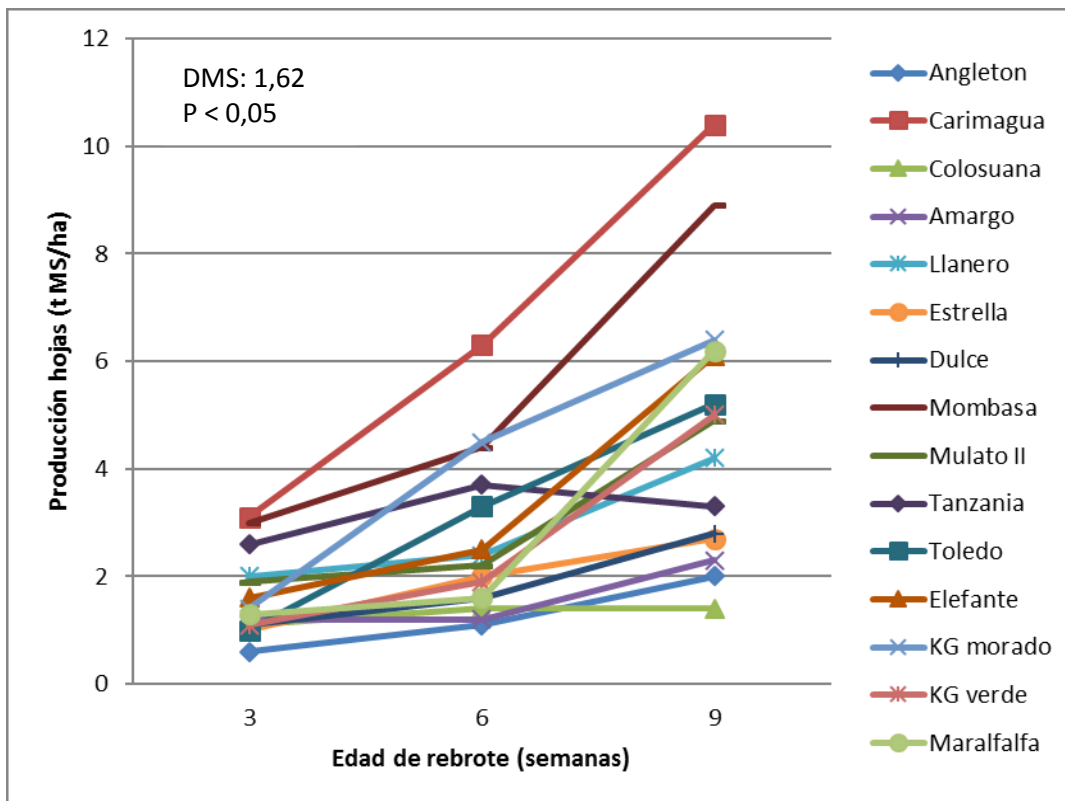


Figura 2-1: Producción de hojas de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte sometidas a tres edades de corte

Los pastos colosuana y tanzania mostraron el menor incremento en la producción de hojas (0,3 veces) debido a edad de rebrote, mientras que los pastos toledo y maralfalfa presentaron los mayores incrementos (> 3,8 veces). Los pastos carimagua y mombasa incrementaron en 2,3 y 1,9 veces, respectivamente, la producción de hoja al aumentar la edad de rebrote de 3 a 9 semanas.

La producción de tallos en las especies forrajeras aumentó ($P < 0,05$) a medida que maduró el forraje (Figura 2-2). Sin embargo, este aumento fue más notorio en los pastos king grass morado, king grass verde, carimagua, elefante y maralfalfa. El pasto estrella presentó el menor incremento en la producción de tallos (3,4 veces) con edad de rebrote, mientras que el pasto king grass morado mostró el mayor incremento (44,7 veces).

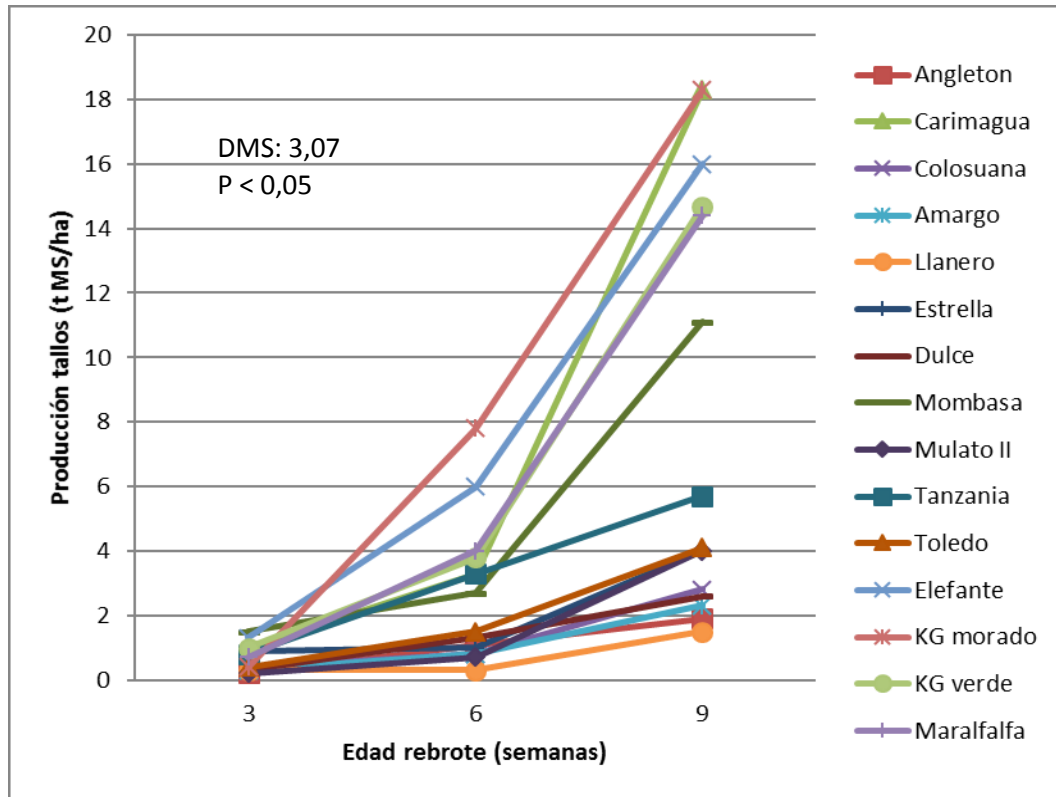


Figura 2-2: Producción de tallos de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte sometidas a tres edades de corte

En todas las especies se presentó una disminución ($P < 0,05$) en la relación hoja: tallo (RHT) a medida que maduró el forraje (Figura 2-3). Sin embargo, se presentó una mayor RHT en el pasto estrella a las 6 semanas de rebrote en comparación con las otras edades evaluadas. Los pastos llanero y mulato II presentaron la mayor ($P < 0,05$) RHT a las 3 semanas de rebrote, mientras que el pasto llanero presentó la mayor RHT ($P < 0,05$) a las 6 semanas de rebrote en comparación con las demás especies evaluadas.

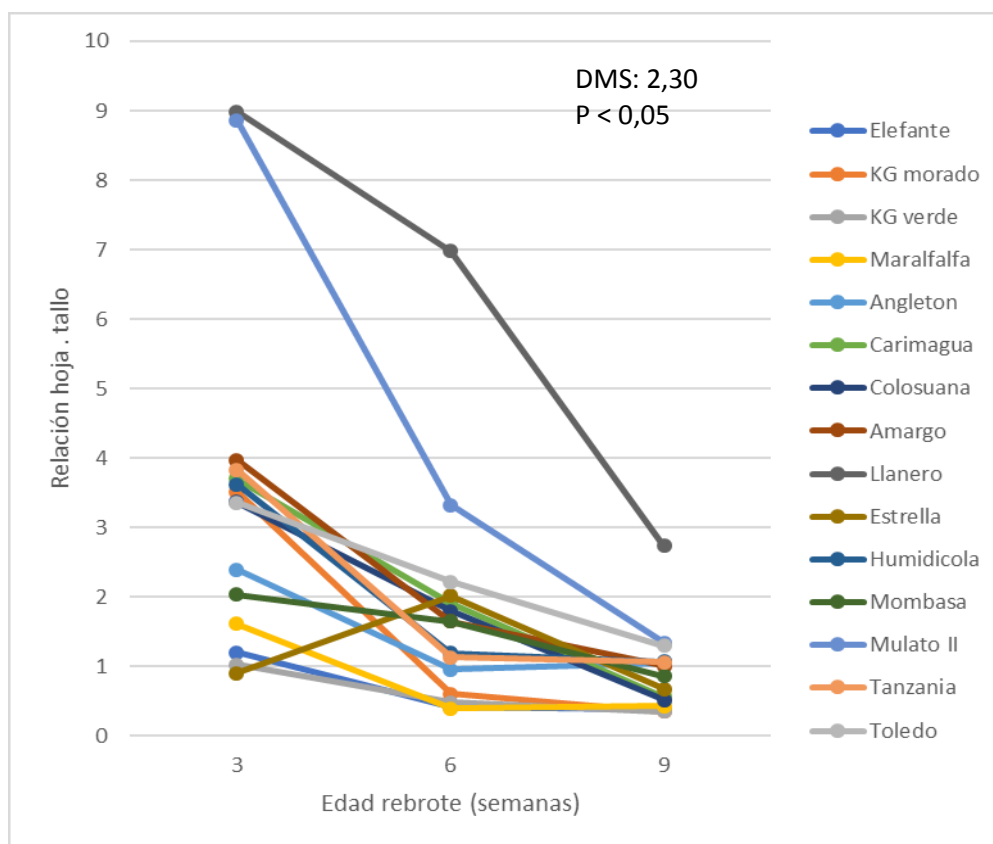


Figura 2-3: Relación hoja: tallo de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte sometidas a tres edades de corte

2.3.2 Calidad nutricional

El contenido de extracto etéreo (EE) en el forraje entero (hojas + tallos), varió en función de la especie ($P < 0,05$) y la edad de rebrote ($P < 0,05$). El pasto tanzania presentó el mayor contenido de EE (1,60%; promedio a través de edades) y los pastos colosuana, humidicola, king grass verde, maralfalfa y estrella presentaron los menores valores (1,20 a 1,24%) (Tabla 2-1). A medida que incrementó la edad rebrote se observó un menor contenido de EE en el tejido (hojas + tallos) en todas las especies. En rebrotes de 3 semanas el valor promedio de EE a través de especies fue de 1,6% y se redujo a 1,1% en el rebrote de 9 semanas.

El contenido de proteína cruda (PC) en el forraje entero (hojas + tallos) se redujo con edad de rebrote, pero el efecto no fue similar en todas las especies (interacción especie x edad, $P < 0,05$). Esta reducción fue superior a 50% al pasar de 3 a 6 semanas de rebrote

en el pasto amargo, estrella, humidicola carimagua, mombasa, tanzania, toledo, elefante y king grass morado. El pasto maralfalfa presentó la menor reducción en el contenido de proteína cruda (- 19,1%) al avanzar a la edad de rebrote de 3 a 9 semanas (Tabla 2-1).

Se presentó interacción entre la especie y la edad de rebrote ($P < 0,05$) en el contenido de FDN y FDA (Tabla 2-1). El contenido de fibra (FDN y FDA) en el forraje entero (hojas + tallos) se incrementó con la edad de rebrote de 3 a 9 semanas, siendo el aumento superior a 10 puntos porcentuales en FDN en los pastos amargo, carimagua, tanzania, elefante, king grass morado y verde. Los pastos carimagua, elefante, king grass morado y verde fueron los únicos en los que aumentó (10 puntos porcentuales) la FDA con edad de rebrote. La edad de rebrote en maralfalfa solo tuvo un leve efecto (1,5 puntos) en el porcentaje de FDA (Tabla 2-1).

La degradabilidad *in situ* disminuyó con la edad de rebrote, pero el efecto no fue similar en todas las especies (interacción especie x edad, $P < 0,05$). En el forraje entero (hojas + tallos) de los pastos ángleton, amargo, estrella, carimagua, tanzania, toledo, elefante, king grass verde y maralfalfa se redujo por encima del 20% al pasar de 3 a 9 semanas de rebrote (Tabla 2-1).

Tabla 2-1: Calidad nutricional de diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte

Especie	Edad rebrote (semanas)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)	DISMS (%)
Pastoreo						
Ángleton	3	9,8 ^{efg}	63,0 ^{pq}	37,9 ^{klmnop}	1,5	61,9 ^{ghijkl}
	6	7,5 ^{ghijklm}	67,3 ^{klmnop}	41,6 ^{ghijk}	1,3	56,6 ^{klmnop}
	9	6,9 ^{hijklm}	70,5 ^{efghijkl}	41,9 ^{ghij}	1,1	47,5 ^{qrs}
Colosuana	3	12,4 ^d	66,7 ^{lmnop}	37,9 ^{klmnop}	1,4	63,9 ^{bcde}
	6	9,7 ^{efg}	71,0 ^{defghijkl}	41,0 ^{ghijkl}	1,2	57,9 ^{ijklmno}
	9	6,9 ^{hijklm}	75,8 ^{bcd}	42,9 ^{defgh}	1,1	53,8 ^{mnopq}
Amargo	3	12,1 ^{de}	61,4 ^{qr}	28,8 ^v	1,8	71,4 ^{bc}
	6	8,9 ^{ghi}	67,8 ^{ijklmnop}	34,3 ^{qrst}	1,4	58,8 ^{cdefgh}
	9	5,3 ^{klmn}	72,1 ^{cdefghi}	38,1 ^{klmnop}	1,2	53,4 ^{ijklmnop}
Llanero	3	9,9 ^{efg}	69,0 ^{ghijklmno}	36,4 ^{mnoqrst}	1,5	64,6 ^{efghij}
	6	8,4 ^{ghij}	71,6 ^{cdefghijkl}	38,7 ^{ijklmno}	1,3	60,1 ^{ijklmno}
	9	6,5 ^{ijklm}	73,7 ^{bcddefg}	42,0 ^{defghi}	1,1	54,0 ^{mnoqpq}
Estrella	3	13,2 ^{cd}	65,3 ^{nopq}	35,0 ^{opqrst}	1,4	66,1 ^{cdefghi}
	6	9,4 ^{fghi}	72,9 ^{bcddefgh}	40,3 ^{hijkl}	1,2	55,3 ^{lmnop}
	9	6,4 ^{ijklm}	75,1 ^{bcde}	43,2 ^{defgh}	1,0	47,1 ^{qrs}
Humidicola	3	9,6 ^{efg}	68,7 ^{hijklmno}	35,7 ^{noqrst}	1,4	63,9 ^{efghijk}
	6	6,1 ^{klmn}	72,9 ^{bcddefgh}	39,0 ^{ijklmn}	1,2	57,9 ^{ijklmnop}
	9	4,9 ^{mn}	72,5 ^{cdefghi}	38,4 ^{ijklmnop}	1,1	53,8 ^{mnoqpq}
Carimagua	3	13,5 ^{cd}	65,7 ^{mnoqpq}	34,7 ^{pqrst}	1,6	76,0 ^{ab}
	6	7,9 ^{ghijk}	75,4 ^{bcd}	40,0 ^{hijklm}	1,3	59,7 ^{hijklmno}
	9	5,0 ^{lmn}	81,0 ^a	46,5 ^{abcd}	1,1	54,1 ^{mnoqpq}
Mombasa	3	9,3 ^{gh}	67,0 ^{klmnop}	41,3 ^{ghijkl}	1,5	64,9 ^{defghij}
	6	5,2 ^{lmn}	73,7 ^{bcddefg}	46,2 ^{abcd}	1,5	61,1 ^{hijklm}
	9	3,8 ⁿ	76,0 ^{bc}	49,5 ^a	1,2	52,9 ^{opq}
Mulato II	3	12,6 ^{cd}	64,6 ^{opq}	32,7 ^{stu}	1,7	71,3 ^{bcde}
	6	9,0 ^{gh}	66,6 ^{lmnop}	33,9 st	1,4	66,1 ^{cdefghi}
	9	6,4 ^{ijklm}	71,3 ^{cdefghijkl}	36,0 ^{noqrst}	1,2	60,7 ^{hijklmn}
Tanzania	3	9,7 ^{efg}	67,0 ^{klmnop}	41,7 ^{ghij}	2,0	71,4 ^{bcde}
	6	5,6 ^{klmn}	75,2 ^{bcde}	45,7 ^{bcde}	1,5	57,6 ^{ijklmnop}
	9	3,8 ⁿ	77,3 ^{ab}	48,1 ^{ab}	1,2	44,6 ^{rs}
Toledo	3	11,5 ^{def}	64,3 ^{opq}	34,9 ^{pqrst}	1,6	70,6 ^{bcddef}
	6	7,2 ^{ghijklm}	71,8 ^{cdefghij}	40,0 ^{hijklm}	1,2	60,7 ^{hijklmn}
	9	5,1 ^{lmn}	74,2 ^{bcddef}	41,5 ^{ghijk}	1,1	43,0 ^s
Corte						
Elefante	3	15,0 ^{bc}	57,4 ^{rs}	32,4 ^{tu}	1,7	69,3 ^{bcddefg}
	6	8,5 ^{ghij}	67,1 ^{ijklmnop}	39,8 ^{hijklm}	1,3	57,3 ^{ijklmnop}
	9	7,4 ^{ghijklm}	69,8 ^{ghijklmn}	45,3 ^{bcdef}	1,1	50,8 ^{pqr}
King grass morado	3	20,0 ^a	54,7 ^s	29,7 ^{uv}	1,6	73,0 ^{bc}
	6	9,5 ^{gh}	67,2 ^{klmnop}	39,9 ^{hijklm}	1,3	72,2 ^{bcd}
	9	8,5 ^{ghij}	69,9 ^{ghijklmn}	44,4 ^{cdefg}	1,0	59,5 ^{hijklmno}
King grass verde	3	16,4 ^b	61,6 ^{qr}	35,3 ^{noqrst}	1,4	80,1 ^a
	6	9,4 ^{fgh}	69,0 ^{ghijklmno}	40,3 ^{hijkl}	1,2	63,1 ^{fghijk}
	9	9,2 ^{fgh}	73,6 ^{bcddefg}	47,1 ^{abc}	1,0	57,6 ^{ijklmnop}
Maralfalfa	3	9,4 ^{fgh}	61,5 ^{qr}	36,3 ^{mnoqrst}	1,4	79,8 ^a
	6	8,8 ^{ghij}	65,1 ^{mnoqp}	37,5 ^{lmnopqr}	1,2	64,3 ^{efghij}
	9	7,6 ^{ghijkl}	68,7 ^{hijklmno}	37,8 ^{klmnop}	1,0	63,7 ^{fghijk}
Fuente variación		PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)	DISMS (%)
				Valor - P		
Especie		0,0001	0,0001	0,0001	0,002	0,0001
Edad		0,0046	0,005	0,005	0,009	0,004
Especie x edad		0,001	0,05	0,0007	0,56	0,007

PC= Proteína cruda, FDN= Fibra detergente neutro, FDA= Fibra detergente ácido, EE= Extracto etéreo, DISMS= Degradabilidad *in situ* de la materia seca. Letras diferentes entre las filas en la misma variable indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de DMS

2.3.3 Perfil de ácidos grasos

El contenido de AG totales y precursores de ALC (linoleico + linolénico) en el forraje entero (hojas + tallos) variaron debido a la especie ($P < 0,05$) y la edad de rebrote ($P < 0,05$) (Tabla 2-2). El pasto tanzania presentó en promedio la mayor ($P < 0,05$) concentración de AG (g/kg MS) y los mayores ($P < 0,05$) contenidos de precursores de ALC a través de edades de rebrote en comparación con las demás especies. Los pastos ángleton, colosuana, llanero, estrella, humidicola, king grass morado, king grass verde y maralfalfa presentaron los menores ($P < 0,05$) contenidos de AG totales y los pastos king grass verde y maralfalfa de precursores de ALC (Tabla 2-2). En todas las especies de gramíneas evaluadas a medida que aumentó la edad de rebrote disminuyeron ($P < 0,05$) los contenidos de AG y de precursores de ALC (Tabla 2-2).

Los contenidos de ácido mirístico (C14:0) y esteárico (C18:0) solamente fueron afectados ($P < 0,05$) por la especie. Los pastos king grass morado y king grass verde presentaron los mayores ($P < 0,05$) contenidos de C14:0, y los pastos estrella y humidicola presentaron los menores contenidos. Con relación al C18:0, el pasto king grass morado presentó el mayor ($P < 0,05$) contenido y los pastos ángleton, colosuana, amargo, llanero, estrella y toledo presentaron los menores contenidos (Tabla 2-2).

Tabla 2-2: Contenido de ácidos grasos totales (AG) y perfil de ácidos grasos en gramíneas de pastoreo y de corte (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte

Especie	AG	Perfil de AG (g/kg MS)				
	(g/kg MS)	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	PRE
Pastoreo						
Ángleton	6,46 ^b	0,24 ^b	2,42	0,12 ^b	0,58	1,44 ^{abc}
Colosuana	6,22 ^b	0,31 ^{ab}	2,21	0,21 ^b	0,52	1,39 ^{abc}
Amargo	7,25 ^{ab}	0,40 ^{ab}	2,83	0,43 ^b	0,54	1,25 ^{abcde}
Llanero	6,45 ^b	0,36 ^{ab}	2,08	0,45 ^b	0,44	1,49 ^{abc}
Estrella	6,00 ^b	0,22 ^b	2,30	0,47 ^b	0,44	1,07 ^{bcd}
Humidicola	6,15 ^b	0,25 ^b	2,33	0,55 ^{ab}	0,36	1,13 ^{bcd}
Carimagua	6,66 ^{ab}	0,43 ^{ab}	2,24	0,61 ^{ab}	0,74	0,97 ^{bcd}
Mombasa	7,15 ^{ab}	0,31 ^{ab}	2,60	0,67 ^{ab}	0,51	1,28 ^{abcd}
Mulato II	7,39 ^{ab}	0,40 ^{ab}	2,41	0,66 ^{ab}	0,45	1,65 ^{ab}
Tanzania	8,02 ^a	0,31 ^{ab}	2,61	0,69 ^{ab}	0,55	1,89 ^a
Toledo	6,55 ^{ab}	0,36 ^{ab}	2,34	0,51 ^b	0,43	1,31 ^{abc}
Corte						
Elefante	6,89 ^{ab}	0,27 ^b	1,42	0,78 ^{ab}	0,59	0,58 ^{def}
King grass morado	6,51 ^b	0,44 ^a	1,60	1,36 ^a	0,50	0,92 ^{cdef}
King grass verde	6,12 ^b	0,60 ^a	2,46	0,87 ^{ab}	0,32	0,33 ^f
Maralfalfa	6,06 ^b	0,36 ^{ab}	1,49	0,79 ^{ab}	0,28	0,56 ^f
Edad						
	AG	Perfil de AG (g/kg MS)				
	(g/kg MS)	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	PRE
3	7,85 ^a	0,39	2,42	0,65	0,57	1,65 ^a
6	6,58 ^b	0,35	2,13	0,65	0,47	1,16 ^{ab}
9	5,54 ^c	0,32	2,12	0,54	0,40	0,65 ^b
Fuente de variación						
	AG	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	PRE
	Valor – P					
Especie	0,002	0,01	0,06	0,005	0,09	0,001
Edad	0,009	0,26	0,29	0,54	0,14	0,01
Especie x edad	0,56	0,08	0,66	0,18	0,10	0,61

C14:0 = Ácido mirístico. C16:0 = Ácido palmítico, C18:0 = Ácido esteárico. C18:1= Ácido oleico, PRE= Precursores de ALC (linoleico + linolénico). Letras diferentes entre las filas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Los resultados mostraron que hubo una interacción de especie x edad de rebrote en los contenidos (g/kg MS) de los ácidos grasos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) (Figura 2-4 A y B).

A medida que aumentó la edad de rebrote disminuyó el contenido del ácido linoleico (C18:2) en todas las especies, pero la reducción fue mayor en los pastos king grass verde (- 86,4%), mombasa (- 85,6%) y tanzania (- 80,4%) (Figura 2-4A). En los pastos llanero y carimagua se presentaron las menores reducciones (- 25,8 y - 23,6%, respectivamente) en el contenido de ácido linoleico (C18:2) con la mayor edad de rebrote (Figura 2-4A).

El contenido de ácido linolénico (C18:3) disminuyó con la edad de rebrote en todas las especies con excepción en el pasto tanzania que se incrementó en 21% al pasar de la semana 3 a la semana 9 (Figura 2-4B). En el pasto king grass verde el contenido de C18:3 se redujo en 82,6% al avanzar de la semana 3 a la 9 de rebrote. Por otra parte, en los pastos amargo y ángleton se presentaron los menores descensos (- 27,4% y - 26,5%, respectivamente) de C18:3 debido a madurez del forraje (Figura 2-4B).

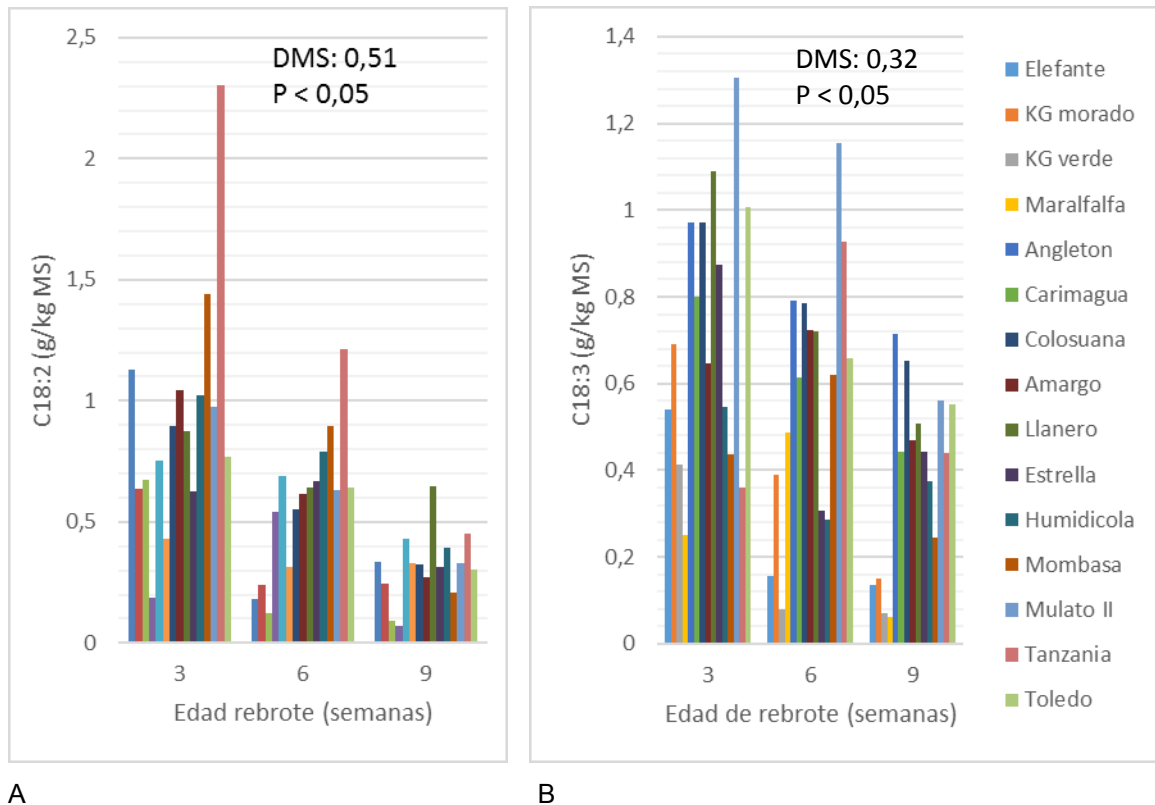


Figura 2-4: Concentración de (A) ácido linoleico (C18:2) y (B) linolénico (C18:3) en diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte

Al comparar las gramíneas de pastoreo y corte (hojas + tallos) se observó que, en ambos grupos de gramíneas, el ácido palmítico (C16:0) fue el ácido graso predominante seguido por los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en las tres edades de rebrote, con excepción en las gramíneas herbáceas a las 9 semanas de rebrote donde se presentó un mayor contenido de ácido linolénico seguido por el ácido linoleico (Figura 2-5). Por otra parte, se observó que en ambos grupos los contenidos del ácido linoleico (C18:2), linolénico (C18:3) y de precursores de ALC disminuyeron a medida que avanzó la edad de rebrote. Las gramíneas herbáceas presentaron mayores contenidos de C16:0, C18:2,

C18:3 y precursores de ALC en comparación con las gramíneas de corte (Figura 2-5). Los precursores de ALC fueron mayores ($P < 0,05$) en las gramíneas de pastoreo que en las especies de corte en el forraje con 3, 6 y 9 semanas de rebrote (Figura 2-5).

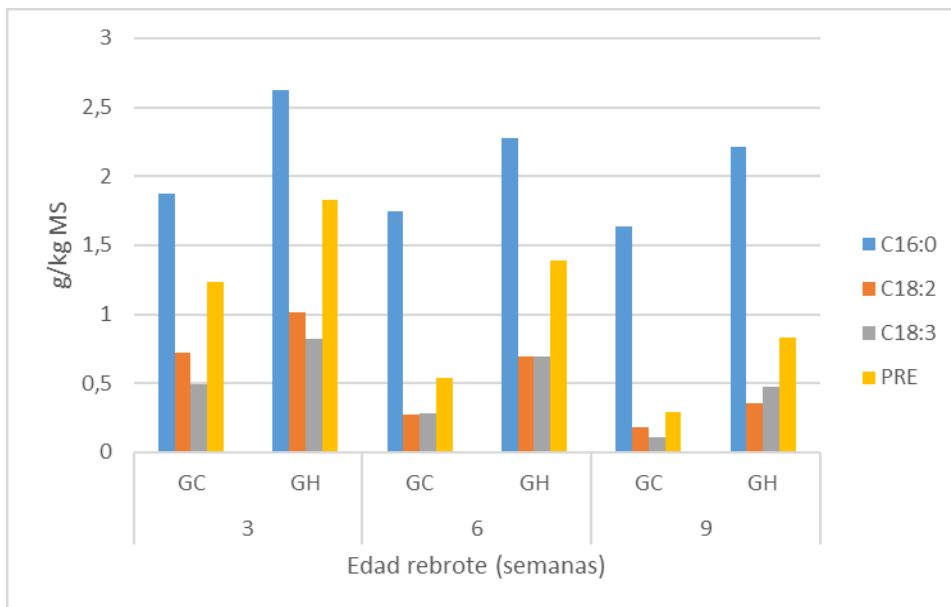


Figura 2-5: Contenido (g/kg MS) de ácidos grasos (Palmítico C16:0, linoleico C18:2, linolénico C18:3, Precursores ALC (PRE)) en diferentes especies de gramíneas de corte (GC) y de pastoreo (GP) (hojas + tallos) sometidas a tres edades de corte.

2.4 Discusión

En los últimos años ha habido interés en investigar el efecto de la alimentación de vacas lecheras sobre el perfil de ácidos grasos (AG) en la grasa de la leche debido al efecto benéfico que tienen algunos AG, como los isómeros del ácido linoleico conjugado (ALC), sobre la salud humana (Kelly et al. 2008, Benjamin y Spener 2009, Shingfield et al. 2013). En los estudios revisados se identificó que aproximadamente un 75% de la variabilidad en el contenido de ALC en la leche se puede explicar por el consumo total de sus precursores (ácido linoleico y linolénico) presentes en el alimento (Mohammed et al. 2009).

En este estudio se evaluó el efecto de la edad de rebrote sobre la concentración de AG en diferentes especies de gramíneas de pastoreo y de corte utilizadas en ganaderías del sistema de producción bovino doble propósito en el trópico seco colombiano.

En las especies forrajeras evaluadas, el ácido palmítico (C16:0) fue el AG predominante seguido por el ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) en algunas especies, o linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en otras especies. Estos resultados son diferentes a los observados en otro estudio realizado con gramíneas tropicales en los que se encontró que el ácido linolénico (C18:3) era el principal AG presente en el forraje seguido por el ácido palmítico (C16:0) (Khan et al. 2015). En estudios (Wyss et al. 2006, Glasser et al. 2013) con gramíneas de clima templado también se ha observado que los ácidos linoleico y linolénico son los principales AG presentes en el forraje. La transferencia del ácido palmítico (C16:0) de los forrajes a la leche podría tener importancia debido a su efecto aterogénico (Ulbricht y Southgate 1991), lo cual no favorecería la producción de leches saludables.

En nuestro estudio la alta temperatura pudo tener efecto sobre la concentración del ácido palmítico (C16:0) en las gramíneas evaluadas, ya que Allakhverdiev et al. (2009) encontraron que bajo esa condición ambiental se disminuye la concentración de ácido linolénico (C18:3) y se incrementa las concentraciones del ácido palmítico (C16:0) y ácido linoleico (C18:2) en las plantas. Este parece ser un mecanismo de adaptación que reduce la fluidez de las membranas en las células de las plantas para disminuir su evapotranspiración en ambientes con altas temperaturas (C16:0) (Toyes et al. 2013).

El contenido de AG y los contenidos (g/kg MS) de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en este estudio disminuyeron a medida que maduró el forraje tanto de especies de pastoreo como de corte. Esta reducción en la concentración de AG con la edad de rebrote se asoció ($r = 0,49$) con una menor relación hoja - tallo en el forraje más maduro ya que los AG se concentran especialmente en los cloroplastos de las hojas y la reducción de este componente de la planta afecta negativamente el contenido de los mismos (Hawke 1973). En otro estudio con especies de gramíneas tropicales se ha reportado que además del efecto de la relación hoja-tallo en la concentración de AG, otros factores como son la madurez de las hojas, iniciación de la floración y la senescencia también afectan negativamente la concentración de AG en el forraje (Khan et al. 2015).

En este estudio el efecto de madurez del forraje sobre la concentración de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) no fue igual en todas las especies. En otro estudio con gramíneas tropicales se encontró también que las disminuciones en las concentraciones de los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), expresados como g/kg MS, debido a edad de rebrote fueron diferentes entre especies (Khan et al. 2015).

Los pastos king grass verde y king grass morado presentaron los mayores contenidos de ácido mirístico (C14:0), el cual tiene especial importancia debido a la importante contribución al índice aterogénico (probabilidad de aterosclerosis) de la leche (Ulbricht y Southgate 1991).

Un resultado significativo de este estudio fue que el contenido de precursores de ALC (linoleico + linolénico) disminuyó con la madurez del forraje en los dos grupos de gramíneas evaluadas. Sin embargo, la relación (C18:2/C18:3) de estos ácidos poliinsaturados varió entre las especies de gramíneas debido a edad de rebrote. En el forraje con 3 semanas de rebrote el contenido de ácido linoleico (C18:2) fue mayor que el ácido linolénico (C18:3), pero el contenido de este último AG en relación al linoleico (C18:2) fue similar a las 6 semanas en los dos grupos de gramíneas y fue mayor a las 9 semanas de rebrote solamente en las gramíneas herbáceas, lo que generó un cambio en la relación C18:2/C18:3. En consecuencia, en los dos grupos de gramíneas, el ácido linolénico (C18:3) aportó el 43% (promedio de los grupos) al contenido total de precursores de ALC en el forraje a las 3 semanas de rebrote, pero su aporte aumentó a un 53% en el forraje de las gramíneas herbáceas con 9 semanas de rebrote. En el estudio de Khan et al. (2015) con gramíneas tropicales también se encontró una disminución en el contenido de los precursores de ALC, pero el contenido de ácido linolénico (C18:3) fue mayor (alrededor de 3 veces) que el ácido linoleico (C18:2), lo que resultó en un mayor aporte (alrededor del 70%) del ácido linolénico (C18:3) al contenido total de precursores de ALC en todos los estados de madurez que se evaluaron.

En un estudio *in vitro*, Castillo et al. (2014) identificaron que la biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2) produce mayor acumulación en líquido ruminal de ácido transvaccénico (ATV) (precursor de la síntesis endógena de ALC en la glándula mamaria) comparado con la biohidrogenación del ácido linolénico (C18:3). Esto sugiere que, la mayor relación

C18:2/C18:3 en el forraje (hojas + tallos) de las gramíneas evaluadas con 3 semanas de rebrote podría generar una mayor concentración de ALC (porcentaje AG del total de AG) en la grasa de la leche en comparación con las edades de rebrote de 6 y 9 semanas.

En las gramíneas de pastoreo hubo un mayor contenido de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en comparación con las gramíneas de corte. No se encontró información en literatura donde se haya comparado el contenido de AG en especies de gramíneas de diferente hábito de crecimiento y usos en sistemas ganaderos.

Con excepción del pasto Tanzania, que presentó el mayor contenido de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en todas las edades de rebrote evaluadas, el contenido de estos AG fue similar en el forraje de las demás especies de pastoreo y de corte. Esto sugiere que la utilización de estas especies en la alimentación de bovinos puede generar una concentración similar de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche. En un estudio *in vitro*, Prieto (2015) no observaron diferencia en la producción (porcentaje AG del total de AG) de ácido transvaccénico (precursor de la síntesis endógena de ALC en la glándula mamaria) en líquido ruminal con la utilización de pasto estrella (*C. pleistostachyus*) y pasto guinea (*Megathyrus maximus*), lo cual sugirió una respuesta similar en la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche bovina.

2.5 Conclusiones

Los principales AG presentes en las gramíneas de corte y pastoreo evaluadas fueron palmítico (C16:0), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). Esto contrasta con lo observado en especies de clima templado donde el AG linolénico y linoleico fueron los principales AG. En ambos grupos de gramíneas tropicales los contenidos de AG totales, linoleico, linolénico y de precursores de ácido linoleico conjugado (ALC) disminuyeron con la edad de rebrote y presentaron variación entre especies. Con excepción del cultivar Tanzania que presentó un mayor contenido de precursores de ALC, las demás especies presentaron contenidos similares, lo que sugiere que el uso de Tanzania en la alimentación de vacas en sistemas doble proposito puede aumentar la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche. Se concluye que el cultivar Tanzania inmaduro (rebrote entre 3 y 6 semanas) podría resultar en una mayor concentración de ALC en la

grasa de carne y leche de bovinos en sistemas doble propósito en comparación con otros cultivares de gramíneas.

2.6 Bibliografía

1. Aguilar OX, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2009. Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raygrass (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoleico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. *Livestock Research for Rural Development*. 21. 4.
2. Allakhverdiev SI. 2009. Regulatory roles in photosynthesis of unsaturated fatty acids in membrane lipids, In: Wada H, Murata N (Ed.). *Lipids in photosynthesis: essential and regulatory functions*, Springer, Dordrecht, the Netherlands. pp. 265–282.
3. AOAC. 2010. Association Official of Analytical Chemistry. *Official Methods of Analysis of AOAC international*. 18th ed. AOAC International, Maryland.
4. Belury MA. 2002. Dietary conjugated acid linoleic in health: Physiological effects and mechanism of action. *Ann Rev. Nutr.* 22:505-531.
5. Benjamin S, Spener F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition and Metabolism*. 6:36 doi:10.1186/1743-7075-6-36.
6. Boufaied H, Chouinard PY, Tremblay GF, Petit HV, Michaud R, Belanger G. 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science*. 83. 501–511.
7. Castillo J, Olivera M, Pabón M, Ribeiro C, Daza E, Carulla J. 2014. Kymetics and thermodynamics on the in vitro biohydrogenation on linoleic acid, alpha linoleic acid and their combinations. Conference paper. 51ª Reunión anual de sociedad brasilera de Zootecnia.
8. Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*. 70. 31-48.
9. Dewhurst RJ, Scollan ND, Youell SJ, Tweed JKS, Humpreys MO. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass and Forage Science*. 56: 84-74.
10. Dewhurst RJ, Shingfield KJ, Lee MRF, Scollan ND. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acid in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technology*. 131. 168-206.

11. Dhiman TR, Anand GR, Satter LD, Pariza MW. 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of milk from cows fed Different Diets, *J Dairy Science*. 82: 2146-2156.
12. Elgersma A, Ellen G, Van Der Horst H, Muuse BG, Boer H, Tamminga S. 2004. Influence of cultivar and cutting date on fatty acids composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science*. 59. 104 – 105.
13. Ellis KA, Innocent G, Grove-White D, Cripps P, McLeann WG, Howard CV, Mihm M. 2006. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Science*. 89: 1938-1950.
14. Garcés R, Mancha M. 1993. One step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. *Anal. Biochem*. 211:139–143.
15. Gilliland TJ, Barrett PD, Mann RL, Agnew RE, Fearon AM. 2002. Canopy morphology and nutritional quality traits as potential value indicators for *Lolium perenne* varieties. *J. Agric*. 139. 257 – 273.
16. Glasser F, Doreau M, Maxin G, Baumont R. 2013. Fat and fatty acid content and composition forages. *Animal Feed Science and Technology*. 185. 19 – 34.
17. Hawke JC. 1973. Lipids. In: Butler, G.W., et al. (Eds.) *Chemistry and biochemistry of herbage*. London, UK: Academic Press.1). pp. 213-263.
18. Ip C, Banni S, Angioni E, Carta G, McGinley J, Thompson HJ, Barbano D, Bauman D. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr*. 129:2135–2142.
19. Kelly ML, Belly JR, Dwyer DA, Griinari JM, Chouinard PY, Van Amburgh ME, Bauman DE. 2008. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *The Journal of Nutrition*. 128: 881 – 885.
20. Khan NA, Farooq NW, ALI M, Suleman M, Ahmad N, Sulaiman SM, Cone NW, Hendriks WH. 2015. Effect of species and harvest maturity on the fatty acids profile of tropical forages. *The Journal of Animal of Plant Sciences*. 25 (3). 739 – 746. ISSN: 1018-7081.
21. Loor JJ, Soriano FD, Lin X, Herbein JH, Polan CE. 2003. Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9, trans11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Animal Feed Science and Technology*. 2003. 109:105–119.
22. Mohammed R, Stanton CS, Kennelly JJ, Kramer JKG, Mee JF, Glimm DR, O'Donovan M, Murphy JJ. 2009. Grazing cows are more efficient than zero-grazed and grass silage fed cows in milk rumenic acid production. *Journal of Dairy Science*. 92: 3874 – 3893.
23. O'Kelly JC, Reich HP. 1976. The fatty acid composition of tropical pastures. *Journal of Agricultural Science*. 86: 427-429.

24. Orskov ER, Deb Howell FD, Mould F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. 5:3.
25. Pabón ML, Carulla J. 2008. Compuestos lipídicos benéficos para la salud humana asociados a la nutrición animal. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 21. No. 1.
26. Palmquist DL, Jenkins TC. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J. Dairy Sci.* 63: 1 - 14.
27. Pariza MW, Hargreaves WA. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7, 12 dimethylbenz(a) antrazene. *Carcinogenesis*. Vol. 6. 4:591-593.
28. Prieto E. 2015. Efecto de la suplementación con aceites vegetales a vacas pastoreando con/sin sistema silvopastoril intensivo con leucaena sobre los ácidos grasos en la leche y la producción de metano *in vitro*. Tesis de Doctorado en Ciencias Animales. Universidad de Antioquia.
29. Rico JE, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2007. Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 20:30-39.
30. SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Versión 9,3 Cary, NC, USA.
31. Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* (2013), 7: s1, pp 132–162.
32. Steel R, Torrie JH. 1999. Correlación lineal. En: Steel y Torrie. *Bioestadística, principios y procedimientos*. España: Edit. Mc Graw Hill 2ªed. 263-75.
33. Toyas EA, Murillo BA, Espinoza JL, Carreun LP, Palacios AE. 2013. Composición química y precursores de ácido vaccénico y ruménico en especies forrajeras en baja California Sur, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 4 (3): 373 – 386.
34. Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*. 338(8773):985-992.
35. Van Soest PJ, Robertson J, Lewis M. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
36. Váradyová Z, Kisidayova S, Siroka P, Jalc D. 2008. Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Animal Feed Science and Technology*. 144 (1 – 2). 44 – 54.

-
37. Ward AT, Wittenberg KM, Froebe HM, Przybylski R, Malconlmson L. 2003. Fresh forage and Solin Supplementation on Conjugated Linoleic Acid Levels in Plasma and Milk. *J. Dairy Sci.* 2003. 86: 1742-1750.
 38. White SL, Bertrand JA, Wade MR, Wade MR, Washburn SP, Greet JT, Jenkins TC. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein Cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal Dairy Science.* 84:2295-2301.
 39. Wyss U, Morel I, Collomb M. 2006. Fatty acid content of three grass/clover mixtures. *Grassland Science in Europe* 11, 348–350.
 40. Yamasaki M, Kishihara K, Ikeda I, Sugano M, Yamada K. 1999. A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *J. American Oil Chemists' Society.* 76(8):933-938.

3. Efecto de especie y edad de rebrote sobre el perfil de ácidos grasos en leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales

Resumen

En un ensayo agronómico de corte se evaluó el efecto de tres edades de rebrote (4, 8 y 12 semanas) sobre la producción de forraje, calidad nutricional y perfil de ácidos grasos en leguminosas herbáceas (*Clitoria ternatea*, *Pueraria phaseoloides*, *Canavalia brasiliensis*, *Centrosema molle*, *Centrosema macrocarpum*, *Alysicarpus vaginalis*, *Lablab purpureus*), leguminosas arbustivas (*Cratylia argentea*, *Gliricidia sepium*, *Desmodium velotinum*, *Cajanus cajan*, *Leucaena leucocephala*) y una arbustiva no leguminosa (*Moringa oleifera*). Se utilizó un diseño de parcelas divididas con bloques al azar donde la parcela principal fue la especie forrajera y la sub-parcela la edad de rebrote. Los principales ácidos grasos presentes en las especies fueron el ácido palmítico (C16:0), ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2). Sin embargo, en las leguminosas herbáceas y arbustivas, el contenido de ácidos grasos fue diferente y disminuyó con la edad de rebrote en los dos grupos. La relación C18:2/C18:3 fue mayor en las leguminosas herbáceas que en las arbustivas, lo cual podría resultar en una mayor concentración de ácido linoleico conjugado en la grasa de la leche. La leguminosa *Cajanus cajan* presentó el mayor ($P < 0,05$) contenido de ácido linolénico (C18:3) y de precursores de ácido linoleico conjugado (linoleico + linolénico) en las 4 y 8 semanas de rebrote, lo cual sugiere que su uso en la alimentación de bovinos en sistemas doble propósito resultaría en una concentración mayor de ácido linoleico conjugado (c9 t11) en la grasa de la leche en comparación con otras especies de leguminosas.

Palabras clave: alimentación, forrajes, grasa, leche, rumiantes

Effect of specie and stage of maturity on fatty acid profile in herbaceous tropical legumes and shrub

Abstract

In an agronomic cutting trial, the effect of three stages of maturity (4, 8 and 12 weeks) on forage yield, nutritional quality and fatty acid profile were evaluated in herbaceous legumes (*Clitoria ternatea*, *Pueraria phaseoloides*, *Canavalia brasiliensis*, *Centrosema molle*, *Centrosema macrocarpum*, *Alysicarpus vaginalis*, *Lablab purpureus*), shrub legumes (*Cratylia argentea*, *Gliricidia sepium*, *Desmodium velotinum*, *Cajanus cajan*, *Leucaena leucocephala*) and a non-legume shrub (*Moringa oleifera*). A replicated split plot design was used, in which the forage specie were the main plot and stage of maturity the subplot. The principal fatty acids present in the legume species were palmitic acid (C16:0), linolenic (C18:3) and linoleic acid (C18:2). However, the fatty acid concentration differed between herbaceous and shrub legume and non-legume species and decreased with age of regrowth in the two groups. The herbaceous legumes evaluated had a higher C18:2/ C18:3 proportion than woody legumes, which could in turn result in a higher conjugated acid linoleic (CLA) in milk fat. The shrub legume *Cajanus cajan* cut every 4 and 8 weeks had the highest ($P < 0,05$) content of linolenic acid (C18:3) and of precursors of CLA (linoleic + linolenic), which suggest that its use as feed in dual purpose cattle systems can result in higher concentration of CLA (c9 t11) in milk fat as compared to other legume species.

Keywords: food, fodder, fat, milk, ruminants

3.1 Introducción

Los forrajes constituyen la base de la alimentación de los rumiantes en el sistema de producción bovino doble propósito en el trópico seco de Colombia. La composición de los ácidos grasos (AG) en forrajes tiene especial importancia por el efecto que tienen sobre el perfil lipídico en la carne y leche de rumiantes (Dhiman et al. 1999, White et al. 2001, Ward et al. 2003, Loores et al. 2003, Shingfield et al. 2013). Se ha comprobado que determinados AG en la leche (vaccénico, linoleico, linolénico) y en particular el ácido linoleico conjugado (ALC) tiene efectos benéficos para la salud humana relacionados con actividad anticarcinogénica y propiedades antidiabetogénicas, antiadipogénicas y antiteratogénicas (Pariza y Hargreaves 1985, Ip et al. 1999, Belury 2002).

El ácido linoleico conjugado (ALC) es producido por la biohidrogenación incompleta en el rumen de los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) presentes en los alimentos. Por lo tanto, el aporte de estos sustratos por medio de la alimentación es una alternativa para incrementar los precursores de ALC en leche y/o carne (Dhiman et al. 1999). En sistemas lecheros especializados se ha identificado que con el uso de forrajes como principal fuente de alimento se presenta una mayor concentración de AG poliinsaturados en la leche en comparación con sistemas de alimentación basados en concentrados (Ellis et al. 2006).

Diversos factores modifican la composición de AG en forrajes entre las cuales se encuentran la especie, la época del año, la edad de rebrote, la fertilización nitrogenada, la intensidad de la luz y la temperatura ambiental (Chilliard et al. 2001, Boufaied et al. 2003, Elgersma et al. 2004, Váradyová et al. 2008, Glasser et al. 2013). Sin embargo, la mayoría de estudios sobre el contenido de AG se han realizado con gramíneas de clima templado y en menor medida con leguminosas de zonas templadas y leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales. En uno de los estudios consultados, Clapham et al. (2005), reportaron concentraciones (porcentaje AG del total AG) de 14,4; 9,2 y 69,6% de los ácidos palmítico (C16:0), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3), respectivamente, en la leguminosa galega (*Galega officinalis*) y de 15,3; 18,3 y 58,3% en los mismos AG en el trébol blanco. En otro estudio, Glasser et al. (2013) encontraron que en trébol blanco (*Trifolium repens*) se presentó la mayor concentración (porcentaje AG del total AG) de ácido linolénico (C18:3) (58,0%), seguido por el trébol rojo (*Trifolium pratense*) con 49,0%

y la alfalfa (*Medicago Sativa*) con 42,0%. En Colombia el grupo de investigación en nutrición animal de la Universidad Nacional encontró que la concentración (porcentaje AG del total AG) del ácido linolénico (C18:3) fue mayor en *Trifolium repens* (56.0%) en comparación con *Medicago sativa* (30.0%) (datos no publicados).

El efecto de edad de rebrote sobre el contenido (g/kg MS) de AG en leguminosas templadas fue estudiado en *Trifolium alexandrinum* y *Medicago sativa* y los resultados mostraron una disminución en el contenido de ácido linolénico (C18:3) a medida que aumentaba la madurez del forraje (Khan et al. 2015).

En Colombia no se han realizado estudios controlados para evaluar la influencia de especie y factores de manejo en el contenido de AG en leguminosas tropicales utilizadas en sistemas bovino doble propósito en el trópico seco. Por lo tanto, se realizó un estudio para evaluar el efecto de la edad de rebrote en diferentes especies de leguminosas herbáceas y arbustivas tropicales en la microrregión Valle del Cesar.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Aval comité de bioética

La investigación fue aprobada por el comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional (Acta 08, 6 septiembre del 2012).

3.2.2 Localización

El experimento se desarrolló en el Centro de Investigación Motilonia de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA ubicada a 10° 0' 7" de latitud norte y 73° 14' 51" de longitud oeste en el Municipio de Codazzi en la microrregión Valle del Cesar del Departamento del Cesar. La zona presenta una temperatura promedio anual de 28,7 °C, humedad relativa de 70% y una precipitación anual promedio de 1600 mm con distribución bimodal de los meses de mayo a junio y de septiembre a diciembre.

3.2.3 Especies forrajeras y edades de rebrote

Se evaluaron especies de leguminosas herbáceas y especies arbustivas de leguminosas y no leguminosas manejadas con tres edades de corte (4, 8 y 12 semanas) durante la época de máxima precipitación. Las leguminosas herbáceas evaluadas fueron campanita (*Clitoria ternatea*), kudzú tropical (*Pueraria phaseoloides*), canavalia (*Canavalia brasiliensis*), centrosema (*Centrosema molle*), centrosema (*Centrosema macrocarpum*), alisicarpus (*Alysicarpus vaginalis*), lablab (*Lablab purpureus*). Como especies arbustivas se incluyeron la leguminosa veranera (*Cratylia argentea*), matarratón (*Gliricidia sepium*), desmodium (*Desmodium velutinum*), guandúl (*Cajanus cajan*), leucaena (*Leucaena leucocephala*) y la arbustiva no leguminosa moringa (*Moringa oleífera*). Las especies forrajeras se cortaron a una altura de 80 cm desde el nivel del suelo.

3.2.4 Áreas experimentales

Los suelos del área experimental tienen una estructura franco arenosa, con pH entre 6,4 a 6,6; materia orgánica de 0,5 a 1,5%, sin saturación de aluminio y de fácil drenaje. El área total del experimento fue de 3414 m² dividida en parcelas y sub-parcelas. La parcela principal fue la especie forrajera, la cual tuvo una dimensión de 14 m de largo x 4 m de ancho (56 m²). Dentro de la parcela principal, se establecieron sub-parcelas (edad de rebrote) de 4 m de largo x 4 m de ancho (16 m²) con una separación física por una calle de 1 m de ancho. Se tuvieron dos repeticiones de todas las especies forrajeras.

3.2.5 Establecimiento de las especies

Para la preparación de terreno se realizó un pase de cincel, dos pases de rastra y un pase de pulidor. El establecimiento de la mayoría de las leguminosas se realizó con semilla sexual básica y comercial. Para la siembra de *A. vaginalis* y *Gliricidia sepium* se utilizó material vegetativo. Con todas las especies, se realizó una fertilización de establecimiento con P 25 y K 20 kg/ha.

Las leguminosas herbáceas se sembraron en surcos distanciados de 0,5 m con 0,2 m entre plantas. Las especies arbustivas se establecieron inicialmente en vivero y a los 90 días se trasplantaron a parcelas con surcos distanciados a 1 m. Las plantas en cada

surco se sembraron a 1 m entre plantas. Luego del establecimiento (8 meses), se realizó un corte de uniformización en las parcelas para evaluar las diferentes edades de rebrote.

3.2.6 Variables medidas

Para medir la cantidad de forraje en hojas y tallos en las leguminosas herbáceas se cosechó el forraje contenido en un marco de 1 m² y en las especies arbustivas se cosechó el forraje en 3 m lineales en cada sub-parcela (edad de rebrote) a la altura de corte especificada. El forraje cosechado de hojas y tallos se secó en horno durante 48 horas a una temperatura de 55°C. Posteriormente, se tomó una muestra compuesta (tallos + hojas) representativa de la relación hoja – tallo en cada edad de rebrote para la determinación de proteína cruda (PC) por el método de Kjeldahl (AOAC 2010), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest et al. 1991), grasa total por extracción con éter (AOAC 2010) y degradabilidad *in situ* de la materia seca a las 48 horas (Orskov et al. 1980).

La concentración de ácidos grasos (AG) en los forrajes (hojas + tallos) se estimó a partir del extracto etéreo (EE) multiplicado por 0,5 (Palmquist y Jenkins 1980) y se expresó como g/ kg MS. Con base en la concentración de AG y el perfil lipídico (porcentaje de un AG en relación al total de AG) se expresó en g/kg MS el contenido de cada AG que se identificó en el cromatograma.

Para definir el perfil lipídico en las especies evaluadas se realizó la extracción y metilación de los ácidos grasos adaptando las técnicas descritas por Garces y Mancha (1993) y por Yamasaki et al. (1999). Al forraje (50 mg) se le adicionaron 2150 µl de metanol absoluto, 990 µl de tolueno, 66 µl de ácido sulfúrico al 99,9 %, 1000 µl de N, N dimetilformamida y 2 ml de n-hexano; la mezcla se colocó en un baño de María (2 h a 80°C), se dejó en reposo (5 - 10 min), se agitó y se recuperó el sobrenadante. El hexano del sobrenadante se evaporó mediante corriente de Nitrógeno. Al residuo se le adicionaron 300 µl de diclorometano y se llevó a un vial con inserto cónico. Los ésteres de ácidos grasos metilados (FAMES) de la grasa del forraje fueron cuantificados por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC2014 con auto inyector AOC20i y auto muestreador AOC20C. Los FAMES fueron separados en columna capilar (Rt 2560; 100 m x 0,25 mm di x 0,2 µm espesor de la

capa; Restek®). Las temperaturas del inyector y del FID fueron 260 °C y 270 °C respectivamente. El programa de temperatura fue: 140 °C por 5 min, se incrementó 4 °C / min hasta 190 °C y se mantuvo por 32,5 min. El Split ratio fue de 1: 100 y el He fue el gas de arrastre con una presión de 40,4 psi. Los tiempos de retención fueron comparados con estándares conocidos (Food Industry FAMEX Mix cat 35007).

3.2.7 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño replicado de parcelas divididas con bloques al azar, donde la parcela principal fue la especie forrajera y la sub-parcela la edad de rebrote (Steel y Torrie 1999). El modelo fue $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \varepsilon_{ij} + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \theta_{ik}$, donde Y_{ijk} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto de la especie ($i = 1$ a 13), ρ_j es el efecto del bloque ($j = 1, 2$), ε_{ij} es el error aleatorio asociado a la especie, β_k es el efecto de la edad de rebrote ($k = 1$ a 3), $(\alpha\beta)_{jk}$ es el efecto de la interacción especie x edad de rebrote ($ik = 1$ a 39) y θ_{ik} es el error aleatorio asociado a la edad de rebrote. El análisis estadístico se realizó con el PROC MIXED del software SAS (versión 9,3). La comparación de medias se realizó con el test de Tukey con un nivel de significancia al 5%. Para separar medias cuando se presentó una interacción significativa de la especie x la edad de rebrote se calculó la diferencia mínima significativa (DMS) con un nivel de significancia al 5%.

3.3 Resultados

3.3.1 Producción de forraje

La producción de hojas (Figura 3-1) y tallos (Figura 3-2) en todas las especies se incrementó con la madurez. Sin embargo, la producción de hojas presentó el mayor incremento (22 veces) debido a edad de rebrote en *M. oleifera*, seguida por *G. sepium* y *L. leucocephala* (11 veces). La veranera (*C. argentea*) presentó la mayor producción de hojas ($P < 0,05$) a las 12 semanas de rebrote (Figura 3-1).

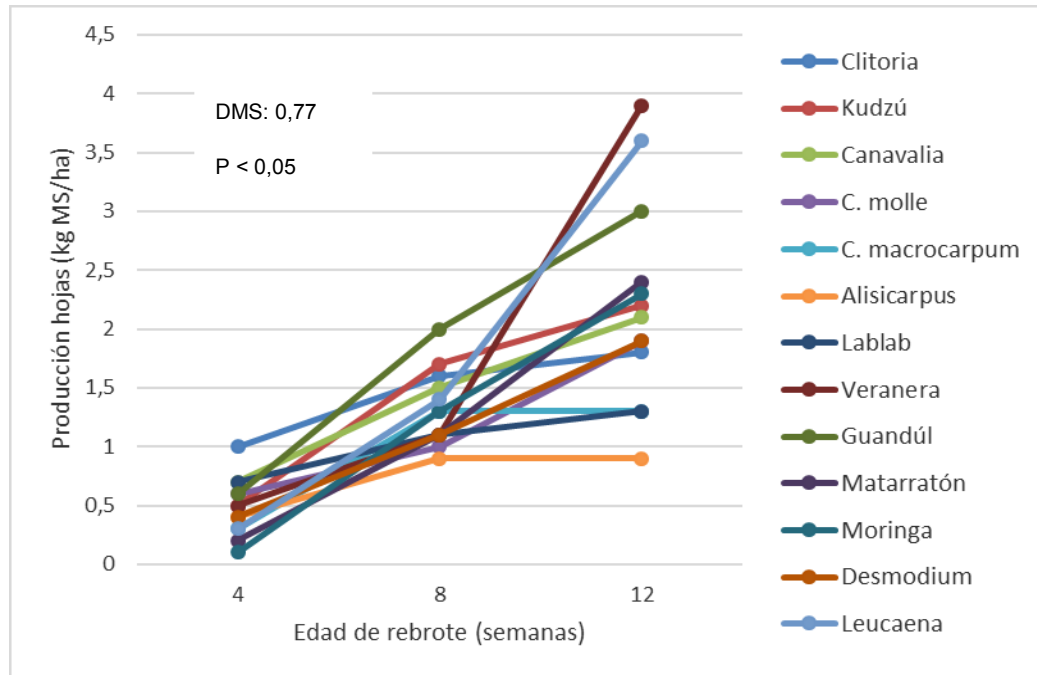


Figura 3-1: Producción de hojas de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

En todas las especies arbustivas, con excepción del *C. cajan*, la producción de tallos presentó incrementos (por encima de 10 veces) debido a madurez. Entre las arbustivas, *M. oleífera* presentó el mayor incremento (46 veces) en producción de tallos debido a madurez, mientras que *C. macrocarpum* presentó el mayor incremento (7 veces) entre las especies herbáceas (Figura 3-2).

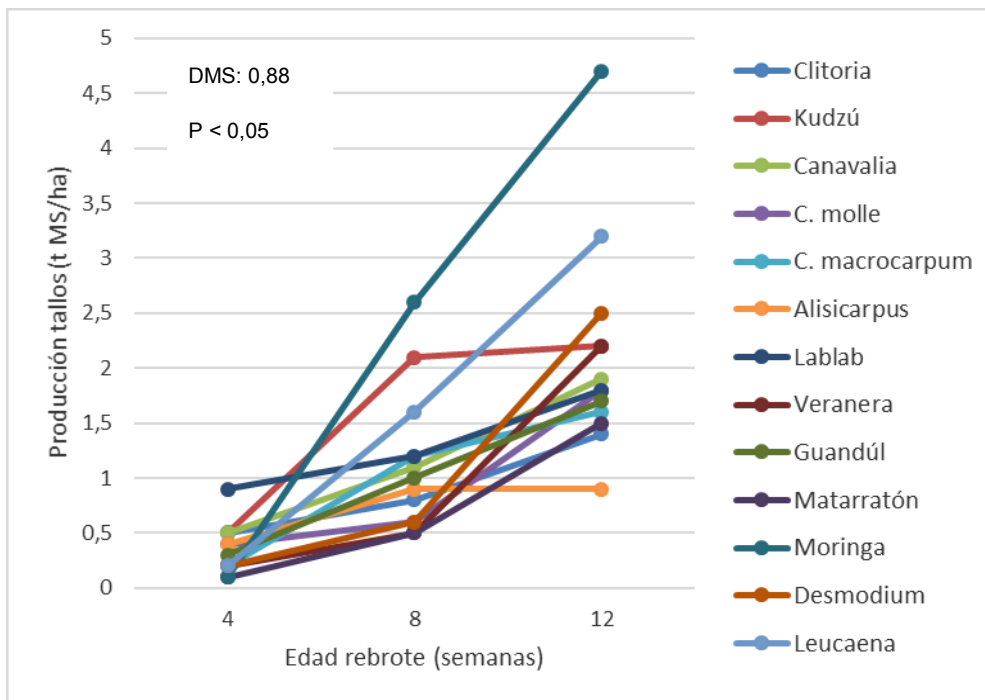


Figura 3-2: Producción de tallos de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

En todas las especies se presentó una disminución ($P < 0,05$) en la relación hoja: tallo (RHT) a medida que maduró el forraje (Figura 3-3). Sin embargo, se presentó una mayor reducción en la RHT en el desmodium (61,8%) y leucaena (61,5%) con la madurez del forraje. En contraste, en el lablab y alisicarpus se presentaron las menores reducciones (5,0 y 4,3%, respectivamente) en la RHT con la madurez del forraje (Figura 3-3).

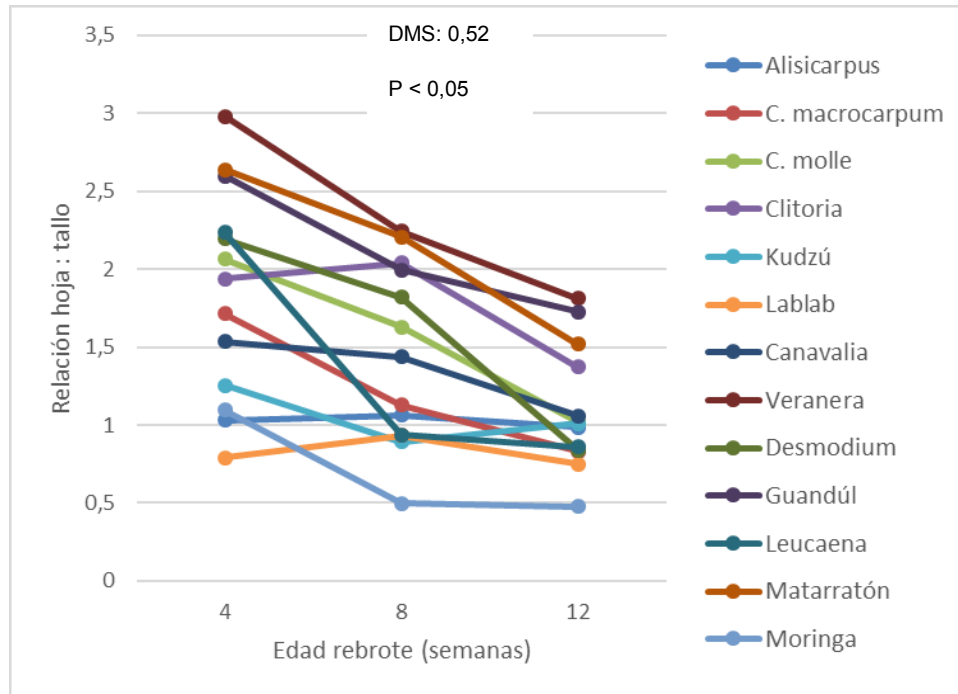


Figura 3-3: Relación hoja: tallo de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

3.3.2 Calidad nutricional

A medida que aumentó la edad rebrote se redujeron los contenidos de PC y EE (Tabla 3-1). Entre las leguminosas herbáceas, la especie *C. ternatea* presentó el mayor ($P < 0,05$) contenido de PC (21,6%) y un bajo contenido de FDN (49,1%), mientras que la arbustiva no leguminosa *M. oleifera* presentó el menor contenido de PC (11,5%) y la leguminosa arbustiva *C. cajan* presentó el mayor contenido de EE (Tabla 3-1).

Tabla 3-1: Calidad nutricional (hojas + tallos) de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

Especie	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
Herbáceas				
<i>C. ternatea</i>	21,6 ^a	49,1 ^{de}	38,3 ^{abc}	2,7 ^{bc}
<i>P. phaseoloides</i>	15,4 ^{bcd}	54,7 ^{abcd}	40,4 ^{abc}	2,5 ^{bcd}
<i>C. brasiliensis</i>	15,0 ^{bcd}	53,9 ^{bcde}	36,9 ^{bc}	1,7 ^f
<i>C. molle</i>	15,9 ^{bc}	60,0 ^{ab}	44,0 ^{abc}	2,2 ^{cdef}
<i>C. macrocarpum</i>	14,4 ^{bcd}	56,5 ^{abc}	45,0 ^{abc}	2,4 ^{bcde}
<i>A. vaginalis</i>	13,1 ^{cd}	61,1 ^a	46,2 ^{ab}	2,3 ^{bcdef}
<i>L. purpureus</i>	16,8 ^{bc}	50,7 ^{cde}	36,2 ^c	1,9 ^{def}
Arbustivas				
<i>C. argentea</i>	12,8 ^{cd}	58,1 ^{ab}	40,5 ^{abc}	1,8 ^{ef}
<i>C. cajan</i>	15,8 ^{bcd}	59,3 ^{ab}	47,6 ^a	4,4 ^a
<i>G. sepium</i>	17,5 ^{ab}	47,7 ^e	36,6 ^{bc}	2,4 ^{bcde}
<i>M. oleifera</i>	11,5 ^d	57,2 ^{abc}	44,6 ^{abc}	2,4 ^{bcde}
<i>D. velutinum</i>	15,8 ^{bc}	54,8 ^{abcd}	40,1 ^{bc}	3,0 ^b
<i>L. leucocephala</i>	18,0 ^{ab}	55,3 ^{abcd}	44,6 ^{abc}	1,8 ^{ef}
Edad (semanas)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
4	16,9 ^a	54,4	40,3	2,8 ^a
8	15,7 ^{ab}	55,6	42,1	2,5 ^{ab}
12	14,2 ^b	55,8	42,4	2,0 ^c
Fuente de variación	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	EE (%)
	Valor – P			
Especie	0,0001	0,0001	0,004	0,0001
Edad	0,05	0,41	0,28	0,03
Especie x edad	0,45	0,15	0,47	0,43

PC= Proteína cruda, FDN= Fibra detergente neutro, FDA= Fibra detergente ácido, EE= Extracto etéreo. Letras diferentes entre las filas indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

Se presentó efecto de la interacción entre la especie y la edad de rebrote (P<0,05) en la degradabilidad *in situ* de la materia seca (Tabla 3-2). La especie arbustiva *G. sepium* presentó la mayor (P<0,05) degradabilidad *in situ* de la materia seca (DISMS) a las 4 semanas de rebrote y la leguminosa herbácea *C. macrocarpum* presentó la menor (P<0,05) degradabilidad a las 12 semanas de rebrote (Tabla 3-2). Las especies *C. ternatea*, *P. phaseoloides*, *C. brasiliensis*, *C. macrocarpum*, *G. sepium*, *M. oleifera* y *L. leucocephala* mostraron la mayor (P<0,05) reducción en la DISMS (10 o más puntos porcentuales) debido a madurez. Las especies en las que la DISMS fue menos afectada

debido a madurez (menos de 5 puntos porcentuales) fueron *C. molle*, *A. vaginalis* y *D. velotinum* (Tabla 3-2).

Tabla 3-2: Degradabilidad *in situ* (hojas + tallos) de especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas

Especie	Edad rebrote (semanas)		
	4	8	12
(DISMS % de la MS)			
Leguminosas herbáceas			
<i>C. ternatea</i>	54,3 ^{cd}	50,3 ^{cdefghi}	44,3 ^{efghijklm}
<i>P. phaseoloides</i>	51,8 ^{cdefg}	42,0 ^{hijklmn}	41,3 ^{ijklmn}
<i>C. brasiliensis</i>	65,5 ^{ab}	58,9 ^{bc}	54,9 ^{cd}
<i>C. molle</i>	42,2 ^{hijklmn}	41,6 ^{ijklmn}	39,5 ^{ijklmn}
<i>C. macrocarpum</i>	45,8 ^{defghijklm}	43,0 ^{ghijklm}	35,8 ⁿ
<i>A. vaginalis</i>	44,3 ^{efghijklmn}	43,6 ^{ghijklmn}	42,6 ^{hijklmn}
<i>L. purpureus</i>	54,3 ^{cd}	53,4 ^{cde}	47,5 ^{defghijkl}
Arbustivas			
<i>C. argentea</i>	48,3 ^{defghij}	44,6 ^{efghijklmn}	41,7 ^{hijklmn}
<i>C. cajan</i>	45,8 ^{defghijklmn}	38,9 ^{klmn}	37,0 ^{mn}
<i>G. sepium</i>	70,0 ^a	62,9 ^{ab}	52,6 ^{cdef}
<i>M. oleifera</i>	64,7 ^{ab}	52,7 ^{cdef}	47,8 ^{defghijk}
<i>D. velotinum</i>	53,2 ^{cde}	50,8 ^{cdefgh}	50,1 ^{cdefghi}
<i>L. leucocephala</i>	64,1 ^{ab}	42,0 ^{hijklmn}	38,5 ^{lmn}
Fuente de variación		Valor – P	
Especie	0,0001		
Edad rebrote	0,0001		
Especie x edad	0,01		

Letras diferentes entre las filas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de DMS

3.3.3 Perfil de ácidos grasos

La concentración de AG (g/kg MS) y los contenidos (g/kg MS) del ácido palmítico (C16:0), variaron en función de la especie ($P < 0,05$) y la edad de rebrote ($P < 0,05$) y los contenidos del ácido esteárico (C18:0), oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) variaron solo en función de la especie ($P < 0,05$) (Tabla 3-3). La leguminosa arbustiva *C. cajan* presentó la mayor concentración de AG (g/kg MS), mientras que *D. velotinum* presentó la mayor concentración de ácido palmítico (C16:0). *C. molle* presentó la mayor concentración de ácido linoleico (C18:2) en comparación con las demás especies herbáceas y arbustivas.

La concentración de AG y los contenidos de ácido palmítico (C16:0) disminuyeron ($P < 0,05$) con la edad de rebrote en todas las especies evaluadas (Tabla 3-3).

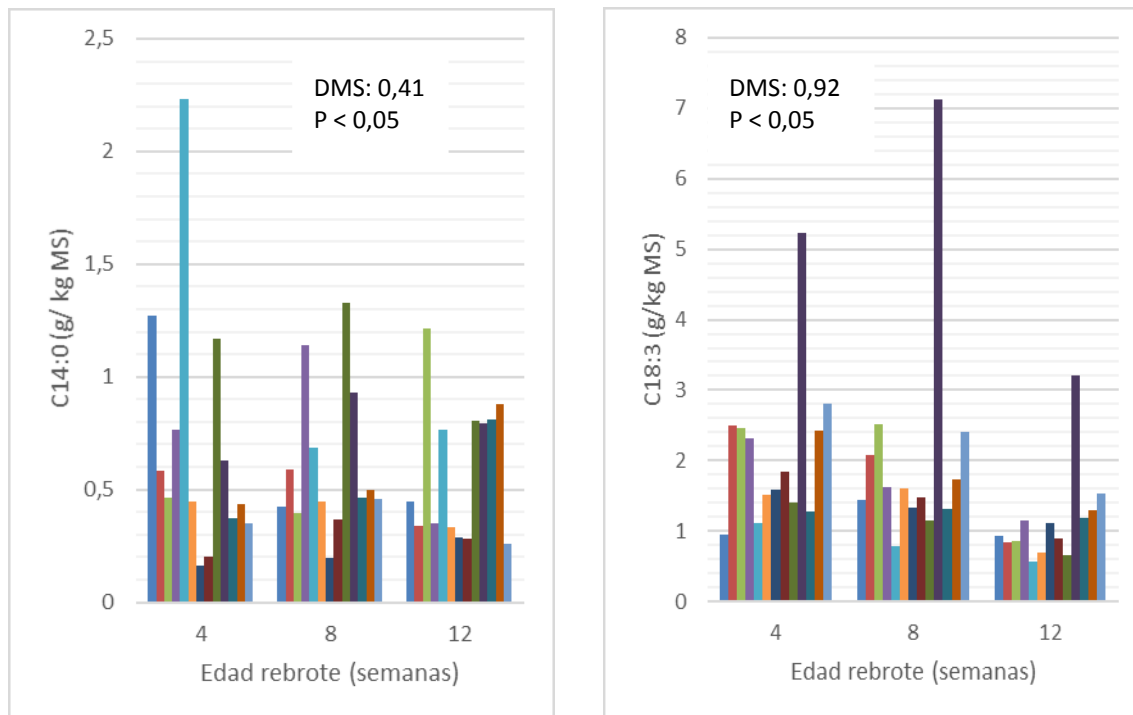
Tabla 3-3: Concentración (hojas + tallos) de ácidos grasos totales (AG) y perfil de ácidos grasos en especies de leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades de corte

Especie	AG (g/kg MS)	Perfil de AG (g/kg MS)				
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	
Herbáceas						
<i>C. ternatea</i>	13,6 ^{bc}	5,9 ^{abc}	0,5 ^c	0,3 ^b	1,4 ^{ab}	
<i>P. phaseoloides</i>	12,4 ^{bcd}	5,4 ^{abcd}	0,6 ^{ab}	0,6 ^{bc}	0,9 ^{ab}	
<i>C. brasiliensis</i>	8,4 ^f	2,8 ^f	0,4 ^b	0,2 ^b	1,4 ^{ab}	
<i>C. molle</i>	10,8 ^{cdef}	3,3 ^{ef}	0,4 ^b	0,4 ^{cde}	1,6 ^a	
<i>C. macrocarpum</i>	11,9 ^{bcde}	3,9 ^{def}	0,5 ^{ab}	1,2 ^a	1,1 ^{ab}	
<i>A. vaginalis</i>	11,5 ^{bcdef}	4,4 ^{cde}	0,5 ^{ab}	0,5 ^{bcde}	1,5 ^{ab}	
<i>L. purpureus</i>	9,7 ^{def}	4,2 ^{def}	0,4 ^b	0,2 ^b	0,8 ^{ab}	
Corte						
<i>C. argentea</i>	8,8 ^{ef}	3,0 ^{ef}	0,6 ^{ab}	0,2 ^b	1,0 ^{ab}	
<i>C. cajan</i>	22,2 ^a	6,1 ^{ab}	0,8 ^{ab}	0,5 ^b	1,5 ^{ab}	
<i>G. sepium</i>	12,1 ^{bcde}	4,9 ^{bcd}	0,5 ^{ab}	0,3 ^b	0,9 ^{ab}	
<i>M. oleifera</i>	11,9 ^{bcde}	3,2 ^{ef}	1,0 ^a	0,6 ^{bc}	1,6 ^{ab}	
<i>D. velutinum</i>	14,8 ^b	6,8 ^a	0,8 ^{ab}	0,6 ^{bcd}	0,7 ^b	
<i>L. leucocephala</i>	8,8 ^{ef}	3,2 ^{ef}	0,4 ^{ab}	0,2 ^b	1,1 ^{ab}	
Edad	AG (g kg MS)	Perfil de AG (g/kg MS)				
		C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	
4	13,9 ^a	5,2 ^a	0,6	0,5	1,5	
8	12,3 ^{ab}	4,4 ^{ab}	0,6	0,4	1,3	
12	9,9 ^b	3,9 ^b	0,5	0,3	0,8	
Fuente de variación	de	AG	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
Valor – P						
Especie		0,0001	0,0001	0,01	0,0008	0,01
Edad		0,0001	0,04	0,36	0,31	0,07
Especie x edad		0,43	0,12	0,38	0,50	0,22

C16:0= Ácido palmítico, C18:0= Ácido esteárico, C18:1= Ácido oleico, C18:2= Ácido linoleico. Letras diferentes entre las filas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

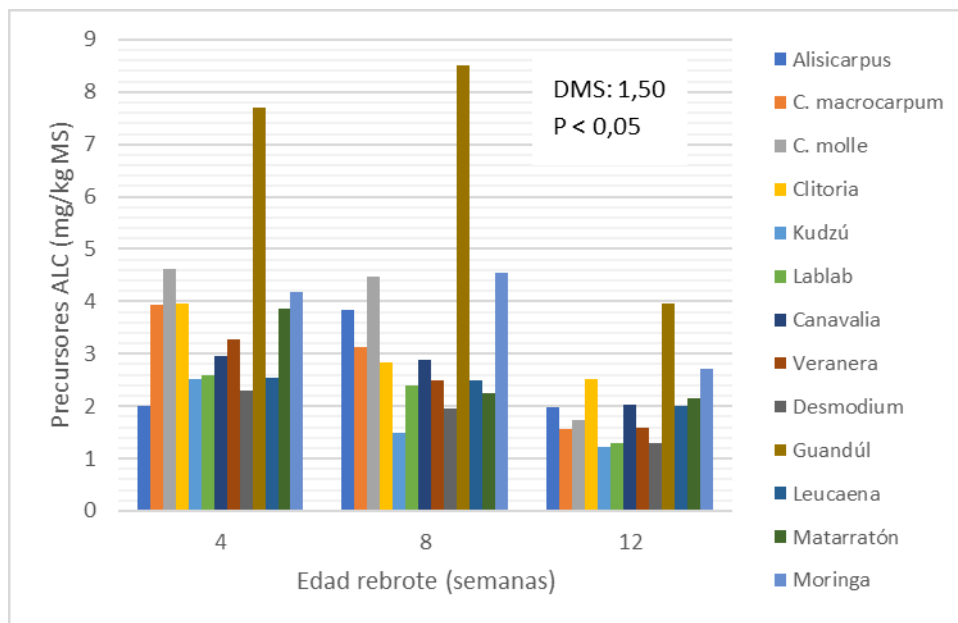
El efecto de edad de rebrote en la concentración del ácido mirístico (C14:0), linolénico (C18:3) y precursores de ALC varió entre especies (Figura 3-4 A, B y C). Con el aumento de la edad de rebrote de 4 a 12 semanas el contenido del ácido mirístico (C14:0) disminuyó ($P < 0,05$) solo en *C. ternatea*, *P. phaseoloides*, *A. vaginalis* y *D. Velotinum*. La

especie herbácea *P. phaseoloides* presentó el mayor ($P < 0,05$) contenido de C14:0 a las 4 y 8 semanas de rebrote (Figura 3-4 A).



A

B



C

Figura 3-4: Concentración (hojas + tallos) de (A) ácido mirístico (C14:0), (B) linolénico (C18:3) y (C) precursores de ALC (linoleico + linolénico) en especies en leguminosas herbáceas y de especies de leguminosas y no leguminosas arbustivas sometidas a tres edades corte.

Los contenidos de ácido linolénico (C18:3) (Figura 3-4B) y de precursores de ALC (linoleico + linolénico) (Figura 3-4C) disminuyeron ($P < 0,05$) con la edad de rebrote, pero la disminución no fue similar en todas las especies. En *C. cajan* se presentó el mayor ($P < 0,05$) contenido de C18:3 a las 8 semanas de rebrote, mientras que en *C. molle*, *C. macrocarpum*, *C. cajan* y *G. sepium* el contenido de C18:3 disminuyó ($P < 0,05$) a las 12 semanas de rebrote.

En el forraje de *C. cajan* se presentó el mayor ($P < 0,05$) contenido de C18:3 y de precursores de ALC en las tres edades rebrote evaluadas (Figuras 3-4 B y C). En el forraje de *C. ternatea*, *C. molle*, *C. macrocarpum*, *C. cajan*, *G. sepium* y *M. oleífera* el contenido de precursores de ALC disminuyó ($P < 0,05$) con la madurez (de 4 a 12 semanas).

En un análisis por grupos de especies evaluadas se observó que en las leguminosas herbáceas y especies arbustivas el ácido palmítico (C16:0) fue el AG predominante seguido por los ácidos linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) en todas las edades de rebrote evaluadas. Sin embargo, la relación C18.2/C18:3 fue mayor ($P < 0,05$) en las leguminosas herbáceas, pero el contenido de precursores de ALC fue mayor ($P < 0,05$) en las especies arbustivas en todas las edades de rebrote evaluadas (Figura 3-5).

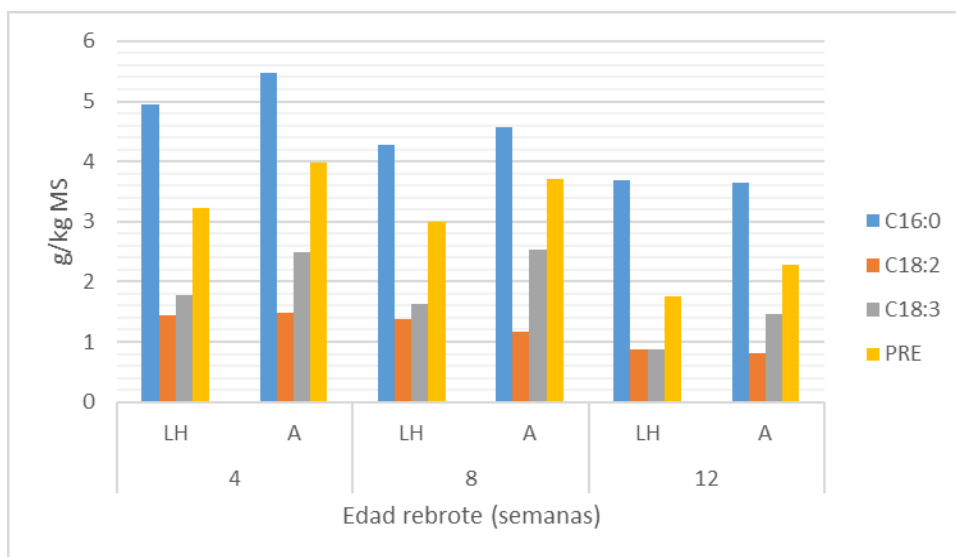


Figura 3-5: Concentración (hojas + tallos) de los principales ácidos grasos (Palmítico C16:0, linoleico C18:2, linolénico C18:3, Precursores ALC (PRE)) en leguminosas herbáceas (LH) y leguminosas y no leguminosas arbustivas (A) en diferentes edades de rebrote.

3.4 Discusión

En este estudio se evaluó el efecto de la edad de rebrote sobre la concentración de ácidos grasos (AG) en diferentes especies de leguminosas herbáceas y de leguminosas y no leguminosas arbustivas tropicales con potencial de uso en sistemas de producción doble propósito del trópico seco colombiano.

Los resultados mostraron que el ácido palmítico (C16:0) en leguminosas herbáceas y especies arbustivas fue el AG predominante seguido por el ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2) a las 4 y 8 semanas de rebrote. En otros estudios con leguminosas de zonas templadas (*Trifolium repens*, *Trifolium alexandrinum* y *Medicago sativa*) se encontró que los principales AG presentes fueron el linolénico (C18:3), linoleico (C18:2) y palmítico (C16:0) en todos los estados de madurez (3, 6 y 9 semanas) (Clapham et al. 2005; Khan et al. 2015). La transferencia del ácido palmítico (C16:0) a la leche tiene importancia debido a su efecto aterogénico (Ulbricht y Southgate 1991), lo cual no favorecería la producción de leches saludables.

La alta temperatura en la zona de estudio pudo tener efecto sobre la concentración del ácido palmítico (C16:0) de las especies forrajeras evaluadas. Es así como Allakhverdiev et al. (2009) encontraron que a temperaturas altas se disminuye la concentración de ácido linolénico (C18:3) y se incrementa las concentraciones del ácido palmítico (C16:0) y ácido linoleico (C18:2) en las plantas. Al parecer, la reducción de la fluidez de las membranas es un mecanismo de adaptación de las plantas para disminuir su evapotranspiración en ambientes con altas temperaturas que consiste en una mayor incorporación de ácidos grasos saturados, principalmente ácido palmítico (C16:0) (Toyes et al. 2013).

A medida que aumentó la edad de rebrote disminuyó la concentración de AG, tanto en las leguminosas herbáceas como en las especies arbustivas, lo cual se asoció ($r = 0,42$) con una menor relación hoja - tallo en las especies a medida que avanzó la edad de rebrote. Sin embargo, el efecto de madurez sobre la concentración de ácido mirístico (C14:0), linolénico (C18:3) y de precursores de ALC no fue igual en todas las especies. Los ácidos linolénico (C18:3) y precursores de ALC (linoleico + linolénico) presentaron la mayor concentración en *C. cajan* a las 4 y 8 semanas de rebrote en comparación con las

otras especies evaluadas. El ácido mirístico (C14:0) presentó la mayor variación entre especies. Este AG tiene especial importancia debido a la importante contribución al índice aterogénico (probabilidad de aterosclerosis) de la leche (Ulbricht y Southgate 1991).

En estudios con *Trifolium alexandrinum* y *Medicago sativa*, Khan et al. (2015) encontraron que la concentración (g/kg MS) de ácido linolénico (C18:3) disminuyó con la madurez del forraje mientras que el contenido de ácido linoleico (C18:2) solo disminuyó en *T. alexandrinum*. En otro trabajo con trébol blanco Clapham et al. (2005) encontraron que el contenido (mg/g MS) de ácido mirístico (C14:0) aumentó y los contenidos (mg/g MS) de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) se redujeron a medida que aumentó la madurez del forraje.

En estudios *in vitro*, Castillo et al. (2014) reportaron que la biohidrogenación del ácido linoleico (C18:2) producía mayor acumulación en líquido ruminal de ácido transvaccénico (ATV) (precursor de la síntesis endógena de ALC en la glándula mamaria) en comparación con la biohidrogenación del ácido linolénico (C18:3). Esto sugiere que la utilización de leguminosas herbáceas evaluadas en este estudio y que presentaron mayor relación C18:2/C18:3 podría resultar en una mayor concentración de ALC (porcentaje AG del total de AG) en la grasa de la leche en comparación de especies arbustivas.

En el forraje de *Cajanus cajan* se encontró los mayores contenidos de ácido linolénico (C18:3) y de precursores de ALC (linoleico + linolénico) a las 4 y 8 semanas de rebrote. Esto sugiere que su uso en la alimentación de rumiantes puede incrementar la concentración de ALC en la leche, así como se ha observado en lecherías especializadas con el uso de leguminosas como *Trifolium repens* y *Trifolium pratense*. En estos sistemas se ha demostrado que cuando en la dieta hay una alta proporción de leguminosas, se presentan incrementos en los niveles de ALC (c9 t11) en la leche de bovinos (Collomb et al. 2002). El consumo de especies como *Leontodon hispidus*, *Lotus corniculatus* y *Trifolium pratense* se han correlacionado positivamente con las concentraciones de ALC (c9 t11) y ácidos poliinsaturados en la grasa de la leche bovina (Collomb et al. 2002).

3.5 Conclusiones

Los principales AG presentes en las leguminosas herbáceas y especies arbustivas (leguminosas y no leguminosas) fueron el ácido palmítico (C16:0) seguido por el ácido linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2). El contenido y composición de AG varió entre especies y su concentración tendió a disminuir debido a la madurez. La leguminosa herbácea *P. phaseoloides* presentó el mayor contenido de ácido mirístico C14:0 a las 4 semanas de rebrote, pero con contenidos intermedios de precursores de ALC mientras que la semi arbustiva *C. cajan* presentó el mayor contenido de precursores de ALC a las 4 y 8 semanas de rebrote. Se postula que la inclusión de *C. cajan* hasta edades de rebrote de 8 semanas en sistemas de alimentación en ganaderías doble propósito podría contribuir a la producción de leche bovina con niveles altos de ALC (c9 t11).

3.6 Bibliografía

1. Allakhverdiev SI. 2009. Regulatory roles in photosynthesis of unsaturated fatty acids in membrane lipids, In: Wada H, Murata N (Ed.). Lipids in photosynthesis: essential and regulatory functions, Springer, Dordrecht, theNetherlands. pp. 265–282.
2. AOAC. 2010. Association Official of Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC international. 18th ed. AOAC International, Maryland.
3. Belury MA. 2002. Dietary conjugated acid linoleic in health: Physiologycal effects and mechanism of action. *Ann Rev. Nutr.* 22:505-531.
4. Boufaied H, Chouinard PY, Tremblay GF, Petit HV, Michaud R, Belanger G. 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science.* 83. 501–511.
5. Castillo JA, Olivera M, Pabón ML, Ribeiro CV, Daza EE, Carulla JE. 2004. Kymetics and thermodynamics on the in vitro biohydrogenation on linoleic acid, alpha linoleic acid and their combinations. Conference paper. 51ª Reunión anual de sociedad brasilera de Zootecnia.
6. Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleico acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science.* 70. 31-48.
7. Clapham W, Foster G, Neel P, Fedders M. 2005. Fatty Acid Composition of Traditional and Novel Forages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53: 10068 – 10073.

8. Collomb M, Bütikofer U, Sieber R, Jeangros B, Bosset JO. 2002. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal* 12. 661–666.
9. Dhiman TR, Anand GR, Satter LD, Pariza MW. 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of milk from cows fed Different Diets, *J Dairy Science*. 82: 2146-2156.
10. Elgersma A, Ellen G, Van Der Horst H, Muuse BG, Boer H, Tamminga S. 2004. Influence of cultivar and cutting date on fatty acids composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science*. 59. 104 – 105.
11. Ellis KA, Innocent G, Grove-White D, Cripps P, McLeann WG, Howard CV, Mihm M. 2006. Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Science*. 89: 1938-1950.
12. Garcés R, Mancha M. 1993. One step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. *Anal. Biochem*. 211:139–143.
13. Glasser F, Doreau M, Maxin G, Baumont R. 2013. Fat and fatty acid content and composition forages. *Animal Feed Science and Technology*. 185. 19 – 34.
14. Ip C, Banni S, Angioni E, Carta G, McGinley J, Thompson HJ, Barbano D, Bauman D. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr*. 129:2135–2142.
15. Khan NA, Farooq NW, ALI M, Suleman M, Ahmad N, Sulaiman SM, Cone NW, Hendriks WH. 2015. Effect of species and harvest maturity on the fatty acids profile of tropical forages. *The Journal of Animal of Plant Sciences*. 25 (3). 739 – 746. ISSN: 1018-7081.
16. Loor JJ, Soriano FD, Lin X, Herbein JH, Polan CE. 2003. Grazing allowance after the morning or afternoon milking for lactating cows fed a total mixed ration (TMR) enhances trans11-18:1 and cis9, trans11-18:2 (rumenic acid) in milk fat to different extents. *Animal Feed Science and Technology*. 2003. 109:105–119.
17. Orskov ER, Deb Howell FD, Mould F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. 5:3.
18. Palmquist DL, Jenkins TC. 1980. Fat in lactation rations: Review. *J. Dairy Sci*. 63: 1 - 14.
19. Pariza MW, Hargreaves WA. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7, 12 dimethylbenz(a) antrazene. *Carcinogenesis*. Vol. 6. 4:591-593.
20. SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Versión 9,3 Cary, NC, USA.

21. Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* (2013), 7: s1, pp 132–162.
22. Steel R, Torrie JH. 1999. Correlación lineal. En: Steel y Torrie. *Bioestadística, principios y procedimientos*. España: Edit. Mc Graw Hill 2ªed. 263-75.
23. Toyas EA, Murillo BA, Espinoza JL, Carreun LP, Palacios AE. 2013. Composición química y precursores de ácido vaccénico y ruménico en especies forrajeras en baja California Sur, México. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 4 (3): 373 – 386.
24. Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*. 338(8773):985-992.
25. Van Soest PJ, Robertson J, Lewis M. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
26. Váradyová Z, Kisidayova S, Siroka P, Jalc D. 2008. Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Animal Feed Science and Technology*. 144 (1 – 2). 44 – 54.
27. Ward AT, Wittenberg KM, Froebe HM, Przybylski R, Malconlmsom L. 2003. Fresh forage and Solin Supplementation on Conjugated Linoleic Acid Levels in Plasma and Milk. *J. Dairy Sci.* 2003. 86: 1742-1750.
28. White SL, Bertrand JA, Wade MR, Wade MR, Washburn SP, Greet JT, Jenkins T.C. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein Cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal Dairy Science*. 84:2295-2301.
29. Yamasaki M, Kishihara K, Ikeda I, Sugano M, Yamada K. 1999. A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *J. American Oil Chemists' Society*. 76(8):933-938.

4. Efecto de gramíneas tropicales y tercio de lactancia sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas en pastoreo en el trópico seco

Resumen

Se realizó un experimento de pastoreo para evaluar el efecto de tres cultivares comerciales de gramíneas (Mulato II, Tanzania y Toledo) sobre la producción, composición de la leche y perfil de ácidos grasos en la grasa láctea de vacas en diferentes tercios de lactancia. Se seleccionaron 18 vacas Gyr x Pardo Suizo en tres estados de lactancia (primero, segundo y tercero), las cuales conformaron dos grupos de 9 vacas (3 vacas por tercio de lactancia). Se asignó una vaca de cada tercio de lactancia a cada cultivar distribuidas en un diseño Cuadrado Latino 3 x 3 reversible replicado. No hubo interacción ($P > 0,05$) de cultivar de gramínea x tercio de lactancia en las variables evaluadas. La producción de leche fue similar ($P > 0,05$) en los cultivares de gramíneas evaluados y disminuyó ($P < 0,05$) a medida que avanzó el tercio de lactancia. La concentración de grasa y proteína en la leche fue mayor ($P < 0,05$) en los cultivares Tanzania y Mulato II en comparación con Toledo, pero el tercio de lactancia no afectó ($P > 0,05$) los componentes de calidad de la leche. Los resultados mostraron una mayor ($P < 0,05$) concentración de ácido linoleico conjugado (c9 t11) (ALC) y de ácidos poliinsaturados en la grasa de la leche en vacas pastoreando los cultivares Tanzania y Toledo en comparación con el pasto Mulato II. El tercio de lactancia no afectó ($P > 0,05$) la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche, pero la concentración de ácidos poliinsaturados fue mayor ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en segundo tercio de lactancia. Los resultados muestran que vacas doble propósito que pastorean pastos Tanzania y Toledo producen leche con mayores concentraciones de ALC y de AG poliinsaturados en la grasa de la leche en comparación con la leche producida con pasto Mulato II, lo cual podría tener implicaciones en salud humana.

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, bovinos, doble propósito, forraje, grasa láctea

Effect of grass cultivar and stage of lactation on fatty acid profile in milk of grazing cows in the dry tropics

Abstract

The effect of three commercial grass cultivars (Mulato II, Tanzania and Toledo) on milk production, milk composition and fatty acid profile in milk fat were evaluated under grazing using cows in different stages of lactation. Eighteen Gyr x Brown Swiss cows in different stages of lactation (early, mid and late) were selected to form two groups (replications) of 9 cows (3 cows by stage lactation). One cow per stage of lactation was assigned to each grass cultivar distributed in a 3 x 3 Latin Square reversible replicated design. There was no interaction ($P>0,05$) of grass cultivar x stage of lactation in the variables evaluated. Milk production was similar ($P>0,05$) in the three grass cultivars evaluated and decreased ($P<0,05$) as stage of lactation advanced. Milk fat and protein concentrations were higher ($P<0,05$) in Tanzania and Mulato II than in Toledo, but stage lactation did not influence ($P>0,05$) milk compositional quality. Milk fat from cows grazing Tanzania and Toledo had a higher ($P<0,05$) concentration of conjugated linoleic acid (c9 t11) and polyunsaturated fatty acids compared with Mulato II grass. Stage of lactation did not influence ($P>0,05$) the concentration of conjugated linoleic (c9 t11) acid (CLA) in milk fat, but polyunsaturated fatty acid concentration was higher ($P<0,05$) in milk fat of cows in mid lactation. It is concluded that cows in dual purpose systems grazing Tanzania and Toledo grasses produce milk with higher milk concentrations of CLA (c9 t11) and polyunsaturated fatty acid in fat milk compared to milk produced with Mulato II grass, which could have benefits in human health.

Key words: conjugated acid linoleic, bovine, dual purpose, fat milk, forages

4.1 Introducción

La composición de la grasa en la leche bovina tiene relevancia en la salud humana. A pesar que existe controversia sobre el efecto de ácidos grasos (AG) saturados como factores de riesgo en la presentación de enfermedades cardiovasculares (Siri et al. 2010, Soedamah et al. 2011, Huth y Park 2012, Kratz et al. 2013), se acepta que algunos AG poliinsaturados en la leche como el ácido linoleico conjugado (ALC c9 t11) tienen efectos positivos sobre la salud humana (Jutzeler y Colombani 2010, Dilzer y Park 2012).

Los isómeros del ácido linoleico conjugado (ALC) se producen en el proceso de biohidrogenación ruminal de los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) aportados por los alimentos (Bessa et al. 2000). En la leche bovina se han identificado más de 24 isómeros de ALC; dentro de esos, el c9 t11 y el t7 c9 C18:2 constituyen la mayor proporción (Corl et al. 2001).

La investigación sobre el efecto de la alimentación en la calidad composicional de la leche bovina se ha enfocado a evaluar el efecto de especie forrajeras de zonas templadas y alternativas de su manejo sobre la concentración de grasa y proteína en lecherías especializadas (Auldist et al. 2000, Bargo et al. 2002, Escobar y Carulla 2003, Mojica et al. 2009, Mendoza et al. 2011).

En el sistema bovino de doble propósito en Colombia se han realizado estudios para evaluar el efecto de especies forrajeras principalmente sobre la producción y/o calidad composicional de la leche bovina (Mosquera y Lascano 1992, Argel et al. 2007, Roncallo et al. 2009). En otros estudios se ha evaluado el efecto de suplementos sobre el perfil lipídico en la leche bovina. Por ejemplo, en sistemas silvopastoriles, Mahecha et al. (2008) evaluaron el uso de grasas sobrepasantes, mientras que Prieto (2015) evaluó la utilización de aceite de girasol en la alimentación de vacas. Los resultados en estos estudios demostraron efectos positivos (incremento en la concentración de AG insaturados y menor relación ácidos saturados/insaturados) en el perfil lipídico de la leche. Sin embargo, en la revisión realizada no se encontraron estudios sobre efecto de diferentes cultivares de gramíneas bajo pastoreo y sin suplementación sobre el perfil lipídico en la grasa de la leche bovina en el sistema doble propósito.

En lecherías doble propósito de la microrregión Valle del Cesar, correspondiente al trópico seco de Colombia, el pasto *Megathyrsus maximus* cv. Tanzania es la gramínea introducida que más se utiliza y que se caracteriza por alta producción de forraje y buen valor nutricional (Mojica et al. 2013). Por otra parte, especies del género *Brachiaria* (i.e. *B. brizantha* cv. Toledo, *Brachiara híbrido* cv. Mulato II) han demostrado estar bien adaptadas a las condiciones edafoclimáticas en el trópico seco (Corpoica 2013).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar bajo pastoreo el efecto de los cultivares Mulato II, Tanzania y Toledo y del tercio de lactancia sobre la producción, calidad composicional (sólidos totales, proteína y grasa) y perfil lipídico en la grasa de la leche en vacas del sistema doble propósito del trópico seco.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Aval comité de bioética

La investigación contó con la aprobación del comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional (Acta 08, 6 septiembre del 2012) en lo relacionado con el cumplimiento de las normas nacionales e internacionales de protección de los derechos de los animales y el uso y cuidado de animales para la experimentación.

4.2.2 Localización

El experimento se desarrolló en la Finca San Carlos, ubicada a 9° 50' 19" de latitud norte y 73° 22' 54" de longitud Oeste en el Municipio de San Diego en la microrregión Valle del Cesar del Departamento del Cesar, Colombia. En la zona se presenta una temperatura promedio anual de 28,7 °C, humedad relativa de 70% y una precipitación anual promedio de 1600 mm con distribución bimodal de los meses de mayo a junio y de septiembre a diciembre. Presenta suelos superficiales a profundos, bien drenados de fertilidad moderada a alta característicos de la zona agroecológica cj (Corpoica 2002). El estudio que se reporta se realizó en época de lluvias durante los meses de mayo (284 mm total de precipitación) y junio (133 mm total de precipitación) del año 2013.

4.2.3 Tratamientos

Se evaluaron bajo pastoreo tres cultivares comerciales de gramíneas tropicales: pasto Tanzania (*Megathyrsus maximus* cv. Tanzania), pasto Mulato II (*Brachiaria híbrido* cv. Mulato II) y pasto Toledo (*Brachiaria brizantha* cv. Toledo). Se utilizaron 6 ha., de las cuales se asignó una hectárea para cada cultivar con dos repeticiones por tratamiento. El área en cada repetición, se dividió en dos parcelas de 0,5 ha siendo la primera parcela para acostumbramiento (7 días) y la segunda para realizar mediciones en los animales (7 días).

El periodo acostumbramiento de 7 días se definió con base en el estudio de Jeffery (1970), quién sugirió un periodo de acostumbramiento de 4 días mínimo y del estudio de Stoobs y Sandland (1972) quienes sugirieron un periodo de acostumbramiento entre 4 a 9 días para evaluar el efecto de forrajes sobre la producción de leche en vacas en pastoreo. Por otra parte, Elgersma et al. (2004) demostraron que después de 4 días de transición de una dieta de pasto fresco a una de ensilaje maíz/pasto se observaban cambios en la mayoría de AG en la grasa de la leche bovina. En otro estudio, Rego et al. (2016) encontraron que, al cambiar de una ración totalmente mezclada (TMR, por sus siglas en inglés) a una dieta de forrajes en solo pastoreo, la composición de AG en la grasa de la leche se estabilizaba a los 6 días de la transición. En contraste, cuando el cambio era de una dieta de solo pastoreo a TMR la mayoría de AG en la grasa de la leche se estabilizaron entre 14 y 21 días del cambio de las dietas. Estos resultados indican que un periodo de acostumbramiento de 7 días es apropiado para evaluar el efecto de dietas de vacas en pastoreo sobre la composición de AG en la grasa de la leche.

4.2.4 Establecimiento de las especies y manejo del pastoreo

Los suelos donde se realizó el experimento presentan una estructura franco arenosa, con pH entre 6,2 a 6,4; materia orgánica de 0,7 a 1,3%; sin aluminio ni salinidad y con buen drenaje. Para la preparación de terreno se realizó un pase de cincel, dos pases de rastra y un pase de pulidor. La siembra de las gramíneas se realizó al voleo en forma manual con una densidad de siembra de 8, 8 y 5 kg/ha para los cultivares Tanzania, Mulato II (semilla peletizada) y Toledo, respectivamente. La semilla de pasto Mulato II

comercialmente se presenta en forma peletizada y cada kilogramo de producto representa alrededor de 60% de semilla pura.

El control de malezas de hoja ancha durante la fase de establecimiento se realizó en forma manual y con dos aplicaciones de 2,4 D amina[®] (3 l/ha). Al mes de emergencia de las plántulas, se aplicaron 40 kg/ha de fosfato diamónico (DAP[®]), 25 kg/ha de nitrógeno (urea) y 13 kg/ha de cloruro de potasio. Un año después del establecimiento, al momento de iniciar el experimento, se realizó un solo corte de uniformización con guadaña de tractor y se aplicaron 25 kg/ha de nitrógeno (urea) y 13 kg/ha de cloruro de potasio. Los potreros con una carga de 3 vacas/ha tuvieron un periodo de descanso de 28 días y de 7 días de ocupación durante la duración del experimento.

4.2.5 Animales experimentales

Se utilizaron 18 vacas Gyr x Pardo Suizo de segundo parto conformadas por dos grupos experimentales de 9 animales. Cada grupo estaba constituido por 3 vacas en primer (35 ± 2 días de lactancia), 3 vacas en segundo (138 ± 3 días de lactancia) y 3 vacas en el último tercio de lactancia (193 ± 3 días de lactancia). Se asignó al azar una vaca de cada tercio de lactancia en cada uno de los cultivares de gramínea.

El ordeño de las vacas se realizó con el apoyo de ternero. Se ordeñaron tres cuartos de la ubre y se dejó disponible un cuarto mamario para el consumo de leche por la cría durante 30 minutos. Para cuantificar la producción total de leche por vaca (vendible + consumida por la cría), se estimó la leche consumida por los terneros mediante la diferencia de peso antes del ordeño y 30 minutos después de haber mamado. Posteriormente los terneros se trasladaron a un potrero de pasto Colosuana (*Bothriochloa pertusa*).

4.2.6 Variables medidas en las pasturas

En las pasturas con los tres cultivares de gramíneas, se evaluó el forraje en oferta y la composición botánica en cada periodo experimental antes de entrar las vacas a la parcela (Toledo y Schultze-Kraft 1982). Se tomaron muestras de forraje simulando el pastoreo (*pluck*) de los animales y se secaron en horno durante 48 horas a una

temperatura de 55°C para posterior análisis químico. Se realizó el análisis de proteína cruda (PC) (AOAC 2010), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest et al. 1991), grasa total por extracción con éter (EE) (AOAC 2010), degradabilidad *in situ* de la materia seca (DISMS) (Orskov et al. 1980) y perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.

La concentración de ácidos grasos en el forraje cosechado (hojas) se estimó a partir del extracto etéreo y utilizando la ecuación de Allen (2000). La concentración de AG y el perfil lipídico (porcentaje AG del total de AG) se expresó en g/kg MS.

La extracción y metilación de los ácidos grasos en los forrajes se realizó adaptando las técnicas descritas por Garces y Mancha (1993) y por Yamasaki et al. (1999). Al forraje (50 mg) se le adicionaron 2150 µl de metanol absoluto, 990 µl de tolueno, 66 µl de ácido sulfúrico al 99,9 %, 1000 µl de N, N dimetilformamida y 2 ml de nhexano; la mezcla se colocó en un baño de María (2 h a 80°C), se dejó en reposo (5 - 10 min), se agitó y se recuperó el sobrenadante. El hexano del sobrenadante se evaporó mediante corriente de Nitrógeno. Al residuo se le adicionaron 300 µl de diclorometano y se llevó a un vial con inserto cónico. Los ésteres de ácidos grasos metilados (FAMES) de la grasa de la leche y del forraje fueron cuantificados por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC2014 con auto inyector AOC20i y auto muestreador AOC20C. Los FAMES fueron separados en columna capilar (Rt 2560; 100 m x 0,25 mm di x 0.2 µm espesor de la capa; Restek®). Las temperaturas del inyector y del FID fueron 260 °C y 270 °C respectivamente. El programa de temperatura fue: 140 °C por 5 min, se incrementó 4 °C / min hasta 190 °C y se mantuvo por 32.5 min. El Split ratio fue de 1: 100 y el He fue el gas de arrastre con una presión de 40,4 psi. Los tiempos de retención fueron comparados con estándares conocidos (Food Industry FAMEX Mix cat 35007

4.2.7 Variables medidas en los animales

En el periodo de medición se registró diariamente la producción individual de leche vendible (tres cuartos mamarios) y se corrigió por grasa al 4% ($\text{kg leche} \times 0,4 + \text{kg grasa} \times 15$). Se tomó una muestra de leche del ordeño total realizado a cada vaca en forma manual para medir el contenido de proteína, grasa, lactosa, minerales, sólidos totales con la utilización de un equipo autoanalizador de leche (Lactoscan, Model MA250,

AGRILAC®) previamente calibrado. Además, se realizó extracción del suero de la leche con renina comercial para posterior análisis de nitrógeno ureico en leche (NUL) (Fawcett y Scott 1960).

Para el análisis de ácidos grasos, la extracción de la grasa en la leche se realizó a través de modificaciones a las técnicas de separación mecánica descritas por Hurley et al. (1987) y Díaz et al. (2002). Se centrifugaron 100 ml de leche (15 min a 3000 rpm) y se retiró la fracción acuosa; el sobrenadante cremoso se mezcló con 15 ml de solución detergente (50 g de hexametáfosfato de sodio y 24 ml de Tritón X100 disueltos en 1 l de agua), se agitó, se colocó en baño de María (10 min a 90 °C), nuevamente se agitó y se puso en baño de María (10 min a 90 °C). La grasa de la capa superficial se retiró con una micropipeta y se almacenó a – 20 °C. Se recolectaron 100 µl de grasa y se solubilizaron en 900 µl de diclorometano. Una alícuota de 20 µl de esa mezcla, 20 µl del reactivo de metil esterificación MethPrep II® (0,2 M m-trifluorometilfenil-trimetilamonio hidróxido en metanol (Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, USA) y 160 µl de diclorometano se adicionaron en un vial con inserto cónico.

Cálculos

Los ácidos grasos de síntesis de *novo* se cuantificaron mediante la suma de ácidos grasos menores a 16 carbonos (Rico et al. 2013). Los ácidos grasos preformados se cuantificaron mediante la sumatoria de los ácidos grasos de más de 16 carbonos (Rico et al. 2013).

El índice de actividad delta 9 desaturasa, que indica la producción de ácidos insaturados (C14:1, C16:1, C18:1 y ALC c9 t11) a partir de sustratos (C14:0, C16:0, C18:0 y C18:1 t11), se calculó con la ecuación de Gagliostro et al. (2006).

El índice de aterogenicidad, que indica la probabilidad de presentación de aterosclerosis, se calculó con base en la concentración de ácidos grasos de 12, 14 y 16 carbonos y la concentración de ácidos grasos insaturados (Ulbricht y Southgate 1991).

El índice de trombogenicidad, que indica la probabilidad de presentación de trombosis coronaria en humanos, se calculó con base en la concentración de ácidos grasos de 14,

16 y 18 carbonos, la concentración de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (omega 3 y 6) (Ulbricht y Southgate 1991).

4.2.8 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño de Cuadrado Latino 3 x 3 reversible replicado al que se asignaron vacas en tres estados de lactancia (Amezquita 1999). Para las variables medidas en las pasturas el análisis de varianza empleando el modelo $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \beta_k + (\rho\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$, donde Y_{ijk} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto del cuadrado latino ($i = 1, 2$), ρ_j es el efecto del periodo experimental ($j = 1$ a 3), β_k es el efecto de la especie (tratamiento) ($k = 1$ a 3), $(\rho\beta)_{jk}$ es el efecto de la interacción periodo x especie ($jk = 1$ a 9) y ε_{ijk} es el error residual.

En las variables medidas en animales se realizó un análisis de varianza empleando el modelo $Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \beta_k + \theta_l + (\beta\theta)_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$, donde Y_{ijkl} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto del cuadrado latino ($i = 1, 2$), ρ_j es el efecto del periodo experimental ($j = 1$ a 3), β_k es el efecto de la especie ($k = 1$ a 3), θ_l es el efecto del tercio de lactancia ($l = 1$ a 3), $(\beta\theta)_{kl}$ es el efecto de la interacción especie x tercio de lactancia ($kl = 1$ a 9) y ε_{ijkl} es el error residual. Para el análisis se utilizó el PROC MIXED del software SAS versión 9,3 y la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

4.3 Resultados

4.3.1 Disponibilidad y composición botánica del forraje en oferta

No se presentó interacción entre el tratamiento x periodo ($P > 0,05$). De acuerdo a lo planificado, la oferta de materia seca verde (hojas y tallos) y hojas expresadas en kilogramos por animal o por 100 kg de peso vivo por día fueron similares ($P > 0,05$) para los tres cultivares de gramíneas (23,2 a 26,7 kg MSV/vaca/d) (Tabla 4-1). La composición botánica de las pasturas fue dominada por las gramíneas sembradas ya que la contribución de otras especies fue baja y similar en los tres tratamientos (Tabla 4-1).

Tabla 4-1: Oferta de materia seca (MS), materia seca verde (MSV) y composición botánica en pasturas con cultivares de gramíneas tropicales

Variable	Cultivares de gramíneas			ESM	P
	Mulato II	Tanzania	Toledo		
kg MS hojas/v/d	17,9	16,8	17,7	3,1	0,79
kg MS hojas/100 kg PV/d	4,3	4,4	4,4	0,8	0,93
kg MSV/v/d	26,7	23,6	23,2	4,3	0,46
kg MSV/100 kg PV/d	6,4	6,2	5,8	1,1	0,69
Relación hoja : tallo	2,5	1,9	2,6	0,8	0,25
Composición botánica					
Gramínea (%)	87,2	86,0	86,9	2,7	0,71
Colosuana (%)	8,5	7,4	8,0	2,3	0,77
Leguminosas (%)	1,5	1,9	1,8	1,5	0,86
Malezas (%)	2,8	4,7	3,3	1,0	0,08

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

4.3.2 Calidad de las gramíneas

No hubo interacción entre el tratamiento y el periodo experimental ($P > 0,05$) en las variables evaluadas. El contenido de proteína cruda (PC) y EE de las hojas fue similar ($P > 0,05$) entre cultivares de gramíneas. Sin embargo, el pasto Tanzania presentó los mayores ($P < 0,05$) contenidos de fibras (FDN y FDA) y la menor ($P < 0,05$) degradabilidad de la materia seca (DISMS) (Tabla 4-2).

Tabla 4-2: Calidad nutricional de tres cultivares de gramíneas tropicales evaluados bajo pastoreo

Variable	Cultivares de gramíneas			ESM	P
	Mulato II	Tanzania	Toledo		
PC (%)	7,3	8,9	6,7	1,3	0,09
FDN (%)	66,1 ^b	69,6 ^a	66,8 ^b	0,9	0,005
FDA (%)	35,7 ^b	40,2 ^a	36,7 ^b	0,9	0,01
EE (%)	1,7	2,3	1,8	0,5	0,11
DISMS (%)	62,1 ^a	56,8 ^b	59,8 ^{ab}	1,8	0,02

PC = Proteína cruda. FDN = Fibra detergente neutro. FDA = Fibra detergente ácido. DISMS = Degradabilidad *in situ* de la materia seca. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

4.3.3 Perfil de ácidos grasos en gramíneas

No se presentó interacción entre el tratamiento y el periodo experimental ($P>0,05$) en las variables evaluadas. El contenido (g kg/MS) de ácidos grasos totales y la mayoría de AG individuales fueron similares ($P>0,05$) en los tres cultivares de gramíneas (Tabla 4-3). Sin embargo, el contenido de linolénico (C18:3 c9 c12 c15) tendió ($P<0,10$) a ser mayor en los pastos Tanzania y Toledo en comparación con Mulato II y la relación ácido linoleico / linolénico fue numéricamente mayor en el pasto Mulato II (Tabla 4-3).

Tabla 4-3: Contenido de ácidos grasos totales y perfil de ácidos grasos en tres cultivares de gramíneas tropicales

Ácidos grasos	Cultivares de gramíneas			ESM	P
	Mulato II	Tanzania	Toledo		
	g/kg MS				
AG totales	7,7	14,3	8,5	5,40	0,11
C14:0	0,36	1,03	0,36	0,65	0,14
C16:0	3,06	5,80	2,90	2,00	0,13
C18:0	0,18	0,45	0,32	0,35	0,28
C18:1 c9	0,77	1,61	0,87	0,73	0,13
C18:2 c9 c12	0,73	0,80	0,99	0,39	0,63
C18:3 c9 c12 c15	0,54	1,20	1,08	0,47	0,09
Precusores ALC	1,28	2,00	2,08	0,69	0,19
C18:2/C18:3	1,34	0,66	0,91	0,46	0,29

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P<0,05$) según prueba de Tukey

4.3.4 Producción y composición de la leche

No hubo interacción del tratamiento y el tercio de lactancia ($P>0,05$) en las variables evaluadas. La producción de leche vendible, total por vaca (vendible + consumida por el ternero) y corregida por grasa al 4% fue similar ($P>0,05$) en los tres cultivares de gramíneas (Tabla 4-4). Como era de esperarse, la producción diaria de leche (vendible, total y corregida por grasa al 4%) disminuyó a medida que aumentó el tercio de lactancia (Tabla 4-4).

Tabla 4-4: Producción de leche de vacas en pastoreo en función de cultivares gramíneas tropicales y tercios de lactancia

Variable	Cultivares de gramíneas			ESM	P
	Mulato II	Tanzania	Toledo		
Vendible (kg/v/d)	4,7	4,8	4,8	0,75	0,93
Total (kg/v/d)	6,6	6,3	6,6	0,87	0,50
Total LCG 4% (kg/v/d)	6,7	6,9	6,8	1,16	0,84

Variable	Tercio de lactancia			ESM	P
	Primer	Segundo	Tercero		
Vendible (kg/v/d)	5,9 ^a	4,5 ^b	3,9 ^b	0,16	0,0001
Total (kg/v/d)	8,2 ^a	6,0 ^b	5,2 ^c	0,22	0,0001
Total LCG 4% (kg/v/d)	8,4 ^a	6,4 ^b	5,6 ^b	0,22	0,0001

ESM = Error estándar de la media. LCG (Leche corregida por grasa 4%) = (0.4 x PLT) + 15 x kg G. PLT = Producción de leche total, G = Grasa kg/d. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

Las concentraciones de sólidos totales, lactosa, minerales y nitrógeno ureico (NUL) en la leche vendible de las vacas fueron similares (P>0,05) en los diferentes cultivares de gramíneas (Tabla 4-5). Sin embargo, la concentración de proteína y de grasa fue mayor (P<0,05) en la leche de vacas con el pasto Mulato II y Tanzania, respectivamente (Tabla 4-5). El tercio de lactancia no afectó (P>0,05) la concentración de sólidos totales, proteína, grasa, lactosa y minerales en la leche vendible de las vacas (Tabla 4-5).

Tabla 4-5: Calidad composicional de la leche vendible de vacas en tres cultivares de gramíneas tropicales y en función de tercio de lactancia

Componente	Cultivares de gramíneas			ESM	P
	Mulato II	Tanzania	Toledo		
Sólidos totales (%)	13,00	13,30	12,90	0,69	0,16
Proteína (%)	3,33 ^a	3,26 ^b	3,28 ^{ab}	0,09	0,04
Grasa (%)	4,17 ^b	4,70 ^a	4,23 ^b	0,66	0,04
Lactosa (%)	4,66	4,57	4,59	0,11	0,06
Minerales (%)	0,77	0,76	0,76	0,02	0,17
NUL (mg/dl)	12,00	14,80	13,40	5,61	0,35

Componente	Tercio de lactancia			ESM	P
	Primer	Segundo	Tercero		
Sólidos totales (%)	12,80	13,10	13,30	0,09	0,11
Proteína (%)	3,29	3,28	3,31	0,01	0,63
Grasa (%)	4,12	4,46	4,53	0,09	0,15
Lactosa (%)	4,60	4,58	4,65	0,01	0,24
Minerales (%)	0,77	0,76	0,76	0,002	0,35
NUL (mg/dl)	13,40	14,20	12,70	0,81	0,74

ESM = Error estándar de la media. NUL = Nitrógeno ureico en leche. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

4.3.5 Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche

No hubo interacción entre el tratamiento y el tercio de lactancia sobre el perfil de AG en la leche en las variables evaluadas. El pasto Tanzania presentó la menor ($P < 0,05$) concentración en la sumatoria de los ácidos grasos C12, C14 y C16. En contraste, las vacas alimentadas con este cultivar presentaron las mayores ($P < 0,05$) concentraciones de ácido esteárico (C18:0), ácido transvaccénico (C18:1 t11) y ALC (c9 t11) en la grasa de la leche (Tabla 4-6), a pesar de la menor relación linoleico/linolénico contenido en este forraje y a las concentraciones similares de precursores de ALC que presentaron los tres cultivares (Tabla 4-3).

La concentración de ácidos grasos *de síntesis de novo* en la grasa de la leche fue similar ($P > 0,05$) en las vacas alimentadas con los tres cultivares, pero con el pasto Tanzania se presentó una mayor ($P < 0,05$) concentración de ácidos grasos preformados en la grasa de la leche. La concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la grasa de la leche fue mayor ($P < 0,05$) en las vacas alimentadas con el pasto Tanzania y Toledo en comparación con Mulato II (Tabla 4-6). Los índices de la delta 9 desaturasa, de sus productos/sustratos y los índices de aterogenicidad y trombogenicidad en la grasa de la leche de las vacas no fueron afectados ($P > 0,05$) por los diferentes cultivares (Tabla 4-6).

Tabla 4-6: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas alimentadas con cultivares de gramíneas tropicales

Ácidos grasos	Cultivares de gramíneas			ESM	P
	Mulato II	Tanzania	Toledo		
		mg/g AG			
C12:0 + C14:0 + C16:0	478,0 ^a	439,3 ^b	448,5 ^{ab}	15,94	0,03
C16:1 c9	17,7	16,8	16,2	4,42	0,58
C17:0	4,0	4,2	3,6	0,84	0,10
C18:0	83,3 ^b	98,1 ^a	93,4 ^{ab}	16,1	0,02
C18:1 c9	209,9	224,7	224,8	40,4	0,44
C18:1 t11(ATV)	19,8 ^b	24,4 ^a	24,2 ^a	4,65	0,007
C18:2 c9 c12 (AL)	5,8	6,6	6,6	1,34	0,11
C18:2 c9 t11 (ALC)	12,3 ^b	14,6 ^a	14,0 ^{ab}	2,86	0,05
C18:3 c9 c12 c15 (ALN)	4,1 ^b	5,2 ^a	4,8 ^{ab}	1,21	0,02
AL/ALN	1,6	1,3	1,4	0,43	0,17
AG, según saturación,		mg/g AG			
Saturados	663,0	638,3	640,1	53,0	0,30
Insaturados	318,5	342,4	340,2	51,0	0,31
Monoinsaturados	293,8	313,0	311,0	45,9	0,39
Poliinsaturados	24,7 ^b	29,4 ^a	29,2 ^a	6,1	0,04
AG, según origen		mg/g AG			
De novo (< 16 C)	262,8	257,0	254,2	22,9	0,47
Preformados (> 16 C)	380,6 ^b	420,8 ^a	413,9 ^{ab}	38,4	0,04
Índice delta 9 desaturasa	0,30	0,33	0,33	0,05	0,43
C14:1/C14:0	0,04	0,05	0,05	0,007	0,87
C16:1/C16:0	0,05	0,06	0,05	0,006	0,83
C18:1/C18:0	2,6	2,5	2,6	0,27	0,90
CLA/ATV	0,7	0,6	0,6	0,004	0,12
Índice aterogenicidad	2,6	2,3	2,4	0,14	0,18
Índice trombogenicidad	3,3	3,0	3,1	0,19	0,25

ATV = Ácido transvaccénico. AL= Ácido linoleico. ALC = Ácido linolénico conjugado. ALN = Ácido linolénico. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

En este estudio se presentaron diferencias en la concentración de AG en la grasa de la leche debido a los tercios de lactancia. En forma general, se observó que conforme progresó la lactancia hubo una tendencia a incrementar la concentración de ácido margárico (C17:0) y a disminuir las concentraciones de los ácidos grasos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) en la grasa de la leche de las vacas (Tabla 4-7). Las concentraciones de los ácidos palmitoleico (C16:1), oleico (C18:1), insaturados, monoinsaturados y poliinsaturados fueron mayores ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las vacas de segundo tercio en comparación con las de primer y último tercio de

lactancia. La concentración de los AG esteárico (C18:0) y saturados fueron mayores ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las vacas de primer y último tercio de lactancia. La sumatoria de la concentración de los AG C12, C14 y C16 en la grasa de la leche de las vacas fue similar ($P > 0,05$) entre los diferentes cultivares (Tabla 4-7).

Tabla 4-7: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en diferentes tercios de lactancia en pastoreo de cultivares de gramíneas tropicales

Ácidos grasos	Tercio de lactancia			ESM	P
	Primer	Segundo	Tercero		
	mg/g AG				
C12:0 + C14:0 + C16:0	460,6	436,2	470,9	11,97	0,09
C16:1	14,0 ^b	20,0 ^a	16,9 ^{ab}	6,9	0,001
C17:0	3,9 ^{ab}	3,6 ^b	4,3 ^a	1,4	0,04
C18:0	100,1 ^a	79,3 ^b	95,4 ^a	25,5	0,0009
C18:1 c9	209,5 ^b	243,8 ^a	206,0 ^b	58,1	0,001
C18:1 t11 (ATV)	22,4	22,6	23,3	8,4	0,81
C18:2 c9 c12 (AL)	6,5 ^a	7,0 ^a	5,4 ^b	2,0	0,002
C18:2 c9 t11 (ALC)	12,7	14,5	13,7	4,2	0,18
C18:3 c9 c12 c15 (ALN)	5,1 ^a	5,2 ^a	3,7 ^b	2,2	0,001
Relación AL/ALN	1,4	1,5	1,5	0,6	0,68
AG según saturación	mg/g AG				
Saturados	662,7 ^a	613,6 ^b	665,0 ^a	79,9	0,008
Insaturados	318,9 ^b	365,9 ^a	316,3 ^b	76,1	0,008
Monoinsaturados	292,3 ^b	334,1 ^a	291,4 ^b	66,9	0,01
Poliinsaturados	26,6 ^b	31,8 ^a	24,9 ^b	10,2	0,004
AG según origen	mg/g AG				
De novo (< 16 C)	266,7	253,5	253,8	23,7	0,11
Preformados (> 16 C)	398,4	424,5	392,4	43,6	0,12
Índice delta 9 desaturasa	0,30 ^b	0,36 ^a	0,30 ^b	0,08	0,003
C14:1/C14:0	0,05	0,06	0,04	0,001	0,55
C16:1/C16:0	0,04 ^b	0,07 ^a	0,05 ^b	0,004	0,001
C18:1/C18:0	2,1 ^b	3,3 ^a	2,2 ^b	0,19	0,0002
CLA/ATV	0,6	0,7	0,6	0,002	0,10
Índice aterogenicidad	2,5 ^{ab}	2,1 ^b	2,6 ^a	0,10	0,02
Índice trombogenicidad	3,2 ^{ab}	2,7 ^b	3,4 ^a	0,14	0,007

ATV = Ácido transvaccénico. AL = Ácido linoleico. ALC = Ácido linolénico conjugado. ALN = Ácido linolénico. ESM = Error estándar de la media. Letras entre las filas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

4.4 Discusión

En la última década ha habido interés creciente en entender los factores que modifican el perfil lipídico de la leche debido a la importancia que este tiene sobre la salud humana

(Kelly et al. 2008, Benjamin y Spener 2009, Jutzeler y Colombani 2010, Dilzer y Park 2012). Sin embargo, estudios sobre el efecto de especies forrajeras tropicales sobre la composición de la leche y en particular sobre el perfil lipídico en la grasa de la leche de vacas en el sistema doble propósito ha recibido poca atención. En este trabajo se evaluó el efecto de alimentar vacas Gyr x Pardo Suizo en diferentes etapas de lactancia con tres cultivares de gramíneas tropicales sobre la producción, calidad composicional y perfil lipídico de la leche.

4.4.1 Efecto de cultivares sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche

Aunque en este trabajo no se determinó el aporte de cada especie a la dieta de las vacas se considera que la mayor parte de la dieta estuvo representada por las gramíneas experimentales. Por lo tanto, se asume que la respuesta animal medida en términos de cantidad y composición de la leche se debió principalmente a las diferencias en la composición de los tres cultivares evaluados. Por otra parte, en este estudio la oferta de forraje no pareció limitar el consumo de forraje en los tres cultivares. La oferta diaria por vaca promedió 6,1 kg MS/100 kg de PV a través de tratamientos, lo que representa una oferta de 1,8 veces más alta para lograr un consumo máximo de 3,3 kg MS/100 kg PV/d en vacas mestizas con pastos tropicales sin suplementación (Aroeira et al. 1999).

Diversos estudios han sugerido que las variaciones en el perfil graso de la leche se pueden explicar por el perfil y aporte lipídico de la dieta (Schmidely et al. 2008, Shingfield et al. 2013). En las tres gramíneas evaluadas la concentración de extracto etéreo (Tabla 4-2) y el contenido de ácidos grasos totales fueron similares ($P>0,05$), a pesar de que numéricamente estos dos componentes fueron superiores en el pasto Tanzania (Tabla 4-5). La mayor concentración de grasa en la leche de las vacas en el pasto Tanzania podría estar relacionada por un posible mayor consumo de AG totales, en comparación con el pasto Mulato II y Toledo. El cultivar Tanzania aportó 85,7 y 68,2% mayores contenidos de AG que el pasto Mulato II y Toledo, respectivamente.

En un meta análisis de la relación entre el flujo de AG al duodeno y la síntesis de grasa en la glándula mamaria, se encontró que cuando la concentración de AG ≥ 18 carbonos estaba por debajo de 51,7% en la grasa láctea, la adición de grasa a la ración aumentaba

las concentraciones de estos AG en la leche (Glasser et al. 2008). En este estudio, el pasto Tanzania que aportó una mayor cantidad de AG de ≥ 18 carbonos (4,06 g/kg MS) con relación al pasto Mulato II (2,22 g/kg MS) y Toledo (3,26 g/kg MS), generó una mayor producción diaria de AG de ≥ 18 carbonos (104,7 g) en la grasa de la leche de las vacas en comparación con el pasto Mulato II (87,4 g) y Toledo (98,7 g).

A pesar que en este ensayo no se realizó suplementación lipídica, el pasto Tanzania aportó un mayor porcentaje de AG saturados (66,8%) en comparación con los otros cultivares (Mulato II; 63,8% y Toledo; 54,9%). Schroeder et al. (2004), han indicado que la suplementación con grasas, principalmente saturadas, incrementa la concentración de grasa en la leche, lo cual se observó en las vacas alimentadas con el pasto Tanzania.

El mayor contenido de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en el pasto Tanzania estuvo de acuerdo con lo observado en el estudio de Mojica et al. (2017), en el cual se analizó el efecto de especie y edad de rebrote sobre el perfil de AG en el forraje de diferentes gramíneas de pastoreo.

En el estudio de Lock (2013) se ha encontrado que la utilización de un suplemento rico en C16:0 (47 g/100 g AG totales) incrementó la concentración (21,4%) y la producción diaria (30,8%) de C16:0 en la grasa de la leche de vacas Holstein. Por lo tanto, en este estudio se esperaba una mayor concentración de la sumatoria de los ácidos grasos C12, C14 y C16 en la grasa de la leche las vacas al consumir el pasto Tanzania debido a su mayor contenido (g/kg MS) de C16:0 (89,5% y 100% superior en comparación con el pasto Mulato II y Toledo, respectivamente). Sin embargo, en la grasa de la leche de las vacas alimentadas con el cultivar Tanzania se observó la menor concentración de ácido palmítico (C16:0), lo que podría deberse a la mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la grasa de la leche de las vacas alimentadas con este pasto. En algunos estudios se han encontrado correlaciones negativas entre las concentraciones de diferentes ácidos grasos poliinsaturados y la concentración de C4 a C16 en la grasa de la leche bovina (Lor et al. 2005), debido posiblemente a inhibición de la síntesis mamaria de ácidos grasos de *novo* por la conversión de los AG poliinsaturados en isómeros inhibidores (trans 10 cis 12 ALC y trans 10 C18:1) (Harvatine et al. 2009), no cuantificados en el presente trabajo.

El ácido esteárico (C18:0) en la grasa de la leche proviene de la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) (Chilliard y Ferlay 2004), el aporte de microorganismos ruminales (Bas et al. 2003, Varádyová et al. 2008) y la dieta (Dohme et al. 2004). En el presente estudio el contenido de ácido esteárico (C18:0) en los tres cultivares evaluados fue bajo, lo cual coincide con lo que se ha reportado en otros estudios con forrajes (Boufaied et al. 2003, Prieto 2015). Por lo tanto, el contenido de ácido esteárico (C18:0) en los tres cultivares evaluados posiblemente tuvo poca influencia sobre su concentración en la grasa de la leche. Otra posible explicación a la baja concentración de C18:0 en la grasa de la leche fue debido a un bajo consumo y baja biohidrogenación ruminal de ácidos grasos poliinsaturados. La mayor concentración de C18:0 en la grasa de la leche de las vacas alimentadas con los pastos Tanzania y Toledo posiblemente pudo estar relacionado con un mayor aporte de C18:0 por los microorganismos ruminales, debido a que se ha identificado una alta concentración (alrededor de 50%) de ácido esteárico (C18:0) en los AG que sintetizan los microorganismos (Bas et al 2003, Varádyová et al. 2008). Sin embargo, esta variable no fue analizada en este estudio.

La concentración de ácido transvaccénico (C18:1 t11) y de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de las vacas posiblemente estuvo influenciada por diferencias en el contenido (g/kg MS) de ácido linolénico (C18:3) en las gramíneas evaluadas. Los cultivares Tanzania y Toledo tendieron ($P < 0,10$) a aportar un mayor contenido (g/kg MS) de ácido linolénico en comparación con el pasto Mulato II y esto resultó en mayores concentraciones de los ácidos transvaccénico y ALC en la grasa de la leche de las vacas que pastorearon estos cultivares. El ácido linolénico (C18:3) es uno de los precursores de ácido transvaccénico (C18:1 t11) en el rumen, el cual a su vez es el sustrato para la síntesis endógena de ALC (c9 t11) en la glándula mamaria (Griinari et al. 2000; Mosley et al. 2006). Los investigadores Scerra et al. (2016) observaron una alta concentración (19,7 mg/g grasa) de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche en vacas pastoreando una mezcla de Italian Red Pied con leguminosas (40%) que aportaron una alta proporción de ácido linolénico (59,2%) en los AG totales del forraje.

Adicional al aumento en la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de las vacas alimentadas con los pastos Tanzania y Toledo, se presentó también una mayor

concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la leche con estos cultivares (Tanzania, 29,4 mg/g grasa; Toledo, 29,2 mg/g grasa) en comparación con la leche de las vacas alimentadas con pasto Mulato II (24,7 mg/g grasa). Esto posiblemente se asoció con un mayor contenido ácidos grasos poliinsaturados en el forraje de Tanzania y Toledo.

4.4.2 Efecto del tercio de lactancia sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche

La producción de leche disminuyó con los tercios de lactancia, pero se observó una tendencia a que la concentración de grasa incrementara conforme progresaba la lactancia en las vacas. Estos resultados concuerdan con el estudio de Mojica et al. (2013) en el que se evaluó la producción y composición de la leche en vacas doble propósito en el departamento del Cesar.

Por otra parte, la concentración de los AG de síntesis *de novo* en la grasa de la leche fue similar en los diferentes tercios de lactancia de las vacas. Este resultado contrasta con los de otros trabajos en los que se ha reportado un incremento en la concentración de los AG de síntesis *de novo* y una reducción en la concentración de los AG preformados, a partir de la movilización de los tejidos, a medida que la lactación progresa (Palmquist et al. 1993, Stoop et al. 2009, Bilal et al. 2014).

El aumento en la concentración de C18:0 en la grasa de la leche de las vacas en primer y último tercio de lactancia, posiblemente se puede explicar por una mayor biohidrogenación ruminal de los ácidos linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) que generó una menor concentración de estos AG en la grasa de la leche. En contraste, en las vacas de segundo tercio de lactancia posiblemente se presentó una menor biohidrogenación ruminal de C18:2 y C18:3 que generó una menor concentración de C18:0 y mayores concentraciones de C18:2 y C18:3 en la grasa de la leche. La mayor concentración de C18:0 y C17:0 en la grasa de la leche de las vacas en primer y último tercio de lactancia posiblemente se explica por aportes de AG realizados por los microorganismos ruminales (Doreau y Chilliard, 1997, Varádyová et al. 2008).

Las concentraciones de C16:1 y C18:1 fueron mayores en la grasa de la leche de las vacas en segundo tercio de lactancia debido posiblemente a mayor actividad de la delta 9 desaturasa en sus respectivos productos/sustratos (C16:1/C16:0 y C18:1/C18:0) que regula la producción de AG insaturados en la glándula mamaria y tejido adiposo de rumiantes (Corl et al. 2001). Esta enzima actúa sobre diferentes sustratos (C14:0, C16:0, C18:0, C18:1 t11) para sintetizar C14:1, C16:1, C18:1, ALC c9 t11 en la glándula mamaria (Ntambi et al. 2003). Estos resultados son contrarios a los resultados de Kgwatalala et al. (2008) con vacas Yersey. Estos investigadores no observaron diferencia en la concentración de C16:1, pero sí una menor concentración de C18:1 en la grasa de la leche en vacas de segundo tercio de lactancia.

En este estudio la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche no varió entre tercios de lactancia, lo cual contrasta con estudios con vacas de lechería especializadas con pastos de zonas templadas. En esos estudios se ha reportado una mayor concentración de ALC (c9 t11) en vacas de segundo y tercer tercio que en vacas de primer tercio (Kay et al. 2005, Kgwatalala et al. 2008, Stoop et al. 2009).

No hubo una tendencia definida en la concentración de ácidos grasos saturados y poliinsaturados debida a tercio de lactancia. Esto contrasta con resultados de Kay et al. (2005) quienes reportaron un incremento (51%) en la concentración de ácidos provenientes de la síntesis de *novo* (4:0 a 14:0) y una disminución (15%) en los ácidos grasos preformados ($\geq 17:0$) al aumentar los días de lactancia en vacas Holstein.

4.4.3 Ácidos grasos en la leche de vacas en gramíneas tropicales vs templadas y salud humana

La leche producida con los tres cultivares evaluados en este estudio presentaron mayores concentraciones de C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, concentraciones similares de C18:3 y ALC (c9 t11) y menores concentraciones de C18:0, C18:1, C18:2 en comparación con el perfil de ácidos grasos (promedio) en leche proveniente de sistemas especializados con forrajes templados en Colombia (Rico et al. 2007, León 2011, Gastón 2013, Parales 2015).

Con base en lo anterior los AG saturados en la leche obtenida con los tres cultivares generarían un efecto negativo sobre la salud humana, pero por la alta concentración de ALC (c9 t11) en la leche se podría conferir un efecto positivo debido a sus efectos nutraceúticos (anticarcinogénico, antiaterogénico) (Bhattacharya et al. 2006). Teniendo como base la concentración de ALC (c9 t11) promedio (13,6 mg/g grasa) en la grasa de la leche y la concentración de grasa en la leche (3,54%) de vacas Holstein en la Sabana de Bogotá en el estudio de Rico et al. (2007), la concentración de ALC (c9 t11) en la leche sería aproximadamente de 481 mg/l, lo cual está por debajo de las concentraciones observadas en las leches de este estudio. En este estudio, con base en la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche y la concentración de grasa en la leche, las vacas alimentadas con el pasto Tanzania y Toledo presentaron las mayores concentraciones de ALC en la leche (689,3 y 594,1 mg/l, respectivamente). Teniendo en cuenta un consumo diario de leche percapita en Colombia (392 ml) (Fedegan, 2014), esa cantidad consumida de leche producida con pasto Tanzania y Toledo representaría una ingestión de 0,27 y 0,23 g/d de ALC, respectivamente. Con base en lo anterior, se realizaría un aporte de 81,8% y 69,7% para alcanzar un consumo de ALC en una persona (0,33 g/d), a partir de leche con una concentración de ALC de 15,8 mg/g grasa, necesario para disminuir en un 43% el riesgo de infarto de miocardio no fatal (Smith et al. 2015).

En la grasa de la leche de las vacas alimentadas con los cultivares Tanzania y Toledo también se presentó un mayor contenido de ácido oleico (C18:1) en la grasa de la leche. Al ácido oleico (C18:1) se le ha atribuido reducciones de colesterol LDL, triglicéridos y aumentos en el colesterol HDL (López 2010, Haeiwa et al. 2014). Por tanto, el contenido de estos dos AG, contribuiría a generar efectos positivos del perfil lipídico de estas leches sobre la salud humana.

De igual forma, las vacas alimentadas en estos cultivares (Tanzania y Toledo) presentaron una mayor concentración de AG poliinsaturados en la grasa de la leche. En humanos se ha identificado que el consumo de dietas con mayores niveles de ácidos poliinsaturados (Bunout y Escobar 2000, Mozaffarian et al. 2010) o el reemplazo de AG saturados por poliinsaturados (5% de sustitución de energía) disminuye el riesgo (10%) de presentación de enfermedades coronarias (Micha y Mozaffarian 2010). Sin embargo, Ortega et al. (2013) indican que analizar cada ácido en forma individual no es suficiente para determinar su efecto nutraceútico. Por lo tanto, se debe considerar la relación entre

otros AG. En forma general, la reducción en la relación entre el ácido linoleico/linolénico en las dietas en humanos favorece la salud reduciendo el riesgo de presentación de enfermedades (Gómez et al. 2011). Por ejemplo, la relación entre el ácido linoleico/linolénico en los alimentos debería estar en un valor cercano a 4 para la prevención de enfermedades cardiovasculares o en un valor de 2,5 para reducir la proliferación celular rectal en pacientes con cancer (Simopoulos 2002). Bajo este punto de vista, en nuestro estudio la leche producida con estos cultivares (Tanzania y Toledo) también ofrecería efectos benéficos sobre la salud humana por su baja relación linoleico/linolénico (Tanzania; 1,3 y Toledo; 1,4). Esta baja relación linoleico/linolénico en la grasa de la leche puede estar asociada con los similares aportes de estos dos AG en los cultivares evaluados.

4.5 Conclusiones

La alimentación de vacas Gyr x Pardo con los pastos Tanzania y Toledo resultó en una mayor concentración de AG insaturados y de ALC (c9 t11) en la grasa láctea en comparación con el pasto Mulato II, lo cual se explicó por un mayor aporte de ácido linolénico. Los mayores contenidos de estos AG (polinsaturados y ácido linoleico conjugado) en la grasa láctea sugieren que la leche producida en estos cultivares podrían ser más saludable en comparación con la leche producida con el pasto Mulato II.

El efecto del tercio de lactancia no fue consistente sobre el perfil de AG en la grasa de la leche. La concentración de ácido linoleico conjugado (c9 t11) en la grasa de la leche fue similar en las vacas en los diferentes tercios de lactancia.

4.6 Bibliografía

1. Allen MS. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83(7):1598-1624.
2. Amezcua M. 1999. Diseño y análisis de ensayos para evaluación de pasturas en fincas. http://www.ciat-library.ciat.cgiar.org/ciat_digital/39666.pdf
3. AOAC. 2010. Association Official of Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC international. 18th ed. AOAC International, Maryland.

4. Argel J, Miles W, Guiot D, Cuadrado H., Lascano C. 2007. Cultivar Mulato II (Brachiaria híbrido CIAT 36087): Gramínea de alta calidad y producción forrajera, resistente a salivazo y adaptada a suelos tropicales ácidos bien drenados. Cali, Colombia. CIAT. 22 p.
5. Aroeira LJM, Lopes FCF, Deresz F, Verneque RF, Dayrell MS, De Matos LL, Maldonado-Vasquez H, Vittori A. 1999. Pasture availability and dry matter intake of lactating crossbred cows grazing elephant grass (*Pennisetum purpureum*, Schum.)
6. Auldish MJ, Thomson NA, Mackle TR, Hill JP, Prosser CG. 2000. Effects of pasture allowance on the yield and composition of milk from cows of different β lactoglobulin phenotypes. *J. Dairy Science*. 83:2069-2074.
7. Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.*; 85: 1777-1792.
8. Bas P, Archimede H, Rouzeau A, Sauvant D. 2003. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: Effect of concentration and type of forage. *J. Dairy Sci*. 86: 2940 – 2948.
9. Benjamin S, Spener F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition and Metabolism*. 6:36 doi:10.1186/1743-7075-6-36.
10. Bessa RJB, Silva J, Ribeiro JMR, Portugal AB. 2000. Retículo rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science*. 63: 201-211.
11. Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G. 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* 17. 789 – 810.
12. Bilal G, Cue R, Mustafa A, Hayes J. 2014. Effects of parity, age at calving and stage of lactation on fatty acid composition of milk Canadian Holsteins. *Canadian Journal of Animal Science*. 94:401 – 406.
13. Boufaied H, Chouinard PY, Tremblay GF, Petit HV, Michaud R, Belanger. 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science*. 83. 501–511.
14. Bunout D, Escobar E. 2000. Prevención de enfermedades cardiovasculares: ¿Deben aplicarse los mismos criterios en América Latina que en Europa y Norte América?. *Rev. Esp. Cardiol*. 53: 889 – 895.
15. Chilliard Y, Ferlay A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev*. 44. 467 – 492.

16. Corl B, Baumgard L, Dwyer D, Griinari J, Phillips B, Bauman D. 2001. The role delta 9 desaturase in the production of cis-9 trans-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.* 12 (11): 622 – 630.
17. CORPOICA. 2002. Atlas de los sistemas de producción bovina. Módulo Región Caribe. Plan de Modernización Tecnológica de la Ganadería Bovina. 86 p.
18. CORPOICA. 2013. Informe anual proyectos de investigación en pastos y forrajes. 35 p.
19. Díaz GG, Gutiérrez R, Pérez N, Vega S, León S, Gonzalez M, Prado G, Urbán G, Ramírez A, Pinto M. 2002. Detección de adulteraciones en la grasa de leche pasteurizada mexicana. *Rev. Salud Anim.* 24(1):54-59.
20. Dilzer A, Park Y. 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 52: 6. 488 – 513.
21. Dohme F, Machmuller A, Sutter F, Kreuzer M. 2004. Digestive and metabolic utilization of lauric, myristic and stearic acid in cows, and associated effects on milk fat quality. *Archives of Animal Nutrition.* Vol. 58 (2). Pp 99 – 116.
22. Doreau M, Chilliard Y. 1997. Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br. J. Nutr.* 78(01): S15-S35.
23. Elgersma A, Ellen G, Van Der Horst H, Boer H, Dekker P, Tamminga S. 2004. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Animal Feed Science and Technology.* 117: 13 – 27.
24. Escobar A, Carulla J. 2003. Efecto de la oferta de forraje sobre los parámetros productivos y composicionales de la leche en la sabana de Bogotá. *Rev Col Cienc Pec* Vol. 16, Suplemento.
25. Fawcett B, Scott JE. 1960. A rapid and precise method for determination of urea. *J. Clin. Path.* 13:156.
26. Gagliostro G, Rodriguez A, Pellegrini P, Gatti P, Musset G, Castañeda R, Colombo A, Chilliard Y. 2006. Efectos del suministro de aceite de pescado solo o en combinación con aceite de girasol sobre las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y omega 3 (n-3) en leche de cabra. *Rev. Argent. Prod. Anim.* 26:71-87.
27. Garcés R, Mancha M. 1993. One step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. *Anal. Biochem.* 211:139–143.
28. Gastón AC, Pabón ML, Carulla JE. 2014. Concentration of trans-vaccenic and rumenic acids in the milk from grazing cows supplemented with palm oil, rice bran or whole cottonseed. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 43: 6. 315 – 326.

29. Glasser F, Ferlay A, Doreau M, Schmidely P, Sauvant D, Chilliard Y. 2008. Long chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and *de novo* synthesis. *J. Dairy Sci.* 91 (7): 2771-2785.
30. Gómez C, Bermejo L, Loria V. 2011. Importance of a balance omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. *Nutr. Hosp.* 26 (2): 323 – 329.
31. Griinari JM, Corl BA, Lacy SH, Chouinard PY, Nurmela KVV. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta 9 desaturase. *Journal of Nutrition.* 130. 2285 – 2291.
32. Haeiwa H, Fujita T, Saitoh Y, Miwa N. 2014. Oleic acid promotes adaptability against oxidative stress in 3T3-L1 cells through lipohormesis. *Mol. Cell Biochem.* 386: 73 – 83.
33. Harvatine KJ, Boisclair YR, Bauman DE. 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal.* 3. 1. 40 - 54.
34. Hurley WL, Warner GJ, Grummer RR. 1987. Changes in triglyceride fatty acid composition of mammary secretions during involution. *J. Dairy Sci.* 70(11):2406-2410.
35. Huth P, Park K. 2012. Influence of dairy product and milk fat consumption on cardiovascular disease risk: A review of the evidence. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 3: 266-285. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry.* 10: 691 – 693.
36. Jeffery HJ. 1972. The length of change-over periods in change-over designs with grazing cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry.* 10: 691 – 693.
37. Jutzeler R, Colombani P. 2010. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid and estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal.* 20. 433 – 448.
38. Kay JK, Weber WJ, Moore CE, Bauman DE, Hansen LB. 2005. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science.* 83: 3886-3893.
39. Kelly ML, Belly JR, Dwyer DA, Griinari JM, Chouinard PY, Van Amburgh ME, Bauman DE. 2008. Dietary Fatty Acid Sources Affect Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk from Lactating Dairy Cows. *The Journal of Nutrition.* 128: 881 – 885.
40. Kgwatalala PM, Ibeagua-Awemu EM, Mustafa AF, Zhao X. 2009. Influence of stearoil-coenzyme A desaturase 1 genotype and stage of lactation on fatty acid composition of Canadian Jersey cows. *Journal of Dairy Science.* 92:1220 – 1228.

41. Kratz M, Baars T, Guyenet S. 2013. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur. J. Nutr.* 52: 1-24.
42. León CJM. 2011. Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche. Tesis de maestría en producción animal. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.
43. Lock A, Preseault C, Rico J, DeLand K, Allen M. 2013. Feeding a C16:0-enriched fat supplement increased the yield of milk and improved conversion of feed to milk. *J. Dairy Sci.* 96: 6650 – 6659.
44. Loor J, Ferlay A, Ollier A, Doreau M, Chilliard Y. 2005. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *J. Dairy Sci.* 88: 726 – 740.
45. López E. 2010. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research.* 61: 200-207.
46. Mahecha L, Angulo J, Salazar B, Cerón M, Gallo J, Molina CH, Molina EJ, Suarez JF, Lopera JJ, Olivera M. 2008. Supplementation with bypass fat in silvopastoral systems diminishes the ratio of milk saturated/unsaturated fatty acids. *Tropical Animal Health and Production.* 40: 209 – 216.
47. Mendoza C, Pabón M, Carulla F. 2011. Variaciones diarias de la oferta forrajera, efecto sobre la producción y calidad de la leche. *Rev. MVZ. Córdoba.* 16 (3): 2721 – 2732.
48. Micha R, Mozaffarian D. 2010. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids.* 45: 893 – 905.
49. Mojica JE, Castro E, Carulla J, Lascano C. 2017. Efecto de la edad de rebrote sobre el perfil de ácidos grasos en gramíneas tropicales. *Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecuaria.* 18 (2). En impresión.
50. Mojica JE, Castro E, León J, Cárdenas E, Pabón ML, Carulla JE. 2009. Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción y calidad composicional de la leche bovina. *Livestock Research for Rural Development.* 21 (1).
51. Mojica RJE, Castro RE, Silva ZJ, Hanzel HC, Garcia QL. 2013. Producción y calidad composicional de la leche en ganaderías doble propósito del departamento del Cesar. *Corpoica.* 72 p.
52. Mosley EE, Shaffi B, Moate P, McGuire M. 2006. Cis 9 Trans 11 Conjugated linoleic acid is synthesized directly from acid vaccenic acid in lactating dairy cattle. *Journal of nutrition.* 136. 570 – 575.

53. Mosquera P, Lascano C. 1992. Producción de leche de vacas en pasturas de *Brachiaria decumbens* solo y con acceso controlado a bancos de proteína. Pasturas tropicales. 14: 2 – 10.
54. Mozzafrarian D, Micha R, Wallace S. 2010. Effects of coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Plos Med. 7. 3. 1 – 10.
55. Ntambi J, Makoto M. 2003. Recent insights into stearoyl-CoA desaturase-1. Current opinion in lipidology. 14 (3): 255 – 261.
56. Orskov ER, Deb Howell FD, Mould F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Tropical Animal Production. 5:3.
57. Ortega R, Espinoza J, Palacios E, Palacios A, Arjona O, Murillo B, Rivera F. 2013. Perfil de ácidos grasos en leche de vacas Chinampas (*Bos Taurus*) alimentadas con forraje fresco de matorral sarcocauléscente o heno de alfalfa. Arch. Med. 45: 45 – 51.
58. Palmquist DL, Beaulieu AD, Barbano DM. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. J. Dairy Sci. 76(6):1753-1771.
59. Parales J. 2015. Efecto de la suplementación de aceites vegetales y sus mezclas sobre la fermentación ruminal y el perfil de ácidos grasos en leche. Tesis de maestría en Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.
60. Prieto E. 2015. Efecto de la suplementación con aceites vegetales a vacas pastoreando con/sin sistema silvopastoril intensivo con leucaena sobre los ácidos grasos en la leche y la producción de metano *in vitro*. Tesis de Doctorado en Ciencias Animales. Universidad de Antioquia.
61. Rego O, Cabrita A, Rosa H, Anes S, Duarte V, Fonseca A, Vouzela C, Rocha F, Bessa R. 2016. Changes in milk production and milk fatty acid composition of cows switched from pasture to a total mixed ration diet and back to pasture. Italian Journal of Animal Science. 15 (1): 76 – 86.
62. Rico DE. 2013. Recovery of normal ruminal biohydrogenation and the novo fatty acid synthesis following induction of milk fat depression in dairy cows. Tesis de doctorado. Universidad de Pensilvania. 174 p.
63. Rico JE, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2007. Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 20:30-39.
64. Roncallo F, Barros J, Bonilla R, Murillo J, Del toro R. 2009. Evaluación de arreglos silvopastoriles en explotaciones ganaderas de la microrregión bajo Magdalena. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 10 (1): 60-69.
65. SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Versión 9,3 Cary, NC, USA.

66. Scerra M, Chies L, Caparra P, Cilione C, Foti F. 2016. Effect of only pasture on fatty acid composition of cow milk and Cimina Caciocavallo Cheese. *Jornal of Food Research*. Vol. 5. No. 3.
67. Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 7: s1, pp 132–162.
68. Schmidely P, Glasser F, Doreau M, Sauvant D. 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. *Animal*. 2 – 5, 677 – 690.
69. Schroeder GF, Gagliostro GA, Bargo F, Delahoy JE, Muller LD. 2004. Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livestock Production Science*. 86: 1 – 18.
70. Simopoulos A. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*. 56: 365 - 379.
71. Siri P, Sin Q, Hu F, Krauss R. 2010. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr*. 91: 535- 546.
72. Smith L, Baylin A, Campos H. 2010. Conjugated linoleic acid in adipose tissue and risk of myocardial infarction. *Am J Clin Nutr*. 92: 34 – 40.
73. Soedamah S, Ding L, Al Delaimy K, Hu B, Engberink M, Willett W, Geleijnse J. 2011. Milk and dairy consumption and incidence of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose response meta-analisis of prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 93: 158-71.
74. Stoobs TH, Sandland RL. 1972. The use of a latin square change – over design with dairy cows to detect differences in the quality of tropical pastures. *Australian Journal of Experimental Agricultural and Animal Husbandry*. 12: 463 – 469.
75. Stoop WM, Bovenhuis H, Heck JML, Van Arendock JAM. 2009. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein – Friesian cows. *Journal of Dairy Science*. 92:1469-1478.
76. Toledo JM, Schultze-Kraft R. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. CIAT, Cali, Colombia, 169 p.
77. Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*. 338(8773):985-992.
78. Van Soest PJ, Robertson J, Lewis M. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *J. Dairy Sci*. 74: 3583-3597.
79. Varádyová Z, Kisidayova S, Siroka P, Jalc D. 2008. Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet

supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 144 (1-2): 44 – 54.

80. Yamasaki M, Kishihara K, Ikeda I, Sugano M, Yamada K. 1999. A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *J. American Oil Chemists' Society.* 76(8):933-938.

5. Efecto de la intensidad de pastoreo y tercio de lactancia sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas pastoreando la gramínea guinea cv. Tanzania en el trópico seco

Resumen

El efecto de tres intensidades de pastoreo (1, 2 y 3 an/ha) contrastantes sobre la producción, composición de la leche y el perfil de ácidos grasos en la grasa láctea se midió en pasto Guinea cv. Tanzania (*Megathyrsus maximus*) con vacas Gyr x Pardo Suizo en diferentes tercios de lactancia. Se seleccionaron 18 vacas en tres estados de lactancia (primero, segundo y tercero), las cuales conformaron dos grupos de 9 vacas (3 vacas por tercio de lactancia). Se asignó una vaca de cada tercio de lactancia a cada intensidad de pastoreo en un diseño de Cuadrado Latino 3 x 3 reversible replicado. No hubo interacción ($P > 0,05$) de la intensidad de pastoreo x tercio de lactancia en las variables evaluadas. La disponibilidad de forraje en las intensidades de pastoreo no fueron limitantes para el consumo de materia seca de los animales. La producción de leche fue similar ($P > 0,05$) con las tres intensidades de pastoreo evaluadas y fue mayor ($P < 0,05$) en las vacas de primer tercio de lactancia. La intensidad de pastoreo no afectó ($P > 0,05$) la calidad composicional de la leche. El tercio de lactancia tendió ($P < 0,10$) a incrementar concentración de sólidos totales y grasa en la leche. La grasa de la leche de las vacas en el pasto manejado con intensidad de pastoreo intermedia (2,0 an/ha) y alta (3,0 an/ha) tuvo una concentración mayor ($P < 0,05$) de ácido linoleico conjugado (c9 t11) (CLA) y de ácidos grasos poliinsaturados. El tercio de lactancia no afectó ($P > 0,05$) la concentración de ALC (c9 t11) y de ácidos poliinsaturados. Se concluye que el manejo del cultivar Tanzania con intensidades de pastoreo alta en comparación con una intensidad baja resultó en la producción de leche concentraciones más altas en la grasa de la leche de CLA (c9 t11) y AG poliinsaturados, lo cual podría tener implicaciones en salud humana.

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, bovinos, doble propósito, gramínea, grasa láctea

Effect of grazing intensity and stage of lactation on the fatty acid profile of milk of cows grazing guinea cv. tanzania grass in the dry tropic

Abstract

The effect of three grazing intensities (1, 2 and 3 an/ha) on milk production, milk composition and fatty acid profile in milk fat were measured in cows grazing Guinea grass cv. Tanzania (*Megathyrus maximus*). Eighteen Gyr x Brown Swiss cows in different stages of lactation (early, mid and late) were selected to form two groups (replications) of 9 cows (3 cows by stage lactation). One cow per stage of lactation was assigned to each grazing intensities distributed in a 3 x 3 Latin Square reversible replicated design. There was no interaction ($P>0,05$) of grazing intensity x stage of lactation in the variables evaluated. Forage availability in the three grazing intensities was not limiting for intake. Milk production was similar ($P>0,05$) in the three grazing intensities evaluated and in cows in early lactation. Grazing pressures applied did not influence ($P>0,05$) milk compositional quality, but stage lactation tended ($P<0,10$) to increase total solids and fat concentration in milk. Milk fat of cows in Guinea cv. Tanzania grazed with intermediate (2,0 an/ha) and high (3,0 an/ha) grazing intensities had a higher ($P<0,05$) concentration of conjugated linoleic acid (c9 t11) (CLA) and of polyunsaturated fatty acids. In contrast, stage of lactation did not influence ($P>0,05$) the concentration of CLA (c9 t11) and polyunsaturated fatty acids. It is concluded that cows grazing the cultivar Tanzania with a high grazing intensity produced milk fat with higher concentrations of CLA (c9 t11) and polyunsaturated FA, than when grazing with a low intensity, which could have human health benefits.

Key words: conjugated acid linoleic, bovine, dual purpose, grass, milk fat

5.1 Introducción

Los ácidos grasos (AG) en productos de origen animal tienen importancia por su efecto sobre la salud humana. A pesar que existe controversia sobre el efecto de los ácidos grasos saturados como factores de riesgo en la presentación de enfermedades cardiovasculares (Siri et al. 2010, Soedamah et al. 2011, Huth y Park 2012; Kratz et al. 2013), se acepta que algunos ácidos grasos poliinsaturados en la leche como el ácido linoleico conjugado (ALC c9 t11) tienen efectos positivos sobre la salud humana (Jutzeler y Colombani 2010, Dilzer y Park 2012).

En rumiantes se han identificado isómeros del ácido linoleico conjugado (ALC) producidos en la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) aportados por la dieta consumida (Bessa et al. 2000). En la leche bovina existen más de 24 isómeros de ALC; dentro de esos el ALC c9 t11 y el t7 c9 constituyen la mayor proporción del total de ALC (Corl et al. 2002).

El efecto de factores de manejo del pastoreo tales como la oferta y la edad de rebrote del forraje afectan el perfil de los ácidos grasos en la grasa láctea en bovinos alimentados con especies forrajeras de zonas templadas. Es así como estudios reportados han mostrado que una mayor oferta de gramíneas (*Cenchrus clandestinus*, *Poa pratensis*, *Bromus inermis*) en pastoreo incrementa en la grasa de la leche de vacas Holstein la concentración de ALC (c9 t11) (Stanton et al. 1997, Dhiman et al. 1999). Así mismo, hay resultados que muestran que el forraje inmaduro también incrementa la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche (Ferlay et al. 2006).

En Colombia, la mayoría de estudios se han realizado en lechería especializada. Por ejemplo, Aguilar et al. (2009) encontraron que el ALC (c9 t11) aumentó de 14,4 a 22,4 mg/g de grasa en la leche de vacas Holstein al disminuir la edad de rebrote de 70 a 50 días en pasto kikuyo. En otro trabajo, en la Sabana de Bogotá, León (2011) encontró una mayor concentración de ALC (c9 t11) en la leche de vacas Holstein al consumir pasto kikuyo (25,1 mg/g de grasa) comparado con la asociación de kikuyo + *Lotus uliginosus* (17,1 mg/g de grasa).

En lecherías doble propósito de la microrregión Valle del Cesar, correspondiente al trópico seco de Colombia, el pasto *Megathyrus maximus* (Guinea) cv. Tanzania es la gramínea introducida que más se utiliza en sistemas ganaderos doble propósito y que se caracteriza por alta producción de forraje y buen valor nutricional (Mojica et al. 2013). En la literatura revisada no se encontraron estudios en los que se haya evaluado el efecto de la intensidad de pastoreo, que modifica la oferta de forraje, sobre la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la leche de vacas en sistemas doble propósito alimentadas con forrajes tropicales.

Por lo tanto, se diseñó un experimento para evaluar, bajo pastoreo, el efecto de la intensidad de pastoreo (i.e. carga animal) en pasto Guinea cv. Tanzania y del tercio de lactancia sobre la producción, calidad composicional (sólidos totales, proteína y grasa) y perfil lipídico en la grasa de la leche en vacas del sistema doble propósito del trópico seco.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Aval comité de bioética

La investigación fue aprobada por el comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional (Acta 08, 6 septiembre del 2012) en lo relacionado con el cumplimiento de las normas nacionales e internacionales de protección de los derechos de los animales y el uso y cuidado de animales para la experimentación.

5.2.2 Localización

El experimento se desarrolló en la Finca San Carlos, ubicada a 9° 50' 19" de latitud norte y 73° 22' 54" de longitud oeste en el Municipio de San Diego en la microrregión Valle del Cesar del Departamento del Cesar, Colombia. En la zona se presenta una temperatura promedio anual de 28,7 °C, humedad relativa de 70% y precipitación anual promedio de 1600 mm con distribución bimodal en los meses de mayo a junio y de septiembre a diciembre. Presenta suelos superficiales a profundos, bien drenados de fertilidad moderada a alta característicos de la zona agroecológica cj (Corpoica 2002). El estudio

que se reporta se realizó en época de lluvias durante los meses de septiembre (263 mm total de precipitación) y octubre (211 mm total de precipitación) del año 2013.

5.2.3 Tratamientos

Se evaluaron bajo pastoreo tres intensidades de pastoreo sobre *Megathyrus maximus* (Guinea) cv. Tanzania utilizando 1, 2 y 3 an/ha, las cuales generaron ofertas promedio de 23,8; 12,5 y 6,6 kg MS hojas/100 kg PV/d, respectivamente. Para generar las tres intensidades de pastoreo se utilizaron 5,5 ha., distribuidas en 3,0; 1,5 y 1,0 ha., para la intensidad baja (1,0 an/ha), intermedia (2,0 an /ha) y alta (3,0 an/ha), respectivamente, con dos repeticiones por tratamiento. El área en cada tratamiento de intensidad de pastoreo se dividió en dos parcelas de 1,5; 0,75 y 0,5 ha. siendo la primera parcela para acostumbramiento (7 días) y la segunda para realizar mediciones en los animales (7 días).

5.2.4 Establecimiento y manejo de la gramínea

Los suelos donde se realizó el experimento presentan una textura franco arenosa, con pH entre 6,3 a 6,6; materia orgánica de 0,5 a 1,5%; sin aluminio ni salinidad y con buen drenaje. Para la preparación de terreno se realizó un pase de cincel, dos pases de rastra y un pase de pulidor. La siembra de la gramínea se realizó al voleo en forma manual con una densidad de siembra de 8 kg/ha.

El control de malezas de hoja ancha durante la fase de establecimiento se realizó en forma manual y con dos aplicaciones de 2,4 D amina® (3 l/ha). Al mes de emergencia de las plántulas, se aplicaron 40 kg/ha de fosfato diamónico (DAP®), 25 kg/ha de nitrógeno (urea) y 13 kg/ha de cloruro de potasio. Luego del establecimiento de la gramínea (6 meses) se realizó un solo corte de uniformización con guadaña de tractor y se aplicaron 25 kg/ha de nitrógeno (urea) y 13 kg/ha de cloruro de potasio. Los potreros tuvieron un periodo de descanso de 28 días y de 7 días de ocupación durante la duración del experimento.

El periodo acostumbramiento de 7 días se definió con base en el estudio de Jeffery (1970), quién sugirió un periodo de acostumbramiento de 4 días mínimo y del estudio de

Stoobs y Sandland (1972) quienes sugirieron un periodo de acostumbramiento entre 4 a 9 días para evaluar el efecto de forrajes sobre la producción de leche en vacas en pastoreo. Por otra parte, Elgersma et al. (2004) demostraron que después de 4 días de transición de una dieta de pasto fresco a una de ensilaje maíz/pasto se observaban cambios en la mayoría de AG en la grasa de la leche bovina. En otro estudio, Rego et al. (2016) encontraron que, al cambiar de una ración totalmente mezclada (TMR, por sus siglas en inglés) a una dieta de forrajes en solo pastoreo, la composición de AG en la grasa de la leche se estabilizaba a los 6 días de la transición. En contraste, cuando el cambio era de una dieta de solo pastoreo a TMR la mayoría de AG en la grasa de la leche se estabilizaron entre 14 y 21 días del cambio de las dietas. Estos resultados indican que un periodo de acostumbramiento de 7 días es apropiado para evaluar el efecto de dietas a base de forrajes en pastoreo sobre la composición de AG en la grasa de la leche.

5.2.5 Animales experimentales

Se utilizaron 18 vacas Gyr x Pardo Suizo de segundo parto conformadas por dos grupos experimentales de 9 animales. Cada grupo estaba constituido por 3 vacas en primer (47 ± 2 días de lactancia), 3 vacas en segundo (148 ± 3 días de lactancia) y 3 vacas en el último tercio de lactancia (196 ± 3 días de lactancia). Se asignó al azar una vaca de cada tercio de lactancia en cada una de las intensidades de pastoreo.

El ordeño de las vacas se realizó con el apoyo de ternero. Se ordeñaron tres cuartos de la ubre y se dejó disponible un cuarto mamario para el consumo de leche por la cría durante 30 minutos. Para cuantificar la producción total de leche por vaca (vendible + consumida por la cría), se estimó la leche consumida por los terneros mediante la diferencia de peso antes del ordeño y 30 minutos después de haber mamado. Posteriormente los terneros se trasladaron a un potrero de pasto colosuana (*Bothriochloa pertusa*).

5.2.6 Variables medidas en las pasturas

En las pasturas se evaluó el forraje en oferta y la composición botánica en cada periodo experimental antes de entrar las vacas de la parcela (Toledo y Schultze-Kraft 1982). Se tomaron muestras de forraje, simulando el pastoreo (*pluck*) de los animales que se

secaron en horno durante 48 horas a una temperatura de 55°C para posterior análisis químico. Se realizó el análisis de proteína cruda (PC) (AOAC 2010), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest et al. 1991), grasa total por extracción con éter (EE) (AOAC 2010), degradabilidad *in situ* de la materia seca (DISMS) (Orskov et al. 1980) y perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.

La concentración de ácidos grasos en el forraje cosechado (hojas) se estimó a partir del extracto etéreo y utilizando la ecuación de Allen (2000). La concentración de AG y el perfil lipídico (porcentaje AG del total de AG) se expresó en g/kg MS.

La extracción y metilación de los ácidos grasos en los forrajes se realizó adaptando las técnicas descritas por Garces y Mancha (1993) y por Yamasaki et al. (1999). Al forraje (50 mg) se le adicionaron 2150 µl de metanol absoluto, 990 µl de tolueno, 66 µl de ácido sulfúrico al 99,9 %, 1000 µl de N, N dimetilformamida y 2 ml de nhexano; la mezcla se colocó en un baño de María (2 h a 80°C), se dejó en reposo (5 - 10 min), se agitó y se recuperó el sobrenadante. El hexano del sobrenadante se evaporó mediante corriente de Nitrógeno. Al residuo se le adicionaron 300 µl de diclorometano y se llevó a un vial con inserto cónico. Los ésteres de ácidos grasos metilados (FAMES) de la grasa de la leche y del forraje fueron cuantificados por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC2014 con auto inyector AOC20i y auto muestreador AOC20C. Los FAMES fueron separados en columna capilar (Rt 2560; 100 m x 0.25 mm di x 0,2 µm espesor de la capa; Restek®). Las temperaturas del inyector y del FID fueron 260 °C y 270 °C respectivamente. El programa de temperatura fue: 140 °C por 5 min, se incrementó 4 °C / min hasta 190 °C y se mantuvo por 32,5 min. El Split ratio fue de 1: 100 y el He fue el gas de arrastre con una presión de 40,4 psi. Los tiempos de retención fueron comparados con estándares conocidos (Food Industry FAMEX Mix cat 35007

5.2.7 Variables medidas en los animales

En el periodo de medición se registró diariamente la producción individual de leche vendible (tres cuartos mamarios) y se corrigió por grasa al 4%. En la leche se midió el contenido de proteína, grasa, lactosa, minerales, sólidos totales con la utilización de un equipo autoanalizador de leche (Lactoscan, Model MA250, AGRILAC®) previamente

calibrado. Además, se realizó extracción del suero de la leche con renina comercial para posterior análisis de nitrógeno ureico en leche (NUL) (Fawcett y Scott 1960).

Para el análisis de ácidos grasos, la extracción de la grasa en la leche se realizó a través de modificaciones a las técnicas de separación mecánica descritas por Hurley et al. (1987) y Díaz et al. (2002). Se centrifugaron 100 ml de leche (15 min a 3000 rpm) y se retiró la fracción acuosa; el sobrenadante cremoso se mezcló con 15 ml de solución detergente (50 g de hexametáfosfato de sodio y 24 ml de Tritón X100 disueltos en 1 l de agua), se agitó, se colocó en baño de María (10 min a 90 °C), nuevamente se agitó y se puso en baño de María (10 min a 90 °C). La grasa de la capa superficial se retiró con una micropipeta y se almacenó a - 20 °C. Se recolectaron 100 µl de grasa y se solubilizaron en 900 µl de diclorometano. Una alícuota de 20 µl de esa mezcla, 20 µl del reactivo de metil esterificación MethPrep II® (0,2 M m-trifluorometilfenil-trimetilamonio hidróxido en metanol (Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, USA) y 160 µl de diclorometano se adicionaron en un vial con inserto cónico.

Cálculos

Los ácidos grasos de síntesis de *novo* se cuantificaron mediante la suma de ácidos grasos menores a 16 carbonos (Rico et al. 2013). Los ácidos grasos preformados se cuantificaron mediante la sumatoria de los ácidos grasos de más de 16 carbonos (Rico et al. 2013).

El índice de actividad delta 9 desaturasa, que indica la producción de ácidos insaturados (C14:1, C16:1, C18:1 y ALC c9 t11) a partir de sustratos (C14:0, C16:0, C18:0 y C18:1 t11), se calculó con la ecuación de Gagliostro et al. (2006).

El índice de aterogenicidad, que indica la probabilidad de presentación de aterosclerosis, se calculó con base en la concentración de ácidos grasos de 12, 14 y 16 carbonos y la concentración de ácidos grasos insaturados (Ulbricht y Southgate 1991).

El índice de trombogénicidad, que indica la probabilidad de presentación de trombosis coronaria en humanos, se calculó con base en la concentración de ácidos grasos de 14,

16 y 18 carbonos, la concentración de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (omega 3 y 6) (Ulbricht y Southgate 1991).

5.2.8 Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño de Cuadrado Latino 3 x 3 reversible replicado al que se asignaron vacas en tres estados de lactancia (Amezquita 1999). Para las variables medidas en las pasturas el análisis de varianza empleando el modelo $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \beta_k + (\rho\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$, donde Y_{ijk} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto del cuadrado latino ($i = 1, 2$), ρ_j es el efecto del periodo experimental ($j = 1$ a 3), β_k es el efecto de la intensidad de pastoreo (tratamiento) ($k = 1$ a 3), $(\rho\beta)_{jk}$ es el efecto de la interacción periodo x intensidad de pastoreo ($jk = 1$ a 9) y ε_{ijk} es el error residual.

En las variables medidas en animales se realizó un análisis de varianza empleando el modelo $Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \beta_k + \theta_l + (\beta\theta)_{kl} + \varepsilon_{ijkl}$, donde Y_{ijkl} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto del cuadrado latino ($i = 1, 2$), ρ_j es el efecto del periodo experimental ($j = 1$ a 3), β_k es el efecto de la intensidad de pastoreo (tratamiento) ($k = 1$ a 3), θ_l es el efecto del tercio de lactancia ($l = 1$ a 3), $(\beta\theta)_{kl}$ es el efecto de la interacción intensidad de pastoreo x tercio de lactancia ($kl = 1$ a 9) y ε_{ijkl} es el error residual. Para el análisis se utilizó el PROC MIXED del software SAS versión 9,3 y la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

5.3 Resultados

5.3.1 Disponibilidad y composición botánica del forraje

La oferta de materia seca verde (hojas + tallo) y hojas expresadas en kilogramos por animal o por 100 kg de peso vivo por día fueron diferentes ($P < 0,05$) para las tres intensidades de pastoreo evaluadas, pero aun en la intensidad alta la oferta de MS verde y hojas no fue limitante para consumo. El pasto colosua (*B. pertusa*) estuvo presente en las pasturas utilizadas, pero su contribución a la biomasa comestible fue baja (máximo 11,8%) y similar ($P > 0,05$) en las diferentes intensidades de pastoreo (Tabla 5-1).

Tabla 5-1: Oferta de materia seca (MS), materia seca verde (MSV) y composición botánica en pastura de Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes

Variable	Intensidad de pastoreo (an/ha)			ESM	P
	Baja (1,0)	Media (2,0)	Alta (3,0)		
kg MS hojas/v/d	95,5 ^a	52,6 ^b	26,2 ^c	8,11	0,006
kg MS hojas/100 kg PV/d	23,8 ^a	12,5 ^b	6,6 ^c	2,08	0,007
kg MSV/v/d	119,1 ^a	68,8 ^b	34,7 ^c	5,41	0,001
kg MSV/100 kg PV/d	29,7 ^a	16,4 ^b	8,7 ^c	1,37	0,0009
Relación hoja : tallo	1,2	1,4	1,2	0,19	0,20
Composición botánica					
Guinea (%)	86,2	83,7	83,9	3,33	0,29
Colosuana (%)	11,8	11,0	11,3	2,52	0,89
Leguminosas (%)	0,8	0,8	0,1	0,53	0,10
Malezas (%)	1,2	4,5	4,7	2,86	0,42

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

5.3.2 Calidad del pasto Guinea cv. Tanzania

No se presentaron diferencias ($P > 0,05$) en el contenido de proteína cruda (PC), en la concentración de fibra (FDN y FDA), en el extracto etéreo y la degradabilidad *in situ* de la materia seca del pasto Guinea cv. Tanzania en las diferentes intensidades de pastoreo (Tabla 5-2). Se esperaba menores niveles de PC y digestibilidad del forraje en la intensidad de pastoreo baja, pero posiblemente por el tipo de muestreo simulando pastoreo (*pluck*) que se usó, se tendió a cosechar forraje con madurez similar en las tres intensidades de pastoreo impuestos.

Tabla 5-2: Calidad nutricional del pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes

Variable	Intensidad de pastoreo (an/ha)			ESM	P
	Baja (1,0)	Media (2,0)	Alta (3,0)		
PC (%)	12,9	14,9	12,3	1,38	0,14
FDN (%)	66,1	67,6	66,8	1,38	0,30
FDA (%)	39,4	39,4	38,5	1,79	0,40
EE (%)	1,9	2,3	2,9	1,12	0,28
DISMS (%)	58,8	63,0	62,0	3,61	0,35

PC = Proteína cruda. FDN = Fibra detergente neutro. FDA = Fibra detergente ácido. DISMS = Degradabilidad *in situ* de la materia seca. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

5.3.3 Perfil de ácidos grasos en pasto Guinea cv. Tanzania

El contenido (g/kg MS) de ácidos grasos totales y la mayoría de AG individuales fueron similares ($P>0,05$) en el pasto Guinea cv. Tanzania sometido a las tres intensidades de pastoreo. Sin embargo, en la intensidad alta (3,0 an/ha) la relación ácido linoleico/linolénico fue mayor ($P<0,05$) que en las otras dos intensidades de pastoreo. Así mismo, el contenido de ácido linoleico (C18:2) tendió a ser mayor ($P>0,10$), el contenido de precursores de ALC (linoleico + linolénico) fue numéricamente mayor, pero no significativo ($P>0,05$) y la relación linoleico / linolénico fue mayor ($P<0,05$) en la intensidad alta (Tabla 5-3).

Tabla 5-3: Contenido de ácidos grasos totales y perfil de ácidos grasos en pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes

Ácidos grasos	Intensidad de pastoreo (an/ha)			ESM	P
	Baja (1,0)	Media (2,0)	Alta (3,0)		
	g/kg MS				
AG	9,7	13,5	19,6	11,5	0,28
C14:0	0,81	1,21	1,66	0,91	0,25
C16:0	3,52	5,60	6,70	4,32	0,39
C18:0	0,28	0,44	0,61	0,48	0,51
C18:1 c9	0,88	0,65	0,69	1,43	0,20
C18:2 c9 c12	0,58	0,67	1,59	0,69	0,09
C18:3 c9 c12 c15	1,15	1,28	1,67	0,94	0,68
Precursores ¹	1,73	1,94	3,26	1,58	0,31
C18:2/C18:3	0,50 ^b	0,52 ^b	0,94 ^a	0,21	0,03

¹ Ácido linoleico + linolénico. AG = Ácidos grasos totales. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P<0,05$) según prueba de Tukey

5.3.4 Producción y composición de la leche

La producción de leche vendible, total por vaca (vendible + consumida por el ternero) y corregida por grasa al 4% fue similar ($P>0,05$) en las diferentes intensidades de pastoreo (Tabla 5-4). Como era de esperarse, la producción de leche vendible, total por vaca (vendible + consumida por el ternero) y por unidad de área (ha) y corregida por grasa al 4% fue mayor ($P<0,05$) en las vacas de primer tercio de lactancia en comparación con las vacas de segundo y último tercio (Tabla 5-4).

Tabla 5-4: Producción de leche de vacas en pastoreo en Guinea cv. Tanzania en función de intensidad de pastoreo y tercio de lactancia

Variable	Intensidad de pastoreo (an/ha)			ESM	P
	Baja (1,0)	Media (2,0)	Alta (3,0)		
Vendible (kg/v/d)	4,6	4,5	4,3	0,99	0,58
Total (kg/v/d)	6,7	6,7	6,2	1,03	0,26
Total LCG 4% (kg/v/d)	7,3	7,1	6,5	1,64	0,31
Total LCG 4% (kg/ha/d)	7,3 ^c	14,1 ^b	19,4 ^a	3,20	0,006

Variable	Tercio de lactancia			ESM	P
	Primer	Segundo	Tercero		
Vendible (kg/v/d)	5,8 ^a	3,7 ^b	4,1 ^b	0,69	0,0001
Total (kg/v/d)	8,2 ^a	5,4 ^b	5,9 ^b	0,90	0,0001
Total LCG 4% (kg/v/d)	8,5 ^a	5,9 ^b	6,7 ^b	0,80	0,0001
Total LCG 4% (kg/ha/d)	16,5 ^a	11,6 ^b	12,6 ^b	1,56	0,0001

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. LCG (Leche corregida por grasa 4%) = (0,4 x PLT) + 15 x kg G. PLT = Producción de leche total, G = Grasa kg/d. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

La intensidad de pastoreo no afectó (P>0,05) la concentración de los componentes de la leche (Tabla 5-5). Sin embargo, la concentración de sólidos totales y de grasa tendieron (P<0,10) a incrementarse a medida que progresó la lactancia. Los niveles de NUL que son reflejo de balance energía: proteína en la dieta no variaron en forma significativa en función de la intensidad de pastoreo y tercio de lactancia (Tabla 5-5).

Tabla 5-5: Calidad composicional de la leche vendible de vacas en pastoreo de Guinea cv. Tanzania en función de la intensidad de pastoreo y tercio de lactancia

Variable	Intensidad de pastoreo (an/ha)			ESM	P
	Baja (1,0)	Media (2,0)	Alta (3,0)		
Sólidos totales (%)	13,58	13,53	13,24	0,98	0,53
Proteína (%)	3,41	3,50	3,41	0,22	0,41
Grasa (%)	4,67	4,54	4,35	0,92	0,58
Lactosa (%)	4,58	4,56	4,56	0,15	0,87
Minerales (%)	0,91	0,91	0,90	0,03	0,86
NUL (mg/dl)	14,88	17,24	15,88	3,75	0,18

Variable	Tercio de lactancia			ESM	P
	Primer	Segundo	Tercero		
Sólidos totales (%)	13,04	13,47	13,84	0,31	0,06
Proteína (%)	3,37	3,44	3,51	0,07	0,19
Grasa (%)	4,18	4,53	4,86	0,27	0,09
Lactosa (%)	4,57	4,59	4,56	0,03	0,81
Minerales (%)	0,91	0,91	0,91	0,04	0,97
NUL (mg/dl)	15,18	16,53	16,29	0,98	0,51

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. NUL = Nitrógeno ureico en leche. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

5.3.5 Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche

La sumatoria de las concentraciones de los ácidos grasos C12, C14 y C16 tendió a ser mayor ($P<0,10$) en la grasa de la leche de las vacas en pasto Tanzania manejado con intensidad baja (Tabla 5-6).

Las concentraciones de ácido oleico (C18:1) y ALC (c9 t11) fueron mayores ($P<0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en las intensidades media (2,0 an/ha) y alta (3,0 an/ha), y las concentraciones de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) fueron mayores ($P<0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en la intensidad alta (3,0 an/ha). Por otra parte, la concentración de ácidos grasos saturados fue mayor ($P<0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en la intensidad baja (1,0 an/ha), pero la concentración de ácidos grasos insaturados fue mayor ($P<0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en las intensidades media (2,0 an/ha) y alta (3,0 an/ha) (Tabla 5-6).

La concentración de ácidos grasos de síntesis de *novo* fueron similares ($P>0,05$) en las intensidades de pastoreo evaluadas mientras que los ácidos grasos preformados tendieron ($P<0,10$) a ser menores en la carga media y alta. Así mismo, el índice de actividad de la delta 9 desaturasa fue mayor ($P<0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en las intensidades media (2,0 an/ha) y alta (3,0 an/ha), pero los índices de los productos y sustratos individuales fueron similares ($P>0,05$) en las intensidades de pastoreo. El índice de aterogenidad de la leche fue menor ($P<0,05$) y el índice de trombogenicidad tendió a ser menor en la intensidad media (Tabla 5-6).

Tabla 5-6: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes

Ácidos grasos	Intensidad de pastoreo (an/ha)			ESM	P
	Baja (1,0)	Media (2,0)	Alta (3,0)		
	mg/g AG				
C12:0 + C14:0 + C16:0	455,3	431,5	435,2	10,71	0,06
C16:1c9	11,5	12,5	13,6	4,63	0,41
C17:0	5,7	5,7	4,9	3,20	0,70
C18:0	123,6	117,9	121,7	18,81	0,65
C18:1 c9	192,2 ^b	211,0 ^a	202,5 ^{ab}	22,32	0,05
C18:1 t11(ATV)	34,7	38,9	38,6	7,89	0,21
C18:2 c9 c12 (AL)	7,1 ^b	6,7 ^b	9,0 ^a	1,28	0,01
C18:2 c9 t11 (ALC)	12,3 ^b	15,5 ^a	13,7 ^{ab}	3,00	0,008
C18:3 c9 c12 c15 (ALN)	5,8 ^{ab}	5,3 ^b	6,2 ^a	0,79	0,01
Relación AL/ALN	1,2 ^b	1,3 ^b	1,5 ^a	1,33	0,03
AG según saturación	mg/g AG				
Saturados	670,0 ^a	638,6 ^b	644,7 ^{ab}	36,15	0,03
Insaturados	311,5 ^b	341,7 ^a	335,9 ^{ab}	34,98	0,03
Monoinsaturados	283,1 ^b	310,1 ^a	304,0 ^{ab}	31,41	0,03
Poliinsaturados	28,4	31,6	31,9	4,83	0,06
AG según origen	mg/g AG				
De novo (< 16 C)	237,8	234,0	231,7	16,1	0,62
Preformados (> 16 C)	419,4	442,1	440,2	25,2	0,07
Índice delta 9 desaturasa	0,27 ^b	0,30 ^a	0,29 ^{ab}	0,03	0,03
C14:1/C14:0	0,04	0,06	0,04	0,009	0,13
C16:1/C16:0	0,03	0,04	0,04	0,005	0,24
C18:1/C18:0	1,61	1,83	1,71	0,11	0,19
CLA/ATV	0,36	0,41	0,36	0,03	0,22
Índice aterogenicidad	2,53 ^a	2,17 ^b	2,25 ^{ab}	0,13	0,02
Índice trombogenicidad	3,47	3,01	3,10	0,19	0,06

ATV = Ácido transvaccénico. AL= Ácido linoleico. ALC = Ácido linolénico conjugado. ALN = Ácido linolénico. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

El tercio de lactancia afectó la concentración de AG en la grasa de la leche de las vacas. La sumatoria de la concentración de los AG C12, C14 y C16 tendió a ser mayor (P<0,10) en las vacas de segundo tercio de lactancia. La concentración de ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) fue mayor (P<0,05) en las vacas de primer tercio de lactancia. Los restantes AG individuales, el ALC (c9 t11), los ácidos grasos según la saturación, origen, y el índice de actividad de la delta 9 desaturasa y de los productos y sustratos individuales en la grasa de la leche de las vacas no variaron (P>0,05) debido al tercio de lactancia. Lo mismo ocurrió con el índice de aterogenicidad y trombogenicidad (P>0,05) (Tabla 5-7).

Tabla 5-7: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en diferentes tercios de lactancia en tres intensidades de pastoreo de Guinea cv. Tanzania

Ácidos grasos	Tercios de lactancia			ESM	P	
	Primer	Segundo	Tercero			
		mg/g AG				
C12:0 + C14:0 + C16:0	433,1	454,2	434,7	7,57	0,06	
C16:1	11,7	11,5	14,4	0,93	0,13	
C17:0	5,8	5,3	5,1	0,20	0,77	
C18:0	121,7	120,9	120,6	1,77	0,98	
C18:1 c9	205,5	196,1	204,1	3,24	0,40	
C18:1 t11 (ATV)	38,2	35,6	38,4	0,13	0,51	
C18:2 c9 c12 (AL)	8,0 ^a	6,9 ^b	7,8 ^{ab}	0,35	0,02	
C18:2 c9 t11 (ALC)	13,5	13,6	14,4	0,27	0,62	
C18:3 c9 c12 c15 (ALN)	6,2 ^a	5,3 ^b	5,8 ^{ab}	0,28	0,005	
Relación AL/ALN	1,3	1,3	1,3	0,02	0,74	
AG según saturación		mg/g AG				
Saturados	646,4	660,9	645,9	4,54	0,37	
Insaturados	334,7	319,9	334,5	4,50	0,35	
Monoinsaturados	303,7	290,2	303,4	4,17	0,34	
Poliinsaturados	31,3	29,7	31,3	0,33	0,60	
AG según origen		mg/g AG				
De novo (< 16 C)	238,6	231,1	233,8	4,42	0,48	
Preformados (> 16 C)	439,8	438,1	423,8	7,51	0,26	
Índice delta 9 desaturasa	0,29	0,28	0,29	0,004	0,33	
C14:1/C14:0	0,05	0,06	0,04	0,006	0,66	
C16:1/C16:0	0,03	0,03	0,04	0,004	0,07	
C18:1/C18:0	1,72	1,68	1,75	0,08	0,83	
CLA/ATV	0,36	0,39	0,38	0,02	0,51	
Índice aterogenicidad	2,26	2,45	2,25	0,09	0,22	
Índice trombogenicidad	3,05	3,42	3,10	0,13	0,12	

ATV = Ácido transvaccénico. AL= Ácido linoleico. ALC = Ácido linolénico conjugado. ALN = Ácido linolénico. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

5.4 Discusión

En la última década ha habido interés en entender los factores que modifican el perfil lipídico de la leche debido a la importancia que este tiene sobre la salud humana (Kelly et al. 2008, Benjamin y Spener 2009, Jutzeler y Colombani. 2010, Dilzer y Park 2012). Sin embargo, existe poca información sobre cómo el manejo del pastoreo de gramíneas tropicales afecta el perfil lipídico en la grasa de vacas en el sistema doble propósito. En

este trabajo se evaluó el efecto de modificar la oferta de pasto Tanzania mediante diferentes intensidades de pastoreo (an/ha) del pasto Guinea cv. Tanzania sobre la producción, calidad composicional y perfil lipídico de la leche vacas Gyr x Pardo Suizo en diferentes etapas de lactancia.

5.4.1 Efecto de la intensidad de pastoreo en pasto Guinea cv. Tanzania sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche

El pasto Guinea cv. Tanzania fue la gramínea dominante en la composición botánica de la vegetación en las intensidades de pastoreo evaluadas. Por lo tanto, se asume que la respuesta animal medida en términos de cantidad y composición de la leche se debió principalmente a las diferentes ofertas y consumo de forraje del pasto Guinea cv. Tanzania. Por otra parte, las tres intensidades de pastoreo (1, 2 y 3 an/ha) aplicadas resultaron en ofertas de forraje contrastantes (9 a 30 kg MSV/100 kg PV/d) siendo la oferta más baja (o la intensidad de pastoreo más alta aplicada) no limitante para el consumo de vacas en pastoreo según lo reportado en la literatura (Bargo et al. 2002, Bargo et al. 2006).

En lecherías especializadas se ha evaluado el efecto de la oferta de forraje sobre la producción y calidad composicional de la leche. Los resultados de esos estudios indican que la oferta de forraje o intensidad de pastoreo es la variable que más afecta la producción de leche por animal y la concentración de proteína en la leche debido a un mayor consumo de energía (O'Brien et al. 1997, Escobar y Carulla 2003, Bargo et al. 2006, Mojica et al. 2009). En este estudio, la producción de leche y las concentraciones de los componentes de la leche medidos fueron similares ($P > 0,05$) en las diferentes intensidades de pastoreo impuestos.

Las intensidades de pastoreo utilizadas en el pasto Guinea cv. Tanzania no afectaron ($P > 0,05$) la concentración de extracto etéreo del pasto. Así mismo, el pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades de pastoreo contrastantes no varió en forma significativa en los contenidos de AG totales y de AG individuales. Sin embargo, el contenido de ácido linoleico (C18:2 c9 c12) tendió a incrementar ($P < 0,10$) en el pasto Guinea cv. Tanzania a medida que aumentó la intensidad de pastoreo, lo cual influyó en

el aporte de precursores de ALC (linoleico + linolénico). En el estudio de Mojica et al. (2017), el pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidad alta (3,0 an/ha) de pastoreo presentó mayores aportes de AG totales e individuales en comparación con los pastos cv. Mulato II y cv. Toledo.

El ácido palmítico (C16:0) fue el principal ácido graso en la grasa de la leche de las vacas en Guinea cv. Tanzania manejado con las diferentes intensidades de pastoreo (datos no presentados). El C16:0 en la leche proviene de la dieta, síntesis de *novo*, movilización del tejido adiposo y microorganismos ruminales (Neville y Picciano 1997, Barber et al. 1997). Se ha identificado que su concentración en la grasa de la leche se asocia positivamente con el aporte de la dieta (Warnjets et al. 2008) y en las diferentes intensidades de pastoreo el ácido palmítico (C16:0) fue el principal ácido graso en el pasto Tanzania. En este estudio la mayor concentración de C16:0 en la grasa de la leche en vacas alimentadas con forrajes tropicales coincide con otros estudios realizados en zonas tropicales (Mojica et al. 2013, Prieto 2015).

El ácido esteárico (C18:0) en la grasa de la leche proviene de la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3) (Chilliard y Ferlay 2004), el aporte de microorganismos ruminales (Bas et al. 2003, Varádyová et al. 2008) y la dieta (Dohme et al. 2004). En este estudio, la concentración de ácido esteárico (C18:0) en la grasa de la leche de las vacas fue similar en las intensidades de pastoreo, lo que indica que no hubo diferencias en la biohidrogenación ruminal de los ácidos grasos linoleico y linolénico. Por otra parte, la concentración de AG de síntesis de *novo* fue similar en la grasa de la leche de las vacas en pasto Guinea cv. Tanzania manejado con diferentes intensidades de pastoreo, lo cual se podría explicar por el contenido similar de FDN en el forraje en oferta (Jenkins y McGuire 2006, Calvache y Navas 2012).

En la intensidad alta (3,0 an/ha) de pastoreo del cultivar Tanzania, el forraje en oferta tendió a tener un mayor contenido de ácido linoleico, numéricamente un mayor contenido de precursores (linoleico + linolénico) de ALC y una mayor relación de ácido linoleico/linolénico, lo cual posiblemente explica la mayor concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de las vacas. Estos resultados son relevantes debido a que el contenido de ALC en la leche se asocia principalmente por el consumo total de sus

precursores (ácido linoleico + linolénico) en el alimento (Mohammed et al. 2009, León et al. 2011, Shingfield et al. 2013). Adicionalmente, Troegeler et al. (2003) encontraron que en la presencia de los dos ácidos (linoleico y linolénico) precursores de ALC (c9 t11) en la dieta de los animales, las bacterias ruminales tienen preferencia por la biohidrogenación del ácido linoleico para producir ácido transvaccénico. Esto sugiere que una mayor relación C18:2/C18:3 en la dieta genera un aumento en el contenido de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche.

5.4.2 Efecto del tercio de lactancia sobre la producción, composición y concentración de ácidos grasos en la leche

La disminución de la producción de leche a medida que avanzó la lactancia está de acuerdo con la curva de producción a través de la lactancia en vacas doble propósito (Osorio y Segura 2005, Botero y Vertel 2006). Por otra parte, en este estudio la concentración de los componentes en la leche fue similar en los tercios de lactancia, pero fue evidente la tendencia a que la concentración de sólidos totales y grasa aumentara medida que avanzó la lactancia, tal como se ha reportado en otros estudios con vacas lactantes de sistemas doble propósito (Mojica et al. 2013).

En este estudio, no se presentó una tendencia clara de disminución o aumento en la concentración de ácidos grasos, según el origen, de la leche debido al tercio de lactancia. La literatura revisada indica que los ácidos grasos derivados de la síntesis de *novo* (C4 hasta el 50% del C16) se incrementan a medida que la lactación progresa, lo cual está asociado a un balance energético positivo (Palmquist et al. 1993).

La concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de las vacas fue similar en los tercios de lactancia. Esto contrasta con estudios con vacas de lecherías especializadas alimentadas con pastos de zonas templadas, en los cuales se encontró que la concentración de ALC (c9 t11) era mayor en vacas de segundo y tercer tercio que en vacas de primer tercio (Kay et al. 2005, Stoop et al. 2009; Vargas et al. 2013).

No se encontró variación en la concentración de ácidos grasos saturados y poliinsaturados debidas a tercio de lactancia, lo cual no está de acuerdo con otros estudios. En vacas Holstein se ha reportado que en la primera parte de la lactancia

aumentan las concentraciones de ácidos saturados y disminuyen en la segunda mitad de la lactancia (Stoop et al. 2009).

5.4.3 Implicaciones del perfil de ácidos grasos sobre la salud humana

La leche producida en las tres intensidades de pastoreo en pasto Guinea cv. Tanzania presentaron mayores concentraciones de C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, concentraciones similares de C18:3 y ALC (c9 t11) y menores concentraciones de C18:0, C18:1, C18:2 en comparación con el perfil de ácidos grasos (promedio) en leche proveniente de sistemas especializados con forrajes templados en Colombia (Rico et al. 2007, León 2011, Gastón 2013, Parales 2015).

La leche producida en el pasto Guinea cv. Tanzania manejado con intensidades media y alta de pastoreo presentó las mayores concentraciones de ALC (c9 t11), de ácido oleico (C18:1) y menor índice de aterogenicidad. Estas modificaciones en el perfil lipídico de la grasa de la leche debidas a la intensidad de pastoreo del pasto Guinea cv. Tanzania trae consigo potencialmente efectos positivos en salud humana (anticarcinogénico, antiaterogénico) del ALC (c9 t11) (Bhattacharya et al. 2006, McCrorie et al. 2011, Dilzer y Park 2012), reducciones de colesterol LDL y triglicéridos y a aumentos de colesterol HDL debidas al ácido oleico (C18:1) (López 2010, Haeiwa et al. 2014) y menor probabilidad en la formación de aterosclerosis (Ulbricht y Southgate 1991). A pesar que el ALC fue mayor en la grasa de la leche de las vacas en la intensidad media y alta de pastoreo, la concentración de ALC en la carga media (15,5 mg/g AG) posiblemente generaría un efecto positivo en la reducción en el riesgo (43%) de infarto de miocardio no fatal en humanos debido a consumos de 0,33 g/d de ALC con una concentración de 15,8 mg de ALC en la grasa de la leche (Smith et al. 2015).

Analizar cada ácido graso en forma individual no es suficiente para determinar su efecto nutraceútico, por lo que se debe considerar la relación entre ácidos grasos (Ortega et al. 2013). En forma general, la reducción en la relación entre el ácido linoleico/linolénico en las dietas en humanos favorece la salud reduciendo el riesgo de presentación de enfermedades (Gómez et al. 2011). Por ejemplo, se ha sugerido que la relación ácido linoleico / linolénico en los alimentos debería ser cercano a 2,5 para reducir la

proliferación celular rectal en pacientes con cancer (Simopoulos 2002). Bajo este punto de vista, en este estudio la leche producida con Guinea cv. Tanzania en las diferentes intensidades de pastoreo ofrecería efectos benéficos sobre la salud humana por su baja relación ácido linoleico/linolénico (1,3 a 1,5).

5.5 Conclusiones

El efecto de modificar la oferta del cultivar Tanzania mediante diferentes intensidades de pastoreo que resultaron en ofertas de forraje no limitantes para el consumo de los animales, no afectó, como se esperaba, la calidad del forraje en oferta, la producción de leche individual ni la calidad composicional de la leche. Sin embargo, las concentraciones de ácido oleico (C18:1), ácido linoleico conjugado (c9 t11), ácidos insaturados fueron mayores y el índice de aterogenicidad fue menor en la grasa de la leche cuando el pasto se manejó con intensidades medias y altas de pastoreo lo que podría impartir a la leche potenciales efectos saludables.

El tercio de lactancia tuvo efecto en producción de leche (reducción a medida que aumentaban los días de lactancia), pero no afectó en forma consistente la calidad composicional ni el perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche.

5.6 Bibliografía

1. Aguilar OX, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2009. Efecto del consumo de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) o raygrass (*Lolium hybridum*) sobre la concentración de ácido linoleico conjugado y el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea. *Livestock Research for rural development*. 21. 4.
2. Allen MS. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83(7):1598-1624.
3. Amezquita M. 1999. Diseño y análisis de ensayos para evaluación de pasturas en fincas. http://www.ciat-library.ciat.cgiar.org/ciat_digital/39666.pdf
4. AOAC. 2010. Association Official of Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC international. 18th ed. AOAC International, Maryland.
5. Barber MC, Clegg RA, Travers MT, Vernon RG. 1997. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1347. 101 – 126.

6. Bargo F, Delahoy J, Schroeder G, Muller L. 2006. Milk fatty acid composition of dairy cows grazing at two pasture allowances and supplemented with different levels and sources of concentrate. *Anim Feed Sci Technol.* 125:17-31.
7. Bargo F, Muller LD, Delahoy JE, Cassidy TW. 2002. Milk response to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. *J. Dairy Sci.*; 85: 1777-1792.
8. Bas P, Archimede H, Rouzeau A, Sauvant D. 2003. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: Effect of concentration and type of forage. *J. Dairy Sci.* 86: 2940 – 2948.
9. Benjamin S, Spener F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition and Metabolism.* 6:36 doi:10.1186/1743-7075-6-36.
10. Bessa RJB, Silva J, Ribeiro JMR, Portugal AB. 2000. Retículo rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. *Livestock Production Science.* 63: 201-211.
11. Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G. 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *Journal of Nutritional Biochemistry* 17. 789 – 810.
12. Botero L, Vertel M. 2006. Modelo matemático aplicado a la curva de lactancia en ganado vacuno doble propósito. *Rev. MVZ. Córdoba* 11 (1): 759-765.
13. Calvache I, Navas A. 2012. Factores que influyen en la calidad composicional de la leche. *REv. Cienc. Anim.* 5: 73 – 85.
14. Chilliard Y, Ferlay A. 2004. Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 44. 467 – 492.
15. Corl B, Baumgard L, Dwyer D, Griinari J, Phillips B, Bauman D. 2001. The role delta 9 desaturase in the production of cis-9 trans-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.* 12 (11): 622 – 630.
16. CORPOICA. 2002. Atlas de los sistemas de producción bovina. Módulo Región Caribe. Plan de Modernización Tecnológica de la Ganadería Bovina. P 86.
17. Dhiman TR, Anand GR, Satter LD, Pariza MW. 1999. Conjugated Linoleic Acid Content of milk from cows fed Different Diets, *J Dairy Science.* 82: 2146-2156.
18. Díaz GG, Gutiérrez R, Pérez N, Vega S, León S, Gonzalez M, Prado G, Urbán G, Ramírez A, Pinto M. 2002. Detección de adulteraciones en la grasa de leche pasteurizada mexicana. *Rev. Salud Anim.* 24(1):54-59.
19. Dilzer A, Park Y. 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 52: 6. 488 – 513.

20. Dohme F, Machmuller A, Sutter F, Kreuzer M. 2004. Digestive and metabolic utilization of lauric, myristic and stearic acid in cows, and associated effects on milk fat quality. *Archives of Animal Nutrition*. Vol. 58 (2). Pp 99 – 116.
21. Elgersma A, Ellen G, Van Der Horst H, Boer H, Dekker P, Tamminga S. 2004. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. *Animal Feed Science and Technology*. 117: 13 – 27.
22. Escobar A, Carulla J. 2003. Efecto de la oferta de forraje sobre los parámetros productivos y composicionales de la leche en la sabana de Bogotá. *Rev Col Cienc Pec Vol. 16, Suplemento*.
23. Fawcett B, Scott JE. 1960. A rapid and precise method for determination of urea. *J. Clin. Path.* 13:156.
24. Ferlay A., Martin B, Pradel P, Coulon JB, Chilliard Y. 2006. Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in Tarentaise and Montbeliarde cow breeds. *Journal of Dairy Science*, 89, 4026–4041.
25. Gagliostro G, Rodriguez A, Pellegrini P, Gatti P, Musset G, Castañeda R, Colombo A, Chilliard Y. 2006. Efectos del suministro de aceite de pescado solo o en combinación con aceite de girasol sobre las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y omega 3 (n-3) en leche de cabra. *Rev. Argent. Prod. Anim.* 26:71-87.
26. Garcés R, Mancha M. 1993. One step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. *Anal. Biochem.* 211:139–143.
27. Gastón AC, Pabón ML, Carulla JE. 2014. Concentration of trans-vaccenic and rumenic acids in the milk from grazing cows supplemented with palm oil, rice bran or whole cottonseed. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 43: 6. 315 – 326.
28. Gómez C, Bermejo L, Loria V. 2011. Importance of a balance omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. *Nutritional recommendations*. *Nutr. Hosp.* 26 (2): 323 – 329.
29. Haeiwa H, Fujita T, Saitoh Y, Miwa N. 2014. Oleic acid promotes adaptability against oxidative stress in 3T3-L1 cells through lipohormesis. *Mol. Cell Biochem.* 386: 73 – 83.
30. Hurley WL, Warner GJ, Grummer RR. 1987. Changes in triglyceride fatty acid composition of mammary secretions during involution. *J. Dairy Sci.* 70(11):2406-2410.
31. Huth P, Park K. 2012. Influence of dairy product and milk fat consumption on cardiovascular disease risk: A review of the evidence. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 3: 266-285.

32. Jeffery HJ. 1972. The length of change-over periods in change-over designs with grazing cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 10: 691 – 693.
33. Jenkins TC, McGuire MA. 2006. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*. 89: 1302-1310.
34. Jutzeler R, Colombani P. 2010. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid and estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal*. 20. 433 – 448.
35. Kay JK, Weber WJ, Moore CE, Bauman DE, Hansen LB. 2005. Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 83: 3886-3893.
36. Kelly ML, Belly JR, Dwyer DA, Griinari JM, Chouinard PY, Van Amburgh ME, Bauman DE. 2008. Dietary Fatty Acid Sources Affect Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk from Lactating Dairy Cows. *The Journal of Nutrition*. 128: 881 – 885.
37. Kratz M, Baars T, Guyenet S. 2013. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur. J. Nutr.* 52: 1-24.
38. León CJM. 2011. Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche. Tesis de maestría en producción animal. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.
39. López E. 2010. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological Research*. 61: 200-207.
40. McCrorie T, Keaveney E, Wallace J, Binns N. 2011. Human health effects of conjugated linoleic acid from milk and supplements. *Nutrition Research Reviews*. 24: 206 – 227.
41. Mohammed R, Stanton CS, Kennelly JJ, Kramer JKG, Mee JF, Glimm DR, O'Donovan M, Murphy JJ. 2009. Grazing cows are more efficient than zero-grazed and grass silage fed cows in milk rumenic acid production. *Journal of Dairy Science*. 92: 3874 – 3893.
42. Mojica JE, Castro E, Carulla J, Lascano C. 2017. Efecto de gramíneas tropicales y tercio de lactancia sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas en pastoreo en el trópico seco. En proceso de publicación.
43. Mojica JE, Castro E, León J, Cárdenas E, Pabón ML, Carulla JE. 2009. Efecto de la oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) sobre la producción y calidad composicional de la leche bovina. *Livestock Research for Rural Development*. 21 (1).

44. Mojica RJE, Castro RE, Silva ZJ, Hanzel HC, Garcia QL. 2013. Producción y calidad composicional de la leche en ganaderías doble propósito del departamento del Cesar. Corpoica. 72 p.
45. Neville, M. C. and Picciano, M. F. Regulation of milk lipid secretion and composition. *Annu. Rev. Nutr.* 17: 159-184. 1997.
46. O'Brien B, Murphy JJ, Conolly JF, Mehra RK, Guinee P, Stakelum J. 1997. Effect of altering of dairy herbage allowance in mid lactation of the composition and processing characteristics. *Journal of Dairy Research.* 64:621-626.
47. Orskov ER, Deb Howell FD, Mould F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production.* 5:3.
48. Ortega R, Espinoza J, Palacios E, Palacios A, Arjona O, Murillo B, Rivera F. 2013. Perfil de ácidos grasos en leche de vacas Chinampas (*Bos Taurus*) alimentadas con forraje fresco de matorral sarcocauléscente o heno de alfalfa. *Arch. Med.* 45: 45 – 51.
49. Osorio AMM, Segura CJC. 2005. 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. *Téc. Pecu. Méx.* 43 (1): 127-137.
50. Palmquist DL, Beaulieu AD, Barabano DM. 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76(6):1753-1771.
51. Parales J. 2015. Efecto de la suplementación de aceites vegetales y sus mezclas sobre la fermentación ruminal y el perfil de ácidos grasos en leche. Tesis de maestría en Producción Animal. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá.
52. Prieto E. 2015. Efecto de la suplementación con aceites vegetales a vacas pastoreando con/sin sistema silvopastoril intensivo con leucaena sobre los ácidos grasos en la leche y la producción de metano *in vitro*. Tesis de Doctorado en Ciencias Animales. Universidad de Antioquia.
53. Rego O, Cabrita A, Rosa H, Anes S, Duarte V, Fonseca A, Vouzela C, Rocha F, Bessa R. 2016. Changes in milk production and milk fatty acid composition of cows switched from pasture to a total mixed ration diet and back to pasture. *Italian Journal of Animal Science.* 15 (1): 76 – 86.
54. Rico DE. 2013. Recovery of normal ruminal biohydrogenation and the novo fatty acid synthesis following induction of milk fat depression in dairy cows. Tesis de doctorado. Universidad de Pensilvania. 174 p.
55. Rico JE, Moreno B, Pabón ML, Carulla J. 2007. Composición de la grasa láctea de la sabana de Bogotá con énfasis en ácido ruménico - CLA cis-9, trans-11. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.* 20:30-39.
56. SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Versión 9,3 Cary, NC, USA.

57. Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal* (2013), 7: s1, pp 132–162.
58. Simopoulos A. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother.* 56: 365 - 379.
59. Smith L, Baylin A, Campos H. 2010. Conjugated linoleic acid in adipose tissue and risk of myocardial infarction. *Am J Clin Nutr.* 92: 34 – 40.
60. Siri P, Sin Q, Hu F, Krauss R. 2010. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 91: 535- 546.
61. Soedamah S, Ding L, Al Delaimy K, Hu B, Engberink M, Willett W, Geleijnse J. 2011. Milk and dairy consumption and incidence of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose response meta-analysis of prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 93: 158-71.
62. Stanton C, Lawless F, Kjellmer G, Harrington D, Devery R, Connolly JF, Murphy J. 1997. Dietary Influences on Bovine Milk cis-9, trans-11-ConjugatedLinoleic Acid Content. *Journal of Food Science.* 62. 5. 1083 – 1086.
63. Stoobs TH, Sandland RL. 1972. The use of a latin square change – over design with dairy cows to detect differences in the quality of tropical pastures. *Australian Journal of Experimental Agricultural and Animal Husbandry.* 12: 463 – 469.
64. Stoop WM, Bovenhuis H, Heck JML, Van Arendock JAM. 2009. Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein – Friesian cows. *Journal of Dairy Science.* 92:1469-1478.
65. Toledo JM, Schultze-Kraft R. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. CIAT, Cali, Colombia, 169 p.
66. Troegeler MA, Nicot MC, Bayourthe C. 2003. Effects of pH and concentrations of linoleic acid linolénico acids on extent and intermediates of ruminal biohydrogenation in vitro. *Journal of Dairy Science.* 86. 4054 – 4063.
67. Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet.* 338(8773):985-992.
68. Van Soest PJ, Robertson J, Lewis M. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
69. Varádyová Z, Kisidayova S, Siroka P, Jalc D. 2008. Comparison of fatty acid composition of bacterial and protozoal fractions in rumen fluid of sheep fed diet supplemented with sunflower, rapeseed and linseed oils. *Anim. Feed Sci. and Technol.* 144 (1-2): 44 – 54.

-
70. Vargas JM, Mojica JE, Pabón MR, Carulla J. 2013. Oferta de pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), tercio de lactancia y perfil de ácidos grasos lácteos. *Rev.MVZ Córdoba* 18(Supl):3681-3688.
 71. Warnjats JL, Robinson PH, Galo E, DePeters EJ, Howes D. 2008. Effects of feeding supplemental palmitic acid (C16:0) on performance and milk fatty acid profile of lactating dairy cows under summer heat. *Animal Feed Science and Technology*. 140: 241-257.
 72. Yamasaki M, Kishihara K, Ikeda I, Sugano M, Yamada K. 1999. A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *J. American Oil Chemists' Society*. 76(8):933-938.

6.Efecto de la suplementación con heno de leguminosas tropicales sobre el perfil de ácidos grasos en leche de vacas en pastoreo en época seca

Resumen

Se realizaron en época seca dos experimentos de pastoreo para evaluar el efecto de la suplementación con heno de leguminosas tropicales sobre la producción, la calidad composicional de la leche y el perfil de ácidos grasos en la grasa láctea en vacas Gyr x Pardo Suizo en una pastura de Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) no limitante en forraje disponible. En el primer experimento se evaluó la suplementación con heno de tres leguminosas (*Canavalia brasiliensis*, *Clitoria ternatea*, *Leucaena leucocephala*) y en el segundo experimento se evaluaron tres niveles de inclusión (0,5; 1,0 y 1,5% materia seca (MS) según peso vivo (PV)) de heno de *Canavalia brasiliensis*. Para cada experimento se seleccionaron 8 vacas en primer tercio de lactancia distribuidas en un diseño de Cuadrado Latino 4 x 4 reversible replicado. El ácido palmítico (C16:0) y los precursores (linoleico + linolénico) de ácido linoleico conjugado (c9 t11) fueron los principales ácidos grasos (AG) del pasto Colosuana y henos de leguminosas. En el primer experimento las tres especies de leguminosa suplementadas como heno no afectaron ($P>0,05$) la producción, calidad composicional de la leche ni la mayoría de AG en la grasa de la leche. En el segundo experimento, la producción de leche vendible fue mayor ($P<0,05$) con la inclusión de heno de *C. brasiliensis* al 1,5% MS del PV, pero no se modificó en forma significativa la calidad composicional de la leche ni la mayoría de AG en la grasa de la leche. Se concluye que la suplementación con henos de diferentes especies de leguminosa y en diferentes niveles de oferta no modificaron la calidad composicional y la concentración de ácido linoleico conjugado (c9 t11) en la grasa de la leche de vacas en pasturas de Colosuana con forraje no limitante en la época seca.

Palabras claves: ácido linoleico conjugado, bovinos, doble propósito, grasa láctea

Effect of supplementing tropical legume hay on fatty acid profile in milk of grazing cows in the dry season

Abstract

Two grazing experiments were conducted in the dry season to evaluate the effect of supplementation of tropical legume hay on milk production, milk composition and fatty acid profile in milk fat of cows grazing Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) not limiting in forage availability. In the first experiment the effect of supplementation of hay of three legume species (*Canavalia brasiliensis*, *Clitoria ternatea*, *Leucaena leucocephala*) was evaluated. In a second experiment the inclusion of three levels (0,5; 1,0 and 1,5% DM of LW) of *Canavalia brasiliensis* hay were evaluated. In each experiment 8 Gyr x Brown Swiss cows in early lactation were distributed in a 4 x 4 Latin Square reversible replicated design. Palmitic acid (C16:0) and precursors (linoleic + linolenic) of conjugated linoleic acid (c9 t11) were the main fatty acids in the grass and legume hays. Results showed that the three legume hay species supplemented to grazing cows did not affect ($P>0,05$) milk production, milk composition and most fatty acids (FA) in milk fat. In another experiment milk produced was higher ($P<0,05$) with the supplementation of 1,5% DM of BW of *C. brasiliensis* hay, but did not affect ($P>0,05$) milk composition and most FA in milk fat. It is concluded that supplementing hay of different legume species and legume hay at different levels of offer did not affect ($P>0,05$) the concentration of CLA (c9 t11) in the milk fat of cows grazing pastures of Colosuana in the dry season where forage availability was not limiting.

Key words: conjugated linoleic acid, cattle, dual purpose, milk fat

6.1 Introducción

El pasto Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) es una gramínea naturalizada predominante en la región Caribe que se caracteriza por periodos secos prolongados (Sierra et al. 1986, Piñeros et al. 2011). El periodo de sequía afecta negativamente la producción de leche en pasto Colosuana debido a la baja disponibilidad de forraje y niveles deficientes de proteína (Cajas et al. 2004, Mojica et al. 2013). La utilización de leguminosas como heno es una alternativa para compensar el déficit en cantidad y calidad del forraje ofrecido en pastoreo en la época de mínima precipitación (Fujisaka 2005).

La utilización de leguminosas tropicales en la alimentación de vacas en sistemas doble propósito ha tenido impacto positivo sobre la producción de leche, poco efecto sobre sus componentes (Roncallo et al. 2009, Bernal et al. 2008), pero no se conoce el efecto sobre la composición de los ácidos grasos (AG) de la leche. En contraste, estudios realizados en lecherías especializadas indican que leguminosas como *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Lotus corniculatus* pueden modificar la composición de la grasa en la leche, principalmente el contenido de ácido linoleico conjugado (ALC c9 t11) (Collomb et al. 2002a, Collomb 2002b).

A pesar que existe controversia sobre el efecto de los ácidos grasos saturados como factores de riesgo en la presentación de enfermedades cardiovasculares (Siri et al. 2010, Soedamah et al. 2011, Huth y Park 2012; Kratz et al. 2013), se acepta que algunos ácidos grasos poliinsaturados en la leche como el ácido linoleico conjugado (ALC c9 t11) tienen efectos positivos sobre la salud humana (Jutzeler y Colombani 2010, Dilzer y Park 2012).

En la literatura revisada no se encontraron estudios sobre el efecto de la suplementación con leguminosas tropicales en el perfil de ácidos grasos en la leche de vacas en el sistema de producción doble propósito. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con leguminosas tropicales como heno sobre la producción de leche, calidad composicional (sólidos totales, proteína y grasa) y perfil lipídico en la grasa de la leche en vacas del sistema doble propósito del trópico seco en pastoreo de Colosuana.

6.2 Materiales y métodos

6.2.1 Aval comité de bioética

La investigación contó con la aprobación del comité de bioética de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional (Acta 08, 6 septiembre del 2012) en lo relacionado con el cumplimiento de las normas nacionales e internacionales de protección de los derechos de los animales y el uso y cuidado de animales para la experimentación.

6.2.2 Localización

El experimento se desarrolló en la Finca San Carlos, ubicada a 9° 50' 19" de latitud norte y 73° 22' 54" de longitud Oeste en el Municipio de San Diego en la microrregión Valle del Cesar del Departamento del Cesar, Colombia. En la zona se presenta una temperatura promedio anual de 28,7 °C, humedad relativa de 70% y una precipitación anual promedio de 1600 mm con distribución bimodal de los meses de mayo a junio y de septiembre a diciembre. Presenta suelos superficiales a profundos, bien drenados de fertilidad moderada a alta característicos de la zona agroecológica cj (Corpoica 2002).

6.2.3 Experimentos y tratamientos

Se realizaron dos (2) experimentos de suplementación con heno de leguminosas en vacas Gyr x Pardo Suizo en pastoreo de Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en época seca (enero - febrero de 2014; 5 mm total de precipitación). En el experimento 1, se evaluó la suplementación con tres leguminosas (*Canavalia brasiliensis*, *Clitoria ternatea*, *Leucaena leucocephala*) henificadas en una oferta diaria de 1,0% de MS según el peso vivo de los animales. En el experimento 2, se evaluaron tres niveles (0,5; 1,0 y 1,5 MS según el peso vivo de los animales) de suplementación con heno de *Canavalia brasiliensis*. En cada experimento se tuvo como tratamiento testigo vacas pastoreando Colosuana sin suplementación con heno.

6.2.4 Manejo de las pasturas

En cada experimento se utilizaron ocho (8) hectáreas de pasto Colosuana para el pastoreo de los animales, las cuales se dividieron en 8 parcelas de 1 ha cada una con cerca eléctrica. Se asignó al azar una vaca a cada parcela. Tres meses antes de iniciar la época de mínima precipitación, se realizó un pase de cincel en las pasturas de Colosuana, se aplicaron 25 kg/ha de nitrógeno y 13 kg/ha de cloruro de potasio con el objetivo de tener abundante heno en pie al momento de iniciar los experimentos.

6.2.5 Elaboración y manejo de heno de leguminosas

Se estableció una hectárea de cada leguminosa para la producción de forraje y posterior conservación en forma de heno. Para lograrlo, se realizó un pase de cincel y dos pases de rastra. La Leucaena se sembró a 2,0 m entre surcos y 2,0 m entre plantas y la Canavalia y Clitoria se sembró a 0,5 m entre plantas y 0,5 m entre surcos. Se aplicaron 50 kg/ha de superfosfato triple; 25 kg/ha de cloruro de potasio y elementos menores (1,2 kg/ha de azufre; 5 kg/ha boro, 1,0 kg/ha de cobre; 3,4 kg/ha de silicio y 3,0 kg/ha de zinc).

El forraje de las leguminosas se cortó en forma manual finalizando la época de lluvia (noviembre de 2013; 192 mm total de precipitación). El forraje de Canavalia se cosechó en el inicio de la floración (90 días después de germinación), el de Clitoria se cosechó a los 45 días de emergencia de las plantas y el forraje de Leucaena se cosechó a los 80 días de rebrote posterior a un corte de uniformización. La Canavalia y Clitoria se cosechó realizando un corte a 5 a 10 cm sobre el del nivel del suelo. La Leucaena se cosechó a una altura de 80 cm del nivel del suelo seleccionando los rebrotes con tallos consumibles por los animales (< 3 mm de diámetro).

El forraje cortado de cada leguminosa fue expuesto al sol sobre un plástico para el secado durante 3 días hasta que presentó un contenido de materia seca superior al 88%. Finalmente, el forraje henificado de cada leguminosa fue almacenado en bolsas plásticas y colocadas sobre estibas en una bodega.

6.2.6 Animales experimentales

En cada uno de los experimentos se utilizaron ocho (8) vacas Gyr x Pardo Suizo de segundo parto en primer tercio de lactancia. El ordeño de las vacas se realizó con el apoyo de ternero. Se ordeñaron tres cuartos de la ubre y se dejó disponible un cuarto mamario para el consumo de leche por la cría durante 30 minutos. Para cuantificar la producción total de leche por vaca (vendible + consumida por la cría), se estimó la leche consumida por los terneros mediante la diferencia de peso antes del ordeño y 30 minutos después de haber mamado.

Luego del ordeño se ofrecieron a los animales las cantidades de heno especificadas en los tratamientos de cada experimento. Los animales tuvieron acceso al heno en comederos individuales durante tres horas. Al heno se le adicionó melaza al 3% con base en la cantidad ofrecida de materia seca de la leguminosa y se ofreció sal mineralizada a voluntad a los animales en los lotes de pastoreo.

6.2.7 Variables medidas en pasturas y henos

En las pasturas de Colosuana, se evaluó el forraje en oferta y la composición botánica en cada periodo experimental antes de entrar las vacas de la parcela (Toledo y Schultze-Kraft 1982). Se tomaron muestras de forraje de Colosuana, simulando el pastoreo (*pluck*) de los animales, y muestras de los henos de leguminosas que se secaron en horno durante 48 horas a una temperatura de 55°C para posterior análisis químico.

En las muestras de gramínea y de leguminosas se realizó el análisis de proteína cruda (PC) (AOAC 2010), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) (Van Soest et al. 1991), grasa total por extracción con éter (EE) (AOAC 2010), degradabilidad *in situ* de la materia seca (DISMS) (Orskov et al. 1980) y perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases. El consumo de heno se midió por diferencia de peso entre oferta y rechazo por cada vaca.

La concentración de ácidos grasos en los forrajes se estimó a partir del extracto etéreo y utilizando la ecuación de Allen (2000). El contenido de AG y el perfil lipídico (porcentaje AG del total de AG) se expresó en g/kg MS.

La extracción y metilación de los ácidos grasos en los forrajes se realizó adaptando las técnicas descritas por Garces y Mancha (1993) y por Yamasaki et al. (1999). Al forraje (50 mg) se le adicionaron 2150 µl de metanol absoluto, 990 µl de tolueno, 66 µl de ácido sulfúrico al 99,9 %, 1000 µl de N, N dimetilformamida y 2 ml de nhexano; la mezcla se colocó en un baño de María (2 h a 80°C), se dejó en reposo (5 - 10 min), se agitó y se recuperó el sobrenadante. El hexano del sobrenadante se evaporó mediante corriente de Nitrógeno. Al residuo se le adicionaron 300 µl de diclorometano y se llevó a un vial con inserto cónico. Los ésteres de ácidos grasos metilados (FAMES) de la grasa de la leche y del forraje fueron cuantificados por cromatografía de gases. Se utilizó un cromatógrafo de gases marca Shimadzu® modelo GC2014 con auto inyector AOC20i y auto muestreador AOC20C. Los FAMES fueron separados en columna capilar (Rt 2560; 100 m x 0,25 mm di x 0,2 µm espesor de la capa; Restek®). Las temperaturas del inyector y del FID fueron 260 °C y 270 °C respectivamente. El programa de temperatura fue: 140 °C por 5 min, se incrementó 4 °C / min hasta 190 °C y se mantuvo por 32,5 min. El Split ratio fue de 1: 100 y el He fue el gas de arrastre con una presión de 40.4 psi. Los tiempos de retención fueron comparados con estándares conocidos (Food Industry FAMEX Mix cat 35007).

6.2.8 Variables medidas en los animales

En el periodo de medición (4 días) se registró diariamente la producción individual de leche vendible (tres cuartos mamarios), producción total de leche y total corregida por grasa al 4%. En la leche se midió el contenido de proteína, grasa, lactosa, minerales, sólidos totales con la utilización de un equipo autoanalizador de leche (Lactoscan, Model MA250, AGRILAC®) previamente calibrado. Además, se realizó extracción del suero de la leche con renina comercial para posterior análisis de nitrógeno ureico en leche (NUL) (Fawcett y Scott 1960).

Para el análisis de ácidos grasos, la extracción de la grasa en la leche se realizó a través de modificaciones a las técnicas de separación mecánica descritas por Hurley et al. (1987) y Díaz et al. (2002). Se centrifugaron 100 ml de leche (15 min a 3000 rpm) y se retiró la fracción acuosa; el sobrenadante cremoso se mezcló con 15 ml de solución detergente (50 g de hexametáfosfato de sodio y 24 ml de Tritón X100 disueltos en 1 l de

agua), se agitó, se colocó en baño de María (10 min a 90 °C), nuevamente se agitó y se puso en baño de María (10 min a 90 °C). La grasa de la capa superficial se retiró con una micropipeta y se almacenó a – 20 °C. Se recolectaron 100 µl de grasa y se solubilizaron en 900 µl de diclorometano. Una alícuota de 20 µl de esa mezcla, 20 µl del reactivo de metil esterificación MethPrep II® (0,2 M m-trifluorometilfenil-trimetilamonio hidróxido en metanol (Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, USA) y 160 µl de diclorometano se adicionaron en un vial con inserto cónico.

Cálculos

Los ácidos grasos de síntesis de *novo* se cuantificaron mediante la suma de ácidos grasos menores a 16 carbonos (Rico et al. 2013). Los ácidos grasos preformados se cuantificaron mediante la sumatoria de los ácidos grasos de más de 16 carbonos (Rico et al. 2013).

El índice de actividad delta 9 desaturasa, que indica la producción de ácidos insaturados (C14:1, C16:1, C18:1 y ALC c9 t11) a partir de sustratos (C14:0, C16:0, C18:0 y C18:1 t11), se calculó con la ecuación de Gagliostro et al. (2006).

El índice de aterogenicidad, que indica la probabilidad de presentación de aterosclerosis, se calculó con base en la concentración de ácidos grasos de 12, 14 y 16 carbonos y la concentración de ácidos grasos insaturados (Ulbricht y Southgate 1991).

El índice de trombogenicidad, que indica la probabilidad de presentación de trombosis coronaria en humanos, se calculó con base en la concentración de ácidos grasos de 14, 16 y 18 carbonos, la concentración de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (omega 3 y 6) (Ulbricht y Southgate 1991).

6.2.9 Diseño experimental y análisis estadístico

En cada uno de los experimentos se utilizó un diseño de Cuadrado Latino 4 x 4 reversible replicado (Amezquita 1999). Cada periodo experimental fue de 14 días, de los cuales 10 días fueron de acostumbamiento y 4 días de medición. Para las variables medidas en las pasturas el análisis de varianza empleando el modelo $Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \beta_k + (\rho\beta)_{jk} +$

ϵ_{ijk} , donde Y_{ijk} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto del cuadrado latino ($i = 1, 2$), ρ_j es el efecto del periodo experimental ($j = 1$ a 4), β_k es el efecto del tratamiento ($k = 1$ a 4), $(\rho\beta)_{jk}$ es el efecto de la interacción periodo x tratamiento ($jk = 1$ a 9) y ϵ_{ijk} es el error residual.

En las variables medidas en animales se realizó un análisis de varianza empleando el modelo $Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \rho_j + \beta_k + \theta_l + \epsilon_{ijkl}$, donde Y_{ijkl} es la variable de interés, μ es el promedio general, α_i es el efecto del cuadrado latino ($i = 1, 2$), ρ_j es el efecto del periodo experimental ($j = 1$ a 4), β_k es el efecto del tratamiento ($k = 1$ a 4), θ_l es el efecto del animal ($l = 1, 2$) y ϵ_{ijkl} es el error residual. Para el análisis se utilizó el PROC MIXED del software SAS versión 9,3 y la comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

6.3 Resultados

6.3.1 Experimento 1

Disponibilidad y composición botánica del forraje

La oferta de materia seca por hectárea de pasto Colosuana en la época seca en que se realizó el experimento fue similar ($P > 0,05$) en los tratamientos evaluados y superó los 2000 kg MS/ha como consecuencia de un periodo de descanso de 3 meses para lograr una cantidad aceptable y no limitante para el consumo de forraje en época seca (Tabla 6-1). En la composición botánica de las pasturas, la especie principal fue el pasto Colosuana siendo la contribución de leguminosas y otras especies baja (Tabla 6-1).

Tabla 6-1: Oferta de materia seca (MS) y composición botánica en pasturas de Colosuana en los diferentes tratamientos de suplementación con heno de leguminosas

Variable	Tratamientos				ESM	P
	Testigo	Canavalia	Clitoria	Leucaena		
kg MS/ha	2291,0	2036,0	2145,0	2325,0	308,4	0,36
Composición botánica						
Colosuana (%)	87,8	87,8	87,8	87,9	2,42	0,99
Leguminosas (%)	2,5	2,5	3,2	3,3	0,89	0,56
Otras especies (%)	9,6	9,7	9,0	8,8	2,11	0,94

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Consumo de heno

Se ofreció 4,5 kg/v/d de heno (MS = 88%) de cada leguminosa con base en el peso promedio de los animales (395 kg), pero los consumos de materia seca de heno de las tres especies de leguminosa no superaron un (1) kg de forraje seco por animal/día. Sin embargo, el consumo de MS de heno de Clitoria fue mayor ($P < 0,05$) en comparación con las demás leguminosas, lo que generó una mayor ($P < 0,05$) ingestión de nutrientes (Tabla 6-2). Con base en el consumo de proteína cruda, los henos de Canavalia, Clitoria y Leucaena suplieron en 9,3; 16,8 y 10,6% respectivamente, los requerimientos diarios de proteína cruda por animal (807 g) para mantenimiento y producción de leche (NRC 2001).

Tabla 6-2: Consumo de materia seca y de nutrientes de henos de Clitoria, Canavalia y Leucaena utilizadas para suplementar vacas pastoreando pasto Colosuana

Consumo	Canavalia	Clitoria	Leucaena	ESM	P
Materia seca (kg/d)	0,44 ^b	0,74 ^a	0,51 ^b	0,13	0,005
Proteína cruda (g/d)	75,4 ^b	135,7 ^a	85,3 ^b	23,5	0,002
FDN (g/d)	248,8 ^b	411,5 ^a	266,3 ^b	71,7	0,004
FDA (g/d)	175,2 ^b	284,0 ^a	189,0 ^b	49,7	0,005
EE (g/d)	7,8 ^b	17,8 ^a	9,5 ^b	3,04	0,001
AG (g/d)	3,6 ^b	11,1 ^a	4,7 ^b	0,64	0,0001

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Calidad y perfil de ácidos grasos en el pasto Colosuana y heno de leguminosas

Como se esperaba, los henos de leguminosas presentaron mayores ($P < 0,05$) contenidos de proteína cruda y menores ($P < 0,05$) contenidos de FDN y FDA que el pasto Colosuana. Sin embargo, el contenido de EE del heno de Canavalia y Leucaena fue similar ($P > 0,05$) al del pasto Colosuana. El heno de Clitoria presentó el mayor contenido de EE en comparación con los otros henos de leguminosas y que el pasto Colosuana (Tabla 6-3).

El ácido palmítico (C16:0) y los precursores de ALC (linoleico + linolénico) fueron los principales ácidos grasos en el pasto Colosuana y henos de leguminosa. Por otra parte, el pasto Colosuana presentó un mayor contenido de ácido esteárico (C18:0) y tendió ($P < 0,10$) a presentar mayores contenidos de ácido linoleico (C18:2) y precursores de ALC (linoleico + linolénico) que los henos de leguminosas (Tabla 6-3).

El heno de Clitoria presentó mayor ($P < 0,05$) contenido de AG totales, palmítico (C16:0), oleico (C18:1) en comparación con los demás henos de leguminosas y el pasto Colosuana. El heno de Leucaena presentó el menor ($P < 0,05$) contenido de ácido esteárico (C18:0) (Tabla 6-3).

Tabla 6-3: Calidad nutricional y perfil de ácidos grasos en pasto Colosuana y heno de leguminosas suplementadas a vacas

Componente	Colosuana	Canavalia	Clitoria	Leucaena	ESM	P
Calidad nutricional						
PC (%)	4,2 ^b	16,9 ^a	18,2 ^a	16,6 ^a	1,61	0,0001
FDN (%)	74,5 ^a	55,8 ^b	55,2 ^b	51,8 ^c	1,33	0,0001
FDA (%)	45,0 ^a	39,4 ^b	38,1 ^b	36,8 ^b	2,88	0,0001
EE (%)	1,8 ^b	1,8 ^b	2,3 ^a	1,8 ^b	0,16	0,0001
DISMS (%)	43,1 ^b	55,2 ^a	56,8 ^a	40,6 ^b	3,45	0,0001
Ácidos grasos						
			g/ kg MS			
AG totales	8,35 ^b	8,22 ^b	13,89 ^a	9,25 ^b	1,73	0,0001
C14:0	0,44	0,50	0,51	0,56	0,17	0,58
C16:0	2,24 ^b	1,86 ^b	5,38 ^a	2,45 ^b	0,57	0,0001
C18:0	0,69 ^a	0,26 ^b	0,36 ^b	0,13 ^c	0,17	0,0001
C18:1 c9	0,53 ^c	2,02 ^b	2,39 ^a	1,90 ^b	0,25	0,0001
C18:2 c9 c12	1,08	0,68	0,67	0,85	0,33	0,07
C18:3 c9 c12 c15	1,02	0,82	0,87	0,97	0,17	0,12
Precusores ¹	2,01	1,50	1,55	1,83	0,46	0,06
C18:2/C18:3	1,06	0,79	0,77	0,93	0,29	0,20

¹ Ácido linoleico + linolénico. PC = Proteína cruda. FDN = Fibra detergente neutro. FDA = Fibra detergente ácido. EE = Extracto etéreo. DISMS = Degradabilidad *in situ* de la materia seca. AG = Ácidos grasos. ESM = Error estándar de la media. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Producción y calidad composicional de la leche

La producción de leche vendible, total y total corregida por grasa al 4% fue similar ($P > 0,05$) entre tratamientos (Tabla 6-4). Sin embargo, la producción de leche total de las vacas suplementadas con heno de Canavalia, Clitoria y Leucaena pastoreando Colosuana se incrementó en 9,8; 15,6 y 17,6% respectivamente, con relación al tratamiento testigo (solo Colosuana), pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas debido a alta variabilidad animal.

La concentración de sólidos totales, proteína, grasa, lactosa, minerales y el nitrógeno ureico en leche fueron similares ($P > 0,05$) entre tratamientos (Tabla 6-4).

Tabla 6-4: Producción y calidad composicional de leche de vacas suplementadas con tres leguminosas tropicales henificadas en pastoreo de Colosuana

Variable	Tratamientos				ESM	P
	Testigo	Canavalia	Clitoria	Leucaena		
Producción						
Vendible (kg/d)	3,3	3,6	3,5	3,9	0,82	0,63
Total (kg/d)	5,1	5,6	5,9	6,0	0,99	0,33
Total LCG 4% (kg/d)	4,7	5,5	5,7	5,8	1,11	0,23
Composición						
Sólidos totales (%)	12,2	12,3	12,2	12,4	0,34	0,56
Proteína (%)	3,2	3,3	3,2	3,2	0,10	0,64
Grasa (%)	3,6	3,8	3,7	3,9	0,48	0,54
Lactosa (%)	4,5	4,5	4,4	4,5	0,15	0,88
Minerales (%)	0,74	0,75	0,74	0,74	0,02	0,57
NUL (mg/dl)	2,6	3,4	5,4	3,4	2,04	0,11

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. LCG (Leche corregida por grasa 4%) = $(0.4 \times \text{PLT}) + 15 \times \text{kg G}$. PLT = Producción de leche total, G = Grasa kg/d. NUL = Nitrógeno ureico en leche. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche

Los resultados mostraron que la sumatoria de la concentración de C12:0, C14:0 y C16:0 fue mayor ($P < 0,05$) en las vacas suplementadas con el heno de Canavalia, Clitoria y en las vacas no suplementadas (testigo) que con el heno de Leucaena (Tabla 6-5). Por otra parte, la concentración de ácido linoleico (C18:2) fue menor ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las vacas suplementadas con heno de Canavalia y Clitoria en comparación con las vacas suplementadas con heno de Leucaena y el tratamiento testigo.

La concentración de ácido linolénico (C18:3) y ALC (c9 t11) fue similar ($P > 0,05$) en la grasa de la leche de vacas en pasto Colosuana y suplementadas con henos de leguminosas. En contraste, la concentración de ácidos grasos saturados y poliinsaturados en la grasa de la leche tendieron ($P < 0,10$) a ser mayores y menores, respectivamente, en la grasa de la leche de las vacas suplementadas con heno de Canavalia y Clitoria en comparación con el testigo y el heno de leucaena. Finalmente, se observó que la concentración de ácidos grasos de síntesis de *novo* en la grasa de la leche no varió ($P > 0,05$) entre los tratamientos aplicados, pero sí ($P < 0,05$) la

concentración de ácidos preformados que fue menor ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las vacas suplementadas con heno de Clitoria, pero similar al tratamiento testigo. El índice de aterogenicidad y trombogenicidad tendió a ser menor ($P < 0,10$) en la grasa de la leche de las vacas suplementadas con heno de leucaena y en las vacas no suplementadas (Tabla 6-5).

Tabla 6-5: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en pasto Colosuana suplementadas con tres leguminosas tropicales henificadas

Ácidos grasos	Tratamientos				ESM	P	
	Testigo	Canavalia	Clitoria	Leucaena			
		mg/g AG					
C12:0 + C14:0 + C16:0	403,8 ^{ab}	425,0 ^a	423,9 ^a	395,1 ^b	9,59	0,01	
C16:1c9	20,2	22,5	19,4	16,3	4,24	0,07	
C17:0	5,5	5,7	6,1	5,4	0,94	0,45	
C18:0	104,6 ^a	95,9 ^b	103,3 ^a	95,6 ^a	14,97	0,003	
C18:1 c9	254,7	239,7	231,8	265,5	22,28	0,06	
C18:1 t11(ATV)	35,8	34,8	36,5	33,7	7,23	0,89	
C18:2 c9 c12 (AL)	9,5 ^{ab}	8,5 ^b	8,3 ^b	9,7 ^a	0,10	0,03	
C18:2 c9 t11 (ALC)	11,4	11,6	10,0	11,3	1,39	0,18	
C18:3 c9 c12 c15 (ALN)	4,8	4,6	4,2	4,6	0,84	0,52	
AL/ALN	1,9	1,9	2,1	2,1	0,38	0,74	
AG según saturación		mg/g AG					
Saturados	590,4	603,3	612,8	561,2	32,45	0,06	
Insaturados	398,8	383,9	376,0	408,8	20,95	0,06	
Monoinsaturados	372,6	358,7	353,0	382,8	20,69	0,07	
Poliinsaturados	26,2	25,2	23,0	26,0	2,34	0,06	
AG según origen		mg/g AG					
<i>De novo</i> (< 16 C)	239,8	244,8	252,3	233,2	26,7	0,27	
Preformados (> 16 C)	470,8 ^{ab}	448,2 ^{ab}	445,2 ^b	483,0 ^a	22,5	0,02	
Índice delta 9 desaturasa	0,37	0,35	0,34	0,38	0,03	0,06	
C14:1/C14:0	0,17	0,16	0,17	0,17	0,01	0,46	
C16:1/C16:0	0,07	0,07	0,06	0,05	0,005	0,14	
C18:1/C18:0	2,48	2,53	2,28	2,54	0,10	0,30	
CLA/ATV	0,32	0,33	0,28	0,38	0,06	0,43	
Índice aterogenicidad	1,87	2,07	2,10	1,77	0,09	0,06	
Índice trombogenicidad	2,36	2,53	2,59	2,27	0,07	0,06	

ATV = Ácido transvaccénico. AL= Ácido linoleico. ALC = Ácido linolénico conjugado. ALN = Ácido linolénico. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

6.3.2 Experimento 2

Como en el experimento 1, la oferta de materia seca por hectárea de pasto Colosuana superó los 2000 kg/ha como consecuencia de periodo de descanso de 3 meses para lograr una cantidad aceptable y no limitante de consumo de forraje en época seca (Tabla 6-6). En la composición botánica de las pasturas, la especie principal fue el pasto Colosuana y la contribución de leguminosas y otras especies fue muy baja (Tabla 6-6).

Tabla 6-6: Oferta de materia seca (MS) y composición botánica en pasturas de Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en los tratamientos de suplementación con inclusión de heno de *C. brasiliensis*

Variable	Inclusión heno (% MS según PV)				ESM	P
	0,0	0,5	1,0	1,5		
Oferta forraje (kg MS/ha)	2237,1	2158,5	2315,4	2385,7	244,7	0,73
Composición botánica						
Colosuana (%)	87,9	86,9	87,8	88,0	2,17	0,91
Leguminosas (%)	2,5	2,5	3,2	3,3	0,89	0,56
Otras especies (%)	9,6	9,6	9,0	8,7	2,11	0,03

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Consumo de heno

Se ofrecieron 2,6; 5,2 y 7,8 kg/v/d de heno (MS = 88%) de Canavalia según los tres niveles de inclusión (0,5; 1,0 y 1,5% MS según el PV), respectivamente, con base en el peso promedio de los animales (450 kg). El mayor consumo de heno de Canavalia y nutrientes se observó con la mayor oferta de heno (1,5% MS según el peso vivo ($P < 0,05$), no existiendo diferencias en consumo de MS y otros nutrientes con las ofertas de 0,5 y 1,0% según PV (Tabla 6-7). Hay que destacar que con el nivel de 1,0% MS según PV el consumo de Canavalia fue similar al observado en el experimento 1 con el mismo nivel de oferta (Tabla 6-2). Con base en el consumo de proteína cruda, la inclusión de heno de Canavalia al 0,5; 1,0 y 1,5% MS según el peso vivo, suplieron el 8,4; 9,1 y 14,6% respectivamente, de los requerimientos diarios de proteína cruda de los animales para mantenimiento y producción de leche (940 g PC/d) (NRC 2001).

Tabla 6-7: Consumo de materia seca y de nutrientes de heno de Canavalia en diferentes niveles de inclusión en la dieta de vacas pastoreando pasto Colosuana

Consumo	Inclusión heno (% MS según PV)			ESM	P
	0,5	1,0	1,5		
Materia seca (kg/d)	0,46 ^b	0,50 ^b	0,81 ^a	0,08	0,0002
Proteína cruda (g/d)	79,2 ^b	85,7 ^b	137,4 ^a	14,7	0,0002
FDN (g/d)	261,4 ^b	283,2 ^b	453,9 ^a	48,6	0,0002
FDA (g/d)	184,6 ^b	199,9 ^b	320,5 ^a	34,3	0,0002
EE (g/d)	8,4 ^b	9,1 ^b	14,6 ^a	1,57	0,0002
AG (g/d)	4,1 ^b	4,4 ^b	7,1 ^a	0,76	0,0002

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Calidad y perfil de ácidos grasos en pasto Colosuana y heno de Canavalia. Como era de esperar el heno de Canavalia presentó un contenido mayor ($P < 0,05$) de proteína cruda, mayor ($P < 0,05$) degradabilidad de la materia seca y menores ($P < 0,05$) contenidos de fibras (FDN, FDA) en comparación con el pasto Colosuana (Tabla 6-8).

Con relación al perfil de AG, el heno de Canavalia mostró mayores ($P < 0,05$) contenidos de ácido mirístico (C14:0) y de ácido oleico (C18:1) que el pasto Colosuana, que a su vez presentó mayores ($P < 0,05$) contenidos de ácido palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) que el heno.

La concentración de precursores de ALC (linoleico + linolénico) fue similar ($P > 0,05$) en la gramínea y el heno de leguminosa (Tabla 6-8), lo cual está de acuerdo con lo observado en el experimento 1, aun cuando hubo una tendencia ($P < 0,10$) a que estos precursores fuesen mayores en el pasto Colosuana (Tabla 6-3). Es de interés indicar que, el contenido de AG grasos en el pasto de Colosuana y heno de Canavalia en este experimento fue similar a lo observado en estas especies en el experimento 1 (Tabla 6-3).

Tabla 6-8: Calidad nutricional y perfil de ácidos grasos en pasto Colosuana y heno de Canavalia

Componente	Colosuana	Canavalia	ESM	P
Calidad nutricional				
PC (%)	5,1 ^b	16,9 ^a	0,26	0,0001
FDN (%)	72,1 ^a	55,8 ^b	1,02	0,0003
FDA (%)	43,3 ^a	39,4 ^b	1,91	0,0006
EE (%)	1,7	1,8	0,11	0,39
DISMS (%)	43,9 ^b	55,2 ^a	2,11	0,0001
Ácidos grasos				
		g/ kg MS		
AG totales	7,37	8,22	1,18	0,39
C14:0	0,31 ^b	0,50 ^a	0,08	0,0004
C16:0	2,40 ^a	1,86 ^b	0,34	0,008
C18:0	0,61 ^a	0,26 ^b	0,07	0,0001
C18:1 c9	0,41 ^b	2,02 ^a	0,15	0,0001
C18:2 c9 c12	0,83	0,68	0,24	0,48
C18:3 c9 c12 c15	0,80	0,82	0,18	0,99
Precursores ¹	1,64	1,50	0,40	0,86
C18:2/C18:3	1,03	0,78	0,21	0,06

¹ Ácido linoleico + linolénico. PC = Proteína cruda. FDN = Fibra detergente neutro. FDA = Fibra detergente ácido. EE = Extracto etéreo. DISMS = Degradabilidad *in situ* de la materia seca. AG = Ácidos grasos. ESM = Error estándar de la media. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

Producción y calidad composicional de la leche

La producción de leche vendible y total corregida por grasa al 4% fue mayor (P<0,05) con el nivel de suplementación de 1,5% MS del PV (Tabla 6-9).

Las concentraciones de sólidos totales, proteína cruda, grasa, lactosa y minerales en la leche no presentaron diferencias (P>0,05) entre tratamientos. El nitrógeno ureico en leche (NUL) fue mayor (P<0,05) en las vacas suplementadas con heno de *C. brasiliensis* en los diferentes niveles de inclusión en comparación con el tratamiento testigo (solo Colosuana) (Tabla 6-9).

Tabla 6-9: Producción y calidad composicional de leche de vacas en pasto Colosuana suplementadas con niveles de inclusión de heno de Canavalia en la dieta

Variable	Inclusión heno (% MS según PV)				ESM	P
	0,0	0,5	1,0	1,5		
Producción						
Vendible (kg/d)	4,3 ^b	4,9 ^b	4,9 ^{ab}	5,3 ^a	0,64	0,05
Total (kg/d)	6,2	6,4	6,6	7,2	0,84	0,06
Total LCG 4% (kg/d)	6,1 ^b	6,3 ^{ab}	6,5 ^{ab}	7,3 ^a	0,89	0,03
Composición						
Sólidos totales (%)	12,2	12,2	12,3	12,3	0,28	0,86
Proteína (%)	3,2	3,2	3,2	3,2	0,02	0,24
Grasa (%)	3,8	3,9	3,9	4,0	0,27	0,63
Lactosa (%)	4,5	4,4	4,5	4,4	0,04	0,36
Minerales (%)	0,74	0,73	0,74	0,73	0,005	0,25
NUL (mg/dl)	1,9 ^b	5,0 ^a	5,3 ^a	5,0 ^a	1,39	0,0001

ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. LCG (Leche corregida por grasa 4%) = $(0,4 \times \text{PLT}) + 15 \times \text{kg G}$. PLT = Producción de leche total, G = Grasa kg/d. NUL = Nitrógeno ureico en leche. Letras diferentes entre la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0,05$) según prueba de Tukey

Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche

No se presentaron cambios significativos en el contenido de ácidos grasos en la grasa de la leche de las vacas con los niveles de inclusión de heno. La concentración de ácido linoleico y la relación linoleico/linolénico fueron menor ($P < 0,05$) en la grasa de la leche de las vacas en los niveles de inclusión de 0,5 y 1,5%. Las concentraciones de los demás AG, incluyendo el ALC (c9 t11) no variaron ($P > 0,05$) con la suplementación en los diferentes niveles de heno de Canavalia en comparación con el tratamiento testigo.

De otro lado, los ácidos grasos de *novo* fueron mayores ($P < 0,05$) en los niveles de inclusión de 0,5 y 1,5% y la concentración de ácidos saturados e insaturados en la grasa de la leche de las vacas fue mayor y menor ($P < 0,05$) en la grasa de la leche en el nivel de inclusión de 1,5%, respectivamente. Finalmente, los índices de aterogenicidad y trombogenicidad fueron menores en la grasa de la leche con el nivel de inclusión del 1,0%, a pesar que fueron similares al tratamiento testigo (Tabla 6-10).

Tabla 6-10: Perfil de ácidos grasos en la grasa de la leche vendible de vacas en pasto Colosuana suplementadas con niveles de inclusión de Canavalia en la dieta

Ácidos grasos	Inclusión heno (% MS según PV)				ESM	P
	0,0	0,5	1,0	1,5		
	mg/g AG					
C12:0 + C14:0 + C16:0	400,4	412,9	403,8	418,2	9,14	0,22
C16:1c9	19,1	18,4	20,9	18,6	5,11	0,76
C17:0	6,0	5,9	5,8	5,7	0,51	0,72
C18:0	103,4	103,9	96,6	103,5	9,49	0,39
C18:1 c9	261,4	246,3	263,7	241,5	18,6	0,07
C18:1 t11(ATV)	33,3	33,5	35,0	32,7	6,82	0,52
C18:2 c9 c12 (AL)	9,8 ^a	8,4 ^{bc}	9,2 ^{ab}	8,0 ^c	0,76	0,002
C18:2 c9 t11 (ALC)	10,5	10,7	11,5	10,6	0,79	0,11
C18:3 c9 c12 c15 (ALN)	4,2	4,7	4,3	4,7	0,93	0,60
AL/ALN	2,4	1,8	2,3	1,8	0,57	0,06
	mg/g AG					
AG, según saturación						
Saturados	581,3 ^b	601,1 ^{ab}	577,0 ^c	607,5 ^a	19,01	0,005
Insaturados	407,6 ^{ab}	388,7 ^{bc}	412,2 ^a	381,8 ^c	18,82	0,005
Monoinsaturados	382,7 ^{ab}	364,4 ^{bc}	386,8 ^a	358,0 ^c	18,40	0,004
Poliinsaturados	24,8	24,4	25,4	23,9	1,97	0,50
	mg/g AG					
AG, según origen						
De novo (< 16 C)	230,5 ^b	246,4 ^a	230,1 ^b	249,6 ^a	20,35	0,002
Preformados (> 16 C)	427,9	412,6	425,7	406,3	19,90	0,06
Índice delta 9 desaturasa	0,37	0,36	0,38	0,35	0,02	0,06
C14:1/C14:0	0,17	0,17	0,18	0,17	0,005	0,10
C16:1/C16:0	0,07	0,06	0,07	0,06	0,006	0,74
C18:1/C18:0	2,58 ^{ab}	2,38 ^{ab}	2,78 ^a	2,33 ^b	0,10	0,02
CLA/ATV	0,29	0,32	0,33	0,32	0,02	0,32
Índice aterogenicidad	1,70 ^{ab}	1,86 ^{ab}	1,68 ^b	1,93 ^a	0,05	0,02
Índice trombogenicidad	2,27 ^{ab}	2,46 ^{ab}	2,27 ^b	2,53 ^a	0,06	0,02

ATV = Ácido transvaccénico. AL= Ácido linoleico. ALC = Ácido linolénico conjugado. ALN = Ácido linolénico. ESM = Error estándar de la media de los tratamientos. Letras entre las filas indican diferencias significativas (P<0,05) según prueba de Tukey

6.4 Discusión

En la última década ha habido interés en entender los factores que modifican el perfil lipídico de la leche debido a la importancia que este tiene sobre la salud humana (Benjamin y Spener 2009, Kelly et al. 2008, Jutzeler y Colombani. 2010, Dilzer y Park 2012). Dentro de esos factores se ha evaluado la utilización de leguminosas de clima templado sobre el perfil lipídico de la grasa de la leche bovina en sistemas especializados. Sin embargo, existe poca información sobre como la suplementación con

leguminosas tropicales afecta la composición de la leche y en particular el perfil lipídico en la grasa de vacas en el sistema doble propósito. En este trabajo se evaluó el efecto de la suplementación de heno de leguminosas tropicales sobre la producción, calidad composicional y perfil lipídico de la leche vacas Gyr x Pardo Suizo en diferentes etapas de lactancia y pastoreando Colosuana en época seca.

Efecto de la suplementación de heno de leguminosas sobre la producción y composición de la leche en pastoreo de Colosuana

En los dos experimentos el pasto Colosuana fue la especie predominante en la pastura y su oferta fue alta (< 2000 kg MS/ha) en comparación con la oferta restrictiva que se presenta normalmente en las praderas de Colosuana (< 550 kg MS/ha) en época de mínima precipitación en la región Caribe (Mojica et al. 2013). Esto sugiere que la oferta de pasto Colosuana no restringió el consumo voluntario de los animales en pastoreo. La oferta no limitante de Colosuana podría explicar la relativa alta producción de leche vendible (3,1 l/v/d - Experimento 1; 4.1 l/v/d - Experimento 2) que presentaron las vacas en el pastoreo de esta gramínea sin suplementación de leguminosas henificadas en comparación con la producción de leche vendible (2,7 l/v/d) de vacas mestizas en primer tercio de lactancia en la microrregión del Valle del Cesar (Mojica et al. 2013).

La suplementación al nivel de 1,0% MS del PV de heno de diferentes especies de leguminosas (experimento 1) no modificó la producción de leche vendible de las vacas, pero si aumentó ($P < 0,05$) cuando se suministró heno de Canavalia en un nivel alto (1,5% MS del PV - experimento 2) y posiblemente no restrictivo de selección por el animal. Estos resultados concuerdan con resultados de otros estudios donde se han evaluado el uso *ad libitum* de leguminosas para suplementar vacas lecheras en sistemas doble propósito (Saucedo et al. 1980, Mosquera y Lascano 1992, González et al. 1996, Guerrero 2002, Nyambati et al. 2003, Juma et al. 2006, Roncallo et al. 2009). Un posible efecto aditivo en el consumo de forraje total (mayor consumo de energía) puede explicar la respuesta positiva en producción de leche en los niveles crecientes de inclusión de heno de *C. brasiliensis*.

En el experimento 1, la concentración de nitrógeno ureico en la leche fue similar ($P < 0,05$) en los diferentes tratamientos, pero se incrementó en todos los niveles crecientes de inclusión de heno de Canavalia (Exp. 2), este último resultado concuerda con otros estudios donde se evaluó la suplementación con leguminosas a vacas doble propósito (Bernal et al. 2008, Lascano y Ávila 2004). Sin embargo, las concentraciones de NUL en leche de las vacas presentaron valores por debajo del rango óptimo (10 a 12 mg/dl) cuando existe un adecuado balance energía/proteína en la dieta (Ávila y Lascano 2001, Hutjens y Barmore 1995). Esto sugiere que aún con la suplementación de henos de leguminosas se presentó un desbalance en la relación energía-proteína en las dietas. Un mayor consumo de proteína cruda en los niveles crecientes de inclusión de heno de Canavalia, especialmente en el nivel de 1,5% (Exp. 2) en comparación con el consumo de proteína cruda en el nivel de inclusión de heno al 1% (Exp. 1) posiblemente explica los resultados contrastantes en la concentración de NUL en leche. Otra posibilidad es que se haya presentado un efecto aditivo en el consumo total de forraje en los niveles crecientes de inclusión de heno, lo cual haya generado un mayor consumo de proteína cruda, mejorando así el balance proteico – energético de la dieta.

Efecto de la suplementación de heno de leguminosas sobre la concentración de ácidos grasos en la leche de vacas en pastoreo de Colosuana

En los dos experimentos el perfil lipídico del pasto Colosuana fue similar a lo indicado en otros trabajos (Mojica et al. 2013) en los cuales se observó que el contenido de ácido palmítico (C16:0) y de precursores de ALC (linoleico + linolénico) fueron los AG principales en esta gramínea. Por otra parte, el contenido de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en el pasto Colosuana no fue diferente ($P > 0,05$) al de los henos de leguminosas en el experimento 1 y al de heno de Canavalia en el experimento 2.

La concentración similar de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en el pasto Colosuana y los henos de leguminosas puede explicar en parte el por qué no varió con la suplementación de henos de leguminosas la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de las vacas. Otro factor que posiblemente influyó en el no aumentó en la concentración de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche de las vacas suplementadas con

henos de leguminosas fue el relativo bajo consumo de precursores (linoleico + linolénico) de ALC (c9 t11) en los tratamientos con suplementación de henos de leguminosas en los dos experimentos. El contenido de ALC (c9 t11) en la grasa de la leche se explica principalmente por el consumo total de sus precursores (ácido linoleico y linolénico) en el alimento (Mohammed et al. 2009, León et al. 2011, Shingfield et al. 2013).

No se encontraron estudios sobre la utilización de heno de leguminosas como única fuente complementaria al pastoreo sobre los AG en la grasa de la leche de vacas. Sin embargo, la utilización de forraje fresco de leguminosas ha demostrado aumentos en la concentración de ALC (c9 t11) en leche de bovinos (Collomb et al. 2002a, Collomb 2002b) o en leche de ovejas (Addis et al. 2005). Hay estudios que muestran que la conservación de forraje en forma de heno reduce el contenido de ácidos grasos en el forraje debido al daño del tejido vegetal por el secado, lo cual a su vez estimula la oxidación de los AG (principalmente ácido linoleico y linolénico) por la acción de las lipasas de las plantas para producir aldehídos y alcoholes (Shingfield et al. 2005; Dewhurst et al. 2006). Estas reacciones podrían en parte explicar por qué no se presentaron mayores niveles de precursores de ALC (linoleico + linolénico) en los henos de leguminosas en comparación con el pasto Colosuana.

Implicaciones del perfil de ácidos grasos sobre la salud humana

Existe controversia relacionada con el efecto de los ácidos grasos saturados sobre la salud humana. Inicialmente se identificó a los ácidos grasos saturados como factores de riesgo en la presentación de enfermedades cardiovasculares, debido a su acumulación en las arterias coronarias (Keys 1970). Sin embargo, resultados de estudios en los últimos años han producido evidencia que indica que los ácidos grasos saturados en la leche no se relacionan con la presentación de enfermedades cardiovasculares (Tholstrup 2006, Siri et al. 2010, Soedamah et al. 2011, Huth y Park 2012; Kratz et al. 2013). Por otra parte, se reconoce que ácidos grasos poliinsaturados en la leche como el ácido linoleico conjugado (ALC c9 t11) tienen efectos anticarcinogénicos y antiaterogénicos (Jutzeler y Colombani 2010, Dilzer y Park 2012) y que, por ejemplo, el consumo de dietas con mayores niveles de ácidos poliinsaturados (Bunout y Escobar 2000, Mozaffarian et al. 2010) o el reemplazo de AG saturados por poliinsaturados (5% de sustitución de

energía) disminuye el riesgo (10%) de presentación de enfermedades coronarias en humanos (Micha y Mozafrian 2010).

Infortunadamente, la suplementación con las diferentes leguminosas henificadas o los niveles de inclusión de heno no favorecieron la producción de leche más saludable debido a similares concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados, concentración de ALC y similares índices de aterogenicidad y trombogenicidad en la grasa de la leche.

6.5 Conclusiones

La inclusión de heno de Canavalia, Clitoria y Leucaena al 1,0% de MS según el PV no modificó la producción y composición de la leche en vacas Gyr x Pardo Suizo suplementadas en época de mínima precipitación bajo una oferta no restrictiva de pasto Colosuana.

El nivel de inclusión del 1,5% de MS según el PV de heno de Canavalia resultó en la mayor producción de leche vendible, en comparación con el tratamiento testigo.

La suplementación con henos de leguminosas a vacas lactantes en sistemas doble propósito que pastorean en época seca Colosuana con forraje no limitante afecta la producción de leche con niveles altos de suplementación, pero no afecta la composición de la leche ni el perfil de AG en la grasa de la leche

6.6 Bibliografía

1. Addis M, Cabiduu A, Pinna G, Decandia M, Piredda G, Pirisi A, Molle G. 2005. Milk and Cheese Fatty Acid Composition in Sheep Fed Mediterranean Forages with Reference to Conjugated Linoleic Acid *cis*-9, *trans*-11
2. Allen MS. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 83(7):1598-1624.

3. Amezcuita M. 1999. Diseño y análisis de ensayos para evaluación de pasturas en fincas. http://www.ciat-library.ciat.cgiar.org/ciat_digital/39666.pdf
4. AOAC. 2010. Association Official of Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC international. 18th ed. AOAC International, Maryland.
5. Avila P, Lascano C. 2001. Definición de las concentraciones de NUL para recomendaciones óptimas de la relación proteína: energía en dietas a base de forrajes tropicales. En: Sistemas mejorados de alimentación basados en leguminosas forrajeras para ganado doble propósito en fincas de pequeños productores de América Latina Tropical. Documento de trabajo No. 184.
6. Benjamin S, Spener F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. *Nutrition and Metabolism*. 6:36 doi:10.1186/1743-7075-6-36.
7. Bernal L, Ávila P, Ramirez G, Lascano C. 2008. Efecto de la suplementación con heno de *Calliandra calothyrsus* y *Vigna unguiculata* sobre la producción de leche por vacas Holstein x cebú en Colombia. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*. Volumen 16. 3. 109-114.
8. Bunout D, Escobar E. 2000. Prevención de enfermedades cardiovasculares: ¿Deben aplicarse los mismos criterios en América Latina que en Europa y Norte América?. *Rev. Esp. Cardiol*. 53: 889 – 895.
9. Cajas YS, Martínez J, Sánchez C, Panza BD. 2004. Desarrollo e implementación de estrategias tecnológicas para mejorar la productividad y sostenibilidad de sistemas ganaderos de doble propósito en las Sabanas de Córdoba y Sucre. Documento de Trabajo No. 4. Montería, Colombia: Corpoica.
10. Collomb M, Bütikofer U, Sieber R, Jeangros B, Bosset JO. 2002a. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high resolution gas chromatography. *International Dairy Journal*, 12, 649–659.
11. Collomb M, Bütikofer U, Sieber R, Jeangros B, Bosset JO. 2002b. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal* 12. 661–666.
12. CORPOICA. 2002. Atlas de los sistemas de producción bovina. Módulo Región Caribe. Plan de Modernización Tecnológica de la Ganadería Bovina. P 86.
13. Dewhurst RJ, Shingfield KJ, Lee MRF, Scollan ND. 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acid in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technology*. 131. 168-206.

14. Díaz GG, Gutiérrez R, Pérez N, Vega S, León S, Gonzalez M, Prado G, Urbán G, Ramírez A, Pinto M. 2002. Detección de adulteraciones en la grasa de leche pasteurizada mexicana. *Rev. Salud Anim.* 24(1):54-59.
15. Dilzer A, Park Y. 2012. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 52: 6. 488 – 513.
16. Fawcett B, Scott JE. 1960. A rapid and precise method for determination of urea. *J. Clin. Path.* 13:156.
17. Fujisaka S, Holmann F, Peters M, Schmidt A., White D, Burgos C, Ordoñez J, Mena M, Posas M, Cruz H, Davis C, Hincapié B. 2005. Estrategias para minimizar la escasez de forrajes en zonas con sequías prolongadas en Honduras y Nicaragua. *Pasturas Tropicales* 27(2):73-92.
18. Gagliostro G, Rodríguez A, Pellegrini P, Gatti P, Musset G, Castañeda R, Colombo A, Chilliard Y. 2006. Efectos del suministro de aceite de pescado solo o en combinación con aceite de girasol sobre las concentraciones de ácido linoleico conjugado (CLA) y omega 3 (n-3) en leche de cabra. *Rev. Argent. Prod. Anim.* 26:71-87.
19. Garcés R, Mancha M. 1993. One step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissue. *Anal. Biochem.* 211:139–143.
20. González MS, Van Heurck, Romero F, Pezo DA, Argel PJ. 1996. Producción de leche en pasturas de estrella africana. *Pasturas tropicales.* 18:1.
21. Guerrero J, Villanueva J, Bonilla J, Rubio J. 2002. Utilización del heno de clitoria (*Clitoria ternatea* L.) en la alimentación de vacas suizo pardo en lactación. *Tec. Pecu. Mex.* 42 (3): 477 – 487.
22. Hurley WL, Warner GJ, Grummer RR. 1987. Changes in triglyceride fatty acid composition of mammary secretions during involution. *J. Dairy Sci.* 70(11):2406-2410.
23. Huth P, Park K. 2012. Influence of dairy product and milk fat consumption on cardiovascular disease risk: A review of the evidence. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 3: 266-285.
24. Hutjens MF, Barmore JA. 1995. Milk urea test gives us another tool. *Hoard's Dairyman.* May 25. 401.
25. Juma H. 2005. The effects of supplementing maize stover and napier grass with clitoria, gliricidia or mucuna on intake, diet digestibility and milk yield of lactating jersey cows in coastal lowland Kenya. A thesis submitted to Graduate school in partial fulfillment for the requirement for the Master of Science Degree in Animal Production (Animal Nutrition) of Egerton University.

26. Jutzeler R, Colombani P. 2010. Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid and estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal*. 20. 433 – 448.
27. Kelly ML, Belly JR, Dwyer DA, Griinari JM, Chouinard PY, Van Amburgh ME, Bauman DE. 2008. Dietary Fatty Acid Sources Affect Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk from Lactating Dairy Cows. *The Journal of Nutrition*. 128: 881 – 885.
28. Keys A. 1970. Coronary heart disease in seven countries. *Circulation*. 41. 1 – 11.
29. Kratz M, Baars T, Guyenet S. 2013. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur. J. Nutr.* 52: 1-24.
30. Lascano C, Ávila P. 2004. Evaluation of Milk Production Systems using *Cratylia argentea*. In: Feeding systems with legumes to intensify dairy farms: a project executed by the Tropileche Consortium / Federico Holmann and Carlos Lascano, eds. — Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical; Tropileche Consortium; International Livestock Research Institute.
31. León CJM. 2011. Efecto de la incorporación de leguminosas en pasturas de trópico alto sobre el contenido de ácido linoleico conjugado ALC en la leche. Tesis de maestría en producción animal. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.
32. Micha R, Mozzafrarian D. 2010. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids*. 45: 893 – 905.
33. Mohammed R, Stanton CS, Kennelly JJ, Kramer JKG, Mee JF, Glimm DR, O'Donovan M, Murphy JJ. 2009. Grazing cows are more efficient than zero-grazed and grass silage fed cows in milk rumenic acid production. *Journal of Dairy Science*. 92: 3874 – 3893.
34. Mojica RJE, Castro RE, Silva ZJ, Hanzel HC, Garcia QL. 2013. Producción y calidad composicional de la leche en ganaderías doble propósito del departamento del Cesar. *Corpoica*. 72 p.
35. Mosquera P, Lascano C. 1992. Producción de leche de vacas en pasturas de *Brachiaria decumbens* solo y con acceso controlado a bancos de proteína. *Pasturas tropicales*. 14: 2 – 10.
36. Mozzafrarian D, Micha R, Wallace S. 2010. Effects of coronary heart disease of increasing polyunsaturated fat in place of saturated fat: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Plos Med*. 7. 3. 1 – 10.
37. National Research Council. 2001. Nutrient requirements in dairy cattle. Seventh Revised Edition.

38. Nyambati EM, Solleberger LE, Kunkle WE. 2003. Feed intake and lactation performance of dairy cows offered napier grass supplemented with legume hay. *Livestock Production Science*. 83. 179 – 189.
39. Orskov ER, Deb Howell FD, Mould F. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production*. 5:3.
40. Piñeros R, Tovar V, Mora J. 2011. Evaluación agronómica y zootécnica del pasto Colosuana (*Bothriochloa pertusa*) en el trópico seco del Tolima. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. Vol. 4. No. 1.
41. Rico DE. 2013. Recovery of normal ruminal biohydrogenation and the novo fatty acid synthesis following induction of milk fat depression in dairy cows. Tesis de doctorado. Universidad de Pensilania. 174 p.
42. Roncallo F, Barros J, Bonilla R, Murillo J, Del toro R. 2009. Evaluación de arreglos silvopastoriles en explotaciones ganaderas de la microrregión bajo Magdalena. *Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 10 (1): 60-69.
43. SAS. 2011. SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Versión 9,3 Cary, NC, USA.
44. Saucedo G, Alvarez FJ, Jimenez N, Arriaga A. 1980. *Leucaena leucocephala* as supplement for milk production on tropical pastures with dual purpose cattle. *Trop Anim Prod*. 5:1. 38-42.
45. Shingfield KJ, Bonnet M, Scollan ND. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal*, 7: s1, pp 132–162.
46. Sierra O, Bedoya JA, Monsalve D, Orozco JJ. 1986. Observaciones sobre Colosuana (*Bothriochloa pertusa*, L. Camus) en la Costa Atlántica de Colombia. *Pasturas Tropicales*. Boletín. Volumen 8. No. 1.
47. Siri P, Sin Q, Hu F, Krauss R. 2010. Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 91: 535- 546.
48. Soedamah S, Ding L, Al Delaimy K, Hu B, Engberink M, Willett W, Geleijnse J. 2011. Milk and dairy consumption and incidence of cardiovascular diseases and all-cause mortality: dose response meta-analisis of prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 93: 158-71.
49. Tholstrup T. 2006. Dairy products and cardiovascular disease. *Current opinion in lipidology*. 17:1-10.
50. Toledo JM, Schultze-Kraft R. 1982. Metodología para la evaluación agronómica de pastos tropicales. CIAT, Cali, Colombia, 169 p.

51. Ulbricht TLV, Southgate DAT. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet*. 338(8773):985-992.
52. Van Soest PJ, Robertson J, Lewis M. 1991. Methods for dietary fiber, neutral fiber and no starch polysaccharides in relation to nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.
53. Yamasaki M, Kishihara K, Ikeda I, Sugano M, Yamada K. 1999. A recommended esterification method for gas chromatographic measurement of conjugated linoleic acid. *J. American Oil Chemists' Society.* 76(8):933-938.

7. Conclusiones y recomendaciones

7.1 Conclusiones

A partir de experimentos agronómicos de corte en los que se midió el efecto de la edad de rebrote sobre la concentración de ácidos grasos en diferentes especies de gramíneas y leguminosas se puede concluir que:

1. Los ácidos grasos predominantes presentes en las gramíneas de corte y pastoreo fueron el palmítico (C16:0), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3).
2. El contenido de AG totales y la composición de AG varió debido a especies de gramíneas y de leguminosas.
3. Con el aumento en la edad de rebrote disminuyó el contenido y varió la composición de AG en gramíneas y menos en leguminosas.
4. Los cultivares Tanzania y Toledo y la leguminosa *Cajanus cajan* (Guandul) presentaron los mayores contenidos de precursores de ALC en el forraje.

Estos resultados son similares lo observado en forrajes de clima templado. Sin embargo, las gramíneas y leguminosas de zonas templadas tienen un mayor contenido de precursores de ALC en comparación con las especies tropicales.

De los ensayos de pastoreo en los que se evaluó el efecto de cultivares de gramíneas y leguminosas tropicales y de intensidades de pastoreo en la alimentación de vacas doble propósito sobre la producción, composición y concentración de AG en la leche se puede concluir que:

1. La alimentación de vacas lactantes en sistemas doble propósito con el cultivar Tanzania modificó el perfil de AG en la grasa de la leche, lo cual podría tener efectos en salud humana.

2. El manejo del cultivar Tanzania con intensidades de pastoreo alta (3,0 a/ha) en comparación con una intensidad baja (1.0 a /ha) resultó en leche con mayores niveles de ALC y AG poliinsaturados, lo cual podría tener implicaciones en salud humana.
3. Con las gramíneas tropicales evaluadas bajo pastoreo, la leche producida presentó mayor concentración de AG de cadena media, concentraciones similares de C18:3 y ALC (c9 t11), y menores concentraciones de C18:0, C18:1, C18:2 en comparación con el perfil de AG en la grasa de la leche proveniente de sistemas especializados con forrajes templados en Colombia.

De los ensayos de suplementación con henos de leguminosas a vacas pastoreando Colosuana (dieta basal) sin limitación en disponibilidad de forraje en época seca se puede concluir que:

1. La suplementación con diferentes especies de leguminosas henificadas no afectó la producción ni la calidad composicional de la leche.
2. La inclusión del 1,5% de MS según el PV de heno de *C. brasiliensis* aumentó la producción de leche, pero no modificó la calidad composicional de la leche.
3. La suplementación con heno de leguminosas no resultó en producción de leche con perfiles lipídicos diferentes a los obtenidos sin suplementación.

En general, se concluye que la grasa en leche producida con gramíneas tropicales presenta concentraciones de ALC (12,3 a 15,5 mg/g de ácidos grasos) similares a los niveles reportados en la grasa de la leche producida con gramíneas templadas (11,4 a 15,7 mg/g de ácidos grasos), pero con concentraciones menores de ácidos poliinsaturados.

Se ha identificado que se necesitaría un consumo de 0,33 g/d de ALC en humanos a partir de una concentración de ALC de 15,8 mg/g grasa de la leche para disminuir en un 43% el riesgo de infarto de miocardio no fatal, como uno de los efectos saludables

identificados en este ácido graso. Con la leche producida con pasto Tanzania (14,6 mg/g AG de ALC) que generaría un consumo diario de 0,27g/d, con base en el consumo per cápita diario de leche en Colombia (392 ml), se esperaría una reducción en un 22% el riesgo de infarto de miocardio no fatal.

7.2 Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos y las perspectivas de investigación en el área de forrajes tropicales, se recomienda:

- I) realizar estudios controlados para definir la relación entre el perfil lipídico de forrajes tropicales y la concentración de ácidos grasos en la grasa de la leche de vacas
- II) definir el efecto de la inclusión de leguminosas tropicales con o sin taninos en la dieta de vacas sobre la concentración de ácidos grasos en la grasa de la leche de vacas
- III) evaluar el efecto de la suplementación con grasas sobrepasantes como alternativa para modificar la concentración de ácidos grasos en la grasa de la leche producida con diferentes gramíneas tropicales