

EFFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN NITROGENADA DEL PASTO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LA LECHE DE VACAS SUPLEMENTADAS CON ENSILADO DE MAIZ

EFFECTS OF NITROGEN FERTILIZATION PASTURE ON FATTY ACID PROFILE IN MILK COWS SUPPLEMENTED WITH CORN SILAGE

G. SALCEDO¹ y A. VILLAR²

¹Dpto. de Calidad e Innovación. Centro Integrado de Formación Profesional "La Granja", 39792 Heras, Cantabria". gregoriosalce@ono.com; ²Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA), C/ Héroes 2 de mayo, 39600, Muriedas,

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción de leche y el perfil de ácidos grasos de la leche de vacas lecheras Holstein-Friesian en pastoreo durante la primavera-verano. Quince vacas fueron asignadas a tres praderas (n=5) fertilizadas con 0, 84 y 168 kg N ha⁻¹ y año denominadas N₀, N₈₄ y N₁₆₈, según un diseño experimental de bloques considerando la vaca como unidad experimental. Las vacas fueron suplementadas con 30% de ensilado de maíz y 32% de concentrado del total de la materia seca ingerida. La fertilización incrementó significativamente la producción y el consumo de hierba. El contenido de C18:2 y C18:3 del pasto respecto al testigo N₀ fue 7,3%-23% mayor para N₈₄ y 23-30% con N₁₆₈, mientras que la ingestión de C18:3 aumentó un 31% en N₈₄ y 47% en N₁₆₈. El consumo de C18:3 del pasto en relación al testigo fue 31% y 47% mayor en N₈₄ y N₁₆₈, respectivamente. La producción de leche y el porcentaje de grasa y proteína de la leche no fueron estadísticamente diferentes entre tratamientos. Los contenidos de ácidos grasos Ω 3, CLA (Acido Linoléico Conjugado) y poliinsaturados de la leche se incrementaron con la fertilización (P<0,001). El CLA se relacionó positivamente con la ingesta de C18:3 (r=0,88; P<0,01), el nitrógeno del pasto (r=0,86; P<0,01), el consumo de pasto (r=0,64; P<0,01) y el nivel de fertilización (r=0,39; P<0,01).

Palabras clave: ácido linoleico conjugado, vacas, leche, pastoreo, fertilizante nitrogenado.

SUMMARY

The objective of this work was to analyze the effect of nitrogen fertilization on milk production and milk fatty acid profile from Holstein-Friesian dairy cows grazing during spring-summer season. Fifteen dairy cows were allocated in three treatments: pastures which were fertilized with 0, 84 and 168 kg N ha⁻¹ denominated N₀ or control, N₈₄ and N₁₆₈, respectively, according to a factorial nested design. Cows were supplemented with maize silage and concentrate (30 and 32%, respectively, in a dry matter basis). Fertilization significantly increased the production and intake of grass. The content of C18:2 and C18:3 compared to the control N₀ pasture was 7.3%-23% higher for N₈₄ and 23-30% with N₁₆₈, while ingestion of C18:3 increased by 31% in N₈₄ and 47% in N₁₆₈. Linolenic intake from pasture was 31 and 47% higher than control for N₈₄ and N₁₆₈, respectively. Milk production and milk fat and protein concentration did not vary across treatments. Milk Ω 3, CLA and polyunsaturated fatty acids increased as the level of N fertilization did (P<0.001). Milk CLA concentration was positively correlated to C18:3 intake (r=0.88, P<0.01), N intake (r=0.86; P<0.01), herbage dry matter intake (r=0.64; P<0.01) and level of nitrogen fertilization (r=0.39; P<0.01).

Key words: Conjugated linoleic acid, dairy cows, milk, grazing, nitrogen fertilizer.

INTRODUCCIÓN

El pastoreo de vacas lecheras es un sistema de manejo eficiente que reduce los costes y proporciona una imagen favorable de los productores de leche (Wilkins y Vidrish, 2000). Los sistemas convencionales requieren del empleo de fertilizantes nitrogenados para mantener la cantidad y calidad nutritiva de la hierba. El forraje fresco es una fuente natural de ácidos grasos (AGs) poliinsaturados, particularmente linoleico y linoléico, precursores de $\Omega 3$ en la carne y leche, seguido por el palmítico y, en menor medida, del oleico (Walker *et al.*, 2004). La concentración de los distintos AGs varía entre especies, variedades y técnica de conservación (Boufaïed *et al.*, 2003) y entre las partes de la planta, siendo menor en tallos que en hojas (Boufaïed *et al.*, 2003). La fertilización con N a las dosis de 0, 45 y 100 kg ha⁻¹ (Elgersma *et al.*, 2005) y 0, 84 y 164 kg (Salcedo, 2011) aumentó los contenidos en C16:0, C18:2 y C18:3 del pasto y esto es debido, tal y como apunta Lefebvre *et al.* (1967), a que con la fertilización se incrementa la proporción de hojas en la hierba. El objetivo del presente trabajo fue comprobar si las diferencias observadas en el contenido de AGs del pasto con la fertilización nitrogenada se traducen en cambios significativos en los AGs de la leche, obtenida de vacas en pastoreo suplementadas con ensilado de maíz.

MATERIAL Y METODOS

Animales, praderas y diseño experimental: quince vacas lecheras (3 primíparas y 12 múltiparas) con 77 ± 32 días de lactación y $29,3 \pm 4,1$ kg de leche fueron asignadas aleatoriamente al pastoreo de tres praderas de 0,31 ha según un diseño experimental de bloques completamente aleatorizados. Cada pradera recibió una fertilización de 0, 84 y 168 kg N ha⁻¹ y año, repartidos en siete aplicaciones después de cada pastoreo. Las horas de pastoreo fueron de 10:30 a 15:00 y de 19:00 a 7:00, de abril a octubre. Después de cada ordeño, las vacas recibieron 3,2 y 3,0 kg de materia seca en forma de concentrado y ensilado de maíz, respectivamente.

Muestreo, mediciones y análisis: la ingestión diaria de hierba (kg materia seca (MS)/vaca/día) fue estimada como: $[(Oferta_n - Rechazo_{n-1}) + VC_n (d_1 - d_2) \div n] \div$ días de pastoreo; donde d_1 y d_2 son las fechas de medición (una a la entrada del pastoreo y otra el día de salida) de la oferta y rechazos y n el número de vacas; VC_n es la velocidad de crecimiento de la hierba en kg de MS ha⁻¹ y día. En cada caso, la muestra de hierba se obtuvo segando 5 franjas de 10 cm de ancho por 2 m de largo con una segadora manual a pilas. La muestra se secó en estufa a 60 °C durante 48 h para determinar la materia seca y su contenido en N-Kjeldahl con el Kjeltac™ 2300 de Foss. El extracto etéreo y el perfil

de AGs del ensilado de maíz, concentrado y hierba fueron analizados en el Laboratorio Agroalimentario de Santander. Las vacas fueron ordeñadas a las 7:30 h y 16:30 h, anotándose la producción individual el último día de cada aprovechamiento y tratamiento. Dos alícuotas, a volúmenes iguales del ordeño de mañana y tarde, se recogieron en dos frascos de plástico estériles, analizándose el contenido de grasa y proteína en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Cantabria en el primero y el perfil de AGs en el Laboratorio Agroalimentario de Santander en el segundo, según Norma ISO 15885/FIL 184:2002.

Análisis estadístico: la producción y el contenido de grasa, proteína y AGs de la leche se analizaron usando el Modelo Lineal Mixto SPSS (2006). El efecto fijo fue el abonado nitrogenado y el mes (abril-octubre) como efecto aleatorio. Los efectos lineales o cuadráticos para el fertilizante fueron analizados mediante el test de contrastes ortogonales. Un análisis de correlación Pearson fue desarrollado para examinar las relaciones entre los AGs de la leche respecto a los ingeridos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Biomasa, contenido en nitrógeno y ácidos grasos de los alimentos

La hierba en oferta y el contenido de N, extracto etéreo y AGs del pasto difirieron

($P < 0,001$) entre tratamientos (Tabla 1).

La concentración de C18:3 del pasto se relacionó positivamente ($P < 0,01$) con el fertilizante nitrogenado (Tabla 2), coincidiendo con lo observado por Witkowska *et al.* (2006). Por otro lado, la ingestión de C18:2 y C18:3 aumentó linealmente (Tabla 1) al incrementar el fertilizante como consecuencia del mayor consumo de materia seca ($r = 0,86$ y $0,87$, respectivamente; $P < 0,01$) y mayor oferta ($r = 0,24$ y $0,41$; $P < 0,01$) (Tabla 2).

Producción, composición química y perfil de ácidos grasos de la leche

La producción de leche y la concentración de grasa y proteína no difirieron entre tratamientos (Tabla 3). Los AGs saturados (AGS), insaturados (AGI) y monoinsaturados (AGMI) no difirieron entre tratamientos (Tabla 3) mientras que los poliinsaturados AGPI aumentaron linealmente ($P < 0,001$) al incrementar el fertilizante (Tabla 3), lo cual puede atribuirse al incremento significativo en los contenidos de C18:3 y CLA ($P < 0,001$). Los valores medios de CLA fueron de 1,28, 1,32 y 1,36 g /100 g AGs para N_0 , N_{84} y N_{168} , respectivamente (Tabla 3), con un coeficiente de correlación $r = 0,39$ ($P < 0,01$) con la dosis de fertilizante (Tabla 2). El CLA siguió un patrón similar a las concentraciones de C18:2 y C18:3 de la hierba durante la estación de pastoreo (Figura 1).

Tabla 1
Producción de pasto, composición química de los alimentos (media + e.e.) e ingestión de nutrientes

Kg de N ha ⁻¹	N ₀	N ₈₄	N ₁₆₈	P	Ensilado maíz	Concentrado
Oferta, kg MS ha ⁻¹	1058a	1200b	1369c	***	-	-
Composición química						
MS, g kg	170a	171a	167a	NS	298±9,1	866±0,82
N, g kg MS	28,6a	29,7ab	31,1b	***	13,3±0,05	34,4±0,08
EE, g kg MS	27,9a	28,3a	28,9a	***	22,9±0,09	47,4±0,82
AGs, g kg MS	21,8a	25,7b	27,1b	***	28,9±0,09	46,6±0,05
C16:0, g kg MS	3,05a	3,28b	3,51c	***	3,65±0,01	8,6±0,02
C18:0, g kg MS	0,47a	0,56b	0,64b	***	0,63±0,005	0,95±0,02
C18:1, g kg MS	1,18a	1,30ab	1,40b	***	8,26±0,02	13,5±0,08
C18:2, g kg MS	3,27a	3,51b	3,75c	***	15,6±0,12	21,6±0,09
C18:3, g kg MS	13,9a	17,1b	18,1b	***	0,76±0,05	1,8±0,04
Ingestión (vaca/día)						
	N ₀	N ₈₄	N ₁₆₈	e.e.	L	Q
MS, kg	19,0a	19,4b	19,8c	0,076	***	NS
MS pasto, kg	6,6a	7,0b	7,5c	0,07	***	NS
N, g	628a	647b	671c	3,95	***	NS
EE, g	636a	657b	674c	3,2	***	NS
C16:0, g	71a	74b	77c	0,36	***	NS
C18:0, g	13,4a	14,3b	15,3c	0,09	***	NS
C18:1, g	143a	145b	146c	0,22	***	NS
C18:2, g	252a	255b	259c	0,43	***	NS
C18:3, g	109a	138b	153c	2,87	***	NS
Ácidos grasos, g	589a	626b	649c	3,8	***	NS
C18:2 del pasto, g	22a	25b	28c	0,44	***	NS
C18:3 del pasto, g	93a	122b	137c	2,8	***	**

Valores con distinta letra en la misma fila indica diferencias significativas *P<0,05; ***P<0,001; NS: no significativo; e.e.: error estándar; L: efecto lineal; Q: efecto cuadrático; EE: Extracto Etéreo

Tabla 2
Coeficientes de correlación entre variables de manejo y ácidos grasos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(1) N, kg ha ⁻¹	-	,54**	NS	,40**	,39**	,52**	,55**	NS	,64**	0,39**	NS	,57**
(2) MS oferta, kg ha ⁻¹		-	,29**	NS	NS	,24**	,41**	NS	,47**	0,38**	NS	,46**
(3) Leche, kg d ⁻¹			-	,24**	NS	NS	,22*	NS	,19*	NS	,53**	,18*
(4) Hierba, kg MS d ⁻¹				-	,77**	,86**	,87**	NS	,57**	,64**	-,39**	,70**
(5) N ingerido, g d ⁻¹					-	,93**	,89**	NS	,75**	,86**	-,46**	,86**
(6) C18:2 ingerido pasto, g d ⁻¹						-	,95**	NS	,76**	,85**	-,47**	,90**
(7) C18:3 ingerido pasto, g d ⁻¹							-	NS	,81**	,88**	-,42**	,95**
(8) C18:2 leche, g 100 g AGs ^a								-	NS	NS	NS	NS
(9) C18:3 leche, g 100 g AGs ^a									-	,79**	,19*	,86**
(10) CLA, g 100 g AGs ^a										-	-,40**	,92**
(11) Eficiencia ^b C18:3, %											-	-,40**
(12) C18:3 de la hierba												-

a: en leche; **b:** (ácido linolénico en leche, g d⁻¹ x 100) / ácido linolénico ingerido, g d⁻¹

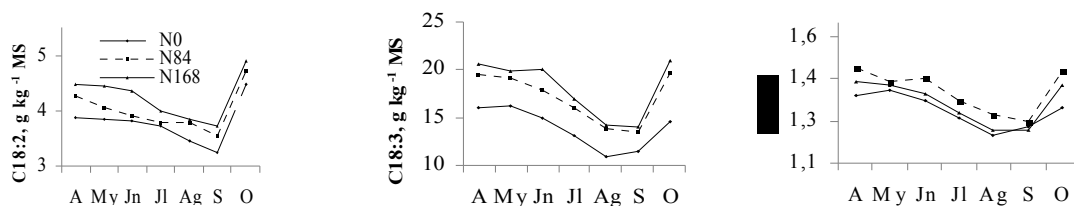


Figura 1 Contenido de C18:2 y C18:3 de la hierba y CLA en leche

Relaciones significativas entre el CLA y la ingestión de C18:2 y C18:3 fueron observadas también por otros autores pero con correlaciones más bajas, Lounglawam (2005) obtuvo

correlaciones de $r=0,59$ y $r=0,52$, respectivamente; y Elgersma *et al.* (2008) obtuvieron un valor similar ($r=0,58$) entre el contenido de CLA en leche y el contenido de C18:3 de la hierba.

Tabla 3. Producción de leche, composición química y perfil de ácidos grasos

	N ₀	N ₈₄	N ₁₆₈	e.e.	Fertilizante	L	Q
Producción y composición química de la leche							
Leche, kg	29,8	30,2	31,4	1,36	NS	NS	NS
Grasa, %	3,47	3,63	3,68	0,048	NS	NS	NS
Proteína, %	3,30	3,20	3,15	0,036	NS	NS	NS
Ácidos grasos g 100 g AGs							
C4:0	3,42	3,44	3,45	0,086	NS	NS	NS
C6:0	2,31	2,40	2,34	0,029	NS	NS	NS
C8:0	1,38	1,47	1,45	0,136	NS	NS	NS
C10:0	3,26	3,36	3,38	0,078	NS	NS	NS
C12:0	3,80	3,95	4,02	0,21	NS	NS	NS
AGs de cadena corta	14,1	14,6	15,0	0,45	NS	NS	NS
C14:0	11,3a	11,9ab	12,1b	0,29	*	*	NS
C14:1	1,02	1,07	1,11	0,039	NS	NS	NS
C15:0	1,27	1,33	1,32	0,052	NS	NS	NS
C16:0	28,6a	27,4b	26,6b	0,46	***	NS	NS
C16:1	1,46a	1,53ab	1,50b	0,043	*	NS	NS
C17:0	0,62	0,64	0,66	0,029	NS	NS	NS
AGs de cadena media	44,7	43,9	43,4	0,78	NS	NS	NS
C18:0	8,63	8,26	8,81	0,377	NS	NS	NS
C18:1 c9	24,1	23,4	23,4	0,748	NS	NS	NS
C18:2 c9 c12	2,44	2,51	2,58	0,066	NS	NS	NS
C18:3 (n-3)	0,67a	0,74b	0,79c	0,019	***	***	NS
C18:2 c9 t11, CLA	1,28a	1,32b	1,36c	0,028	***	***	NS
AGs de cadena larga	37,1	36,3	37,0	1,04	NS	NS	NS
AGS	57,9	56,9	57	0,86	NS	NS	NS
AGPI	4,4a	4,65b	4,75b	0,067	***	***	NS
AGMI	25,5	24,9	24,9	0,707	NS	NS	NS
AGPI:AGS	0,077b	0,081ab	0,083a	0,001	*	*	NS
Ω6:Ω3	3,65a	3,40ab	3,26b	0,135	***	***	NS
Ω3:Ω6	0,27a	0,30ab	0,31b	0,011	***	***	NS
Δ ⁹ Índice Desaturasa	0,081	0,082	0,083	0,002	NS	NS	NS
C18:3 transferido a leche ¹ , %	6,48	6,01	6,13	0,41	NS	NS	NS

AGS: Ácidos grasos saturados (C10:0; C12:0; C14:0; C15:0; C16:0; C17:0; C18:0); AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados (C18:2 cis-9 t11; C18:2; C18:3); AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados (C16:1; C18:1 cis9); C18:3 transferido en leche (C18:3 n-3 leche/ C18:3 n-3 ingerido) y C18:2 leche/C18:2 ingerido) g g⁻¹; Δ⁹: Índice desaturasa: C14:1 / (C14:0+C14:1); e.e.: error estándar; P: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; L: efecto lineal; C: efecto cuadrático.

Cuando las vacas son alimentadas con raciones totales mezcladas y tienen acceso al pasto, éste les proporciona C18:2 extra, precursor de CLA y ácido vacénico (VA), y C18:3 precursor también de VA en el rumen (Morales-Almaraz *et al.*, 2010). El VA es a su vez precursor de la síntesis endógena de CLA en la glándula mamaria a través de la acción de la Δ^9 -desaturasa (Griinari *et al.*, 2000). Lock y Garnsworthy (2003) señalaron variaciones estacionales de CLA atribuidas a cambios en la actividad de la Δ^9 -desaturasa, indicando rangos variables de 0,6 a 1,7 g de CLA/100 g de grasa y registrándose los máximos cuando la hierba es joven (Dhiman *et al.*, 1999). La actividad de la Δ^9 -desaturasa estimada como: $C14:1 / (C14:0 + C14:1)$ no difirió entre tratamientos (Tabla 3).

La ingestión de nitrógeno se relacionó positivamente ($r=0,86$; $P<0,01$) con el CLA de la leche (Tabla 2) y presentó una correlación positiva ($r=0,64$; $P<0,01$) con la concentración de C18:2 y C18:3 de la hierba (Tabla 1).

El ácido linolénico transferido a la leche estimado a partir del ingerido no difirió entre dosis de fertilizante, con valores medios de 6,48% para N_0 ; 6,0% para N_{84} y 6,13% para N_{168} (Tabla 3), registrándose los menores porcentajes en los meses de abril y octubre, coincidiendo con el mayor contenido de C18:3 en la hierba. Estas cifras fueron

similares a las obtenidas por Palladino *et al.* (2009) para vacas en pastoreo (valores entre 6,4 y 8,2%) y Morales-Almaráz *et al.* (2010) con raciones totales mezcladas y 12 horas de pastoreo (5,86%).

CONCLUSIONES

Las concentraciones de N, C18:2 y C18:3 en la hierba aumentaron con la fertilización nitrogenada. La ingestión de pasto y los porcentajes de $\Omega 3$ y CLA en la leche se incrementaron con la aplicación de fertilizante nitrogenado. La ausencia de efectos cuadráticos en el contenido de $\Omega 3$, CLA y el C18:3 transferido en leche respecto al ingerido ponen de manifiesto que aplicaciones de 86 kg N ha⁻¹ y pastoreo son suficientes para maximizar la fertilización nitrogenada.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración prestada por el Laboratorio Agroalimentario de Santander para la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

BOUFAÏED, H., CHOUINARD, P., TREMBALY, G., PETIT, H., MICHAUD, R. Y BÉLANGER, G. (2003). Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Can. J. Anim. Sci.* 83, 501-511.

DHIMAN, T., HELMINK, D., MCMAHON, D., FIF, R. Y PARIZA, M. (1999). Con-

jugated linoleic acid content of milk and cheese from cows fed extruded oilseeds. *Journal Dairy Science* 82, 412-419.

ELGERSMA, A., MAUDET, P., WITKOWSKA, I. Y WEVER, A. (2005). Effects of nitrogen fertilization and regrowth period on fatty acid concentrations in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), *Annals of Applied Biology* 147 (2), 145-152.

ELGERSMA, A., VAN DER HOOVEN, E., WITKOWSKA, I. Y SMIT, H. (2008). Effects of the grazed horizon in perennial ryegrass swards on the conjugated linoleic acid concentration in milk of dairy cows. *Grassland Science in Europe* 13, 388-390,

GRIINARI, J., CORL, B., LACY, S., CHOUNIARD, P., NURMELA, K. Y BAUMAN, D. (2000). Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating cows by delta 9-desaturase. *Journal of Nutrition* 130, 2285-2291.

LOCK, A. Y GARNSWORTHY, P. (2003). Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and Δ^9 -desaturase activity in dairy cows. *Livestock Science* 79, 47-59.

LOUNGLAVAM, P. 2005. <http://sutir.sut.ac.th:8080/sutir/bitstream/123456789/1608/1/Pipat.pdf>

MORALES-ALMARÁZ, E., SOLDADO, A., GONZÁLEZ, A., MARTÍNEZ-

FERNÁNDEZ, A., DOMÍNGUEZ-VARA, I., DE LA ROZA-DELAGADO, B. Y VICENTE, F. (2010). Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *Journal Dairy Research* 77, 225-230.

NIELSEN, T., STRAARUP, E., VESTERGAARD, M. Y SEJRSEN, K. (2006). Effect of silage type and concentrate level on conjugated linoleic acids, trans-C18:1 isomers and fat content in milk from dairy cows. *Reprod. Nutri. Dev.* 46, 699-712.

PALLADINO, R., O'DONOVAN, M., MURPHY, J., MCEVOY, M., CALLAN, J., BOLAND, J., BOLAND, T. Y KENNY, D. (2009). Fatty acid intake and milk fatty acid composition of Holstein dairy cows and daily herbage different grazing strategies: Herbage mass and daily herbage allowance. *Journal Dairy Science* 92, 5212-522.

SALCEDO, G. (2011a). Minimización y aprovechamiento del purín en las explotaciones lecheras de Cantabria, Documentos Técnicos de Medio Ambiente, Gobierno de Cantabria, Consejería de Medio Ambiente, 682 p. D.L.: SA-258-2011.

SALCEDO, G. (2011b). Effects of the application of nitrogen on the fatty acid profile in coastal zone meadows in Cantabria (Spain) used for pasture, *Grassland Science in Europe*, Vol. 16, 88-90.

SPSS. (2006). SPSS for Windows, version 15.0 Ed, SPSS Inc., Chicago (USA).

WALKER, G., DOYLE, P., HEARD, J. Y FRANCIS, S. (2004). Fatty acid composition of pastures. *Animal Production in Australia* 25, 192-195.

WILKINS, R. Y VIDRISH, T. (2000). Grassland for 2000 and beyond, In: Soegard K., Ohlsson C., Sehested J., Hutchings N. J., and Kristensen T, (eds) Grassland Farming, Managing Environmental and Economic Demands, Proceedings of the 18th European Grassland Federation Meeting, Aalborg, *Grassland Science in Europe*, 5, 9-18.

WITKOWSKA, I., WEVER, A. Y ELGERSMA, A. (2006). Factors affecting the fatty patterns of *Lolium perenne*, *Grassland Science in Europe*, 11, 454-456.