Niveles de ensilaje de maíz y su efecto en la utilización proteica y excreción de nitrógeno de vacas lecheras bajo consumo de alfalfa

Effect of increased levels of corn silage on protein utilization and nitrogen excretion of dairy cows consuming alfalfa

Zegarra, J¹*; Díaz, G¹*; Vélez, V¹*; Torres, J*; Callohuanca, J*

pieaucsm@ucsm.edu.pe

RESUMEN

Se estudió el efecto del uso de diferentes proporciones de ensilaje de maíz en sustitución de alfalfa en la fracción forrajera de la dieta sobre la utilización proteica y excreción de N en vacas bajo consumo de alfalfa. Se utilizaron 09 vacas Holstein multíparas en primera etapa de lactancia (80.9 ± 51.8 días en lactancia) y con un promedio de 24.4 ± 4.9 lts/vaca/día. La ración estuvo compuesta por pastura de alfalfa, heno de alfalfa, concentrado y ensilado de maíz. Los tratamientos como porcentaje de la fracción forrajera de la dieta fueron: 70 % alfalfa + 30 % Ens. Maíz (T1), 55 % alfalfa + 45 % Ens. Maíz (T2) y 40 % alfalfa + 60 % Ens. Maíz (T3). La inclusión de niveles crecientes de ensilaje de maíz en sustitución de alfalfa disminuvó linealmente y de manera significativa (p < 0.01) el contenido de NUS y NUL entre los tratamientos, demostrando su utilidad como indicadores de la disponibilidad y utilización del N a nivel ruminal. No se encontraron diferencias significativas (p > 0.05) en niveles de N excretado en heces y secretado en leche, pero si en el excretado por orina, (p < 0.05); la disminución lineal entre tratamientos demostró una mejor utilización del N a mayor disponibilidad de carbohidratos fermentables y una simultánea reducción en la ingestión del mismo. Bajo condiciones del estudio, se debería incluir al menos un 45 % de gramíneas (ensilaje de maíz) a fin de maximizar el % de eficiencia en la utilización del N (26.38 %), evitar presentación de problemas productivos, y el riesgo de contaminación ambiental con N. Los resultados demuestran que el uso de niveles crecientes de ensilaje de maíz, en sustitución de alfalfa en el forraje de la dieta, tienden a reducir el NUS, el NUL y las excreciones de N en la orina, mejorando la eficiencia de utilización del N, reduciendo la contaminación ambiental potencial con N en comparación a dietas típicas usadas en la zona de estudio.

Palabras clave: vacas lecheras, ensilaje de maíz, nitrógeno, medio ambiente

Introducción

La alfalfa contiene niveles altos de proteína degradable pero bajos en carbohidratos solubles, lo cual genera niveles altos de amonio en rúmen y consiguientemente de urea y amonio en fluidos. Situación que, además de afectar eficiencia en el uso de energía tiende a afectar condición corporal e eficiencia reproductiva de la vaca lechera (reinicio actividad ovárica y sobre vivencia embrionaria. (Anrique, 1993; Satter y Dhiman, 1996). Dellow et al, (1998) citados por Anrique, 1993, en estudios con alfalfa fresca (21.3% de proteína cruda) determinaron que la suplementación energética fue efectiva en mejorar el uso de la proteína de este forraje. En este sistema de producción existe un uso ineficiente de la proteína de la alfalfa, es así que Comeron et al., (1996) mencionan que se requiere mayor cantidad de energía suplementaria, como el ensilaje de maíz para atenuar los desbalances proteína-energía producidos por esta pastura cuando se utiliza como único alimento. Adicionalmente otros estudios han demostrado que la alimentación con altos niveles de proteína cruda (> al 18%) pueden alterar la producción de hormonas ováricas y afectar la fertilidad de las vacas a través de una modificación en el pH uterino (Butler, 2000). De otro lado la excesiva degradación proteica de la alfalfa también es una causa importante en la ocurrencia del meteorismo espumoso (Katz et al., 1996) causante de altos niveles de mortalidad en animales al pastoreo. Por ultimo, solo alrededor del 15% del nitrógeno (N) contenido en las pasturas deja

¹ Escuela de Postgrado, Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú <u>jzegarra@ucsm.edu.pe</u>

^{*} Subproyecto de Investigación y Extensión Agrícola PIEA INCAGRO-UCSM-RN 1400402,

el campo de pastoreo transformado en carne o en leche, el 85 % restante vuelve a este a través de las heces y la orina, ocasionado polución ambiental con N (Scout, 1999, citado por Suszkiw, 1999) al contaminar las aguas superficiales y subterráneas además de la volatilización de amonio y oxido nitroso hacia el medio ambiente, gases causantes de la degradación de la capa de ozono, actuando como gases de efecto invernadero (Ruselle, 1996). El objetivo general del presente estudio fue evaluar la eficiencia en la utilización de la proteína y excreción de N con el uso de tres niveles de inclusión de ensilaje de maíz en sustitución de alfalfa en vacas lecheras al pastoreo en la Irrigación Majes – Arequipa, determinando los niveles de nitrógeno ureico en sangre y leche (NUS y NUL), la cantidad de Nitrógeno (N) presente en heces, en orina y leche, para finalmente establecer la eficiencia de utilización de la proteína consumida y su incidencia en la reducción de la excreción de nitrógeno como contaminante del medio ambiente.

Materiales y Métodos

Animales y Dietas

Se utilizaron para el estudio un total de 09 vacas Holstein multíparas en primera etapa de lactancia (80.9 ± 51.8 días en lactancia) y con un promedio de 24.4 ± 4.9 lts/vaca/día.

La ración estuvo compuesta por pastura de alfalfa, heno de alfalfa, concentrado y ensilado de maíz; el porcentaje de pastura designado en Kg de MS por vaca por día (Kg/MS/v/d) se calculó mediante la metodología propuesta por Meijs (1982), el cual considera que el consumo diario de materia verde representa la diferencia entre la pastura ofrecida y la rechazada. Tomando en cuenta para este fin cinco pesos iniciales elegidos totalmente al azar y obteniendo un promedio, de igual forma cinco pesos posteriores de la fracción rechazada. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Distribución de alimento para cada tratamiento experimental

	T1 30%	T2 45 %	T3 60 %
Alimento ofrecido en MV (kg/vaca)			
Ensilaje de maíz	13.4	20.3	27.6
Alfalfa heno	7.5	5.3	3.0
Alfalfa verde	10.4	10.4	10.4
Concentrado	6.3	6.3	6.3
Alimento ofrecido en MS (kg/vaca)			
Ensilaje de maíz	3.4	5.1	6.8
Alfalfa heno	5.8	4.1	2.4
Alfalfa verde	2.2	2.2	2.2
Concentrado	5.6	5.6	5.6
Consumo Total de MS (kg)	17.0	17.0	17.0

Teniendo en cuenta el aporte nutricional de cada uno de los componentes de la ración; alfalfa fresca, alfalfa heno, concentrado y ensilaje de maíz y su participación en la misma se obtuvo, la composición nutricional de la ración total (Cuadro 2).

Cuadro 2. Composición químico-nutricional de las dietas experimentales

Composición química	T1 30%	T2 45 %	T3 60 %
MS (%)	65.3	59.8	54.3
PC (% de la MS)	19.1	17.2	15.4
DIVMS ¹ (% de la MS)	66.5	65.9	65.4
EM ² (Mcal/kg de MS)	2.39	2.37	2.36
ENL ³ (Mcal/kg de MS)	1.48	1.47	1.46

Se consideró un período de tres días; en el cual se cuantificó la producción láctea diariamente, tomando en cuenta el ordeño de la mañana, como el de la tarde; considerando la totalidad de animales en producción del hato, para lo cual se utilizó una balanza electrónica de precisión registrando los pesos en las respectivas fichas de producción. Formados los grupos de experimentación se separaron los animales en los tres tratamientos aleatoriamente y durante quince días se suministró el alimento en base a las dietas conformadas para que los animales de cada tratamiento se puedan adaptar a éste cambio en su alimentación. Se utilizó un diseño con 3 tratamientos y 3 repeticiones por tratamiento con un total de 9 unidades experimentales, en donde:

Tratamiento 1: Forraje: 70 % alfalfa + 30 % Ens. Maíz

Tratamiento 2: Forraje: 55 % alfalfa + 45 % Ens. Maíz

Tratamiento 3: Forraje: 40 % alfalfa + 60 % Ens. Maíz

Se tomó una muestra de sangre de cada animal dentro de cada tratamiento 2 veces por semana durante 8 semanas, por venopunción de vasos coccígeos con un tubo al vacío de 7 ml aproximadamente de 6 a 7 horas después de iniciada la alimentación de pastoreo. Posteriormente las muestras fueron conservadas en una unidad isotérmica, para su posterior centrifugación, y obtención de suero para su análisis y determinación de NUS en laboratorio. Se tomó una muestra de leche compuesta de 100 ml leche de ambos ordeños, durante 03 días consecutivos de la última semana del estudio, para determinar el contenido de N total por el análisis de MacroKjeldhal. Del mismo modo y para la determinación del balance de nitrógeno se tomaran muestras compuestas de leche de cada animal dentro de cada tratamiento durante 03 días consecutivos de la última semana del estudio. Durante 03 días consecutivos de la última semana del estudio, se tomó una muestra de materia fecal de 250 gr aproximadamente de cada animal dentro de cada tratamiento, en una bolsa plástica de cierre hermético, una submuestra de 20 grs posteriormente se llevó a la estufa para desecación a 105° C por un tiempo de 5 horas, para posteriormente determinar el contenido de N por medio del análisis de MacroKjeldhal Para la determinación de nitrógeno ureico en sangre (NUS) se utilizó la técnica de digestión enzimática con

¹ Digestibilidad *in vitro* de la MS.

² Energía Metabolizable

³ Energía neta de lactancia (EM * 0.62)

ureasa. La determinación de N total en heces es el resultado obtenido por Kjeldhal el cual directamente se utilizó en el balance de N ya que no es necesario expresarlo en términos de proteína cruda (AOAC, 1990). Para la determinación del volumen de heces producidas se utilizó la metodología propuesta por Mulligan et al (2004) en la cual la cantidad de N excretado en las heces fue calculado a partir de la indigestibilidad de la dieta y del contenido de N de las heces.

Análisis estadístico

La evolución de los niveles de NUS, se analizaron en un diseño en bloques completos al azar (BCA). Para la obtención de los resultados se empleó el procedimiento ANOVA del software SAS V8.0 (SAS, 1999). Los niveles de N en heces, en orina y en leche así como el balance de N y la eficiencia de uso del N, se analizaron en un diseño completamente al azar (DCA) Para la obtención de los resultados se empleó el procedimiento ANOVA del programa SAS V8.0 (SAS, 1999).

Resultados y Discusión

Nitrógeno ureico en sangre (NUS) y en leche (NUL)

Cuadro 3 Promedios de NUS y NUL de vacas con diferentes proporciones de ensilaje de maíz en el forraje de la dieta

	T1 30 %	T2 45 %	T3 60 %	n	ESM	P
NUS	16.15^{a}	13.76^{b}	9.65°	3	3.28	0.0001
(mg/dl) NUL (mg/dl)	13.74 ^a	11.70 ^b	8.22 °	3	2.79	0.0001

En promedio se observó una diferencia estadística altamente significativa entre los diferentes tratamientos tanto para NUS como para NUL (p< 0.01) encontrándose que el mayor valor corresponde al T1 con mayor cantidad de alfalfa en la dieta, y el menor valor al T3 con la menor cantidad de alfalfa en la fracción forrajera de la dieta. Dichos valores son relativamente bajos comparados con los encontrados en estudios de monitoreo de NUS para la misma etapa de lactancia, pero bajo condiciones de mayor ingestión de alfalfa fresca en la Irrigación de Majes que los suministrados en el presente estudio (Zegarra et al., 2003). Holden et al., 1995, también encontraron una reducción significativa (p < 0.05) en los niveles de NUS de vacas suplementadas con 2.3 kg/d de ensilaje de maíz en una dieta en base a pastura de gramíneas, en comparación con las no suplementadas. Dhiman y Satter, 1997, también encontraron una reducción significativa (p < 0.01) en la concentración de urea plasmática conforme se incluían mayores proporciones de ensilaje de maíz en reemplazo de ensilaje de alfalfa en la fracción forrajera de la dieta. Más recientemente Groff y Wu, (2005) también encontraron una reducción lineal altamente significativa del NUS y NUL conforme el contenido de proteína de la dieta era disminuido de 18.75 a 15.00 % encontrando valores que fluctuaron entre 13.8 a 9.9 y 13.1 a 9.9 mg/dL, para NUS y NUL respectivamente. La observación de esta estrecha relación entre el nivel de proteína cruda de la dieta y las concentraciones de NUS y NUL son consistentes también con otros estudios en la literatura (Broderick y Clayton, 1996; Chapa et al., 2001; Sannes et al., 2002). Debido a que el porcentaje de PC de las pasturas no solamente es alto, sino también muy degradable, la inclusión de ensilaje de maíz en su reemplazo en niveles crecientes, al parecer habría ayudado a reducir las pérdidas ruminales de N, y por lo tanto reducido también los niveles de NUS, a través de un mayor suministro de carbohidratos fermentables para una mejor utilización del N en esta parte del tracto gastrointestinal. Dado la alta correlación existente (r² = 0,84) entre NUS y NUL (Broderick y Clayton, 1996) y estableciéndose además que los valores de NUS son casi siempre superiores a los valores de NUL, las causas de concentraciones mayores de NUL para el grupo tratamiento en el presente estudio son las mismas que las descritas para NUS.

Balance de Nitrógeno

Cuadro 4. Balance Nitrogenado y Eficiencia en la Utilización del Nitrógeno de vacas alimentadas con diferentes proporciones de ensilaje de maíz en el forraje de la dieta

	T1 30%	T2 45%	T3 60%	n	ESM	P
Consumo de N (gr/d)	519.50 ^a	467.80^{b}	418.90°	3	65.37	0.0001
Excreción de N heces (gr/d)	124.03^{a}	125.77 ^a	127.94 ^a	3	1.96	0.8509
Excreción de N orina (gr/d)	234.41 ^a	170.34 ^b	159.76^{b}	3	40.39	0.0234
Secreción de N leche (gr/d)	116.55 ^a	123.40^{a}	109.43 ^a	3	6.98	0.8177
Balance de N (gr/d)	44.51 ^a	48.33^{a}	21.74^{a}	3	14.38	0.7120
Eficiencia de uso del N (%)	22.44 ^a	26.38 ^a	26.13 ^a	3	2.21	0.6500

En cuanto al N en heces no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (p > 0,05) aunque se observo un aumento numérico en la excreción de N en heces conforme se incrementó el porcentaje de ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta y se redujo la proteína de la dieta de 19.1 a 15.4 %. Wattiaux y Karg, (2004b) tampoco encontraron diferencias significativas en la excreción de N fecal cuando sustituyeron ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta reduciendo la concentración de proteína de la misma. Estos resultados concuerdan con los reportes de Noftsger y St-Pierre (2003) quienes trabajaron con un rango de PC de 18.3 a 17 %; de igual modo Broderick, (2003) tampoco encontró diferencias cuando redujo la proteína dietaria de 18.0 a 16.5 %, así como también Davidson, et al., (2003) cuando la redujeron de 19.4 a 16.5 %. La fracción nitrogenada de las heces por lo general es muy difícil de modificar, debido a que normalmente la digestibilidad de la proteína consumida en raciones típicas de vacas lecheras es de por si, bastante alta, (Tamminga, 1992). Peyraud et al., (1995) citados por Castillo et al., (2001) concluyeron que la cantidad de N excretado en heces es relativamente constante debido a que consiste principalmente de material indigestible y de N metabólico fecal.

Se encontró una reducción significativa (p < 0,05) de la excreción de N en orina conforme se incrementó el porcentaje de ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta entre los tratamientos 1 y 3 aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos 2 y 3. Wattiaux y Karg, (2004b) también encontraron una reducción significativa en el N urinario conforme se disminuyó el contenido de PC de la dieta, concordando también con los obtenidos por Noftsger y St-Pierre (2003); Broderick, (2003) y Davidson et al., (2003) cuando redujeron los niveles de PC de la dieta de 18.3 a 17.0%, de 18.0 a 16.5% y de 19.4 a 16.5 % respectivamente. Los niveles de N en la orina están fuertemente correlacionados con los niveles de NUS, ya que esta es la ruta normal de excreción del N excedente a nivel sanguíneo, lo que es corroborado por los niveles de NUS encontrados en este estudio, los cuales tuvieron un comportamiento decreciente, al igual que el N excretado en la orina (Cuadro 3) lo cual es uno de los indicadores inequívocos de una mejor eficiencia en la utilización de la proteína conforme se incrementan los niveles de ensilaje de maíz en la dieta forrajera. Adicionalmente Castillo et al., (2001) demostraron una reducción significativa en la excreción de N urinario, sin una variación significativa en el N fecal o en la secreción de N lácteo, conforme el consumo de N se redujo de 516 a 422 gr/d para vacas alimentadas con una dieta en base a ensilaje de pasto. En nuestro estudio los niveles de N consumido disminuyeron desde 519.5 (T1) hasta 418.9 (T3) gr/d (Cuadro 4) con una reducción significativa en la excreción de N urinario desde 234.41 (T1) hasta 159.76 (T3) gr/d, comportamiento muy similar al encontrado por Castillo et al., (2001) lo que corrobora que a menor consumo de N, se obtendrá una menor excreción de N urinario, a diferencia del N fecal y N lácteo que permanecen relativamente constantes como también se encontró en el presente

La secreción de N en la leche (gr/d) no fue significativamente diferente entre los tratamientos (p > 0,05). La variación en el contenido de N secretado en leche podría ocurrir debido a: un aumento en la concentración de N de la leche, una mayor producción de leche ó una combinación de ambos. Por lo general la concentración de N en la leche, relacionado con el % de proteína total, es relativamente constante y esta determinada genéticamente, por lo tanto un aumento en la producción de leche en volumen debería ser el objetivo para aumentar la secreción del N consumido por esta vía, con la finalidad de optimizar el uso del mismo. Dhiman y Satter (1997) tampoco encontraron diferencias significativas en la secreción de N total en leche cuando reemplazaron ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz en niveles crecientes en la fracción forrajera de la dieta, en la forma de tres tratamientos: sólo ensilaje de alfalfa, 1/3

de ensilaje de maíz y 2/3 de ensilaje de alfalfa y finalmente 2/3 de ensilaje de maíz y 1/3 de ensilaje de alfalfa, con valores de 152.7, 160.8 y 158.4 gr/d de N en leche respectivamente

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al balance de nitrógeno (p > 0,05) aunque si numéricas a favor del tratamiento con 45 % de ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta obteniendo 48.33 gr/d de N aparentemente retenido.La ocurrencia de un balance positivo (retención ó depósito de N) en todos los tratamientos del estudio es concordante con los hallazgos de Komaragiri y Erdman (1997) y Komaragiri et al., (1998) citados por Plaizier et al., (2000) quienes afirman que después del periodo posparto se presenta un proceso de retención de N como consecuencia del proceso de recuperación de peso característico de esta etapa de la lactancia. Dhiman y Satter, (1997) tampoco encontraron diferencias significativas en el N retenido cuando sustituyeron ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta. De igual modo Wattiaux y Karg, (2004b) tampoco encontraron diferencias significativas en el balance de nitrógeno cuando sustituyeron ensilaje de alfalfa por ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta con valores promedio de 40 gr/d de N aparentemente retenido, muy similar a los obtenidos en nuestro estudio.

No hubo diferencias significativas en cuanto a la eficiencia de utilización del N consumido (p > 0,05) entre los diferentes tratamientos, aunque se encontró una mayor eficiencia numérica en el tratamiento con 45 % de inclusión de ensilaje de maíz en la fracción forrajera de la dieta. En promedio casi un 25 % del N consumido fue transformado en N lácteo en los diferentes tratamientos, lo cual representa 10 % adicional a la eficiencia encontrada por Bouroncle, (2004) en una dieta que incluyo solo hasta 31 % de ensilaje de maíz, en la fracción forrajera de la dieta, lo cual representa una importante mejora desde el punto de vista ambiental. Dhiman y Satter, (1997) no encontraron diferencias significativas en la eficiencia de utilización del N cuando incluyeron niveles crecientes de ensilaje de maíz en sustitución de alfalfa en la fracción forrajera de la dieta, aunque dicha eficiencia tendió a incrementarse para vacas alimentadas con dietas conteniendo altos niveles de ensilaje de maíz en el forraje de la dieta, situación muy similar a la encontrada en nuestro estudio.

Conclusiones

- 1. La inclusión de niveles crecientes de ensilaje de maíz en sustitución de alfalfa disminuyó linealmente y de manera altamente significativa (p < 0.01) el contenido de NUS y NUL entre los diferentes tratamientos demostrando su utilidad como indicadores de la disponibilidad y utilización del N a nivel ruminal.
- 2. No se encontraron diferencias significativas (p > 0.05) en los niveles de N excretado en las heces y secretado en leche, pero si en el excretado por la orina, (p < 0.05) encontrándose una disminución lineal entre los diferentes tratamientos, demostrando una mejor utilización del N a mayor disponibilidad de carbohidratos fermentables y una simultanea reducción en la ingestión del mismo.
- 3. Bajo condiciones del presente estudio, en el cual se incluye a la alfalfa como parte importante del componente forrajero que se les brinda a vacas lecheras, se deberá de incluir al menos un 45 % de gramíneas, como el ensilaje de maíz a fin de maximizar el % de eficiencia en la utilización del N (26.38 %) y el evitar la presentación de problemas productivos y reproductivos, además del riesgo de contaminación ambiental con N
- 4. Los resultados obtenidos demuestran que el uso de niveles crecientes de ensilaje de maíz, en sustitución de alfalfa en el forraje de la dieta, tienden a reducir el NUS, el NUL y las excreciones de N en la orina, mejorando la eficiencia de utilización del N, reduciendo la potencial contaminación ambiental con N en comparación a las dietas típicas de vacas lecheras en la Irrigación de Majes.

Bibliografía

- 2. Anrique, R. 1993 Bases para la alimentación de la vaca lechera de la alta producción en pastoreo En: Producción Animal 1993. Universidad Austral de Chile, Valdivia Chile
- 3. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. USA.

- 4. Bouroncle J. 2004. Efecto del Uso de Lasalocid sobre la utilización Proteica y Excreción de Nitrógeno en vacas lecheras bajo pastoreo de Alfalfa. Majes Irrigación Arequipa. Tesis de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Católica de Santa María, Arequipa
- 5. Broderick, G. A. 2003 Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:1370-1381.
- 6. Broderick, G. A. y M. K. Clayton 1996 A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. 1996 Research Summaries. U. S. Dairy Forage Research Center. WI, EEUU.
- 7. Butler, W. R. 2000 Nutritional interactions with reproductive performance in diary cattle. Anim. Rep Sci 60-61(2000) 449-457
- 8. Castillo, A.R. Kebreab E. Beever, J. H. Sutton, H.C. Kirby y J. France. 2001. The effect energy supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cow fed grass silage diets. J. Anim. Sci. 79:240-246.
- 9. Comeron, E, L. Romero, O. Bruno y C. Díaz. 1996. Utilización de forrajes conservados en los sistemas lecheros. En: Temas de Producción Lechera. Secretaría de Agricultura, Pesca y Alimentación. INTA Centro Regional Santa Fé. EEA Rafaela, Argentina, Nº 81 Octubre 1996, pag. 225.
- Chapa, A. M, McCormick, M.E, Fernandez, J.M, French, D.D, Ward, J.D y J.F Beatty 2001 Supplemental dietary protein for grazing dairy cows: Reproduction, condition loss, plasma metabolites and insulin. J. Dairy Sci. 84:908-916
- 11. Davidson S., B. A. Hopkins, D. E. Diaz, S.M. Bolt, C. Brownie, V. Fellner y L.W. Whiltow 2003 Effects of amounts degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows. J. Dairy Sci. 86:1681-1689
- 12. Dhiman T. R. y L. D. Satter. 1997. Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. J. Dairy Sci. 80:2069-2082.
- 13. Groff E. B y Z.Wu, 2005 Milk production and nitrogen excretion of dairy cows fed different amounts of protein and varying proportions of alfalfa and corn silage. J. Dairy Sci. 88:3619-3632
- 14. Holden, L. A., Muller, L. D., Lykos, T. y T. W. Cassidy 1995. Effect of Corn Silage Supplementation on intake and milk production in cows grazing grass pasture. J. Dairy Sci. 78:154-160
- 15. Katz, M.P., T.G. Nagaraja y L.R. Fina 1986 Ruminal changes in monensin and lasalocid fed cattle grazing bloat provocative alfalfa pasture. J. Anim. Sci 63:1246-1257
- 16. Meijs, J.A.C., R. J. K. Walters, y A. Keen. 1982. Sward methods. In: J.D. Leaver ed. Herbage intake handbook. Hurley: British Grassland Society. 11-36.
- 17. Mulligan, F.J., P. Dillon, J. J., Callan, M. Rath y F. P. O'Mara. 2004 Supplementary Concentrate Type Affects Nitrogen Excrétion of Grazing Dairy Cows. J. Dairy Sci. 87:3451-3460.
- 18. Noftsger S. y N. R. St-Pierre 2003 Supplementation of methionine and selection of highly digestible rumen undegradable protein to improve nitrogen efficiency for milk production. J Dairy Sci. 86:958-969.
- 19. Plaizier, J. C, A. Martin, T. Duffield, R. Bagg, P. Dick, y B. W. McBride 2000 Effect of a Prepartum Administration of Monensin in a Controlled-Release Capsule on Apparent Digestibilities and Nitrogen Utilization in Transition Dairy Cows J Dairy Sci 2000 83: 2918-2925
- 20. Ruselle, M. 1996. Nitrogen flow in intensively grazed pasture system In: information Conference with Dairy and Forage Industries U.S Dairy Forage Research Center Wisconsin USA.
- 21. SAS User's Guide: Statistics, Version 8. Edition. 1999. SAS Inst., Inc., Cary, NC. USA
- 22. Sannes, R. A, Messman, M. A y Vagnoni D. B 2002 Form of Rumen-Degradable Carbohydrate and Nitrogen on Microbial Protein Synthesis and Protein Efficiency of Dairy Cows. J. Dairy Sci. 85:900-908
- 23. Satter, L. y T. Dhiman. 1996 Enhancing profitability and reducing environmental impact. In: Informational Conference with Dairy and Forage Industries. U.S Dairy Forage Research Center Wisconsin USA.
- 24. Suszkiw, J. (1999) Grass-based farming. A demo project USDA-ARS Pasture systems and watershed management research laboratory. Pensylvania. USA

- 25. Tamminga, S. 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. J. Dairy Sci. 75:345–357.
- 26. Wattiaux, M.A. y K.L Karg, (2004b) Protein Level for alfalfa and corn silage-based diets: II. Nitrogen balance and manure characteristics. J. Dairy Sci. 87:3492-3502
- 27. Zegarra, J., V. Vélez, G. Díaz, y A. Obando. 2003 Evaluación de los Niveles de Nitrógeno Ureico en Sangre de Vacas en Diferentes Etapas de Lactancia Alimentadas con Pastura de Alfalfa en la Irrigación Majes—Arequipa. Memorias XXVI Reunión Científica Anual de la Asociación Peruana de Producción Animal. Pucallpa, Perú