

TESE DE DOUTORAMENTO

**LEGUMINOSAS PRATENSES EN SISTEMAS DE BAIXO INPUT EN GALICIA:
EFECTO SOBRE A PRODUCCIÓN E O PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE
DE VACÚN**

Marcos Veiga López

ESCOLA DE DOUTORAMENTO INTERNACIONAL

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN INVESTIGACIÓN AGRARIA E FORESTAL

LUGO

2019



DECLARACIÓN DO AUTOR DA TESE

[Leguminosas pratenses en sistemas de baixo input en Galicia: Efecto sobre a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacún]

D. Marcos Veiga López

Presento a miña tese, seguindo o procedemento axeitado ao Regulamento, e declaro que:

- 1) A tese abarca os resultados da elaboración do meu traballo.
- 2) De selo caso, na tese faise referencia ás colaboracións que tivo este traballo.
- 3) A tese é a versión definitiva presentada para a súa defensa e coincide coa versión enviada en formato electrónico.
- 4) Confirmo que a tese non incorre en ningún tipo de plaxio doutros autores nin de traballos presentados por min para a obtención doutros títulos.

En LUGO, 11 de OUTUBRO de 2019

Asdo.....



AUTORIZACIÓN DO DIRECTOR DA TESE

[Leguminosas pratenses en sistemas de baixo input en Galicia: Efecto sobre a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacún]

D. César Resch Zaba

INFORMA:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D. Marcos Veiga López, baixo a miña dirección, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En LUGO de 11 de OCTUBRO de 2019

Asdo.....





AUTORIZACIÓN DO TITOR DA TESE

[Leguminosas pratenses en sistemas de baixo input en Galicia: Efecto sobre a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacún]

Dna. M^{te} Rosa Mosquera dosada

INFORMO:

Que a presente tese, correspóndese co traballo realizado por D. Marcos Veiga López, baixo a miña titoría, e autorizo a súa presentación, considerando que reúne os requisitos esixidos no Regulamento de Estudos de Doutoramento da USC, e que como director desta non incorre nas causas de abstención establecidas na Lei 40/2015.

En dup., 11 de October de 2019

Asdo.....





Dedicada a tódalas mulleres labregas facendo un especial recordo para miña madriña e avoa Engracia, por ensinarme desde ben pequeno como coidar dos animais e protexer o entorno que os rodea.





AGRADECEMENTOS

Ao Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (CIAM) e a cada un dos compañeiros que nel traballan por facerme sentir moi querido desde un principio, axudándome sempre na toma de decisións e implicándose en tódolos experimentos.

Aos axentes que fixeron posíbel a unión CIAM-LEYMA S.A. mediante o proxecto de investigación PGIDIT 09MRU012E, para o financiamento inicial da obtención dos datos experimentais.

Ao compañeiro e amigo (xefe do departamento de Pastos e Cultivos do CIAM) o Dr. Gonzalo Flores Calvete por confiar en min desde un principio e traballar de maneira sobrenatural para a consecución desta tese. A túa loita diaria por manter viva a investigación agraria galega servírame sempre como inspiración tanto persoal como profesional.

Ao meu director de tese e amigo o Dr. César Resch Zafra pola confianza que depositou en min, aconsellándome en todo momento e delegando en min responsabilidades que me fixeron madurar profesionalmente.

Aos meus compañeiros e amig@s Sonia Pereira, Laura González e Adrián Botana polo apoio e traballo realizado para lograr a presente tese.

Aos meus pais Daniel e Ánxeles por traballar duramente todos estes anos, os 365 días do ano para axudarme na miña formación, apoiándome en todo momento, e por ensinarme os valores que me permitirán seguir logrando obxectivos coma este. Ademais de deixarme facer as miñas prácticas agronómicas, desde os catro anos de idade, nunha das mellores granxas leiteiras de Galicia.

Á miña parella María Xesús por soportarme, aconsellarme, apoiarme no día a día e involucrarse en cada proxecto que levo a cabo e tamén como non, na realización desta tese.

Aos familiares e amigos que me apoiaron e se interesaron polo avance e consecución desta tese.



RESUMO

Situada na área de influencia Atlántica, un dos principais activos da gandaría de leite de Galicia é a capacidade para producir pastos e forraxes, albergando unha actividade gandeira que representa máis do 55% das granxas leiteiras de vacún e case o 40% da produción de España. O desenvolvemento de sistemas baseados nun uso forraxeiro eficiente, con custos de produción reducidos, representa unha oportunidade para o acceso ao mercado, nunha contorna de produción global, liberalizada e altamente competitiva.

As demandas crecentes da sociedade acerca da nutrición saudábel, a orixe dos alimentos e a súa calidade esixe sistemas de produción sustentábeis que, ademais de ser viábeis economicamente deben conformar as demandas da cidadanía. Nos últimos 40 anos o uso de concentrados e de ensilaxe de millo incrementouse notablemente e o uso de pastos e forraxes frescos viuse reducido, o que conduciu a un perfil da graxa láctea menos favorable en comparación coa do leite producido en base a pastos. As recomendacións dietéticas actuais indican a necesidade de incluír na dieta humana alimentos cunha baixa relación entre os ácidos graxos omega-6 e omega-3, posto que existe unha forte evidencia acerca de que o incremento dos niveis de omega-3 na dieta humana axuda a reducir o desequilibrio existente entre ácidos graxos esenciais.

A pesar das favorábeis características das leguminosas pratenses, comparadas coas gramíneas, en relación ao seu bo valor nutricional, uso reducido do N de síntese e menores emisións de CO₂, a súa presenza nos pastos diminuíu fortemente en Europa. Adicionalmente ás mencionadas vantaxes, as leguminosas pratenses mostran unha maior eficiencia na transferencia de ácidos graxos saudábeis da dieta ao leite. Por estas razóns a re-introdución de trevos e outras leguminosas pratenses para ser utilizadas en pastoreo ou como ensilado podería ser unha medida interesante para conseguir beneficios de índole nutricional, económico, ambiental e relativos á saúde humana.

A fin de obter información sobre o manexo das leguminosas pratenses en pastoreo ou como ensilado e de avaliar o seu efecto sobre a produtividade animal e sobre o perfil graxo do leite, realizáronse cinco experimentos en condicións de alimentación controlada onde se compararon as tres especies de leguminosas pratenses máis usadas nas granxas leiteiras galegas, os trevos violeta e branco e a alfalfa, co raigrás inglés en dous experimentos de

ensilado con vacas estabuladas e en tres experimentos de pastoreo, todos eles con niveles medios e baixos, respectivamente, de concentrados.

Observouse unha resposta positiva para as especies leguminosas tanto en pastoreo como en situación de alimentación con ensilados. Cando o pastoreo se realiza coa estación avanzada, a finais de verán, a magnitude da resposta obtida para o trevo violeta é moi marcada, en comparación coa gramínea. No pastoreo de primavera, o consumo a dente das especies leguminosas tamén incrementa a produtividade animal e melloran o perfil de ácidos graxos do leite, pero en menor medida.

O consumo de leguminosas como ensilaxe mostra unha clara resposta, comparado co raigrás inglés, en canto á produción e a calidade da graxa de leite, aumentando o contido de omega-3 no perfil de ácidos graxos. O trevo violeta móstrase como a mellor opción, en termos de produción de leite cunha alta concentración de ácidos graxos poliinsaturados, cando as vacas son alimentadas con ensilaxes.

Os resultados do presente estudo mostran que as granxas leiteiras de Galicia poderían reducir significativamente o consumo de concentrados usando forraxes frescas e conservadas de alto valor nutricional. A inclusión de especies leguminosas nos pastos rendería vantaxes adicionais en termos de incremento da produtividade animal e dun mellor perfil graxo do leite, conformando os requirimentos actuais da poboación.

Palabras clave: leguminosas, pastoreo, ensilado, perfil graxo, omega-3, produción de leite de vacún

RESUMEN

Situada en el área de influencia Atlántica, uno de los principales activos de la ganadería de leche de Galicia es la capacidad para producir pastos y forrajes, albergando una actividad ganadera que representa más del 55% de las granjas lecheras de vacuno y casi el 40% de la producción de España. El desarrollo de sistemas basados en un uso forrajero eficiente, con costes de producción reducidos, representa una oportunidad para el acceso al mercado, en un entorno de producción global, liberalizado y altamente competitivo.

Las demandas crecientes de la sociedad acerca de la nutrición saludable, el origen de los alimentos y su calidad exige sistemas de producción sostenibles que, además de ser viables económicamente deben conformar las demandas de la ciudadanía. En los últimos 40 años el uso de concentrados y de ensilaje de maíz se ha incrementado notablemente y el uso de pastos y forrajes fresco se ha visto reducido, lo que condujo a un perfil de la grasa láctea menos favorable en comparación con la de la leche producida en base a pastos. Las recomendaciones dietéticas actuales indican la necesidad de incluir en la dieta humana alimentos con un baja relación entre los ácidos grasos omega-6 y omega-3, puesto que existe una fuerte evidencia acerca de que el incremento de los niveles de omega-3 en la dieta humana ayuda a reducir el desequilibrio existente entre ácidos grasos esenciales.

A pesar de las favorables características de las leguminosas pratenses, comparadas con las gramíneas, en relación a su buen valor nutricional, uso reducido del N de síntesis y menores emisiones de CO₂, su presencia en los pastos ha disminuido fuertemente en Europa. Adicionalmente a las mencionadas ventajas, las leguminosas pratenses muestran una mayor eficiencia en la transferencia de ácidos grasos saludables de la dieta a la leche. Por estas razones la reintroducción de tréboles y otras leguminosas pratenses para ser utilizadas en pastoreo o como ensilado podría ser una medida interesante para conseguir beneficios de índole nutricional, económico, ambiental y relativos a la salud humana.

A fin de obtener información sobre el manejo de las leguminosas pratenses en pastoreo o como ensilado y de evaluar su efecto sobre la productividad animal y sobre el perfil graso de la leche, se realizaron cinco experimentos en condiciones de alimentación controlada donde se compararon las tres especies de leguminosas pratenses más usadas en las granjas lecheras gallegas, los tréboles violeta y blanco y la alfalfa, con el raigrás inglés en dos experimentos

de ensilado con vacas estabuladas y tres experimentos de pastoreo, todos ellos con niveles medios y bajos, respectivamente, de concentrados.

Se observó una respuesta positiva para las especies leguminosas tanto en pastoreo como en situación de alimentación con ensilados. Cuando el pastoreo se realiza con la estación avanzada, a finales de verano, la magnitud de la respuesta obtenida para el trébol violeta fue muy marcada, en comparación con la gramínea. En el pastoreo de primavera, el consumo a diente de las especies leguminosas también incrementa la productividad animal y mejoran el perfil de ácidos grasos de la leche, pero en menor medida.

El consumo de leguminosas como ensilaje muestra una clara respuesta, comparado con el raigrás inglés, en cuanto a la producción y la calidad de la grasa de leche, aumentando el contenido de omega-3 en el perfil de ácidos grasos. El trébol violeta se muestra como la mejor opción, en términos de producción de leche con una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados cuando las vacas son alimentadas con ensilados.

Los resultados del presente estudio muestran que las granjas lecheras de Galicia podrían reducir significativamente el consumo de concentrados usando forrajes frescos y conservados de alto valor nutricional. La inclusión de especies leguminosas en los pastos rendiría ventajas adicionales en términos de incremento de la productividad animal y de un mejor perfil graso de la leche, conformando los requerimientos actuales de la población.

Palabras clave: leguminosas, pastoreo, ensilado, perfil graso, omega-3, producción de leche de vacuno

SUMMARY

Situated in the Atlantic zone of the Iberian Peninsula, one of the main strengths of the Galician dairy sector is the high productivity of pastures and forage crops, hosting a livestock activity that accounts for more than 55% of dairy farms and almost 40% of total dairy milk production of Spain. The development of low-cost, environmentally-friendly production systems, based on an efficient use of forages represents an opportunity to access new markets under current global, liberalized and highly competitive production markets.

The growing concern of society about the origin of food and its quality requires sustainable production systems, which in addition to be economically successful, should meet the nutritional and healthy needs of consumers. Over the last four decades, the use of concentrates and maize silage in cows' rations has increased, being reduced the use of pastures and fresh forages, leading to a less favourable milk lipid profile compared to pasture based milk. Actual dietary health recommendations indicate the need to include in human diet foods with a reduced omega-6/omega-3 ratio, since there is strong evidence that increased omega-3 levels in human diets helps to reduce the imbalance between essential fatty acids.

In spite of the favourable characteristics of pasture legumes, compared with grasses, related to their good nutritive value, reduced N inputs and CO₂ emission savings, their presence in swards has strongly decreased in Europe. Additionally to the aforementioned advantages, forage legumes show a higher efficiency of transferring healthy fatty acids from diet to milk. For that reasons, the re-introduction of clovers and other legumes in pastures for grazing or ensiling could be an interesting approach to accomplish nutritional, economic, environmental and human health benefits.

In order to gain insight on the management of pasture forage legumes and evaluate their effect on milk fatty acid profile and animal productivity, compared with perennial ryegrass, when grazed or consumed as silage, five feeding controlled trials were carried out, where the multiannual legumes species most used in Galician farms red clover, white clover and alfalfa, were compared with perennial ryegrass in three grazing and two silage feeding experiments with confined cows and low-medium concentrate levels.

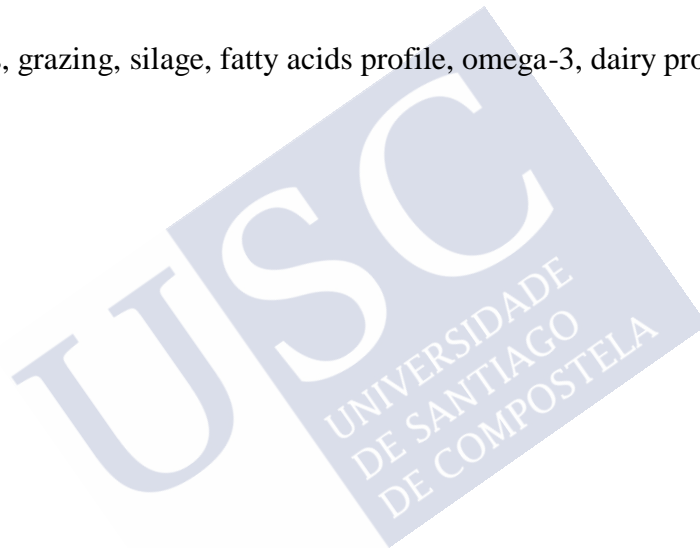
A positive response was observed for legume species in both grazing and silage situations. When grazing in the advanced season in summer, a higher effect was detected for red clover,

compared with grass. In spring grazing, pasture legumes also increased animal performance and milk fatty acid profile, to a lesser extent.

Legume silages showed a clear response, compared with grass, in terms of milk yield and milk fat quality, increasing the omega-3 content in the milk fatty acids profile. Red clover was the best option in terms of producing milk with the higher ratio of polyunsaturated fatty acids when dairy cows were fed silage based diets.

The results of this study have proved that Galician dairy farms could significantly reduce their concentrate intake by using high quality fresh and preserved forages. The inclusion of forage legumes in pastures will yield additional advantages in terms of animal productivity and a healthier fatty acid profile of cows' milk.

Keywords: legumes, grazing, silage, fatty acids profile, omega-3, dairy production



ABREVIATURAS UTILIZADAS

AG: ácidos graxos

AGMI: ácidos graxos monoinsaturados

AGPI: ácidos graxos poliinsaturados

AGS: ácidos graxos saturados

AGt: ácidos graxos totais

AL: alfalfa

ALA: AG alfa-linolénico

ANOVA: análise da varianza

AMD: amidón

AO: ácido oleico

CC: condición corporal

CIAM: Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo

CLA: ácido linoleico conxugado

CNET: carbohidratos non estruturais totais

CSA: carbohidratos solúbeis en auga

DEL: dias en leite

d.m.s: diferenza mínima significativa

DHA: ácido docosahexaenoico

DMO: dixestibilidade da materia orgánica

DOMD: materia orgánica dixestíbel por unidade de materia seca

EB: enerxía bruta

EE: estrato etéreo

EFSA: Axencia de Seguridade Alimentaria Europea

EM: enerxía metabolizábel

ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento

EPA: ácido eicosapentaenoico

ESM: extracto seco magro

FAD: fibra ácido deterxente

F:C: Relación forraxe-concentrado

FID: detector de ionización de chama

FND: fibra neutro deterxente

FPCM: leite estandarizado ao 3.5% de graxa e 3.2% de proteína

GEI: gases de efecto invernadoiro

gl: graos de liberdade

GPV: variación de peso vivo

GWP: Potencial de quecemento global

h_H: ratio hipo-hipercolesterolémico

ha: hectárea

IA: índice ateroxénico

IMS: inxestión de materia seca

IT: índice tromboxénico

kg: Kilogramos

L: litro

LA: ácido linoleico

LACT: lactosa

LEG: leguminosas

LIGAL: Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite

MG: materia graxa

ml: mililitros

MO: materia orgánica

MOD: materia orgánica dixestíbel

MP: materia proteica

MS: materia seca

N: nitróxeno

NIRS: espectroscopía na rexión do infravermello próximo

N-NH₃: nitróxeno amoniacal

NNP: nitróxeno non proteico

Nsol: nitróxeno solúbel

OMS: Organización Mundial da Saúde

PAC: Política Agraria Común

PB: proteína bruta

PL: Produción de leite

PPO: enzima Polifenol-Oxidasa

PV: peso vivo

RG: raigrás inglés

s.e.m.: error estándar da media

SAU: superficie agraria útil

ST: sólidos totais

std.: desviación estándar da media

t: toneladas

TB: trevo branco

TDN: total de nutrientes dixestíbeis

TV: trevo violeta

TVA: ácido vaccénico

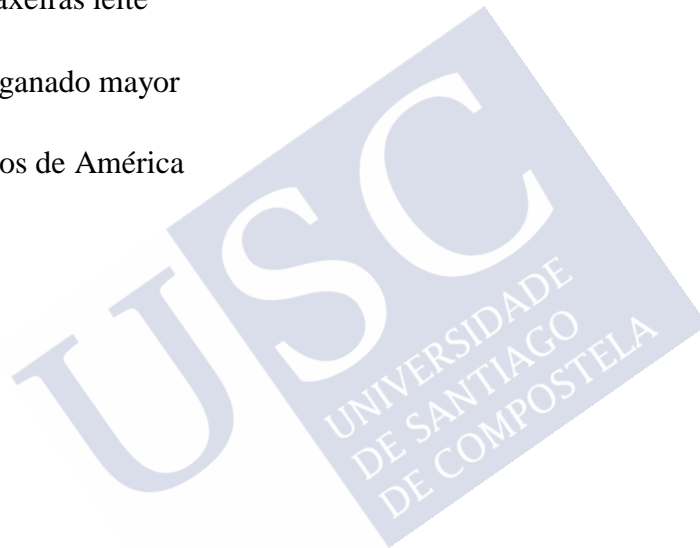
UE: Unión Europea

UFL: unidades forraxeiras leite

UGM: unidades de ganado mayor

USA: Estados Unidos de América

µg: microgramos





ÍNDICES



ÍNDICE XERAL

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1.	Leguminosas pratenses en Galicia	7
2.2.	A produción de leite de vacún en Galicia	9
2.3.	O déficit de materias primas proteicas na UE	11
2.4.	Renovado interese polo cultivo de leguminosas pratenses nos sistemas de produción de vacún de leite	12
2.5.	Ácidos graxos e saúde humana	15
2.5.1.	Inxesta recomendada	18
2.6.	A composición da graxa das forraxes e materias primas utilizadas na alimentación das vacas de leite	18
2.7.	A composición dos AG do leite	20
2.7.1.	A orixe dos AG trans no leite.	25
2.7.1.	Metabolismo dos AG na glándula mamaria	25
2.8.	Alteración do perfil lipídico do leite a través da alimentación do gando vacún	28
2.8.1.	Suplementación con aceites de oleaxinosas	28
2.8.2.	Cultivos pratenses	28
2.8.3.	A conservación da forraxe	31
2.8.4.	Ensilaxe de millo vs. forraxes pratenses	32
2.9.	As leguminosas forraxeiras na produción de leite	33
2.9.1.	Baixa ensilabilidade das leguminosas	34
2.9.2.	Presecado e uso de aditivos para conseguir unha correcta calidade fermentativa	35
2.9.3.	As vantaxes de inclusión de leguminosas na dieta	35
2.9.4.	Meteorismo no pastoreo de leguminosas pratenses	37
3.	OBXECTIVOS	39
3.1.	Necesidade e oportunidade do estudo	41
3.2.	Obxectivo xenérico da tese	41
3.3.	Grupos de experimentos e obxectivos parciais	42
4.	CAPÍTULO I	45
4.1.	INTRODUCCIÓN	47
4.2.	MATERIAL E MÉTODOS	47

4.2.1.	Deseño experimental	47
4.2.2.	Superficie de ensaio, fertilización e sementeira das pradeiras	48
4.2.3.	O Ensilado	49
4.2.4.	Animais, manexo e dietas	50
4.2.5.	Toma de mostras de herba nas parcelas experimentais	52
4.2.6.	Toma de mostras de alimentos durante os ensaios de alimentación	52
4.2.7.	Toma de mostras de leite	53
4.2.8.	Pesaxe e medida da condición corporal das vacas	53
4.2.9.	Métodos de análises de mostras	53
4.2.10.	Determinación da dixestibilidade <i>in vivo</i>	54
4.2.11.	Análises químicas por vía húmida	55
4.2.12.	Dixestibilidade da materia orgánica <i>in vitro</i>	55
4.2.13.	Análise físico-química do leite	55
4.2.14.	Análise de ácidos graxos en mostras de forraxes	55
4.2.15.	Análise de ácidos graxos en mostras de leite	56
4.2.16.	Cálculos realizados	57
4.2.17.	Análise estatística dos resultados	59
4.3.	RESULTADOS	60
4.3.1.	Condicións climáticas durante os ensaios	60
4.3.2.	Composición da forraxe no momento de confeccionar as rotopacas	61
4.3.2.1	Composición química, dixestibilidade e valor enerxético	61
4.3.2.2	Composición de ácidos graxos	63
4.3.3.	Cambios na composición de AG da forraxe co tempo de secado no campo	66
4.3.4.	Composición das ensilaxes utilizadas nos ensaios de alimentación	70
4.3.4.1.	Composición química, dixestibilidade e valor enerxético	70
4.3.4.2.	Perfil de ácidos graxos	74
4.3.5.	Resultados do ensaio de dixestibilidade <i>in vivo</i>	78
4.3.6.	Resultados dos ensaios de alimentación con vacas de leite	80
4.3.6.1.	Produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión voluntaria	80
4.3.6.2.	Perfil de ácidos graxos do leite	85
4.3.6.3.	Variación de peso vivo e condición corporal das vacas	94
4.3.7.	Resumo de resultados	94
4.4.	DISCUSIÓN	97
4.5.	CONCLUSIÓNS	105

5.	CAPÍTULO II	107
5.1.	INTRODUCCIÓN	109
5.2.	MATERIAL E MÉTODOS	109
5.2.1.	Deseño experimental	109
5.2.2.	Superficie de ensaio, fertilización e sementeira das pradeiras	110
5.2.3.	Animais, manexo e dieta	111
5.2.4.	Toma de mostras de herba nas parcelas experimentais para determinar o nivel de pasto en oferta	114
5.2.5.	Toma de mostras de herba para análises químico-bromatolóxico e perfil de ácidos graxos	115
5.2.6.	Toma de mostras de herba para determinación de dixestibilidade <i>in vivo</i>	115
5.2.7.	Toma de mostras de ensilaxe e concentrado	115
5.2.8.	Toma de mostras de leite durante os ensaios de alimentación	116
5.2.9.	Pesaxe e medida da condición corporal das vacas	116
5.2.10.	Métodos de análises de mostras	116
5.2.11.	Determinación da dixestibilidade <i>in vivo</i>	117
5.2.12.	Análise de ácidos graxos en mostras de forraxes	117
5.2.13.	Análise físico-química do leite	118
5.2.14.	Análise de ácidos graxos en mostras de leite	118
5.2.15.	Cálculos realizados	118
5.2.16.	Análise estatística dos resultados	121
5.3.	RESULTADOS	123
5.3.1.	Condições climáticas durante os ensaios	123
5.3.2.	Duración da rotación, pasto en oferta e dispoñibilidade diaria de pasto	124
5.3.3.	Relacións entre pasto en oferta e medidas de altura da herba	127
5.3.4.	Dixestibilidade <i>in vivo</i> do raigrás inglés e do trevo violeta durante o pastoreo de verán de 2010	130
5.3.5.	Composición química e dixestibilidade dos pastos	131
5.3.5.1.	Pastoreo de verán, ano 2010	131
5.3.5.2.	Pastoreo de primavera-verán, ano 2011	135
5.3.5.3.	Pastoreo de primavera, ano 2012	137
5.3.6.	Composición química e dixestibilidade das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios de alimentación	142
5.3.7.	Composición de ácidos graxos dos pastos	143
5.3.7.1.	Pastoreo de verán, ano 2010	143
5.3.7.2.	Pastoreo de primavera-verán, ano 2011	145

5.3.7.3.	Pastoreo de primavera, ano 2012	148
5.3.8.	Composición de AG das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios	151
5.3.9.	Produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión voluntaria das vacas	152
5.3.9.1.	Pastoreo de verán, ano 2010	152
5.3.9.2.	Pastoreo de primavera-verán, ano 2011	154
5.3.9.3	Pastoreo de primavera, ano 2012	159
5.3.9.4.	Comparación dos resultados de inxestión de materia seca polos dous métodos de estimación	163
5.3.10.	Perfil de ácidos graxos do leite	164
5.3.10.1.	Pastoreo de verán, ano 2010	164
5.3.10.2.	Pastoreo de primavera-verán, ano 2011	168
5.3.10.3.	Pastoreo de primavera, ano 2012	173
5.3.10.4.	Recuperación aparente no leite do AG alfa-linolénico consumido na dieta	178
5.3.11.	Variación de peso vivo e condición corporal das vacas	180
5.3.12.	Resumo de resultados	181
5.4.	DISCUSIÓN	184
5.5.	CONCLUSIÓNS	189
6.	CONCLUSIÓNS FINAIS	191
7.	BIBLIOGRAFÍA	199

ÍNDICE DE TÁBOAS

2.1.	Ácidos graxos das series omega-3 e omega-6	17
2.2.	Concentración de AG totais (en g/kg MS) e composición dos principais AG (en % AGT) en forraxes frescas	19
2.3.	Composición media en AG de diferentes materias primas, cereais e oleaxinosas	20
2.4.	Composición media en ácidos graxos (en porcentaxe sobre o total de AG) do leite de vaca	22
2.5.	Concentración de AG totais (en g/kg de materia seca) e composición dos principais AG (en % AGT) de raigrás inglés, trevo violeta e trevo branco, en estado fresco, en tres cortes	30
2.6.	Concentración de AG totais (g/kg de materia seca) e composición (en % AGT) dos principais AG do feno e do ensilado de diversas especies	32
4.1.	Calendario de realización dos ensaios de alimentación	48
4.2.	Composición do concentrado (ano 2010 e 2011)	51
4.3.	Precipitación acumulada e temperaturas medias mensuais durante os anos de ensaio na estación da finca experimental de Mabegondo	60
4.4.	Produción neta de materia seca (t MS/ha) nas parcelas ensiladas	61
4.5.	Materia seca e composición nutricional e perfil de AG da herba no momento de ser ensilada (Ano 2010)	62
4.6.	Materia seca, composición nutricional e perfil de AG da herba no momento de ser ensilada (Ano 2011)	63
4.7.	Perfil de AG da herba no momento de ser ensilada (Ano 2010)	65
4.8.	Perfil de AG da herba no momento de ser ensilada (Ano 2011)	66
4.9.	Composición de AG de raigrás inglés, trevos violeta e branco e alfalfa en estado fresco, inmediatamente antes da sega	67
4.10.	Evolución da concentración de AG de raigrás inglés, trevo violeta, trevo branco e alfalfa co tempo de secado (2011)	69
4.11.	Variación da concentración de AG da herba co tempo de secado no campo	70
4.12.	Composición nutricional das ensilaxes de especies pratenses utilizadas no ensaio (Ano 2010)	72
4.13.	Composición nutricional das ensilaxes de especies pratenses utilizadas no ensaio (Ano 2011)	73
4.14.	Composición nutricional das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios (anos 2010 e 2011)	74

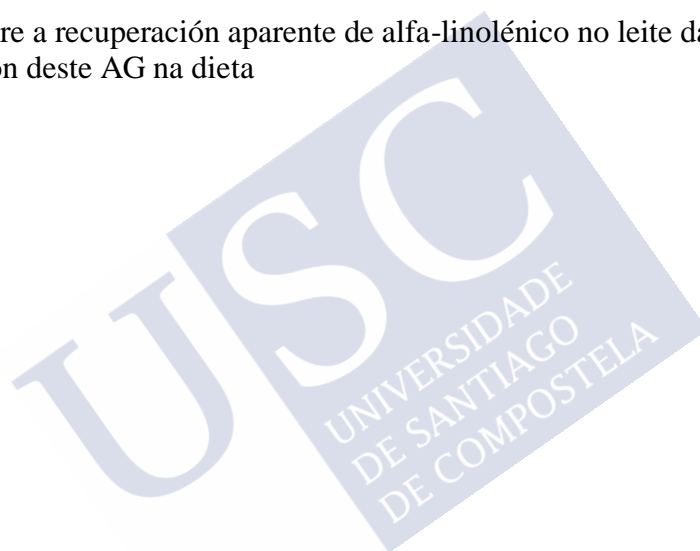
4.15.	Composición de AG das ensilaxes utilizadas no ensaio (Ano 2010)	75
4.16.	Composición de AG das ensilaxes utilizadas no ensaio (Ano 2011)	76
4.17.	Composición de AG das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios (Anos 2010 e 2011)	77
4.18.	Resultados da avaliación de dixestibilidade in vivo das ensilaxes utilizadas no ensaio de alimentación de 2011	79
4.19.	Efecto do tipo de ensilaxe (raigrás inglés vs. trevo violeta) e da suplementación do concentrado (control vs. aceite de liño) sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (2010)	81
4.20.	Efecto do tipo de ensilaxe (especie pratense) sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (2011)	84
4.21.	Efecto do tipo de ensilaxe (raigrás inglés vs. trevo violeta) e da suplementación do concentrado (control vs. aceite de liño) sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (2010)	88
4.22.	Efecto do tipo de ensilaxe (especie pratense) sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (2011)	89
4.23.	Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento (Ano 2010)	90
4.24.	Valores medios do perfil de AG do leite, por período (Ano 2010)	91
4.25.	Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento (Ano 2011)	92
4.26.	Valores medios do perfil de AG do leite, por período (Ano 2011)	93
4.27.	Peso vivo e condición corporal das vacas ao longo do experimento	94
4.28.	Resumo dos efectos medios do tipo de ensilaxe sobre a produtividade e calidade do leite	96
5.1.	Experimentos en pastoreo 2010-2012	110
5.2.	Composición do concentrado utilizado nos experimentos	113
5.3.	Precipitación acumulada e temperaturas medias mensuais durante os anos de ensaio na estación da finca experimental de Mabegondo	124
5.4.	Valores medios de pasto en oferta (PO, kg MS/ha) e de dispoñibilidade diaria de pasto (DP, kg MS/vaca e día) á entrada nas parcelas, por período de ensaio e tratamento	126
5.5.	Valores medios de pasto en oferta (PO), altura comprimida da herba medida con prato deslizante (G) e altura medida con regra graduada (H) no ensaio de 2012	127

5.6.	Regresións da cantidade de pasto en oferta (PO) sobre a medida de altura do pasto do prato medidor (G) ou regra graduada (H), por tipo de pasto	129
5.7.	Resultados da avaliación de dixestibilidade in vivo de mostras de pasto no experimento de pastoreo de 2010	131
5.8.	Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2010)	133
5.9.	Interacción tratamento x período: Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada (Ano 2010)	134
5.10.	Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2011)	137
5.11.	Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2012)	139
5.12.	Interacción tratamento x período: Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada (Ano 2011)	140
5.13.	Interacción tratamento x período: Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada (Ano 2012)	141
5.14.	Composición nutricional das ensilaxes de millo utilizadas nos experimentos	142
5.15.	Perfil de AG da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2010)	143
5.16.	Interacción tratamento x período: Perfil de AG da herba pastoreada, por tratamento (Ano 2010)	144
5.17.	Perfil de AG da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2011)	145
5.18.	Interacción tratamento x período: Perfil de AG da herba pastoreada (Ano 2011)	147
5.19.	Perfil de AG da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2012)	149
5.20.	Interacción tratamento x período: Perfil de AG da herba pastoreada (Ano 2012)	150
5.21.	Composición de AG das ensilaxes de millo utilizadas nos experimentos	151
5.22.	Efecto do tipo de pasto sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (Ano 2010)	153
5.23.	Valores medios das necesidades e achegas enerxéticas na alimentación das vacas, por tratamento e período (Ano 2010)	154

5.24	Efecto do tipo de pasto sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (Ano 2011)	157
5.25	Valores medios das necesidades e achegas enerxéticas na alimentación das vacas, por tratamento e período (Ano 2011)	158
5.26	Efecto do tipo de pasto sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (Ano 2012)	161
5.27	Valores medios das necesidades e achegas enerxéticas na alimentación das vacas, por tratamento e período (Ano 2012)	162
5.28	Comparación de resultados de inxestión de pasto calculada: 1) a partir das necesidades en enerxía das vacas e a concentración enerxética dos alimentos e 2) a partir da produción de leite estandarizada	163
5.29	Efecto do tipo de pasto sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (Ano 2010)	166
5.30	Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento e período (Ano 2010)	167
5.31	Efecto do tipo de pasto sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (Ano 2011)	171
5.32	Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento e período (Ano 2011)	172
5.33	Efecto do tipo de pasto sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (Ano 2012)	176
5.34	Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento e período (Ano 2012)	177
5.35	Relación entre a concentración de alfa-linolénico na dieta e a taxa de transferencia aparente ao leite	178
5.36	Peso vivo e condición corporal medios das vacas, por período, nos tres experimentos	180
5.37	Resumo de efectos medios do tipo de pasto sobre a produtividade e calidade do leite	183

ÍNDICE DE FIGURAS

2.1	Estrutura química dos ácidos linoleico, alfa-linolénico, eicosapentanoico e docosahexanoico	16
2.2	Estrutura química dos isómeros c9t11 e c10t12 do AG linoleico conxugado	23
2.3	Perfil dos ácidos graxos C 18:1 trans nas graxas vexetais de orixe industrial parcialmente hidroxenadas e na graxa do leite de vaca	25
2.4	Ruta bioquímica da biohidroxenación dos ácidos graxos linoleico e alfa-linolénico no rume	27
2.5	Rutas metabólicas dos ácidos graxos desde o rume á glándula mamaria	27
5.1	Relación entre a recuperación aparente de alfa-linolénico no leite das vacas e a concentración deste AG na dieta	179







1. INTRODUCCIÓN



Os cambios nas percepcións da sociedade acerca de determinados valores (paisaxe, medio ambiente, benestar animal) e demandas dos consumidores (produtos saudábeis e saborosos) esixen sistemas de produción que satisfagan ditos requirimentos a través de procesos de produción sustentábeis e exitosos economicamente.

A composición de AG na graxa do leite fíxose menos saudábel para os humanos ao longo destas últimas catro décadas debido aos cambios nas prácticas de alimentación do vacún leiteiro, cunha maior presenza de ensilaxe de millo e concentrados e menor consumo de forraxes frescas (Elgersma et al., 2006). As concentracións de AG esenciais e de CLA, consecuentemente, diminuíron, circunstancia que se ve aínda máis reforzada pola tendencia da poboación a consumir produtos lácteos baixos en graxa, toda vez que o leite e a carne de ruminantes son a fonte principal de consumo de CLA.

Como conclusión dunha revisión de literatura recente que relaciona o consumo de leite e os seus derivados sobre a incidencia de patoloxías crónicas en humanos, Casalmiglia (2009) indicaba que era preciso incidir desde o campo da investigación en mellorar o contido en compoñentes saudábeis do leite (entre eles AG omega-3 e CLA) mediante a alimentación.

A produción de leite de Galicia, que supón case o 40% do leite de España e concentra a máis do 50% das granxas, situase na zona de influencia atlántica noroccidental da península, onde o clima temperado-húmido sustenta a capacidade de producir pastos e forraxes para a alimentación do gando vacún de leite, e constitúe unha das claves para a competitividade e supervivencia do sector. A diferenciación do produto e do proceso de produción, con sistemas que integren o aproveitamento en pastoreo e como forraxe conservado dos pastos das granxas leiteiras, constitúe unha oportunidade para o acceso aos mercados, nun entorno de produción global, liberalizado e altamente competitivo. Existen iniciativas empresariais a tal respecto, sendo de salientar a marca LEYMA NATURA, xa que os resultados expostos nesta tese foron inicialmente froito de dous proxectos de cooperación entre o CIAM e o grupo Grupo Río, propietario da marca. Os resultados serán de utilidade tamén para outras iniciativas, como as das dúas empresas (CAPSA e Leche Celta) que na actualidade teñen no mercado o produto “Leite de pastoreo” procedente de granxas galegas.

Do anterior se deduce o interese de coñecer se a alimentación das vacas con pastos frescos e ensilados de gramíneas e leguminosas pratenses permite obter leite enriquecido en AGPI (omega-3 e CLA), xa que non hai estudos realizados a nivel local, e os realizados noutros

países ofrecen uns resultados non directamente extrapolábeis á situación galega. Dentro das especies forraxeiras ponse especial interese no estudo das leguminosas pratenses en base ao seu favorábel comportamento nutricional con gando vacún e aos recoñecidos beneficios medioambientais que reporta o seu uso na actividade agraria.

A especie pratense máis utilizada nas pradeiras sementadas de varios anos de duración nas granxas leiteiras de Galicia é o raigrás inglés (*Lolium perenne* L.). As especies leguminosas teñen unha representación máis escasa, sendo os trevos violeta (*Trifolium pratense* L.) e branco (*Trifolium repens* L.) as especies máis utilizadas nas pradeiras de curta (2 anos) e longa (≥ 3 anos) duración. A alfalfa (*Medicago sativa* L.) é unha especie coñecida, de alto valor nutricional e produtividade, pero pouco frecuente nas explotacións debido ao carácter predominantemente ácido dos solos galegos. As hipóteses de traballo que se pretenden verificar na tese son: a) que o consumo de forraxeiras pratenses en pastoreo e conservadas como ensilado permiten manter unha elevada produtividade animal e producir un leite cun perfil de AG que se adecúa aos requirimentos dietéticos actuais; b) que o uso das especies leguminosas podería presentar avantaxes nutricionais comparadas co raigrás inglés; c) que as leguminosas poderían ser mellores vectores de AG ao leite, en comparación co raigrás inglés, particularmente cando se utilizan ensiladas e d) que podería haber diferenzas entre especies de leguminosas na produción animal e na composición do leite, tanto cando se consumen en fresco como cando o son como ensilados.

Na tese inclúese a descrición dos resultados dun total de 5 experimentos de alimentación de vacas leiteiras con pastos de raigrás e de especies leguminosas pratenses, conservados como ensilaxes e frescos, consumidos en pastoreo, que foron realizados no CIAM durante os anos 2010 a 2012. En dous ensaios iniciais, realizados nos anos 2010 e 2011, avalíase o efecto da utilización de ensilaxes das especies leguminosas, comparado coas de raigrás inglés, cando son ofrecidas en mesturas completas con concentrados a vacas de leite estabuladas, sobre a produción, a composición fisicoquímica e o perfil de ácidos graxos do leite. Outros tres experimentos, realizados no verán de 2010 e na primavera de 2011 e 2012 comparan o efecto do pastoreo con vacas de leite de pradeiras de trevo violeta, trevo branco e alfalfa co de pradeiras de raigrás inglés sobre a produción de leite, a súa composición fisicoquímica e o seu perfil de ácidos graxos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



2.1. Leguminosas pratenses en Galicia

Na análise sobre as revolucións agrarias do século XIX e a súa difusión polo mundo mediterráneo Garrabou-Segura (1993) indica que un factor clave dos avances agrícolas que tiveron lugar no Reino Unido en dita época foi a introdución das plantas forraxeiras leguminosas nas rotacións de cultivo, debido á súa capacidade para transferir nitróxeno ao seguinte cultivo. Este feito, en opinión do historiador Chorley (1981), citado polo anterior autor, supuxo para a agricultura británica unha innovación comparábel coa difusión da máquina de vapor para a industria.

Actualmente a necesidade de abordar a redución do consumo de enerxía fósil, a diminución das emisións de gases de efecto invernadoiro, a limitación das perdas de N ao ambiente, a autosuficiencia das fontes proteicas a nivel europeo e a emerxencia dunha demanda de cidadáns preocupados polo consumo de dietas saudábeis e polo benestar animal son factores que abren novas perspectivas ao desenvolvemento de sistemas que integren o uso de leguminosas forraxeiras.

No novo contexto da agricultura, a recuperación do cultivo de leguminosas forraxeiras para a alimentación animal é un dos piares para a consolidación das explotacións gandeiras do futuro inmediato, que unen elevados índices de rendibilidade económica e comportamento ambiental positivo no seu sistema de produción.

As leguminosas eran unha compoñente esencial das pradeiras até a ben pasada a metade do pasado século, afirmando Davies (1960) que o trevo branco era aínda nese momento o fundamento de tódalas pradeiras utilizadas en pastoreo no Reino Unido. O descubrimento de que o nitróxeno é o nutriente máis importante para a produción de gramíneas pratenses conduciu á aplicación de doses crecentes de N a partir de 1950 alcanzándose nalgúns casos os 450 kg/ha, coa correspondente intensificación da produción (Frame *et al.*, 1995) e a case desaparición do trevo. O gran descenso da superficie destinada a trevo violeta e alfalfa en Francia nas décadas dos 60 e 70 (Picard, 1982a) e en Bélxica desde os principios do século XX (Andries, 1982), levou a conformar a opinión de que “as leguminosas son cultivos do pasado” (Picard, 1982b). Nas granxas leiteiras galegas seguiu un proceso semellante, estando apenas representadas as leguminosas nas mesturas binarias das pradeiras (Piñeiro e Díaz, 2005).

A finais do século pasado empezouse a revisar a conveniencia da intensificación da produción forraxeira baseada na fertilización con altas doses de nitróxeno, á luz do

incremento do seu custo e, sobre todo, da sensibilización social sobre o uso de enerxía fósil na súa fabricación e das consecuencias ambientais da súa aplicación (Frame *et al.*, 1995). Neste novo marco, os Centros de Investigación Europeos volveron incluír as leguminosas, especialmente o trevo branco, como obxecto de estudo nos seus Programas de Investigación.

Desde comezos da segunda metade do século pasado, como resultado dos estudos realizados entre os anos 40 e 60 para o programa do “Plan Forrajero para Galicia” coñecese que as leguminosas trevo branco, trevo violeta e alfalfa son as pratenses plurianuais máis aconsellábeis para as condicións galegas (Yepes, 1961). Existe abundante información acerca das vantaxes do uso de trevo branco como compoñente das pradeiras, obtida a traveso de distintos estudos realizados no CIAM, indicando Piñeiro *et al.* 2002a; 2002b que as pradeiras con trevo branco poden producir a mesma cantidade de materia seca por hectárea que os pastos sementados de só gramíneas que reciben 200 kg/ha de nitróxeno, incrementan a produtividade animal e reducen até un 15% o uso de enerxía fósil con respecto dos sistemas que utilizan doses altas de nitróxeno.

O trevo violeta e a alfalfa foron tamén obxecto de estudo e reflexión en Europa no contexto da produción de leguminosas dentro da explotación gandeira, aínda que a cantidade de información é notabelmente inferior á producida sobre o trevo branco por ser especies menos adaptábeis a situacións tan diversas como o trevo branco. Tanto o trevo violeta como a alfalfa utilízanse moi pouco nas granxas na actualidade a pesar dos bos resultados obtidos na investigación local. As producións de ambas especies na serie de ensaios do programa de avaliación de variedades de especies pratenses para a Cornixa Cantábrica e Galicia están no rango das especies gramíneas máis produtivas, superándoas mesmo no caso da alfalfa (CIAM, 2008).

A alfalfa dá mellores producións no verán que os trevos branco ou violeta (Piñeiro e Pérez, 1984, 1988), o que pode ser de gran utilidade para aquelas explotacións que practiquen o pastoreo e que dispoñan de chans con calidade suficiente para cultivar alfalfa (profundos, con boa drenaxe e con boa fertilidade). En ensaios de produción de vacún en pastoreo en Mabegondo (zona costeira de Galicia), o período de pastoreo púidose estender até outubro cando os animais pastaban alfalfa, mentres para as pradeiras de gramíneas e trevo branco o período de pastoreo cesaba a mediados de xullo pola falta de humidade (Laranjo *et al.*, 1993). A maior dispoñibilidade de forraxe de alfalfa no verán, con respecto a mesturas de

gramíneas con trevo branco e violeta, confirmouse noutros experimentos realizados en Grado (zona baixa de Asturias) e Guntín (Lugo-zona interior de Galicia) (Martínez e Piñeiro, 1996).

Existe información aplicábel ás condicións galegas obtida no CIAM acerca da agronomía e produtividade de pradeiras de raigrás e trevo branco (Piñeiro *et al.*, 2000; 2003; 2008), así como da utilización destas forraxes para a produción de leite (González-Rodríguez, 2004; Vázquez-Yáñez e González-Rodríguez, 2009) e de carne (Zea e Díaz, 1996) aproveitadas a dente ou como ensilado, en sistemas forraxeiros de baixo custo. Tamén se posúe información acerca das características agronómicas e condicións de utilización doutros cultivos menos estendidos nas granxas galegas a pesar do seu bo rendemento e valor nutricional como é o caso da alfalfa (Zea e Díaz, 2000; 2001) e do trevo violeta (Pena *et al.*, 2000; Zea *et al.*, 2001).

Até a data non hai estudos a nivel local encamiñados a caracterizar as leguminosas forraxeiras máis coñecidas (en primeiro lugar trevo branco e a moita máis distancia trevo violeta e alfalfa) en canto á potencialidade de mellorar o perfil de AG do leite de vacún a partir do seu uso en fresco e como ensilaxe. A necesidade de dita información derívase do marcado efecto do estado fenolóxico da planta e dos factores de medio sobre a composición de ácidos graxos dunha determinada especie forraxeira. Tamén se necesita coñecer con máis detalle os efectos da tecnoloxía de ensilado sobre a variación na composición de lípidos na forraxe orixinal e a resposta animal en canto á calidade do leite producido en dietas con alto consumo de forraxe.

2.2. A produción de leite de vacún en Galicia

Galicia produce o 38% do leite de vacún e concentra o 55% das explotacións leiteiras do total do estado español (FEGA, 2019). A súa produción céntrase en áreas climáticas que, segundo Pérez-Alberti (1982) defínense como de marcada influencia oceánica, con temperaturas en xeral suaves e precipitacións abundantes, entre 900 e 1500 mm, repartidas de forma irregular ao longo do ano, máis frecuentes no período outono-primavera e cun período de déficit hídrico centrado nos meses de verán. Este carácter de mediterraneidade, menos marcado na zona costeira, vaise acentuando até chegar ao clima de tipo mediterráneo-temperado do interior de Lugo (Carballeira *et al.*, 1983).

Nun traballo realizado no CIAM acerca da estrutura produtiva das explotacións leiteiras galegas no decenio 1996-2006, Fernández-Lorenzo *et al.* (2009), sinalan que no devandito período desapareceran o 65% das explotacións, a produción total por explotación multiplicárase por 3, e a superficie forraxeira destinada a producir leite reducírase en máis de 100 mil ha. Debido á incapacidade das explotacións leiteiras galegas que permaneceron no sector de acomodar o seu incremento de tamaño co correspondente aumento da base territorial forraxeira, aumentou a carga gandeira e a dependencia da subministración de concentrados. En paralelo produciuse unha maior intensificación forraxeira da SAU dispoñíbel centrada nun incremento do cultivo do millo forraxeiro, o predominio das ensilaxes sobre o consumo de forraxes frescas e unha diminución do uso de herba de pradeira, o cal se pon de manifesto sobre todo nas explotacións de maior dimensión. A pesar desta tendencia, das aproximadamente 120 t MS de forraxes dispoñíbeis por explotación, un 60% seguía correspondendo a herba (pastada ou conservada) e o 40% restante a ensilaxes de cultivos, que fundamentalmente era millo forraxeiro. As especies pratenses máis usadas nas sementeiras das pradeiras figuraban, por esta orde: raigrás italiano, raigrás inglés, raigrás híbrido, trevo branco, trevo violeta, dactilo e festuca, que eran sementadas polo 69%, 49%, 40%, 37%, 30%, 7% e 0,4% das explotacións, respectivamente. A pesar da contribución das especies leguminosas na sementeira das pradeiras, a proporción das mesmas na biomasa total dos pastos era moi baixa, con frecuencia de menos do 5-10% da materia seca total.

Nas condicións edafo-climáticas nas que se desenvolve a produción de leite en Galicia, a estacionalidade no crecemento do pasto obriga a que a alimentación das vacas de leite dependa de 4 a 6 meses ao ano do subministro de forraxes ensilados (Flores *et al.*, 2003).

As leguminosas presentan vantaxes con relación ás gramíneas es canto á capacidade de promover unha maior transferencia de AGPI desde o alimento ao leite, en particular no caso das ensilaxes (Shingfield *et al.*, 2008). Este aspecto é relevante, dada a dependencia da forraxe ensilada das granxas de leite galegas, incluso das que practican o pastoreo coas vacas en lactación durante a época de crecemento activo do pasto.

Existe información acerca do comportamento agronómico, valor nutricional e ensilabilidade de algunhas especies, en concreto do trevo branco, trevo violeta e alfalfa obtido en diferentes proxectos realizados no CIAM. Non se ten información, en cambio, acerca da composición de ácidos graxos destas forraxes, a súa variación estacional, o

efecto do ensilado e o efecto na composición do leite de vacún cando as consume frescas ou ensiladas.

2.3. O déficit de materias primas proteicas na UE

Segundo datos estatísticos oficiais (EUROSTAT), a produción de proteína vexetal na UE ocupa o 3% das terras de cultivo e fornece soamente o 38% da proteína empregada en alimentación animal, cunha tendencia decrecente nos últimos anos. Historicamente este déficit de produción de proteína remóntase aos acordos sobre comercio internacional asinados pola UE que permitiron protexer a súa produción cerealista e en cambio eliminaron os dereitos arancelarios á importación de materias primas proteicas e oleaxinosas (GATT e o acordo Blair de 1992). O 70% do consumo interior da UE en proteínas para alimentación animal que debe ser anualmente importado ascende a 45 millóns de toneladas, procedentes fundamentalmente de Brasil, Arxentina e USA.

Estas importacións representan ao equivalente de 20 millóns de ha cultivadas fóra da UE (é dicir, máis do 10% das terras de cultivo da UE) o que nalgúns países subministradores conduciu a prácticas de produción non sustentábeis en áreas sensíbeis e forestas tropicais, con efectos negativos na biodiversidade, erosión e cursos de auga. Un estudo (Steger, 2005) sobre as necesidades de “terra exterior” derivadas da actual estrutura alimentaria da UE revela en que medida a alimentación dos europeos depende de superficie de cultivos situada fóra do seu territorio. No estudo calcúlase que se todos os alimentos importados ou exportados se calculasen en termos de superficie de cultivo necesaria directa ou indirectamente para a súa produción, a UE “exportaría” 14 millóns de ha mentres que as “importacións” multiplicarían por tres veces e media esta cifra (49 millóns de ha). A importación virtual de terra en 2007/2008 foi un 40% superior á de 1999/2000. Como resultado, a UE está a utilizar para a alimentación da súa poboación unha superficie exterior que equivale a 1/3 da SAU da UE.

Como se indica nun recente informe oficial sobre o déficit de proteínas no seo da UE (European parliament, 2018), o alto nivel de dependencia do sector gandeiro da UE das importacións de materias primas proteicas do exterior fixo a aquel extremadamente vulnerábel á volatilidade dos prezos e ás distorsións do mercado, reflectindo as consecuencias da elevada liberalización dos mesmos. A consecuencia do escaso volume de cultivos proteicos producidos na UE concedeuse escasa importancia á investigación e o

desenvolvemento, a formación e a adquisición de experiencia práctica na produción local de proteína, o que conduce a un escaso nivel de innovación e ausencia de produción de sementes adaptadas ás diversas condicións de medio das rexións da UE. Perdeuse o coñecemento dos agricultores acerca de prácticas sustentábeis que relacionan as colleitas e o gando mediante o equilibrio entre as rotacións de cultivo e o uso de áreas de pasto, o que conduce á non dispoñibilidade de fontes proteicas de calidade para a alimentación do gando producidas nas explotacións. Como se indica no mesmo informe, o fomento da produción de especies leguminosas na UE terá impactos importantes económicos positivos para os agricultores e para a industria de alimentación humana e animal, así como para a mellora da calidade alimentaria dos consumidores. Ademais do seu efecto positivo para aumentar a fertilidade do chan e a calidade das augas, no contexto de loita contra o cambio climático, os cultivos de leguminosas permiten reducir substancialmente as emisións de gases de efecto invernadoiro a través da fixación simbiótica de N no chan e a consecuenta redución do uso de fertilizante nitrogenado de síntese.

2.4. Renovado interese polo cultivo de leguminosas pratenses nos sistemas de produción de vacún de leite

A redución do consumo de enerxía fósil, a diminución das emisións de gases de efecto invernadoiro, a limitación das perdas de N ao ambiente, a autosuficiencia das fontes proteicas a nivel europeo e a emerxencia dunha demanda de cidadáns preocupados polo consumo de dietas saudábeis e polo benestar animal son factores que abren novas perspectivas ao desenvolvemento de sistemas que integren o uso de leguminosas forraxeiras. No novo contexto da agricultura, a recuperación do cultivo de leguminosas forraxeiras para a alimentación animal é un dos piares para a consolidación das explotacións gandeiras do futuro inmediato, que unen elevados índices de rendibilidade económica e comportamento ambiental positivo no seu sistema de produción.

Un experimento paneuropeo levado a cabo en 28 localidades de 17 países mostrou contundentemente os beneficios do cultivo das mesturas gramínea-trevo comparado co seu monocultivo (Kirwan *et al.*, 2009). Estas vantaxes foron sorprendentemente robustas, sendo observadas en todo o rango de condicións climáticas desde o Mediterráneo até o Ártico, en todos os anos que durou o experimento e ao longo dun amplo rango de porcentaxes de trevo nas mesturas. Os beneficios da implantación de cultivos de raigrás-

trevo equivalen á achega de 150-350 kg de N/ha, podendo fixar simbioticamente ao redor de 100-380 kg de N atmosférico por ha (Lüscher *et al.*, 2008). Con todo, esta superioridade prodúcese na medida en que o establecemento da leguminosa é adecuado (30-80% do total de mestura), e cando as condicións dos solos son favorábeis en canto á fertilidade e humidade no verán, situación na que poden producir tanto como un raigrás fertilizado con 200-250 kg N/ha (Peyraud *et al.*, 2009). A variabilidade nas cantidades de N atmosférico fixado polas leguminosas pode variar fortemente entre anos debido ás condicións climáticas, sinalando Ledgard *et al.* (1999) unha oscilación de entre 100 a 235 kg de N/ha en dous anos consecutivos para unha pradeira mixta de raigrás e trevo branco que mantiña unha proporción de trevo do 30-40%, considerada como excelente polos autores citados.

A inestabilidade das leguminosas por parte dos animais é elevada, e a redución do valor nutricional do cultivo co avance da madurez é comparativamente máis reducida ca a das gramíneas, en especial no caso do trevo branco, o que fai máis doado o manexo das mesturas raigrás-trevo (Peyraud, 1993). En pastoreo, as vacas consumen entre o 15 e 20% máis materia seca cando pastan leguminosas puras que cando pastan un cultivo monofito de gramíneas (Alder e Minson, 1963). Varios ensaios mostraron que as ensilaxes de leguminosas aumentan a produción de leite comparados coas ensilaxes de gramíneas (Castle *et al.*, 1983; Thomas *et al.*, 1985; Dewhurst *et al.*, 2003).

As leguminosas forraxeiras conteñen unha alta proporción de N rapidamente degradábel (INRA, 2007), situación que se acentúa no caso das ensilaxes comparado coas forraxes frescas. A ensilaxe das leguminosas pratenses, dada a súa capacidade de aportar tanto proteína degradábel no rume como indegradábel é un complemento ideal do ensilado de millo nas dietas do gando vacún de leite (Chenais, 1993) e permite substituír parcialmente a torta de soia procedente do exterior con proteína producida localmente.

O aumento da proporción de trevo nas pradeiras a expensas da redución dos inputs de N de síntese pode reducir o risco de contaminación por lixiviación de nitratos cando se compara con cultivos de gramíneas puras con altos niveis de fertilización nitroxenada (Thomas, 1992; Pflimlin *et al.*, 2003).

A causa de que as leguminosas unicamente requiren a enerxía solar para a fixación de N atmosférico, o seu cultivo reduce o consumo de enerxía requirido polo sistema produtivo e, en consecuencia, os impactos medioambientais asociados á actividade agraria. Adicionalmente, a tendencia alcista dos prezos das enerxías fósiles (e polo tanto do

fertilizante nitroxenado) pode modificar fortemente os sistemas gandeiros e, particularmente, os de produción de leite de vacún.

Por outra banda, nos últimos anos existe unha preocupación crecente acerca da produción de gases de efecto invernadoiro (GEI) na agricultura e, en particular, nos sistemas de produción con ruminantes (FAO, 2006) e consecuentemente está a medrar unha crecente presión social tendente a limitar ditas emisións, froito do cal é o recente informe especial publicado polo Grupo Intergubernamental de Expertos sobre o Cambio Climático (IPCC) que dá conta de forma exhaustiva dos danos que se están a facer ao noso planeta por prácticas agrícolas insustentábeis e a imperiosa necesidade de adaptar as prácticas agronómicas para reducir ou mitigar as emisións en agricultura. É moi probábel, polo tanto, que a esixencia destas limitacións e/ou das estratexias de mitigación das emisións de GEI na agricultura condicionen dalgunha forma no futuro inmediato o desenvolvemento dos sistemas de produción con ruminantes. O metano producido no rume é responsábel de máis da metade das emisións de GEI dos sistemas gandeiros. Entre as estratexias obxecto de estudo para reducir a metanoxénese ruminal figura o incremento do uso de leguminosas na dieta do gando. Os animais que consumen leguminosas forraxeiras emiten menos metano comparados cos que consumen dietas de gramíneas exclusivamente (Beever *et al.*, 1985; Waghorn *et al.*, 2006), o que é atribuído, nalgúns casos, a que a menor proporción de paredes celulares das leguminosas modifica a proporción de ácidos graxos producidos na fermentación ruminal aumentando a proporción de propionato (que é un portador de hidróxeno) combinado cun incremento na velocidade de paso das partículas de leguminosa polo rume.

O incremento de uso das leguminosas forraxeiras nos sistemas de produción de vacún permitiría reducir o seu potencial de quecemento global (GWP). Basset-Mens *et al.* (2005) observaron que o GWP oscilaba entre 718 e 1200 g CO₂ por 1 kg de leite e o uso de enerxía entre 1.5 e 3.1 MJ/kg de leite para o sistema neocelandés (pastoreo de pradeiras con trevo, mínimo uso de concentrados) e europeo-intensivo (ensilaxe de millo e alto uso de concentrado). Resultados obtidos por Le Gall (citados en Peyraud *et al.*, 2009) indican que o consumo enerxético por 1 litro de leite descende desde 5 MJ en granxas intensivas en Holanda e 4 MJ en granxas francesas que usan ensilaxe de millo e gramíneas, 3.1 MJ en sistemas de pastoreo de Irlanda con elevado uso de N e 1.4 MJ en sistemas de pastoreo de Nova Zelandia con pradeiras de raigrás-trevo.

Sen embargo, as leguminosas forraxeiras teñen algunhas limitacións: o ensilado é caro, é difícil reducir as perdas de follas na manipulación da forraxe no campo e conseguir unha boa conservación no silo (Arnaud *et al.*, 1993) e o manexo das mesturas que permitan manter un equilibrio adecuado entre as gramíneas e as leguminosas é frecuentemente difícil (Guckert e Hay, 2001). Para poder aproveitar no futuro a potencialidade destes cultivos necesítase avanzar no coñecemento e na transferencia de información acerca de diversos campos: agronomía, valor nutricional, tecnoloxías de conservación, produtividade animal e efecto da súa utilización no perfil dietético do leite e da carne de ruminantes criados nos sistemas produtivos que integran leguminosas forraxeiras.

2.5. Ácidos graxos e saúde humana

Os ácidos graxos (AG) son cadeas hidrocarbonadas que posúen un grupo carboxilo (COOH) nun dos extremos. O carbono contiguo ao carboxilo coñécese como α , o seguinte carbono β , e así sucesivamente, denominándose “omega” a última posición por ser esta a última letra do alfabeto grego. As propiedades fisiolóxicas dos AG insaturados (AGI) dependen en gran medida da posición do primeiro enlace non saturado. Esta nomease como “omega menos n”. Por exemplo, omega-3 significa que o primeiro carbono non saturado atópase no terceiro enlace carbono-carbono desde o CH₃ (omega) terminal. Tamén se indica o número de carbonos da cadea e o número de dobres enlaces. Así o ácido alfa-linolénico (ALA) representaríase por C18:3 omega-3 ou C18:3 n-3 para indicar que se trata dunha cadea de 18 átomos de carbono, con tres dobres enlaces, onde o primeiro sitúase no terceiro enlace carbono-carbono contando desde o extremo CH₃. Seguindo esta representación, o ácido linoleico (LA) sería o C18:2 n-6, indicando que o primeiro dobre enlace dos dous que posúe, está situado na posición 6 a partir do grupo metilo do extremo da cadea.

Figura 2.1. Estrutura química dos ácidos linoleico, alfa-linolénico, eicosapentanoico e docosahexanoico

Linoleico (LA, C18:2 n-6)	
Alfa-linolénico (ALA, C18:3 n-3)	
Eicosapentaenoico (EPA, C20:5 n-3)	
Docosahexaenoico (DHA C22:6 n-3)	

Ambos AG, linoleico e alfa-linolénico, non poden ser sintetizados polos humanos e son os cabezas de serie das dúas familias de AG esenciais omega-3 e omega-6, respectivamente. Orixinalmente denominóuselles Vitamina F cando se descubriu o seu carácter de nutrientes esenciais en 1923. Os Ácidos graxos omega-9, dos cales o principal representante é o monoinsaturado ácido oleico (AO), C18:1c9, non son esenciais en humanos, xa que polo xeral posúense as enzimas necesarias para a súa síntese, coa excepción de persoas de avanzada idade ou que padezan de problemas de fígado. O Ácido Linoleico Conxugado (CLA) non é un omega-3 nin omega-6 (sería un omega-7) e consta dunha serie de isómeros, da cal o *cis9-trans11* é o máis abundante.

Aínda que os humanos e outros mamíferos poden sintetizar AG saturados e algún AG monoinsaturado dos grupos carbonados dos carbohidratos e das proteínas, carecen dos enzimas delta-12 e delta-15 desaturasas necesarios para inserir un dobre enlace nas posicións n-6 ou n-3, característicos das cadeas carbonadas dos AG esenciais. Os humanos poden sintetizar AG de cadea longa (20 ou máis carbonos) da serie omega-6 como o araquidónico (20:4n6) a partir do linoleico e tamén AG de cadea longa da serie omega-3 como o eicosapentanoico (EPA, C20:5n3) ou o docosahexanoico (DHA, C22:6n3) a partir do alfa-linolénico, se ben a eficiencia de conversión é moi baixa (Burdge *et al.*, 2002).

Táboa 2.1. Ácidos graxos das series omega-3 e omega-6

AG da serie omega-3	Fórmula	AG da serie omega-6	Fórmula
Alfa-linolénico (ALA)	C18:3 n3	Linoleico (LA)	C18:2 n6
Estearidónico	C18:4 n3	Ganma-linoleico	C18:3 n6
Eicosatrienoico	C20:3 n3	Eicosadienoico	C20:2 n6
Eicosatetranoico	C20:4 n3	Dihomo-ganma linolénico	C20:3 n6
Eicosa pentanoico (EPA)	C20:5 n3	Araquidónico	C20:4 n6
Docosapentanoico (DPA)	C22:5 n3	Docosadienoico	C22:2 n6
Docosahexenoico (DHA)	C22:6 n3	Adrénico	C22:4 n6
Tetracosapentenoico	C24:5 n3	Docosapentenoico	C22:5 n6
Tetracosahexenoico	C24:6 n3		

Os ácidos graxos omega-6 e omega-3 son esenciais para sintetizar moléculas esenciais (Prostaglandinas, Tromboxanos, Leucotrienos) que controlan as principais funcións fisiolóxicas en humanos como a agregación plaquetaria (que inflúe na saúde cardiovascular), inmunidade, fertilidade, procesos inflamatorios e lipoxénese. Tódolos animais, incluídos os humanos, son dependentes da relación omega-6/omega-3 na dieta para crear o balance adecuado de estas moléculas no corpo. Tanto os AG omega-6 como os omega-3 son importantes compoñentes estruturais das membranas celulares, serven como precursores de lípidos bioactivos e serven, asemade, como fontes de enerxía (Jump, 2002). Os AGPI de cadea longa exercen efectos antiinflamatorios e son importantes compoñentes da dieta. A suplementación con DHA durante a xestación axuda a reducir os riscos de parto prematuro e de baixo peso ao nacemento (<1.5 kg) (Kar *et al.*, 2016), ademais de ser importante para o desenvolvemento visual e neurolóxico (Moon *et al.*, 2016). A substitución de graxas saturadas da dieta por AG omega-6 reduce o colesterol total e pode ser de utilidade na redución do risco cardiovascular ou de sufrir diabetes tipo 2. Os AGPI omega-3 de cadea longa reducen a mortalidade de pacientes con enfermidades coronarias prevalentes. O aumento da inxesta de EPA e de DHA pode beneficiar a individuos con diabetes tipo 2, especialmente aqueles con niveis de triglicéridos elevados (American Diabetes Association, 2019).

Posto que os omega-6 e omega-3 compiten, se hai unha grande proporción de un deles na dieta, causará un desequilibrio fisiolóxico. Na actualidade, a dieta usual en países industrializados contén moito menos AG omega-3 ca a dieta de hai un século. Á sua vez, a dieta de hai un século tiña moito menos omega-3 ca a dieta dos nosos devanceiros cazadores-recolectores (Simopoulos, 2001). O ratio de omega-3 a omega-6 destas dietas

foi diminuindo no tempo e no momento actual, o ratio na dieta de países desenvolvidos do noso entorno sitúase comunmente a un nivel de 15- 25 a 1 (Ailhaud *et al.*, 2006; Simopoulos, 2008), moi alonxados do balance considerado óptimo de 5 a 1 entre ambos tipos de AG (McLean *et al.*, 2004). Estes cambios foron acompañados por unha maior frecuencia de determinadas enfermidades que implican procesos inflamatorios (as chamadas enfermidades da civilización). Na actualidade hai evidencias firmes (National Institute of Health, 2005) de que o incremento de omega-3 na dieta reduce a incidencia de algunha destas enfermidades e certos estudos apuntan a que unha dieta rica en omega-3 podería aliviar os síntomas de determinados trastornos psiquiátricos (De Caterina e Basta, 2001). Un recente meta-análise con aproximadamente 350 mil participantes mostrou unha relación inversa entre o consumo de ALA e o risco de padecer enfermidades coronarias, cun 15% menos de probabilidade de sufrir un evento fatal para aqueles pacientes con maior inxesta de ALA (Wei *et al.*, 2018).

2.5.1. Inxesta recomendada

A petición da Comisión Europea, a Axencia de Seguridade Alimentaria Europea (EFSA) propuxo valores de inxesta adecuada para os AG esenciais linoleico e alfa-linolénico, así como aos AGPI de cadea longa EPA e DHA (EFSA, 2010). Expresada como porcentaxe da inxesta enerxética total diaria, a recomendación da EFSA é do 4% e 0.5% da enerxía total para os AG linoleico e alfa-linolénico, respectivamente. Para EPA e DHA á recomendación é de 250 mg/d para a suma dos dous AG, debendo ser aumentada esta cantidade en 100-200 mg de DHA para mulleres xestantes e lactantes. As recomendacións da Organización Mundial da Saúde (OMS), pola súa parte, apuntan a unha inxesta diaria de 2.5%-9% da enerxía total para os AG omega-6 e do 0.5%-2% para os omega-3 (FAO/WHO, 2008).

2.6. A composición da graxa das forraxes e materias primas utilizadas na alimentación das vacas de leite

A composición dos lípidos das forraxes e materias primas varía amplamente, desde menos do 1% nalgúns subprodutos até case 100% nalgún suplemento graxo. Da mesma forma, a composición da graxa ou extracto etéreo é moi diferente entre os distintos tipos de alimentos: mentres que os ésteres de AG con glicerol (triacilglicerol, 90% AG) representan a maior parte da fracción graxa nos aceites vexetais, graos de cereais, proteaxinosas e

oleaxinosas, o contido total de AG en forraxes representa con frecuencia menos do 50% do total da graxa (Van Soest, 1994). A fracción non saponificábel da graxa extraída das forraxes contén, ademais de ceras, clorofila e cutina, substancias bioactivas como son as vitaminas liposolúbeis e os carotenoides (Palmquist, 2003).

Na táboa 2 expóñense valores da concentración de AG e do perfil de AG nas especies máis comúns de especies pratenses gramíneas e leguminosas utilizadas na alimentación das vacas de leite, tomada de Kalač (2010). Saliéntase o perfil poliinsaturado do extracto etéreo e a dominancia do AG alfa-linolénico en ambas familias pratenses. Nas gramíneas, o seguinte AG en importancia é o saturado palmítico, seguido do linoleico, situación que se revirte nas especies leguminosas onde a proporción de linoleico supera normalmente á de palmítico.

Táboa 2.2. Concentración de AG totais (en g/kg MS) e composición dos principais AG (en % AGT) en forraxes frescas

	Total AG g/kg MS	Palmítico	Esteárico	Oleico	Linoleico	α -Linoléxico	País
		% Total AG					
Gramíneas							
Dactilo	19.7	19.9	4.7	2.3	14.5	53.7	Gales ⁽¹⁾
Riagrás italiano	14.7	20.8	6.4	5.7	15.4	47.3	Gales ⁽¹⁾
Raigrás inglés	21.8	19.7	4.6	5.7	13.3	52.3	Gales ⁽¹⁾
Leguminosas							
Trevo violeta	29.4	14.2	2.1	2.7	17.7	60.2	Bélxica ⁽²⁾
Trevo branco	28.8	15.8	2.2	3.2	18.9	56.9	Bélxica ⁽²⁾
Alfalfa	38.8	14.6	1.9	1.8	16.0	63.9	USA ⁽³⁾

⁽¹⁾ Dewhurst *et al.*, (2001); ⁽²⁾ Van Ranst *et al.*, 2009; ⁽³⁾ Dierking *et al.*, (2010)

Fonte: Kalač (2010)

Na Táboa 3 expóñense valores medios da concentración da materia graxa, porcentaxe de AG totais e perfil de AG de grans de cereais, proteaxinosas e oleaxinosas. Como se pode observar, nos grans de cereais e de proteaxinosas predomina o ácido linoleico, seguido do oleico ou do palmítico, segundo os casos. Nas oleaxinosas, o gran de colza é rico en ácido oleico, mentres que nos de soia e xirasol estándar son especies ricas en linoleico e no de liño o AG predominante é o alfa-linolénico. No caso das tortas de oleaxinosas, a composición da graxa reproduce fielmente á dos grans orixinais, sendo as tortas de palmiste e copra ricas en láurico (C12:0), as de cacahuete ricas en oleico e a de algodón en linoleico (Paccard *et al.*, 2006)

Táboa 2.3. Composición media en AG de diferentes materias primas, cereais e oleaxinosas

	Graxa %MS	Total AG % Graxa	C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
			% Total AG						
Cereais e graos proteaxinosos									
Trigo	1.5	75	-	0.1	17.8	0.8	15.2	56.4	5.9
Triticale	1.4	75	-	1.2	11.3	0.8	7.4	41.9	3.6
Cebada	1.8	75	-	1.2	22.2	1.5	12.0	55.4	5.6
Millo	3.7	85	-	0.1	11.1	1.8	26.9	56.5	1.0
Faballóns	1.1	80	-	0.4	16.9	2.6	26.0	49.6	3.5
Chícharo	1.0	80	-	0.3	13.2	3.5	24.9	47.4	10.2
Graos oleaxinosos									
Colza	42.0	95	-	0.1	4.2	1.8	58.0	20.5	9.8
Liño	32.7	95	-	0.1	6.4	3.4	18.7	14.5	54.2
Soia	17.9	95	-	0.1	10.5	3.8	21.7	53.1	7.4
Xirasol	44.6	95	-	0.2	6.3	4.3	20.3	64.9	0.3
Tortas									
Cacahuete	3.4	75	-	0.1	10.2	2.4	46.8	29.8	0.8
Colza	2.3	80	-	0.1	4.2	1.8	58.0	20.5	9.8
Algodón	2.9	75	0.5	0.9	23.0	2.4	17.2	52.3	0.2
Liño	3.0	75	-	0.1	6.4	3.4	18.7	14.7	54.2
Soia	1.9	75	-	0.1	10.5	3.8	21.7	53.1	7.4
Xirasol	1.7	75	-	0.2	6.3	4.3	20.3	64.9	0.3
Copra	8.2	90	46.4	17.7	8.9	3.0	6.5	1.8	0.1
Palmiste	8.5	90	46.9	15.7	8.5	2.6	14.9	2.2	0.4

C12:0 Láurico, C14:0 Mirístico; C16:0 Palmítico; C18:0 Esteárico, C18:1 Oleico; C18:2 Linoleico, C18:3 α -Linolénico

Fonte (Paccard *et al.*, 2006)

2.7. A composición dos AG do leite

É coñecido desde hai tempo o feito de que determinados alimentos poden exercer beneficios sobre a saúde humana máis aló do seu valor nutricional estrito. Moitas recomendacións nutricionais en canto á elección dos alimentos integrantes da cesta da compra inclúen este punto de vista. Recentemente este interese por parte dos consumidores viuse incrementado e a industria de alimentación respondeu aumentando o desenvolvemento destes produtos. Os lácteos ocupan un lugar específico neste contexto. Diversos estudos axudaron a profundar no coñecemento relativo ás propiedades nutricionais e extra-nutricionais do leite, demostrando que pode considerarse un produto alimenticio multifuncional. Á presenza de principios nutritivos na súa composición (proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas e minerais) únense outras moléculas bioactivas con propiedades beneficiosas para a saúde (Bath e Bath, 2011).

Os produtos lácteos contribúen un 15-20% á inxesta total de graxa total, un 25-33% da graxa saturada e aproximadamente un 15% do colesterol da dieta dos países desenvolvidos (Elgersma *et al.*, 2006). A graxa do leite contén unha alta proporción de AG graxos saturados (70-75%) e monoinsaturados (20-25%) e, comparativamente, unha baixa concentración de poliinsaturados (0-5%).

Como indican Lock e Shingfield, (2004) o perfil predominantemente saturado dos lípidos do leite pode ser atribuído, por unha banda, ao feito de que no rume ten lugar unha ampla biohidroxenación dos ácidos graxos insaturados da dieta e por outra a que os procesos de síntese *ex novo* de ácidos graxos que teñen lugar na glándula mamaria producen maioritariamente lípidos saturados con cadeas de até 16 átomos de carbono.

A materia graxa do leite está composta por un 97-98% de triglicéridos, sendo o 2-3% restante fosfolípidos, esteroides e vitaminas liposolúbeis. A proporción de AG na graxa total é do 95% aproximadamente, indicándose na Táboa 4 o rango de valores habituais dos AG máis importantes (Paccard *et al.*, 2006). Segundo estes datos, os AG de cadea curta (C4-C10), media (C12-C17) e longa (C18-C22) representarían o 10%, o 47% e o 43% do total de AG do leite.

Táboa 2.4. Composición media en ácidos graxos (en porcentaxe sobre o total de AG) do leite de vaca

Símbolo	Nome común	Media	Min	Max
AG Saturados				
C4:0	Butírico	3.6	2.5	6.2
C6:0	Caproico	2.3	1.4	3.8
C8:0	Caprílico	1.3	0.5	1.9
C10:0	Cáprico	2.7	1.9	4
C11:0	(Undecanoico)	0.4	0.2	0.5
C12:0	Láurico	3.3	1.9	4.7
C14:0	Mirístico	10.7	7.8	14
C15:0	(Pentadecílico)	1.2	0.4	2.3
C16:0	Palmitico	27.6	22	42
C17:0	Margárico	0.9	0.4	1.6
C18:0	Esteárico	10.1	6.2	13.6
C20:0	Araquidónico	0.2	0.1	0.3
AG monoinsaturados				
C14:1	Miristoleico	1.4	0.3	2.6
C16:1	Palmitoleico	2.6	0.9	4.5
C18:1 c9	Oleico	26	14	34
C18:1 t t	Eláídico	0.2	0.1	0.3
C18:1 t11	Vaccénico	2.5	0.3	4.5
C18:1 t13		0.4	0.3	0.5
AG poliinsaturados				
C18:2 c9,c12 n6	Linoleico	2.5	0.8	5.2
C18:2 c9, t11	Ruménico	0.5	0.2	1.6
C18:3 c9,c12,c15 n3	Alfa-Linolénico	0.6	0.2	1.5
C18:3 c6, c9, c12 n6	Ganma-Linolénico	<0.1	-	-
C20:4 c5, c8, c11, c14 n6	Araquidónico	<0.1	-	-
C20:5 c5, c8, c11, c14, c17, n3	Eicosapentanoico	<0.1	-	-
C22:6 c4, c7, c10, c13, c16,c19 n3	Docosahexanoico	<0.1	-	-

Fonte: Paccard *et al.*, (2006)

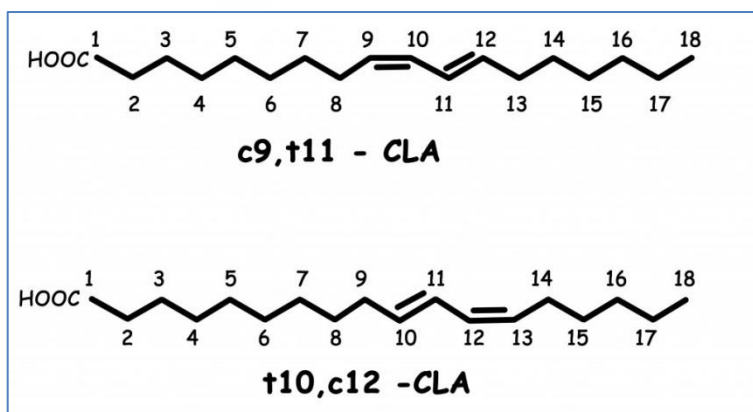
Os factores que afectan á composición de AG da graxa do leite relacionanse co tipo de animal, co ambiente e coa alimentación, sendo este último o máis importante (Jensen 2002). Entre os factores animais inclúense a raza, o número de parto e o estado de lactación (Samková *et al.*, 2008) e entre os ambientais destácanse a estación do ano, o sistema de produción, o manexo do rabaño e a frecuencia de muxido (Dewhurst *et al.*, 2003). Dentro dos factores alimentarios, considérase que as forraxes e a adición de graxa á dieta son as principais fontes de AGS e condicionan o perfil graxo do leite como indican, entre outros Chilliard e Ferlay, (2004).

Entre os varios centos de AG detectados no leite de vaca, só un limitado número afecta ás propiedades nutricionais, sensoriais e tecnolóxicas do leite. Os principais AG son de cadea

simple e número par de carbonos, aparecendo como compoñentes menores na graxa do leite os AG de cadea impar e ramificados, consecuencia do metabolismo graxo dos microorganismos do rume (Jensen 2002). Segundo estes autores, a típica proporción de AG do leite sería de 69%, 27% e 4% de AG saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI), no total de AG.

Os AG predominantes na graxa do leite son os saturados mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) xunto cos monoinsaturados entre os que o ácido oleico (C18:1c9) é maioritario. A proporción dos AG poliinsaturados é baixa, como se dixo, sendo o linoleico (C18:2n6) seguido do alfa-linolénico (C18:3n3) os principais representantes. Entre os AG insaturados predomina a configuración *cis*, representando os isómeros *trans* entre o 2% e o 8% do total de AG. Entre eles salientan pola súa importancia os isómeros do C18:1 con diferente posición no duplo enlace. Os AG *trans* presentes no leite son producidos de forma natural no rume a partir do metabolismo dos AG presentes no alimento consumido polo animal. O ácido *trans*-vaccénico (TVA, C18:1 t11) é o predominante entre os monoinsaturados *trans* do leite. Entre os AG do leite, unha parte importante dos traballos de investigación enfocaronse ao coñecemento da estrutura e propiedades do conxunto de isómeros do ácido linoleico conxugado, designado comunmente como CLA (20 isómeros en total no leite de vaca) dos cales o ácido ruménico (*cis*9,*trans*11 C18:2) é o máis abundante, cun 75-90% do total (Lock e Bauman, 2004).

Figura 2.2. Estrutura química dos isómeros *c9t11* e *c10t12* do AG linoleico conxugado



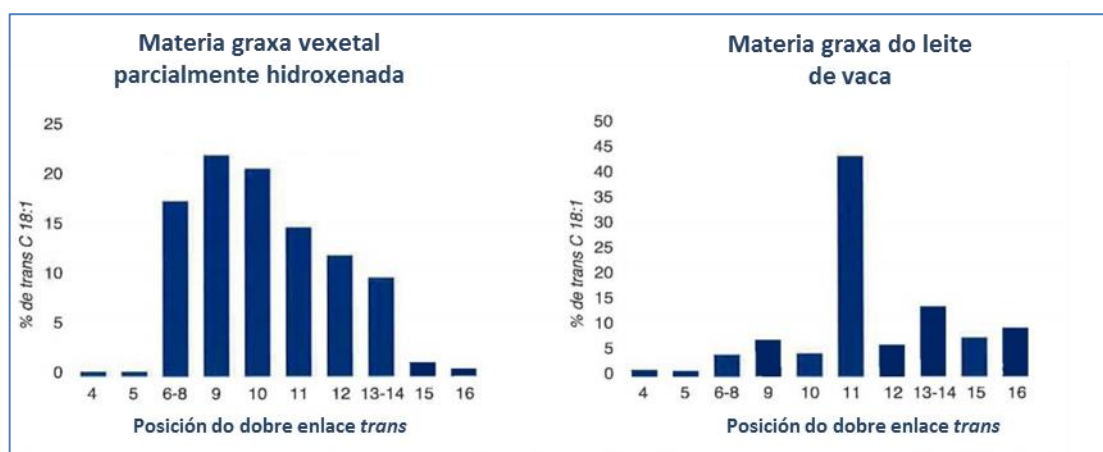
Fonte: Raff *et al.* (2009)

A composición de AG na graxa do leite fíxose menos saudábel para os humanos ao longo destas últimas catro décadas debido aos cambios nas prácticas de alimentación do vacún leiteiro, cunha maior presenza de ensilaxe de millo e concentrados e menor consumo de forraxes frescas (Elgersma *et al.*, 2006). As concentracións de AG esenciais e de CLA, consecuentemente, diminuíron, circunstancia que se ve aínda máis reforzada pola tendencia da poboación a consumir produtos lácteos baixos en graxa, toda vez que o leite e carne de ruminantes son a fonte principal de consumo de CLA.

Dentro do contexto da preocupación da cidadanía pola denominada “dieta sá”, de particular interese para as persoas de idade avanzada, na actualidade hai interese en alterar o perfil lipídico da graxa do leite para mellorar a longo prazo a saúde humana, enfocando o obxectivo cara unha redución das concentracións de ácidos graxos saturados de cadea media (láurico, mirístico e palmítico), relacionados co risco cardiovascular e o incremento dos AG beneficiosos mono e poliinsaturados. Recentes estudos cuestionaron a mala fama dos AG saturados do leite poñendo de manifesto os beneficios do consumo do leite enteiro en base á elevada biodisponibilidade de nutrientes de alto valor e as propiedades antiinflamatorias do leite (Lordan *et al.*, 2018). Ademais do coñecido papel dos AG omega-6 na redución do risco cardiovascular e dos AG omega-3 como antiinflamatorios, algúns isómeros dos AG insaturados *trans* do C18, como o ácido linoleico conxugado e o seu precursor ácido vaccénico mostraron en distintos estudos con modelos animais exercer algún tipo de propiedades anti carcinoxénicas (FIL-IDF, 2013), cuxo mecanismo de acción e efecto en humanos debe ser aínda aclarado (Rodríguez- Alcalá *et al.*, 2017).

O AG vaccénico é o único precursor coñecido do c9t11 CLA, e recentes evidencias poñen de manifesto que o seu consumo produce efectos beneficiosos sobre a saúde alén dos asociados co CLA producido (Field *et al.*, 2009). Este efecto positivo do TVA producido de forma natural no rume contrasta coa coñecida relación entre o consumo de AG *trans* de orixe industrial, (resultado da hidroxenación dos aceites vexetais para o seu uso en manufacturas alimentarias) e o risco de enfermidades cardiovasculares (Jacobsen *et al.*, 2007). A diferente composición dos AG monoinsaturados das graxas industriais e a graxa do leite pódese observar na seguinte figura, onde se advirte que no primeiro caso o AG predominante é o t10 C18:1 mentres que na graxa do leite predomina o TVA.

Figura 2.3. Perfil dos ácidos graxos C 18:1 *trans* nas graxas vexetais de orixe industrial parcialmente hidroxenadas e na graxa do leite de vaca



Fonte: FIL-IDF (2013)

2.7.1. A orixe dos AG *trans* no leite

As bacterias do rume converten os AG poliinsaturados da dieta (en particular os AG linoleico e alfa-linolénico) en vaccénico a través dunha cascada de reaccións de hidroxenación e isomerización denominada biohidroxenación. As taxas de transformación de ambos AG no rume son altas, de entre o 70-95% para o linoleico e entre o 85-100% para o alfa-linolénico (Bauman e Griinari, 2003). O ácido ruménico c9t11 CLA é un dos primeiros intermediarios da bioconversión, pasando en parte aos tecidos animais e ao leite. O vaccénico, que é parcialmente saturado e convertido en ácido esteárico (C18:0) no rume, mediante a acción da enzima Δ^9 - desaturasa producirá ácido ruménico nos tecidos animais e na glándula mamaria. A actividade deste enzima depende do tipo de alimentación, o cal pode explicar os cambios na concentración en CLA do leite con diferentes dietas. Por outra banda, o papel bioactivo do TVA vese reforzado polo coñecido feito de que aproximadamente un 20% deste AG procedente da dieta transformase en c9t11 CLA no organismo humano (Tupeinen *et al.*, 2002). Os produtos lácteos e a carne dos ruminantes son as únicas fontes naturais de CLA para os humanos (Burdge *et al.*, 2005).

2.7.2. Metabolismo dos AG na glándula mamaria

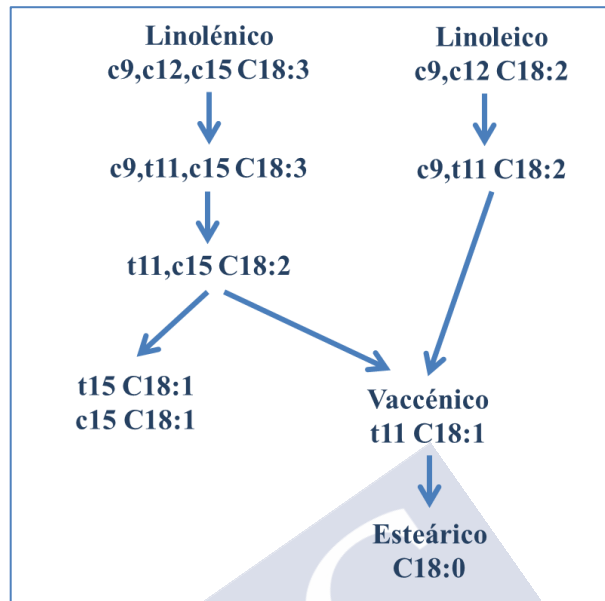
No rume, a maioría dos lípidos son hidrolizados producindo glicerol e ácidos graxos libres. O glicerol é fermentado rapidamente producindo AG volátiles, mentres algúns AG libres son usados para a produción de lípidos microbianos e a maior parte restante é sometida a un proceso de isomerización e saturación de intensidade variábel. Como consecuencia dos

procesos de biohidroxenación, os AG que son trasladados no plasma desde o rume aos tecidos son principalmente AG saturados, se ben algúns intermediarios da biohidroxenación escapan directamente do rume (Lock e Bauman 2004).

Os AG do leite con cadeas carbonadas curtas (4 a 8 carbonos) e medias (10 a 14 carbonos) son producidos exclusivamente da síntese *ex-novo* nas células do tecido epitelial da glándula mamaria a partir dos precursores propiónico (C3:0) e butírico (C4:0) que se producen no rume pola fermentación dos carbohidratos. Os AG de cadeas longas (>16 carbonos) proceden exclusivamente dos líquidos que circulan no plasma e os AG de 16 carbonos proceden de ambas fontes (Bauman y Davies, 1974). Os AG de cadea impar, como o pentadecanoico (C15:0) e margárico (C17:0) así como os de cadea ramificada son sintetizados pola microflora bacteriana do rume (Vlaemick *et al.*, 2006).

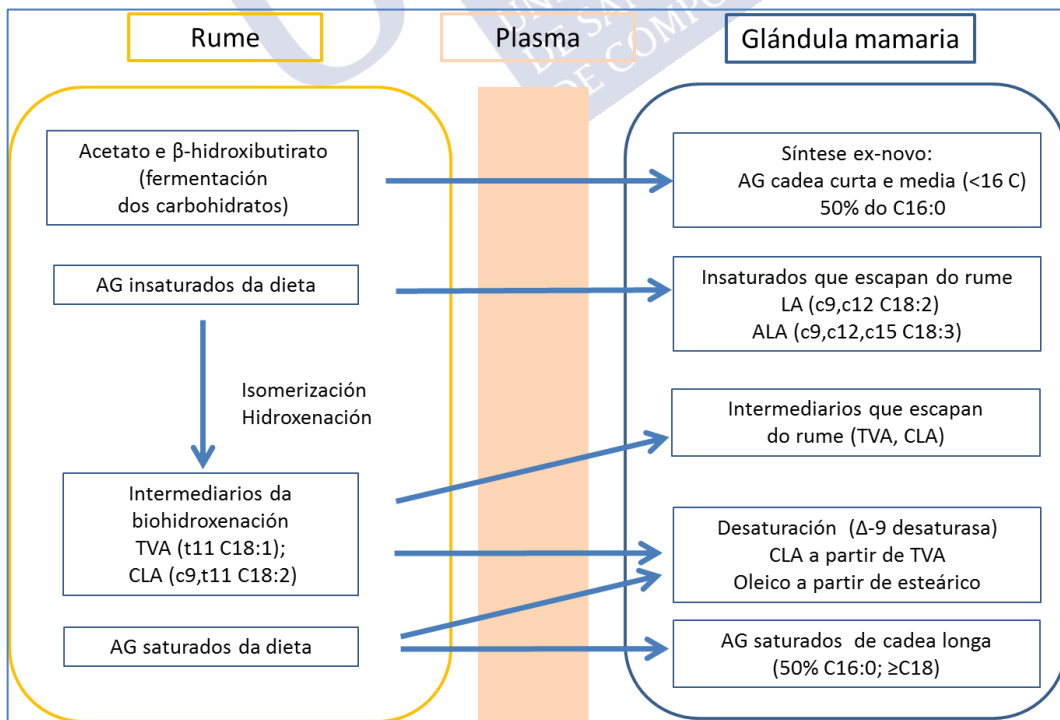
Os procesos de desaturación que teñen lugar na glándula mamaria transforman o AG esteárico (C18:0) en C18:1 cis (oleico), producíndose por esta vía aproximadamente o 60%-80% do total de oleico que aparece no leite (Bauman and Lock, 2010). Da mesma forma, a actividade da Δ -9 desaturasa contribúe nun 90% á presenza de C14:1 $c9$ e nun 50% á do C16:1 $c9$ na graxa do leite (Mosley e McGuire, 2007). Outros AG de cadea máis curta de 18 carbonos, como C10:0, C12:0, C14:0, C15:0 e C17:0 poden ser usados como substratos para este enzima (Shingfield *et al.*, 2010). Adicionalmente estímase que un 25% do ácido vaccénico formado no rume transfórmase na glándula mamaria en CLAc9t12, producíndose por esta vía un 70-95% do total deste isómero na graxa do leite (Shingfield *et al.*, 2013).

Figura 2.4. Ruta bioquímica da biohidroxenación dos ácidos graxos linoleico e alfa-linolénico no rume



Fonte: Harfoot e Hazlewood, 1997

Figura 2.5. Rutas metabólicas dos ácidos graxos desde o rume á glándula mamaria



Fonte: adaptado de Harfoot e Hazlewood, 1997

2.8. Alteración do perfil lipídico do leite a través da alimentación do gando vacún

A composición en ácidos graxos do leite depende do xenotipo da vaca e do estado de lactación (Delaby *et al.*, 2002), pero como indican diversos autores, entre eles Givens e Shingfield (2006), o manexo da nutrición é o método mais adecuado para influír na composición da graxa do leite.

2.8.1. Suplementación con aceites de oleaxinosas

O perfil lipídico do leite pode ser alterado mediante unha dieta suplementada con ácidos graxos de orixe mariña, aceites vexetais e sementes de oleaxinosas. Con este propósito, a utilización de sementes de oleaxinosas na dieta de vacas de leite tense mostrado como unha estratexia eficaz para aumentar o contido en lípidos insaturados. A maior parte das sementes de oleaxinosas son ricas en C18:2, nunha porcentaxe de 50-70% do total de AG (Dhiman *et al.*, 2005), sendo de notar que unha excepción é a semente de liño, que contén en abundancia (51% dos AG totais) o acedo alfa-linolénico.

Neste sentido, hai numerosa información experimental que demostra que a suplementación de dietas de gando vacún de leite con semente de liño consegue incrementar o contido en AGPI do leite, en particular os do grupo omega-3 do leite e CLA (Dhiman *et al.*, 1999; Lock e Garnsworthy, 2002; Dewhurst *et al.*, 2006), sendo coñecido que as sementes ricas en C18:2 son máis efectivas para incrementar o contido en CLA do leite comparadas coas sementes ricas en C18:3 (Dhiman *et al.*, 2000), como demostra o feito observado polos anteriores autores de que a semente de liño non é tan eficiente como a faba de soía, a este respecto.

2.8.2. Cultivos pratenses

Sen embargo, existe menos información acerca da composición en ácidos graxos das forraxes e as fontes de variación de dito perfil. A pesar do incremento de traballos sobre o tema que se observa nos últimos anos, a información a nivel local é moi incompleta no que se refire ao efecto da alimentación con forraxes frescas e conservadas sobre a composición de AG do leite. Como indican Elgersma *et al.* (2006), a alimentación das vacas de leite con forraxe representa a forma máis natural, sustentábel e económica para conseguir mellorar a calidade do leite.

Aínda que as forraxes conteñen relativamente pequenas cantidades de AG (1 a 3% MS), con frecuencia son a fonte principal de lípidos na dieta do gando vacún de leite (Harfoot e

Hazelwood, 1997). Este aspecto determina que, en dietas con alta proporción de forraxes, o tipo de ácidos graxos presentes nos mesmos condicione marcadamente a composición da graxa do leite. Dhiman *et al.* (2005) indican que os pastos frescos e as ensilaxes de herba son fontes de C18:3, representando o 46-56% dos AG totais, mentres que a ensilaxe de millo é máis rica en C18:2 ca en C18:3 (aproximadamente 40 e 6%, respectivamente), e o feno de alfalfa contén unha proporción semellante de ambos ácidos graxos, ao redor do 25% do contido en AG total.

Como sinalan Bauchart *et al.* (1984) os cinco AG principais do pasto fresco son linolénico (C18:3 n-3), linoleico (C18:2 n-6), oleico (C18:1), esteárico (C18:0) e palmítico (C16:0). A concentración de cada un deles varía dependendo da especie, estado de crecemento, temperatura e intensidade luminosa (Hawke, 1973). Wyss *et al.* (2006) analizando mesturas pratenses de gramíneas e leguminosas indicaron que os AG predominantes eran, por esta orde, linolénico, linoleico, palmítico, oleico e esteárico, representando sobre o total de AG o 65, 17,14, 3 e 2%, respectivamente. A unha similar conclusión chegan Clapham *et al.* (2005) que, estudando 13 diferentes forraxes de gramíneas e leguminosas pratenses ao longo do seu ciclo vexetativo atopan que un 66% do total de AG era C18:3 n-3, 13% C18:2 n-6 e 14% C16:0, como media. Así mesmo indican que as concentracións de AG descenden coa madurez da planta, pero que a contribución proporcional de cada ácido permanece relativamente constante no tempo, polo que as especies estudadas teñen unha composición característica específica que as diferencia.

Na Táboa 5 móstranse resultados de distintos traballos onde se indican valores medios da concentración de AG totais e da composición dos principais AG de distintas especies de forraxes frescas aproveitadas en diferentes momentos do ano, mostrando a variabilidade estacional no perfil graxo das principais especies pratenses.

Táboa 2.5. Concentración de AG totais (en g/kg de materia seca) e composición dos principais AG (en % AGT) de raigrás inglés, trevo violeta e trevo branco, en estado fresco, en tres cortes

	Total AG g/kg MS	Palmítico	Estearico	Oleico	Linoleico	α -Linoléico
	% Total AG					
Raigrás inglés						
Abril	26.2	13.7	0.8	2.0	11.9	67.9
Xullo	21.7	15.8	1.3	1.8	12.0	64.5
Outubro	32.9	13.1	1.3	1.6	8.7	70.5
Trevo violeta						
Abril	26.0	14.7	2.0	2.7	17.3	60.4
Julio	29.4	14.2	2.1	2.7	17.7	60.2
Outubro	36.3	11.3	1.6	1.8	15.7	65.6
Trevo branco						
Abril	36.2	13.8	1.7	2.5	14.4	63.5
Xullo	28.8	15.8	2.2	3.2	18.9	56.9
Outubro	40.5	11.7	1.6	1.8	13.5	66.7
Media das tres especies						
Abril	29.5	13.6	1.5	2.4	14.5	63.9
Xullo	26.6	15.5	1.9	2.6	16.6	60.2
Outubro	36.6	11.5	1.5	1.7	12.8	67.5
Media dos tres cortes						
Raigrás inglés	26.9	14.0	1.1	1.8	10.6	68.1
Trevo violeta	30.6	13.2	1.9	2.3	16.8	62.4
Trevo branco	35.2	13.2	1.8	2.4	15.3	62.9

Fonte: Van Ranst *et al.* (2009)

Diversos autores, entre eles Elgersma *et al.* (2003a) e Dewhurst *et al.* (2006) sinalan que a concentración de lípidos poliinsaturados do leite depende do tipo de pasto empregado na dieta basal do gando vacún e do modo de utilización da forraxe. Outros factores, ademais dos citados, condicionan o perfil lipídico das forraxes. Así, o estado de madurez, a fertilización nitrogenada e os factores climáticos son responsábeis da marcada variación na composición da graxa das forraxes e, polo tanto, do perfil de ácidos graxos do leite producido polas vacas alimentadas con estas forraxes (Boufaïed *et al.*, 2003).

Os lípidos nas forraxeiras pratenses están principalmente asociados coa membrana tilacoide dos cloroplastos, participando nos procesos metabólicos da fotosíntese, polo que de forma xeral, o contido de AG será superior nas partes verdes das planta, fotosinteticamente activas. Por esta razón normalmente o contido máis alto na herba se atopa no primeiro corte en primavera, para descender posteriormente cara ao verán, coincidindo coa floración da planta (Elgersma *et al.*, 2003b) e incrementarse nalgúns casos no outono (Witkowska *et al.*, 2008).

Existen evidencias de que, polo xeral, a concentración de ácidos graxos insaturados da graxa do leite de vacas alimentadas con forraxes frescas é superior comparado coa utilización das mesmas forraxes conservadas como feno ou ensilado tal como se pon de manifesto en diversos traballos (por exemplo Bargo *et al.*, 2006).

Unha meta-análise realizada por Lourenço *et al.* (2008) ilustra acerca da relación entre o tipo de pastos consumidos polas vacas de leite e a composición de AG do leite, referida aos cultivos de raigrás, trevo violeta e trevo branco, así como a mesturas de múltiples especies de gramíneas e leguminosas en terras altas denominadas “pastos diversos”. Como resumo, observouse unha menor recuperación en leite de AGPI, en particular C18:3 n-3 no caso dos raigrases comparados cos “pastos diversos” e os trevos violeta e branco, que non se diferenciaron entre si. Non observaron diferenzas en canto ao contido en CLA cando compararon os trevos cos raigrases, pero os “pastos diversos” mostraron unha tendencia a incrementar a concentración deste ácido graxo no leite. As condicións ambientais e de manexo exerceron unha forte influencia sobre o contido en AG das forraxes utilizadas e polo tanto, influíron no perfil graxo do leite, mostrando a dificultade de extrapolar os resultados a situacións concretas.

Por outra banda, o leite de vacas alimentadas con forraxes frescas ten polo xeral unha maior concentración de ácidos graxos poliinsaturados que o producido con esas mesmas forraxes ensiladas (Elgersma *et al.*, 2006).

2.8.3. A conservación da forraxe

A forma de conservación da forraxe afecta á variación da composición de AG da forraxe orixinal, o que pon de manifesto a necesidade de empregar un técnica de conservación correcta. Tal e como indican Doreau e Poncet (2000), o proceso de secado da herba para facer feno diminúe a proporción de AG totais e C18:3 da herba, pero a colleita da forraxe como ensilaxe non modifica necesariamente o perfil lipídico da forraxe, se o proceso se realiza correctamente.

Este aspecto xa era recoñecido desde hai mais de catro décadas, e Lough e Anderson (1973) indicaban que o contido en C18:3 da forraxe podía descender notabelmente por efecto dunha fermentación incorrecta ou por un secado excesivo no campo. Ueda *et al.* (2002) non atoparon diferenzas, a este respecto, entre as forraxes frescas e ensiladas sen presecar, mentres que noutros casos o proceso de ensilado reduciu a concentración de AGPI (Dewhurst *et al.*, 2003a), sendo atribuído este feito aos procesos oxidativos que

teñen lugar durante o presecado da forraxe no campo. Na táboa 4 móstranse valores da concentración de AG totais e do perfil dos principais AG de forraxes conservados en forma de fenos e ensilados, podendo observarse a marcada redución na concentración total de AG respecto dos valores das forraxes en estado fresco das táboas anteriores.

Táboa 2.6. Concentración de AG totais (g/kg de materia seca) e composición (en % AGT) dos principais AG do feno e do ensilado de diversas especies

	Total AG g/kg MS	Palmítico	Estearico	Oleico	Linoleico	α -Linolénico	País
	% Total AG						
Herba seca							
Dactilo	1.8	24.1	2.8	3.4	15.5	35.0	Francia [†]
Alfalfa	1.1	30.0	6.0	8.0	24.4	23.2	USA [§]
Pasto de montaña	3.0	19.2	1.5	2.3	16.2	50.4	Francia [†]
Raigrás inglés	3.2	15.8	1.8	2.0	14.0	55.9	Francia [†]
Ensilado							
Millo	4.0	15.6	2.4	23.7	48.6	11.1	Francia [†]
Raigrás inglés	3.7	21.2	2.0	2.8	13.4	52.2	Francia [†]

[†]Ferlay *et al.* (2006); [§]AbuGhazaleh *et al.* (2007)

Fonte: Kalač e Samková (2010)

Chow *et al.* (2004) indican que o xenotipo da planta inflúe na intensidade da oxidación dos acedos graxos durante o presecado. Arvidsson *et al.* (2009a) pola súa parte, non atopan diferenzas substantivas entre as concentracións de acedos 18:2 e 18:3 en pratenses frescas e ensiladas, e recomentan procesos de presecado curtos, de menos de 24 horas para alcanzar teores de materia seca non superiores ao 35% a fin de preservar a composición de ácidos graxos insaturados da forraxe orixinal.

2.8.4. Ensilaxe de millo vs. forraxes pratenses

Cando se comparou o efecto de utilizar pastos de gramíneas e leguminosas ou ensilaxe de millo como forraxes de base na dieta de vacas leiteiras baseadas no consumo diario de forraxe fresco observouse que o leite das vacas que consumían pastos presentaba unha concentración de ácidos poliinsaturados superior e con maior presenza de Omega-3 que no caso das vacas alimentadas con ensilaxe de millo (Croissant *et al.*, 2007).

Couvreur *et al.* (2007) observaron que a substitución de ensilado de millo por pasto permitiu reducir a porcentaxe de ácidos graxos saturados do leite do 72 ao 64% e reducir á metade o ratio omega-6/omega-3, incrementando a proporción de omega-3 de 0,2 a 0,7%. Nas condicións edafoclimáticas nas que se desenvolve a produción de leite en Galicia, a

estacionalidade no crecemento do pasto obriga a que a alimentación das vacas de leite dependa de 4 a 6 meses ao ano do subministro de forraxes ensilados (Flores *et al.*, 2003). Nestas condicións, o subministro de semente de liño extrusionada permite manter o perfil lipídico típico das dietas baseadas en pastos frescos Hurtaud *et al.* (2006). Sen embargo, o custo da ración suplementada con liñaza é máis elevada, polo que sería de interese atopar fórmulas para estender os períodos anuais de dispoñibilidade de forraxes frescos. A inclusión da alfalfa dentro das rotacións forraxeiras das explotacións permitiría dispor de forraxe verde durante o verán, dada a súa capacidade de extraer humidade de capas máis profundas do solo, o que unido ás súas excelentes características forraxeiras aconsellan estudar este cultivo con máis detalle.

Comparando a composición do leite de vacas alimentadas en estábulo cunha dieta completa a base de feno de alfalfa, ensilado de millo e concentrado e a de vacas que pastoreaban unha pradeira de raigrás inglés e trevo branco, Khanal *et al.* (2005) indican que a concentración de Omega-3 e CLA era tres veces superior para o leite das vacas que consumían forraxe fresca. Outros autores, entre eles Dhiman *et al.* (1999) e White *et al.* (2001) observaron incrementos similares, demostrando que é posíbel producir leite enriquecida en AGPI e CLA mediante o pastoreo.

A suplementación con concentrado ás vacas que consumen pastos frescos ou ensilados, ou a substitución de ensilaxes de herba por ensilaxes de millo reduce o contido en CLA do leite (Jahreis *et al.*, 1997).

2.9. As leguminosas forraxeiras na produción de leite

As leguminosas forraxeiras deberían ser unha fonte importante de proteína nas explotacións gandeiras, especialmente tras a prohibición o uso de fariñas de orixe animal na UE como consecuencia da crise das vacas tolas. O seu cultivo pode reducir a dependencia das fontes proteicas do exterior (soia importada) e axudar a aumentar a trazabilidade da cadea de produción. Por outra banda, son vectores de moléculas funcionais ao leite, de particular interese cando se consomen como ensilados.

O potencial das leguminosas para a produción de leite tanto consumidas en fresco como ensiladas ten sido posto de manifesto por diversos autores. Castle *et al.* (1983) e Auld *et al.* (1999) mostraron o alto valor nutricional do trevo branco para a produción de leite.

Outros estudos (por exemplo Thomas *et al.*, 1985 con trevo violeta e Hoffmann *et al.*, 1998 con alfalfa) demostraron a superioridade das ensilaxes de leguminosas comparadas coas de gramíneas.

Sen embargo, no desenvolvemento da base forraxeira das explotacións o uso de leguminosas non tivo o papel que cabería agardar da súa potencialidade. O custo relativamente reducido até hai pouco tempo do fertilizante nitroxenado, as dificultades de establecemento e manexo das leguminosas e a súa baixa ensilabilidade serían razóns que explicarían dita ausencia (Dewhurst *et al.*, 2003b). Nas explotacións leiteiras galegas seguiuuse un proceso semellante, estando apenas representadas as leguminosas nas mesturas binarias das pradeiras (Piñeiro e Díaz, 2005).

Nun intento por revitalizar o seu cultivo, entre 1997 e 2001 realizouse en cooperación por parte de seis países do norte de Europa o proxecto LEGSIL, co obxectivo de avaliar o papel das grandes leguminosas forraxeiras (alfalfa, trevo branco e trevo violeta) nos sistemas de produción de leite nas súas respectivas áreas. Os seus resultados (Wilkins, 2001) indicaban: a) que a inclusión destas leguminosas nos sistemas forraxeiros das explotacións leiteiras permitían obter rendementos comparables aos do raigrás fertilizado con 200 kg de N e b) que era posíbel obter ensilados ben conservados cando a forraxe, presecada ao 25% MS se trataba con conservantes ácidos ou cando se alcanzaba un 35% MS e se utilizaba un inoculante efectivo. Nestas condicións, os ensilados de leguminosas son ben consumidos polo gando, permiten reducir o uso de materias primas proteicas no concentrado e normalmente a produción de leite supera á obtida cos ensilados de gramíneas.

2.9.1 Baixa ensilabilidade das leguminosas

Con frecuencia a baixa ensilabilidade das leguminosas forraxeiras provoca que no silo teña lugar unha extensa proteólise durante o proceso de fermentación, o que conduce á produción de diversas formas de nitróxeno non proteico (NNP) na forraxe (Muck *et al.*, 2003). A principal consecuencia deste proceso é unha baixa utilización do N polos ruminantes (Broderick, 1995), o que conduce á necesidade de suplementar as dietas do gando vacún leiteiro con fontes proteicas que encarecen o custo da ración. Como é sabido, os animais de alta produción necesitan unha achega elevada de proteína non degradábel, xa que a proteína microbiana sintetizada no rume non é suficiente para cubrir as súas necesidades nitroxenadas (AFRC, 1993). Por outra banda, a ineficiente captura do N destes

ensilados pola microflora ruminal aumenta a excreción de N ao ambiente nas explotacións, o cal é unha causa de contaminación nas áreas gandeiras de produción de leite (Tamminga, 1992). O proceso proteolítico durante o ensilado débese á acción combinada dos enzimas da planta e dos microbios no silo, que poden reducir até nun 80% o contido en proteína verdadeira da forraxe ao longo do proceso de ensilado (Winters *et al.*, 2000). A maior parte do NNP e unha fracción non desprezábel da proteína residual é rapidamente degradada no rume a amonio, que excede a capacidade de fixación da microflora ruminal como proteína microbiana, sendo en gran parte liberado ao ambiente nos ouriños (Givens e Rulkin, 2004).

2.9.2. Presecado e uso de aditivos para conseguir unha correcta calidade fermentativa

As leguminosas son difíciles de conservar, en comparación coas gramíneas pratenses e o millo, debido ao seu baixo contido en azucres fermentescibles e elevado poder tampón, ao que se une a súa alta humidade (Demarquilly, 1986). O uso dun conservante eficaz ou a elevación do contido en materia seca mediante o secado da forraxe no campo son dúas técnicas adecuadas para conseguir unha fermentación correcta (McDonald *et al.*, 1991). Suxeríronse niveis de materia seca mínimos do 30-40% para leguminosas pratenses (Corrot, 1993; Le Gall, 1993) pero outros traballos indican que é posible obter ensilados de leguminosas ben conservados cando a forraxe, presecada ao 25% MS, se trata con conservantes ácidos ou cando se alcanza un 35% MS e se utiliza un inoculante efectivo (Wilkins, 2001). A realización do presecado fai depender estreitamente o momento de corte ás condicións climáticas, aspecto especialmente importante nas condicións da Galicia atlántica. Aínda realizado en condicións favorables, implica o risco de penalizar de forma máis ou menos severa a calidade da forraxe debida á posibilidade de perda de follas durante o secado no campo, con máis motivo máis longo é o período de secado. O uso de conservantes ácidos, eficaces para controlar a fermentación, non se popularizou en Galicia (Flores *et al.*, 2003; Fernández-Lorenzo *et al.*, 2009) debido ás dificultades da súa aplicación e o risco para as persoas e equipos debido á súa natureza cáustica, sendo de interese avaliar a utilidade das novas formulacións de aditivos a base de bacterias lácticas homofermentativas, máis eficientes á hora de aproveitar o reducido substrato azucrado das leguminosas.

2.9.3. As vantaxes de inclusión de leguminosas na dieta

A pesar de que a concentración de ácidos graxos poliinsaturados, en particular de C18:3 n-3 é frecuentemente inferior nas leguminosas ca nas gramíneas (Boufaïed *et al.*, 2003,

Steinshamn *et al.*, 2006), existen evidencias de que a inclusión de leguminosas na dieta incrementa a proporción de AGPI na graxa do leite, comparado con gramíneas, sobre todo cando se consumen en forma de ensilados (Shingfield *et al.*, 2008).

Este aspecto é confirmado polo traballo realizado por Dewhurst *et al.* (2003) que compara, en dous ensaios, ensilaxes de raigrás inglés (*L. Perenne*), trevo violeta (*T. Pratense*), trevo branco (*T. Repens*) e alfalfa (*M. Sativa*) como forraxes de base para vacas de leite suplementados cun concentrado estándar (4 e 8 kg/día). As ensilaxes de leguminosas aumentaron a inxesta voluntaria de ensilaxe e a produción de leite, a pesar de que non sempre mostraron os valores máis elevados de dixestibilidade. O efecto máis notábel sobre a composición de AG do leite foi o incremento nos niveis de ácido alfa-linolénico nas vacas que consumiron ensilaxes de leguminosa. Nun dos ensaios, as ensilaxes de trevo violeta e trevo branco multiplicaron por dous a concentración de C18:3 en leite observada para o raigrás, mentres que a ensilaxe de alfalfa superouno nun 25%. No segundo ensaio, no que non se utilizou alfalfa, a ensilaxe de trevo violeta multiplicou por tres, e a de trevo branco duplicou o contido en C18:3 da ensilaxe de raigrás inglés.

Noutro traballo onde se compara a utilización de ensilaxes de trevo violeta e dun pasto de gramíneas (*Phleum pratense* L. e *Festuca pratensis* Huds.) na dieta de vacas leiteiras alimentadas *ad libitum* con ensilaxe e suplementadas con 9 kg de concentrado, Vanhatalo *et al.* (2007) comprobaron que a utilización da ensilaxe de trevo permitía aumentar o contido da graxa do leite en lípidos poliinsaturados, en particular do 18:2 n-6 e 18:3 n-3 e reducía paralelamente a concentración de ácidos graxos saturados. Indican que o efecto de utilizar ensilaxe de trevo violeta colleitado precozmente, no perfil lipídico do leite foi equivalente a engadir diariamente ao concentrado entre 250 e 500 g de aceites vexetais.

A capacidade do trevo violeta para promover unha alta taxa de transferencia de AGPI da forraxe ao leite está relacionada coa actividade da enzima Polifenol-Oxidasa (PPO) que reduce o alcance dos procesos proteolíticos (Hatfield e Muck, 1999) e lipolíticos (Dewhurst *et al.*, 2006) na planta trala colleita e no rume, consumida tanto como ensilado ou fresca. Non hai que descartar, tal e como afirma Dewhurst *et al.* (2003) o papel que pode xogar nos efectos anteriormente citados a maior taxa de paso polo rume das leguminosas en xeral e dos trevos en particular, comparados coas gramíneas, o que levaría a unha menor intensidade de biohidroxenación dos AGPI no primeiro caso.

O interese por introducir os ensilados de leguminosas nas dietas para vacas leiteiras para mellorar o perfil de AG do leite está ben documentado. Chenais *et al.* (1993), entre outros autores, citan o incremento da produción, o incremento do consumo voluntario e a redución do gasto en materias primas proteicas derivados do seu uso. A inclusión de leguminosas na dieta permite mellorar o perfil lipídico da graxa do leite de vacún desde un punto de vista de saúde humana. Como indican, entre outros, os traballos de Dewhurst *et al.* (2003) e Shingfield *et al.* (2008) as leguminosas forraxeiras ofrecidas como ensilado permiten potencialmente mellorar a calidade dietética do leite mediante a redución do contido en AG saturadas, o aumento da concentración de AGPI (en particular de omega-3) e a diminución do cociente omega-6/omega-3, aspectos todos de notable interese para lograr unha dieta máis saudable a través do consumo de leite e derivados lácteos. As vantaxes derivadas do emprego de ensilados de leguminosas forraxeiras na ración de vacas leiteiras están con todo condicionadas ao feito de conseguir unha boa calidade de conservación.

Os resultados destes traballos e os realizados por outros autores permiten concluír que as leguminosas ofrecidas como ensilado, e en particular os trevos, permiten potencialmente mellorar a calidade dietética do leite mediante: a) a redución do contido en AG saturados (en particular de C16:0); b) o aumento da concentración de AGPI (en particular C18:3) e c) un reducido ratio omega-6/omega-3 de notábel interese para corrixir o desequilibrio entre ambos ácidos esenciais na dieta dos humanos a través do consumo de leite e derivados lácteos.

Por outra banda, existen evidencias de que algunhas leguminosas poden afectar positivamente ao sabor agradábel do leite e dos produtos lácteos, como se pon de manifesto na revisión de Peeters *et al.* (2006). Sen embargo, ás veces os produtos de oxidación dos ácidos poliinsaturados poden conferir mal sabor ao leite, polo que é relativamente habitual incluír tests organolépticos nos estudos de produción de leite con forraxes frescas (por exemplo, Khanal *et al.*, 2005).

2.9.4. Meteorismo no pastoreo de leguminosas pratenses

Frame (2005) indica a posibilidade de que os animais que pastan leguminosas sufran de meteorismo, aconsellando dispor nas parcelas dun suplemento fibroso a disposición dos animais. O mesmo autor alerta de potenciais problemas debido ás saponinas da alfalfa debido ao seu efecto hemolítico así como do contido en estróxenos do trevo violeta e da

alfalfa. Sen embargo a maior parte da información recollida nas revisións efectuadas, entre elas as de Dewhurst *et al.* (2006); Dewhurst *et al.* (2003), non indican maiores problemas polo consumo das leguminosas pratenses en condicións normais de manexo.





3. OBXECTIVOS



3.1. Necesidade e oportunidade do estudo

É posíbel producir leite de vacún cun perfil de ácidos graxos máis saudábel, á luz dos coñecementos médicos actuais, a través da subministración ás vacas de suplementos enriquecidos en sementes de oleaxinosas. A utilización de leguminosas pratenses e leguminosas forraxeiras anuais, consumidas en fresco ou como ensilaxe poderían permitir obter leite cun perfil de AG superior ou semellante de forma máis económica e sostíbel. Esta estratexia de alimentación permitiría, ademais, obter un leite de vaca enriquecido, de forma natural, reforzando a adecuación do leite procedente do consumo de pastos ás demandas actuais do consumo. Esta posibilidade, sustentada por resultados de diversos estudos consultados, debe ser sen embargo comprobada nas condicións das explotacións galegas, debido tanto ao efecto do xenotipo das especies utilizadas como ao elevado efecto das condicións ambientais e de manexo na concentración e composición de AG das forraxes e a correspondente resposta animal en termos de produción e de variación no perfil de AG do leite.

3.2. Obxectivo xenérico da tese

O obxectivo xenérico perseguido na presente tese de doutoramento é o de avanzar no coñecemento da potencialidade da produción de leite de vacún baseada en pastos consumidos en fresco e ensilados, aplicada ás condicións de Galicia. Para elo explorárase en detalle a composición en ácidos graxos das leguminosas pratenses plurianuais máis utilizadas nas explotacións galegas, comparadas con raigrás inglés, en distintos estados de madurez. Avaliarase a resposta produtiva, a composición fisicoquímica e o perfil de AG do leite de vacas cando pastorean pradeiras establecidas con sementeiras monofitas destas especies, así como cando consumen estas especies en forma de ensilados integrando racións completas consumidas en comedero polos animais estabulados.

En consonancia coa estratexia empresarial que impulsou estes traballos, encamiñada á diferenciación do leite en base á súa composición e a lograr unha valoración positiva do proceso produtivo por parte dos consumidores, os resultados da tese de doutoramento pretenden contribuír a favorecer a implantación de procesos produtivos de reducido impacto ambiental, razón que reforza o papel das leguminosas forraxeiras como elemento central dos traballos realizados.

3.3. Grupos de experimentos e obxectivos parciais

As accións realizadas divídense en dous grupos de experimentos de alimentación de vacas de leite con forraxeiras pratenses consumidas como ensilaxes ou pastoreadas. Compárase o raigrás inglés como gramínea de referencia con diversas leguminosas pratenses, das que o trevo violeta está presente en tódolos ensaios. O primeiro grupo consta de dous experimentos realizados con ensilaxes durante dous anos e o segundo componse de tres experimentos realizados en pastoreo durante tres anos consecutivos.

O título das accións realizadas, os anos nos que se desenvolveron os traballos e os obxectivos parciais dos mesmos resúmense a continuación.

Capítulo I. Comparar o efecto do consumo de ensilados de trevo violeta, trevo branco e alfalfa, con ensilados de raigrás inglés sobre a inxestión voluntaria, a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas estabuladas que consumen racións completas suplementadas ou non con aceites vexetais.

Anos de realización: 2010 e 2011.

Obxectivos parciais:

- a). Caracterizar a composición dos ácidos graxos das ensilaxes, en comparación coas forraxes frescas de procedencia, segundo o método de realización do ensilado.
- b). Comparar o efecto do consumo por vacas de leite, de ensilados de trevo violeta e de raigrás inglés, en racións completas con concentrados suplementados con aceites vexetais, sobre a produtividade animal e a composición en ácidos graxos do leite.
- c). Comparar o efecto do consumo de ensilados de leguminosas pratenses (trevo violeta, trevo branco e alfalfa), con ensilados de raigrás inglés, sobre a produción e composición en ácidos graxos do leite de vaca, cando non se adicionan aceites vexetais ao concentrado.

Capítulo II. Estudo do efecto do tipo de pasto sobre a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacún: comparación do pastoreo de pradeiras de raigrás e de leguminosas pratenses plurianuais.

Anos de realización: 2010, 2011 e 2012.

Obxectivos parciais:

- a). Caracterizar a composición de ácidos graxos das especies pratenses trevo violeta, trevo branco, alfalfa e raigrás inglés, sometidos a pastoreo rotacional con vacas de leite durante o período de primavera-verán.
- b). Comparar a resposta produtiva e a composición en ácidos graxos do leite de vacas que pastorean pradeiras con sementeiras monofitas de trevo violeta, trevo branco, alfalfa e raigrás inglés.







4. CAPÍTULO I



CAPÍTULO I:

Efecto do consumo de ensilaxes de trevo violeta, trevo branco e alfalfa, en comparación con ensilaxes de raigrás inglés sobre a inxestión voluntaria, a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacas estabuladas que consumen racións completas suplementadas ou non con aceites vexetais.

4.1. INTRODUCCIÓN

A revisión bibliográfica efectuada indica que as leguminosas pratenses poderían presentar vantaxes nutricionais comparadas co raigrás inglés, cando se consumen como ensilaxes en dietas completas para vacas de leite. Sen embargo, non existe información até a data en Galicia sobre a composición do perfil graxo destas especies pratenses en forraxes ensiladas, nin sobre o seu efecto para modificar o perfil graxo do leite. As especies forraxeiras utilizadas foron as tres leguminosas pratenses alfalfa (*Medicago sativa* L.), trevo branco (*Trifolium repens* L.) e trevo violeta (*T. pratense*, L.), comparadas coa especie gramínea raigrás inglés (*Lolium perenne* L.) que se utilizou como referencia. As dúas últimas especies (trevo violeta e raigrás inglés) estiveron presentes nos dous ensaios realizados.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Deseño experimental

No ano 2010 os tratamentos estaban conformados pola combinación de dúas ensilaxes de especies pratenses (raigrás inglés e trevo violeta) e dous tipos de concentrado en cuxa composición figuraba un 5% de aceite vexetal procedente de faba de soia (*Glycine max* L.) ou de semente de liño (*Linum usitatissimum* L.). No ano 2011 utilizouse un concentrado de composición estándar, sen adición de aceite vexetal, estando constituídos os 4 tratamentos polas respectivas ensilaxes das catro especies pratenses. O deseño elixido foi o de cadrado latino completo (4 x 4), con catro tratamentos, catro períodos e seis repeticións (vacas) por tratamento, no que tódolos animais pasaron por tódalas dietas ao longo de cada experimento. Os períodos experimentais, de tres semanas de duración cada un, foron precedidos por un período pre-experimental de outras tres semanas de adaptación á alimentación e ao sistema de control de alimentación individual, tendo así cada ensaio unha duración de 105 días en total, desenvolvéndose entre o 5 de setembro e o 17 de decembro (2010) e entre o 29 de

agosto e o 10 de decembro (2011). A elaboración das ensilaxes e a realización dos ensaios de alimentación animal realizáronse nos anos 2010 e 2011 segundo o calendario que se indica na Táboa 4.1.

Táboa 4.1 Calendario de realización dos ensaios de alimentación

	Especie pratense			
	Raigrás inglés (RI)	Trevo violeta (TV)	Trevo branco (TB)	Alfalfa (AL)
Sementeira da pradeira	Setembro 2009	Setembro 2009	Setembro 2010	Setembro 2010
Ensilado para ensaio	Maio 2010 e 2011	Maio 2010 e 2011	Maio 2011	Xuño 2011
Ensaio de alimentación ^{†, §}				
Anos de realización	2010 e 2011	2010 e 2011	2011	2011

[†] Realizados no período setembro-mediados de decembro de cada ano

[§] Tratamentos en 2010: tipo de especie pratense ensilada (RG vs. TV) x suplementación ao concentrado (5% aceite soia vs. 5% aceite liño). Tratamentos en 2011: tipo de especie pratense ensilada (RG vs. TV vs. TB vs. AL)

4.2.2. Superficie de ensaio, fertilización e sementeira das pradeiras

Os experimentos foron realizados na finca experimental do CIAM en Mabegondo (Abegondo-A Coruña, 43° 15' N, 8° 18' W), zona costeira atlántica de Galicia, a 100 m de altitude s.n.m. Os solos utilizados nos experimentos de ensilado eran de tipo cambisol húmico, textura franco-limosa, pouco ácidos (pH en auga 5.50-5.67 e saturación de Al 11.6-15.3%) e de fertilidade media (27.3-31.8 ppm de P e 108-205 ppm de K).

Dentro da área utilizada habitualmente para ensilado de herba na finca do CIAM, utilizáronse catro parcelas de 3.5 ha cada unha (15 ha en total), que foron asignadas aleatoriamente a cada unha das especies pratenses avaliadas. As parcelas procedían de pradeiras que necesitaban ser renovadas, sendo levantadas a finais do verán de 2009 (2 parcelas) e do verán de 2010 (as outras 2 parcelas). Tras un encalado con calcarias moídas en cantidade equivalente a 1.5 t/ha de óxido de calcio, a fertilización de fondo achegada realizouse seguindo as recomendacións de Piñeiro *et al.* (2009) para cultivos forraxeiros neste tipo de solos, sendo aplicados 100 kg/ha de óxido fosfórico (P₂O₅) e 225 kg/ha de óxido de potasio (K₂O) en tódalas parcelas, xunto con 50 kg/ha de N unicamente na parcela de raigrás inglés. A fertilización de mantemento anual foi de 80 kg/ha de P₂O₅ e 200 kg/ha de K₂O en tódalas parcelas e de 120 kg/ha de N (fraccionados en dúas achegas á saída do inverno e tras o primeiro corte) só na parcela de raigrás inglés.

A preparación do terreo e a fertilización de fondo seguiron as prácticas agronómicas habituais no CIAM. As sementeiras foron de especies monofitas (única especie pratense) por parcela. A data de sementeira foi a finais de setembro de 2009 para as parcelas de raigrás inglés e de trevo violeta e a finais de setembro de 2010 para as de trevo branco e alfalfa. Foi utilizada unha sementadora pneumática combinada con grade rotativa vertical e rolos acanalados traseiros para compactar a semente (Alpego, Alpibérica Agrícola, S.L., Zamora). As variedades utilizadas e as doses de sementeira foron: cv. Horatio, 36 kg/ha para o raigrás inglés, cv. Lemon, 30 kg/ha para o trevo violeta, Haifa, 10 kg/ha para o trevo branco e Victoria, 30 kg/ha para alfalfa. Para o control das malas herbas, que afectaron sobre todo aos cultivos de leguminosas, utilizáronse os herbicidas Basagran (Bentazona 48%) e Pulsar 40 (Imazamox 4%) contra especies de folla ancha e Fusilade Max (Fluazifop-P-Butil 12,5%) contra especies de folla estreita.

4.2.3. O Ensilado

As parcelas de ensaio seguiron nos anos 2010 e 2011 o aproveitamento habitual no CIAM para as superficies de herba destinadas a conservación, ao que se engadiu un aproveitamento adicional para cuantificar a produción de herba no outono. A fin de eliminar o efecto do ciclo de aproveitamento da herba, tódalas ensilaxes utilizadas nos ensaios procederon do primeiro corte das parcelas, realizado a finais de abril- primeiros de maio, agás para o tratamento de alfalfa no ano 2011, no que o ensilado experimental se realizou nun segundo corte a mediados de xuño, tras o primeiro corte de limpeza. A sega, realizada con tempo soleado e sen previsión de chuvia, realizouse utilizando unha segadora rotativa dotada con acondicionador de dentes (John Deere 730 JD Ibérica, Madrid-España) para a gramínea e de rolos acanalados de caucho (Khun FC-243-R-GII, Khun Ibérica, Huesca) para as leguminosas, operando cos deflectores abertos para estender a forraxe no campo o máximo posíbel. A herba foi presecada no campo por un período variábel entre 24 e 48 h, dependendo da especie e das condicións climáticas, co obxectivo de conseguir un contido en materia seca das forraxes entre o 30 e o 35% de materia seca (MS). Só se realizou unha operación de encarreirado da herba, previa á colleita, sen volteos intermedios da forraxe. A recollida da herba realizouse con máquina rotoempacadora de cámara variábel para balas cilíndricas (Vicon Opticut RV-1601, Kverneland Group Ibérica-Barcelona), dotada dun mecanismo de picado, que foi seguida por unha encintadora (Morra Macchine Agricole s.n.c. Cherasco (CN) Italy)

que revestía as rotopacas de forraxe con 5 capas de plástico extensible para asegurar a súa estanqueidade fronte ao aire. Dadas as boas condicións climáticas en que se desenvolveu o secado no campo, non se utilizaron aditivos no ensilado en ningún dos tratamentos.

Aínda que os datos non se utilizaron nos ensaios de alimentación, fíxose un control da produción das parcelas das distintas especies nos sucesivos cortes de herba para ensilar. O segundo aproveitamento fíxose arredor de mediados-finais de xuño, sendo seguido dun terceiro aproveitamento a mediados de verán (xullo-agosto) e, finalmente, fíxose outro corte a finais de outubro-comezos de novembro para completar o ciclo anual e ter a estimación da produción anual de cada especie, en cada parcela, sendo utilizada a máquina rotoempacadora en tódolos casos. Toda a produción extraída das parcelas era pesada en báscula-ponte nas instalacións do CIAM, o que permitiu coñecer o rendemento neto de MS extraído das parcelas.

4.2.4. Animais, manexo e dietas

En cada ensaio foron utilizadas 24 vacas leiteiras, pluríparas, do rabaño experimental do CIAM, de raza Holstein. No ensaio do ano 2010 as vacas procedían dun grupo de partos de final de inverno (febreiro-marzo), chegando ao comezo do ensaio con 201 ± 28.9 días en leite (DEL), 602 ± 40.7 kg de peso vivo (PV) e unha produción media de 18.5 ± 2.6 kg/vaca e día. No ano seguinte, as vacas procedían do grupo de partos de verán (xuño-xullo) e chegaron ao inicio do ensaio nun estado de lactación temperá, con valores medios de 77.8 ± 15.2 DEL, 627 ± 52.2 kg PV e 34.2 ± 2.9 kg/vaca e día de leite. Os animais foron agrupados en catro lotes aproximadamente homoxéneos en canto aos valores medios de data de parto, produción de leite e peso vivo, sendo posteriormente asignado ao azar cada lote a un dos catro tratamentos.

O control da alimentación realizouse mediante o sistema de portas Calan Broadbent (American Calan, Northwood, NH, USA,) de medida de alimentación individual, pesando diariamente o alimento ofrecido e o rexeitado por cada vaca do estábulo. As vacas foron muxidas dúas veces ao día, ás 8:00 h e ás 19:00 h, sendo rexistrada diariamente a produción mediante o sistema de control Delaval AIPro System (Agrolaval S.L, Xixón-Asturias).

A dieta consistiu nunha ración *unifeed* ofrecida *ad libitum* na que o 50% da materia seca eran as ensilaxes de pradeira respectivas, o 25% unha ensilaxe de millo (33-37% MS) e

o 25% restante un concentrado do 25% de proteína bruta (PB), cuxa composición se reflicte na Táboa 4.2. Como se indicou anteriormente, o concentrado utilizado no experimento do ano 2010 estaba suplementado ao 5% MS con aceites vexetais, procedentes de aceite de soia (C) ou con torta de liño extrusionada (L) co 28% de aceite (Valomega 160 de Valorex, Combourtillé-Bretaña-Francia). No experimento do ano 2011 este concentrado foi parcialmente reempazado por torta de soia (44% PB) no tratamento de raigrás inglés, tratando de compensar o menor contido en PB da gramínea comparado co das leguminosas a fin de que a ración *unifeed* fose aproximadamente do 16% PB en tódolos tratamentos.

Táboa 4.2. Composición do concentrado (ano 2010 e 2011)

	Ano 2010		Ano 2011
	C	L	
Ingrediente (% MS)			
Fariña de millo	43.8	42.6	15.1
Fariña de cebada	-	-	18.9
Torta de soia 44	45.1	38.8	19.8
Torta de colza	-	-	20.2
DDGS de millo	-	-	19.0
Glicerol	-	-	3.0
Cascarilla de soia	3.0	-	-
Semente de liño extrusionada (35% aceite)	-	15.3	-
Aceite de soia	5.0	-	-
Carbonato cálcico	1.5	1.7	1.8
Fosfato bicálcico	0.5	0.5	0.6
Sal común	-	-	0.2
Corrector	1.2	1.2	1.2
Composición nutricional (%MS)			
MO	94.3	94.1	93.0
PB	23.5	23.7	24.1
FAD	5.7	5.9	7.8
FB	4.6	4.7	6.5
EE	7.6	6.5	4.0
Valor enerxético			
ENLm (Mcal/kg MS)	2.03	2.03	1.99
Vitaminas			
Vitamina A (UI/kg MS)	24000	24000	30000
Vitamina D3 (UI/kg MS)	3500	3500	4500
Vitamina E (alfa-tocoferol, mg/kg)	18	18	60
Ácidos graxos (% MS)			
Linoleico	3.9	2.0	1.5
Alfa-linolénico	0.5	3.0	0.1
% linoleico s/EE	52.0%	30.4%	36.6%
% alfa-linolénico s/EE	6.4%	45.9%	2.5%

C: control, con aceite de soia; L: con aceite de liño; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FB: fibra bruta; EE: extracto etéreo; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

A pesaxe e a mestura dos ingredientes foi feita nun carro autopropulsado de dobre eixo horizontal de 4 m³ de capacidade (Seko-Sam4, de SEKO Industries SRL, Curtarolo (PD) – Italia) especialmente adaptado para a nave experimental de alimentación de vacún de leite do CIAM.

4.2.5. Toma de mostras de herba nas parcelas experimentais

a) Herba segada: A fin de avaliar a evolución da concentración de AG nas mostras de forraxe durante o secado no campo, durante as labores de ensilado do primeiro corte do ano 2011 tomáronse mostras da herba das parcelas de raigrás inglés, trevo violeta, trevo branco e alfalfa inmediatamente despois de ser cortada pola segadora, en 14 puntos de cada parcela (aproximadamente 1000 g de materia fresca/alícuota). Unha vez sinalizado o lugar, a mostraxe repetiuse ás 24 h e ás 48 h de permanencia da herba no campo para o secado. Tódalas mostras trasladáronse, refrixeradas, de forma inmediata ao laboratorio onde foron procesadas segundo se indica máis adiante.

b) Rotopacas utilizadas nos ensaios de alimentación: Inmediatamente antes de que as rotopacas fosen envoltas en plástico pola encintadora tomáronse mostras das rotopacas (12 rotopacas/parcela en 2010 y 6 rotopacas/parcela en 2011), sendo practicado un orificio en sentido perpendicular ao eixo lonxitudinal do cilindro de forraxe empacada, utilizando para elo unha sonda mecanizada (Valladares *et al.*, 2005). Como no caso anterior, as mostras refrixeradas foron inmediatamente trasladadas ao laboratorio para o seu procesado previo ás análises.

c) Mostras de rotopacas nos cortes de fóra de ensaio: Tomáronse con sonda mecanizada (6 rotopacas/ parcela e corte) sendo determinado unicamente o contido en MS para a estimación da produción.

4.2.6. Toma de mostras de alimentos durante os ensaios de alimentación

Durante a confección das mesturas no carro *unifeed* tomáronse mostras dos alimentos (ensilaxes de especies pratenses, ensilaxe de millo e concentrado) durante tres días na terceira semana de cada período experimental, tomada como semana de control. As mostras das ensilaxes trasladáronse inmediatamente refrixeradas ao laboratorio onde se secaron en estufa a 80° C durante 16 h, no mesmo día da mostraxe, e almacenáronse a 4°C até seren analizadas. Dúas veces cada semana de ensaio tomáronse mostras da mestura *unifeed* ofrecida a cada vaca, que foron acumuladas por tratamento e sobre as que se determinou o contido en MS para o cálculo da inxestión voluntaria dos animais.

Durante o experimento de 2011, en cada semana de control tomáronse uns 150 kg de cada ensilaxe de herba (600 kg en total), repartidos en sacos de plástico (aprox. 15 kg de materia fresca/saco) que se gardaron conxelados a -18 °C para ser obxecto dunha avaliación de dixestibilidade *in vivo* con ovinos que se realizou unha vez finalizado o experimento de alimentación das vacas de leite.

4.2.7. Toma de mostras de leite

A produción de leite de cada vaca foi rexistrada diariamente ao longo de tódolos ensaios. Na última semana de cada período (semana de control) tomáronse tres mostras do leite de cada vaca durante tres días en seis muxaduras consecutivas de mañá e tarde. Unha de cada tres mostras individuais enviouse ao Laboratorio Interprofesional Galego de Análise de Leite (LIGAL) para análise fisicoquímica do leite. O segundo grupo de mostras de leite conxeláronse inmediatamente a -18 °C e enviáronse ao laboratorio de control de calidade da empresa LEYMA, S.A. onde foron analizadas para determinar o perfil de ácidos graxos. O terceiro grupo mantívose conxelado a -18 °C no CIAM como mostras de reserva.

4.2.8. Pesaxe e medida da condición corporal das vacas

As vacas pesáronse tras da muxadura da mañá, en dous días consecutivos, ao inicio do período pre-experimental e ao comezo e ao final de cada período de ensaio. A condición corporal mediuse usando unha escala de 5 puntos (1: extremadamente magra, 5: obesa) con incrementos de ¼ de punto, funcionando como unha escala de 17 puntos. A medida foi feita sempre polo mesmo persoal adestrado mediante palpación da columna vertebral (parte dianteira do espiñazo, lombo na parte central e parte traseira) para avaliar o grao de recubrimento graxo, así como do cóccix, sacro e base da cola, segundo o descrito por Edmonson *et al.* (1989).

4.2.9. Métodos de análises de mostras

Forraxes e concentrados.- A preparación das mostras de forraxes e concentrados para as posteriores determinacións por vía húmida realizouse mediante secado en estufa de aire forzado Unitherm, a 80 °C, durante 16 horas, determinando o contido en materia seca por gravimetría e posterior moído a 1 mm en muíño de martelos Christy&Norris. A determinación da composición nutricional das mostras de forraxes realizouse preferentemente mediante o método NIRS (espectroscopio na rexión do infravermello próximo). A información espectral das mostras secas e moídas a 1 mm, obtívose nun

espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA), situado nunha sala con temperatura controlada (24 ± 1 °C) e provisto de módulo de xiro que realiza medidas de reflectancia na rexión espectral comprendida entre 400 e 2500 nm, a intervalos de 2 nm. A recollida de espectros e a análise quimiométrico dos datos levouse a cabo mediante o programa Win ISI II v.1.5 (Infrasoft International, Port Matilda, PA, USA). A pegada óptica NIRS das mostras de forraxes foi interpretada utilizando as ecuacións de calibración desenvolvidas no CIAM (Pereira-Crespo *et al.*, 2012; Pereira-Crespo *et al.*, 2014; Pereira-Crespo *et al.*, 2015; Pereira-Crespo e Flores-Calvete, 2015). As calibracións para forraxes frescas permiten a estimación dos contidos en materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra ácido deterxente (FAD), fibra neutro deterxente (FND), carbohidratos solúbeis en auga (CSA), carbohidratos non estruturais totais (CNET) e dixestibilidade da materia orgánica (DMO). Para as ensilaxes, as calibracións dispoñíbeis permiten obter a concentración de MO, PB, FAD, FND, DMO, amidón (AMD, no caso do millo), pH, ácidos láctico e acético, N amoniacal (N-NH₃) e N solúbel (Nsol). En caso de mostras aberrantes ou “outliers” non recoñecidas polas calibracións NIRS dispoñíbeis no momento, eran analizadas no laboratorio do CIAM por métodos de referencia, tal e como se indica no apartado de análises de mostras procedentes do ensaio de dixestibilidade *in vivo* das ensilaxes. A análise da composición química dos concentrados realizouse no LIGAL mediante NIRS seguindo procedementos internos (LIGAL, 2019a).

4.2.10. Determinación da dixestibilidade *in vivo*

As determinacións de dixestibilidade *in vivo* realizáronse utilizando cinco ovinos machos castrados de máis de dous anos de idade, de raza galega, aloxados en gaiolas metabólicas dotadas con separadores de feces e ouriños. O deseño das devanditas gaiolas, foi realizado no CIAM polo investigador J. Castro-González, e responde aos criterios de minimizar o estrés dos animais durante a realización das avaliacións e facilitar o traballo dos operadores durante a alimentación e toma de mostras. Os animais dispuxeron dun corrector vitamínico-mineral a libre disposición e recibiron a forraxe a avaliar como único alimento. O nivel de alimentación foi *ad libitum*, permitíndose un 10% de rexeitados. O alimento foi ofrecido diariamente nunha única comida, a primeira hora da mañá. Cada avaliación constaba dun período pre-experimental de 7 días onde os animais, aloxados en grupo, adaptáronse ás forraxes avaliadas, tras o cal os animais

ingresaban na sala metabólica e seguían, durante un período de 7 días, a fase de adaptación ás gaiolas metabólicas onde se axustaba diariamente o consumo de alimento e, finalmente, un período de control de 11 días onde, de forma ininterrompida e para cada animal, realizábase a pesaxe e mostraxe diaria do alimento ofrecido, do rexeitado e das as feces producidas. As mostraxes realizábanse unha vez ao día, tomándose unha alícuota do 10% do alimento ofrecido e rexeitado e o 20% das feces producidas para cada animal. As mostrax tomadas diariamente íanse acumulando, conxeladas a $-27\text{ }^{\circ}\text{C}$, ata o final de cada ensaio.

4.2.11. Análises químicas por vía húmida

As mostrax de alimentos ofrecidos, rexeitados e feces producidas procedentes da avaliación *in vivo*, así como as mostrax non recoñecidas polas calibracións NIRS foron analizadas mediante métodos de referencia, realizándose as seguintes determinacións: En alimentos, MO por ignición en mufla a 550°C , PB por dixestión micro Kjeldahl segundo Castro *et al.* (1990), FND e FAD en dixestor Fibertec System 1020 de Foss Tecator segundo, respectivamente, Van Soest e Robertson (1985) para FND e Goering e Van Soest (1970) para FAD, CSA e carbohidratos non estruturais (CNET), segundo Castro (2000), extracto etéreo (EE) polo método oficial AOAC (2003) para alimentos animais, e DMO mediante dixestibilidade *in vitro* seguindo o procedemento descrito por Tilley e Terry (1963), modificado por Alexander e McGowan (1966).

4.2.12. Dixestibilidade da materia orgánica *in vitro*

A determinación da dixestibilidade *in vitro* da materia orgánica (DoTT) das mostrax de forraxes realizouse mediante o método de Tilley-Terry modificado por Alexander e McGowan (1969), utilizando como animais donantes dúas vacas secas canuladas en rume, alimentadas a nivel de mantemento cunha dieta composta por feno de boa calidade e un concentrado do 18% PB a base de fariña de cebada e soia.

4.2.13. Análise físico-química do leite

A composición fisicoquímica do leite foi realizada no LIGAL por espectroscopía infravermella FTMIR (Milkoscan), segundo o procedemento interno PE/LIGAL/34 do citado laboratorio (LIGAL, 2019b), sendo determinadas as concentracións de materia graxa (MG), materia proteica (MP), lactosa (LACT) extracto seco magro (ESM) do leite, así como a concentración de urea.

4.2.14. Análise de ácidos graxos en mostrax de forraxes

A preparación das mostras de pasto para a análise de AG realizouse mediante secado en estufa a 80° C durante 16 h e posterior moenda a 1 mm. Adoptouse esta metodoloxía por adaptarse mellor ás rutinas de laboratorio do CIAM en función dos resultados expostos por Arvidson *et al.* (2009) e de traballos previos realizados no CIAM (Dagnac, datos non publicados), relativos a comparación de métodos de preparación da mostra de forraxe antes da extracción de AG. Sobre as mostras moídas realizouse simultaneamente a extracción e metilación dos AG mediante adaptación do procedemento proposto por Sukhija e Palmquist (1988). Foron engadidos 1 ml de tolueno e 1 ml de patrón interno C19:0 (1 mg/ml) a 250 mg de mostra de forraxe, seguido da adición de 3 ml de disolución de ácido clorhídico metanólico (preparado a partir de acetil cloruro e metanol). Tras da axitación durante un minuto en axitador Vortex, as mostras incubáronse durante 2 horas nun baño de auga a 70 °C. Posteriormente a solución arrefriouse a temperatura ambiente e engadíronselle 5 ml de disolución de carbonato potásico ao 6%, 2 ml de hexano, 1 g de sulfato sódico anhidro e 2 g de carbón activado. Finalmente, as mostras centrifugáronse durante 5 min (2500 rpm, 20°C) e a fase orgánica (sobrenadante) foi evaporada en corrente de nitróxeno até obter un residuo aceitoso que se dissolveu en 0,8 ml de hexano, sendo conxelado até a súa análise por cromatografía de gases.

Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foron separados, identificados e cuantificados utilizando un equipo TRACE ULTRA (Thermo Scientific, Fisher Scientific Madrid) con detector de ionización de chama (FID), autosampler modelos AI/AS 3000 (Thermo Scientific) e software Chrom Card Gas Chromatography Dáche System (Thermo Scientific). Empregouse unha columna capilar de sílice SPTM_2560 (100 m x 0,25 mm x 0,2 µm) e o gas portador foi o helio cun fluxo de 0,6 ml/min. As temperaturas de inxector e do detector foron 250 e 260 °C, respectivamente. O volume de inxección foi de 1 µL fixando a temperatura inicial da columna a 140°C durante 5 min, incrementada posteriormente a 200°C cun fluxo de 4 °C/min e mantendo esta temperatura durante 5 min. Finalmente a temperatura subiu a 240°C cun fluxo de 3 °C/min durante 5 min e mantívose así durante 38 min. Cada ácido graxo foi cuantificado a través de calibración interna utilizando como patróns internos os ácidos C9:0, C17:1, e C20:2 metilados.

4.2.15. Análise de ácidos graxos en mostras de leite

Foron procesadas seguindo os procedementos do laboratorio de control de calidade da empresa LEYMA, S.A. A extracción e metilación de AG realizouse a partir de 2 mL de

leite á que se lle engadiron 15 mL de metóxido sódico ao 1,5% en metanol nun matraz aforado de 100 mL. Tras colocar no matraz un refrixerante de aire e mantelo en estufa a 75° C durante 10 min, foron adicionados 15 mL de ácido sulfúrico ao 3% en metanol e permaneceu na estufa outros 10 min nas mesmas condicións. Arrefriado o matraz a temperatura ambiente engadíronse 4 mL de hexano e completouse o aforamento do matraz con cloruro sódico ao 5% en auga destilada. A separación de fases foi completa aos 5 minutos, trascorridos os cales se extraeu 1 mL do sobrenadante e transferiuse a un vial de 2 mL para a súa inxección nun cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6850 Network GC System, Agilent Technologies Spain, Las Rozas-Madrid) con FID dotado dunha columna capilar Supelco SP2560 de 100 m x 0,25 mm x 0,2 µm, usando helio como gas portador. Os estándares internos utilizados foron Supelco 37 Component FAME Mix e Cienytech Fish Oil FAME Mixture. As temperaturas do inxector e o detector foron de 260 °C e o volume de inxección foi de 3 µL fixando a temperatura inicial do forno en 140 °C durante 5 min e aumentando posteriormente a un fluxo de 4 °C/min até alcanzar os 240 °C.

4.2.16. Cálculos realizados

a) Enerxía neta leite das forraxes.- Os cálculos dos valores de enerxía neta leite a nivel mantemento (ENL_m) das forraxes realizáronse a partir do valor DOMD, que expresa a concentración de materia orgánica dixestíbel (MOD) por unidade de materia seca do alimento. O cálculo de DOMD realizouse a partir dos valores analíticos da dixestibilidade da materia orgánica (DMO) e do contido en materia orgánica (MO) da MS, utilizando a expresión seguinte: $DOMD = MO \times DMO \times 0.01$, sendo expresado DOMD como g MOD/100 g MS, MO como g/100 g MS e DMO como g/100 g. Foi considerado, seguindo ao (AFRC, 1993), que 1 kg de MOD achega 3.84 Mcal de enerxía metabolizábel (EM) no caso de ensilaxes de herba, sendo este valor de 3.76 Mcal EM/ kg de MOD para forraxes verdes e ensilaxe de millo.

O valor de ENL_m a partir da EM calculouse mediante a expresión $ENL_m = EM \times k_L$, onde k_L é a eficiencia de utilización da EM para produción de leite, sendo calculada coa fórmula $k_L = 0.463 + 0.24 \times q$ (Vermorel *et al.*, 1987), onde “q” é a metabolicidade da enerxía bruta (EB), é dicir a relación EM/EB (Van Es, 1975). Foi considerado un valor medio de EB de 4.56 Mcal/kg MS para ensilaxes de herba, mentres que para forraxes verdes e para ensilaxe de millo tomouse un valor medio de EB de 4.44 Mcal/kg MS.

Tendo en conta o anterior, o cálculo de ENL_m aproxímase para ensilaxes de herba (i) e para ensilaxes de millo e forraxes verdes (ii) a partir das expresións seguintes:

$$(i) \text{ ENL}_m (\text{Mcal/kg MS}) = 0.0178 \times \text{DOMD} + 0.000078 \times \text{DOMD}^2$$

$$(ii) \text{ ENL}_m (\text{Mcal/kg MS}) = 0.0174 \times \text{DOMD} + 0.000076 \times \text{DOMD}^2$$

b) Enerxía neta dos concentrados. - A concentración en ENL_m dos concentrados estimouse a partir do contido en FAD, utilizando a seguinte ecuación de regresión (adaptada da fórmula 8. i de Clemson Univ. 1996): ENL_m (Mcal/kg MS) = 2.17 – 0.0229 x FAD (% MS).

c) Dixestibilidade *in vivo*. - A partir dos resultados da avaliación *in vivo* calculouse para cada animal utilizado no ensaio o valor da dixestibilidade aparente *in vivo* da materia seca (DMS_{iv}), da materia orgánica (DMO_{iv}), do nitróxeno (DN_{iv}) e da parede celular (DFND_{iv}) das mostras de ensilaxe. Para elo utilizouse a expresión

$$DX = \frac{\sum Xi - \sum Xe}{\sum Xi} \times 100, \text{ onde } DX \text{ é o coeficiente de dixestibilidade aparente (en \%),}$$

do constituínte X (MS, MO, N, FAD, FND), sendo $\sum Xi$ y $\sum Xe$, respectivamente, as cantidades ingeridas e excretadas polo animal de dito constituínte durante os 11 días de control que durou o ensaio. A inxestión voluntaria diaria de MS e MO foi referida ao peso vivo metabólico do animal, expresado como PV^{0.75}, onde PV está expresado en kg.

d) Índices de calidade dos lípidos

As concentracións dos diferentes AG utilizáronse para o cálculo dos seguintes índices de calidade da graxa do leite:

(i) Ratio omega-6/omega-3, calculado como o cociente entre as respectivas sumas dos AG individuais de ambas series.

$$\text{Omega-6/omega-3} = (\text{C18:2n6t} + \text{C18:2n6c} + \text{C18:3n6} + \text{C20:2n6} + \text{C20:3n6} + \text{C20:4n6}) / (\text{C18:3n3} + \text{C20:5n3} + \text{C22:5n3} + \text{C22:6n3})$$

(ii) Ratio hipo/hiper colesterolémico (Santos-Silva *et al.*, 2002).

$$h/H = (\text{C18:1c9} + \text{C18:2n6} + \text{C20:4n6} + \text{C18:3n3} + \text{C20:5n3} + \text{C22:5n3} + \text{C22:6n3}) / (\text{C14:0} + \text{C16:0})$$

(iii) Índice ateroxénico (Ulbrich e Southgate 1991)

$$IA = (\text{C12:0} + \text{C14:0} \times 4 + \text{C16:0}) / (\text{omega-3 AGPI} + \text{omega-6 AGPI} + \text{AGMI})$$

(iv) Índice tromboxénico (Ulbrich e Southgate 1991)

$$IT = (\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}) / (0.5 \times \text{AGMI} + 0.5 \times \text{omega-6 AGPI} + 3 \times \text{omega-3 AGPI} + (\text{omega-3 AGPI} / \text{omega-6 AGPI})).$$

4.2.17. Análise estatística dos resultados

Os datos foron analizados estatisticamente mediante o procedemento GLM de SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012). Para as medidas sobre as mostras de herba antes de ensilar (mostras de herba tomadas das parcelas) a unidade experimental foi cada unha das rotopacas ou puntos de mostraxe. Para as mostras de ensilaxes tomadas no ensaio de alimentación a unidade experimental foi a mostra tomada en cada día da semana de control.

O modelo utilizado para comparar a composición e perfil de AG das mostras de forraxe antes de ensilar e durante a realización do ensaio de alimentación foi $y = \mu + \alpha T + \varepsilon$, onde o tratamento (T) é a especie pratense.

Para a avaliación do efecto do tempo de secado no campo sobre o perfil de ácidos graxos do leite utilizouse o modelo $y = \mu + \alpha T + \beta H + (\alpha\beta) TxH + \varepsilon$ onde T é a especie pratense e H é o tempo de permanencia da herba no campo. A análise de covarianza efectuada para avaliar as diferenzas entre especies en canto á relación entre o tempo de permanencia no campo e a concentración de AG foi realizado mediante o procedemento GLM coa opción SOLUTION na expresión do modelo.

Para as medidas realizadas na avaliación *in vivo* a unidade experimental foi a media dos valores de dixestibilidade e de inxestión voluntaria correspondentes a cada animal durante o período de control, sendo utilizado o modelo $y = \mu + \alpha T + \varepsilon$, onde o tratamento (T) é a especie pratense.

Para as medidas sobre o animal no ensaio de alimentación (inxestión, produción e composición do leite), a unidade experimental foi o animal en cada día de mostraxe de cada período, e o modelo utilizado foi $y = \mu + \alpha T + \beta P + (\alpha\beta) TxP + \varepsilon$, onde o tratamento, o período e a súa interacción consideráronse factores fixos. Dado o deseño do ensaio, onde tódolos animais pasaron por tódolos tratamentos, non se utilizaron covariábeis. Un valor de P de 0.05 considerouse significativo e un valor de $P < 0.10$ considerouse unha tendencia. A separación de medias foi realizada mediante o procedemento LSMEANS, aplicando o valor da diferenza mínima significativa (*d.m.s.*) entre dúas medias calculado como $d.m.s. = t_{0.025,g.l.e} \times \sqrt{\frac{2MSE}{n}}$ onde *g.l.e* son os graos de liberdade do denominador do test F, *MSE* é o cadrado medio do erro e *n* é o número de observacións por tratamento.

4.3. RESULTADOS

4.3.1. Condicións climáticas durante os ensaios

Dentro das series de valores de precipitación acumulada e temperatura media mensuais que se mostran na Táboa 4.3 para os anos 2010 a 2011, correspondentes á estación meteorolóxica sita na finca experimental do CIAM en Mabegondo, pode ser observado que o primeiro ano de ensaios con ensilaxes foi globalmente moito máis chuvioso (+65%) que o segundo ano, sendo a temperatura media moi semellante e próxima á media da zona. Os valores medios de precipitación e de temperatura media anuais para 2010 e 2011 foron, respectivamente, 1340 e 811 mm e 13.0 e 13.7 °C. As temperaturas durante a primavera foron algo superiores á media, o que unido á dispoñibilidade de humidade nesta época permitiu un crecemento normal dos cultivos nos dous primeiros cortes. O efecto da seca estival, sen embargo, fíxose patente ambos anos de forma parecida, de forma particular durante o mes de agosto até a metade de setembro. O crecemento do pasto estivo limitado na parte central do verán pola escasa humidade, no que unicamente a alfalfa e o trevo violeta tiveron crecementos apreciábeis nos dous anos de ensaio (ver Táboa 4.4). Co comezo das chuvias de finais de setembro houbo un moderado rebrote do pasto que permitiu realizar un último aproveitamento en novembro.

Táboa 4.3. Precipitación acumulada e temperaturas medias mensuais durante os anos de ensaio na estación da finca experimental de Mabegondo

	Precipitación acumulada, mm			Temperatura media °C		
	2010	2011	Media 30 a. [§]	2010	2011	Media 30 a. [§]
Xaneiro	184	97	123	7.9	9.2	8.6
Febreiro	118	90	107	7.7	9.2	8.6
Marzo	82	69	95	9.6	10.2	10.2
Abril	44	104	96	12.7	14.6	11.4
Maio	85	18	79	14.1	15.2	13.7
Xuño	117	13	45	16.8	16.3	16.4
Xullo	38	17	29	18.9	17.7	18.3
Agosto	12	36	33	19.3	18.0	18.6
Setembro	39	13	57	16.8	18.3	17.3
Outubro	251	130	129	13.6	14.8	14.3
Novembro	247	134	138	10.1	11.6	11.1
Decembro	123	91	133	8.1	9.4	9.4
Anual	1340	811	1063	13.0	13.7	13.2

[§] Media dos últimos 30 anos en Mabegondo

Na Táboa 4.4 indícanse os valores medios da produción de MS extraídos das parcelas de ensaio durante os aproveitamentos para ensilaxe que se realizaron os dous anos de estudo e dos que unicamente se utilizaron no ensaio de alimentación con vacas de leite os primeiros cortes, agás no caso da alfalfa, no que se utilizou a forraxe ensilada do segundo corte, toda vez que o primeiro aproveitamento realizado nesta especie tiña unha alta porcentaxe de especies adventicias. No primeiro e segundo ano, a produción total de MS do trevo violeta foi numericamente superior á do raigrás (TV: 8.7 e 9.6 t MS/ha, RG: 8.4 e 7.9 t MS/ha, 2010 e 2011 respectivamente), mentres que en 2011 o cultivo de alfalfa mostrou o rendemento total de MS máis alto e, no extremo oposto, o trevo branco o máis baixo das especies avaliadas (AL: 10.6 t MS/ha, TB: 6.2 t MS/ha). Como se comentou, o escaso crecemento da gramínea e do trevo branco durante o período seco motivou que non se puidera realizar con estas especies o aproveitamento de mediados de verán.

Táboa 4.4. Produción neta de materia seca (t MS/ha) nas parcelas ensiladas

Nº corte	Época	2010		2011			
		RG	TV	RG	TV	TB	AL
1º	Mediados primavera (fin abril-maio)	3.82	3.22	4.6	3.46	3.15	2.25
2º	Comezos verán (xuño)	2.25	2.45	1.32	2.65	1.89	3.06
3º	Mediados verán (xullo-agosto)	-	2.60	-	0.88	-	2.78
4º	Mediados outono (fin outubro)	2.36	1.36	2.05	1.8	1.25	2.56
Total		8.43	9.63	7.97	8.79	6.29	10.65

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa

4.3.2. Composición da forraxe no momento de confeccionar as rotopacas

4.3.2.1. Composición química, dixestibilidade e valor enerxético

A composición da forraxe inmediatamente antes de ser cuberta polo plástico, unha vez confeccionadas as rotopacas, móstrase nas Táboas 4.5 e 4.6. En 2010, as condicións climáticas durante o presecado foron moi favorábeis para a perda de humidade da herba segada e tras pouco máis de 24 horas de permanencia no campo o contido de MS da forraxe foi elevado, (RG: 49.7 %MS e TV: 41.7 %MS). Os resultados da composición química mostran diferenzas significativas ($p < 0.05$) entre o raigrás e o trevo violeta para tódolos parámetros avaliados. A gramínea presenta un inferior contido en cinzas, paredes celulares e carbohidratos solúbeis e non estruturais, comparado co trevo,

mentres que esta especie presenta maior contido en proteína e lignocelulosa. Os valores medios para ambas especies (RG e TV respectivamente, en %MS) foron: MO 91.7 e 89.5, PB 9.2 e 18.4, FAD 27.0 e 30.4, FND 49.3 e 42.8, CSA 26.0 e 9.1, CNET 26.5 e 9.5. Saliéntase o baixo valor de PB do raigrás, representando o 50% do das leguminosas, mentres que o contido en azucres e carbohidratos non estruturais totais da gramínea practicamente triplicou ao do trevo. En correspondencia, os valores de dixestibilidade e de enerxía neta do raigrás foron significativamente superiores aos do trevo (DMO: 75.0 e 69.2 %, ENLm: 1.60 e 1.40 Mcal/kg MS, RG e TV, respectivamente).

Táboa 4.5. Materia seca e composición nutricional da herba no momento de ser ensilada (Ano 2010)

	RG	TV	s.e.m.	P
n	11	12		
Materia seca				
MS%	49.7	41.7	1.516	***
Composición química (%MS)				
MO	91.7	89.5	0.174	**
PB	9.2	18.4	0.781	***
FAD	27.0	30.4	1.147	*
FND	49.3	42.8	2.621	*
CSA	26.0	9.1	1.412	***
CNET	26.5	9.5	1.492	***
Dixestibilidade e valor enerxético				
DMO (%)	75.0	69.2	1.488	**
DOMD (%)	68.8	61.9	0.863	***
ENLm (Mcal/kg MS)	1.60	1.40	0.001	***
UFL/kg MS	0.94	0.82	0.000	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

No seguinte ano, as diferenzas observadas entre a composición da forraxe presecada da especie gramínea e as leguminosas no momento do ensilado foi, en liñas xerais, no mesmo sentido que o comentado para 2010. O contido en PB foi significativamente superior para os trevos e a alfalfa comparado co raigrás, mentres que as concentracións de cinzas, FND, CSA e CNET foron mais elevadas ($p < 0.05$) no raigrás. A dixestibilidade do trevo branco foi a máis alta das leguminosas ($p < 0.05$), non sendo diferente da do raigrás (valores de DMO de 72.1, 67.6, 71.1 e 67.8 % para RG, TV, TB e AL), mentres que o contido en enerxía neta da gramínea (1.5 Mcal ENL/kg MS) foi

significativamente superior á do trevo branco (1.41 Mcal/kg MS/ha) debido ao maior contido en cinzas desta especie. Os valores de ENLm das especies trevo violeta e alfalfa (TV: 1.35 e 1.33 Mcal/kg MS, TV e AL, respectivamente) foron inferiores á do trevo branco, sendo o contido en FND desta especie (41.7 %MS) numericamente máis baixo que os do trevo violeta (45.5 %MS) e alfalfa (45.8 %MS) confirmando o elevado valor nutricional desta especie. A pesar das diferenzas no contido de MS medio das mostras de TB e sobre todo AL, comparadas con TV e RG no ano 2011, o tempo de permanencia da herba no campo foi semellante (aprox. 24 h), acadando maiores contidos de MS as especies rotoempacadas pola tarde (TB e AL) en comparación coas ensiladas ao mediodía (RG e TV).

Táboa 4.6. Materia seca e composición nutricional da herba no momento de ser ensilada (Ano 2011)

Ano 2011	RG	TV	TB	AL	s.e.m.	P	d.m.s.
n	5	6	6	6			
Materia seca							
MS%	30.41	31.69	44.30	52.60	0.152	***	3.55
Composición química							
MO	91.01	88.54	87.68	88.55	0.344	***	1.017
PB	11.22	16.78	15.99	17.70	1.330	***	3.938
FAD	33.42	31.66	32.46	34.36	0.951	+	2.814
FND	56.87	45.55	41.77	45.87	3.908	***	11.566
CSA	13.98	11.11	11.70	5.55	1.530	**	4.530
CNET	13.98	10.47	10.79	5.64	1.530	**	4.530
Dixestibilidade e valor enerxético							
DMO (%)	72.14	67.69	71.19	67.18	1.718	*	5.086
DOMD (%)	65.65	59.94	62.41	59.46	0.997	*	2.950
ENLm (Mcal/kg MS)	1.50	1.35	1.41	1.33	0.001	*	0.002
UFL/kg MS	0.88	0.79	0.83	0.78	0.0003	*	0.001

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS);

4.3.2.2. Composición de ácidos graxos

O perfil graxo das mostras de herba presecada no momento de ensilar móstrase nas Táboas 4.7 e 4.8, correspondentes aos anos 2010 e 2011, respectivamente. En ambos anos, a concentración de AG totais foi superior ($p<0.05$) para as especies leguminosas comparadas co raigrás, con valores medios de 8.8 e 11.0 g/kg MS para RG e TV en 2010 e de 6.92, 8.30, 7.6 e 7.8 para RG, TV, TB e AL en 2011, sen diferenzas

significativas entre as leguminosas neste ano. Os AG de maior concentración, expresados en porcentaxe sobre os AG totais (AGt) foron, en tódalas especies o alfa-linolénico (ALA, C18:3n3) seguido do palmítico (C16:0), linoleico (LA, C18:2n6c), oleico (C18:1n9c) e esteárico (C18:0). Considerando o conxunto dos valores medios das diferentes especies nos dous anos de estudo, o rango de valores da proporción de AG saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI) foi de 21.2-29.3%, 2.2-6.7 % e 66.4-77.0 % para AGS, AGMI e AGPI, respectivamente, mostrando ben ás claras o perfil marcadamente poliinsaturado da graxa das forraxes pratenses. O perfil de AG estivo dominado maioritariamente polo C18:3n3 (44-56% AGt), seguido polos AG C16:0 (15.7-24.8 %AGt), C18:2n6c (12.6-22.5 % AGt), C18:1n9c (1.8-5.9 %AGt) e C18:0 (0.7-2.9 %AGt), tomando tamén como referencia o conxunto de valores medios das especies. Un rasgo característico do perfil de AG do raigrás é que mostra en ambos anos unha proporción maior de alfa-linolénico e menor de linoleico comparado coas especies leguminosas. Os valores medios observados para C18:3n3 (en %AGt) foron, en 2010, de 55.0 (RG) e 47.0 (TV) e en 2011 de 56.2 (RG), 54.5 (TV), 44.0 (TB) e 51.3 (AL). Para C18:2n6c os valores medios observados en 2010 foron 12.6 (RG) e 18.3 (TV) e en 2011 foron 13.8 (RG), 21.6 (TV), 22.5 (TB) e 21.0 (AL), expresados tamén como % AGt. Sen embargo, mentres que os valores medios de C18:2n6c do RG foron sempre significativamente inferiores aos das especies leguminosas, os valores de C18:3n3 para RG, TV e AL non foron significativamente diferentes en 2011.

Táboa 4.7. Perfil de AG da herba no momento de ser ensilada (Ano 2010)

	RG	TV	<i>s.e.m.</i>	P
n	11	12		
Composición de AG (% AG total)				
C12:0	0.27	1.07	0.033	***
C14:0	0.17	0.98	0.014	NS
C15:0	0.22	0.40	0.001	**
C16:0	24.86	18.88	0.664	***
C16:1	0.10	0.31	0.002	**
C17:0	0.17	0.31	0.001	*
C18:0	0.87	2.99	0.033	***
C18:1n9c	1.86	4.71	0.908	*
C18:2n6c	12.62	18.39	0.315	***
C20:0	0.65	1.11	0.005	***
C18:3n6	0.17	0.37	0.001	***
C20:1	0.21	0.31	0.000	***
C18:3n3	55.02	47.00	4.110	*
C21	0.10	0.22	0.002	+
C22:0	1.45	1.07	0.011	*
C22:1n9	0.10	0.09	0.000	NS
C20:3n3	0.40	0.24	0.000	***
C20:4n6	0.21	0.47	0.001	***
C24:0	0.54	1.09	0.010	**
AGS	29.31	28.12	1.245	NS
AGMI	2.27	5.41	1.001	*
AGPI	68.41	66.46	3.138	NS
Concentración de AG (g/kg MS)				
AG total	8.88	11.02	0.209	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; AGS: AGS saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

Táboa 4.8. Perfil de AG da herba no momento de ser ensilada (Ano 2011)

	RG	TV	TB	AL	<i>s.e.m.</i>	<i>P</i>	d.m.s.
n	5	6	6	6			
Composición de AG (%)							
C12:0	0.57	0.96	0.73	1.02	0.009	***	0.027
C14:0	0.78	0.80	0.76	1.01	0.009	NS	0.027
C15:0	0.31	0.41	0.31	0.40	0.001	**	0.003
C16:0	15.73	16.37	20.49	17.66	0.000	***	0.001
C16:1	0.31	0.31	0.46	0.38	0.004	**	0.011
C17:0	0.09	0.38	0.29	0.33	0.001	***	0.004
C18:0	0.79	2.69	2.26	2.48	0.082	***	0.242
C18:1n9c	4.15	4.91	5.93	4.06	0.364	**	1.078
C18:2n6c	13.87	21.66	22.55	21.09	10.951	***	32.415
C20:0	0.29	1.10	0.58	0.49	0.024	***	0.071
C18:3n6	0.00	0.22	0.04	0.11	0.002	NS	0.004
C20:1	0.32	0.32	0.24	0.32	0.002	NS	0.004
C18:3n3	56.20	54.53	44.04	51.30	12.286	**	36.365
C21	-	-	-	-	-	-	-
C22:0	1.70	1.21	1.10	0.90	0.009	***	0.026
C22:1n9	0.23	0.06	0.11	0.13	0.000	***	0.001
C20:3n3	0.07	0.20	0.21	0.26	0.002	**	0.006
C20:4n6	0.06	0.46	0.35	0.46	0.003	***	0.010
C24:0	0.95	1.19	1.02	1.15	0.015	NS	0.044
AGS	21.21	25.10	27.54	25.45	2.131	**	6.308
AGMI	5.00	5.59	6.74	4.88	0.371	*	1.099
AGPI	70.19	77.00	67.18	73.2	8.007	**	23.700
Concentración de AG (g/kg MS)							
AG total	6.92	8.30	7.63	7.83	0.222	***	0.653

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS; P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

4.3.3. Cambios na composición de AG da forraxe co tempo de secado no campo

Durante as operacións de ensilado do primeiro corte do ano 2011 tomáronse mostras de forraxe de cada unha das especies pratenses inmediatamente despois de ser segado e transcorridas 24 e 48 h de secado no campo para obter información acerca da variación da concentración de AG da herba durante o presecado. Na Táboa 4.9 móstranse os resultados do perfil de AG para a forraxe antes de iniciarse o presecado, onde se reproducen, en liñas xerais, as diferenzas na composición entre o raigrás e as tres leguminosas que se indicaron no apartado anterior, relativas a unha proporción significativamente superior de C18:3n3 para o raigrás comparado coas leguminosas (65.8% AGt para RG vs. 51.9, 51.5 e 53.3 %AGt para TV, TB e AL) e, inversamente, valores significativamente máis elevados de C18:2n6c para as leguminosas (18.9, 20.1 e 19.4 %AGt para TV, TB e AL) comparados co raigrás (11.7 %AGt). A importancia

relativa da proporción dos AG C16:0 e C18:2n6c no total de AG mantense na forraxe fresca, non presecada, para o raigrás inglés (C16:0 >C18:2n6c), respecto do referido no apartado anterior, pero no caso das leguminosas invértese esta relación (C18:2n6c >C16:0).

Táboa 4.9. Composición de AG de raigrás inglés, trevos violeta e branco e alfalfa en estado fresco, inmediatamente antes da sega

	RG	TV	TB	AL	s.e.m.	d.m.s.	P
n	12	14	13	14			
Composición (% AG total)							
C12:0	0.03	0.85	0.74	0.78	0.053	0.15	***
C14:0	0.07	0.58	0.28	0.30	0.132	0.37	NS
C15:0	0.14	0.32	0.19	0.21	0.025	0.07	***
C16:0	17.96	15.76	17.05	16.43	0.331	0.93	**
C16:1	0.08	0.21	0.23	0.19	0.025	0.07	+
C17:0	0.11	0.33	0.24	0.25	0.031	0.09	**
C18:0	0.30	2.75	2.67	2.54	0.197	0.55	***
C18:1n9c	1.51	4.01	3.82	2.98	0.649	1.81	NS
C18:2n6c	11.70	18.90	20.14	19.46	0.393	1.10	***
C20:0	0.34	0.99	0.53	0.67	0.069	0.19	***
C18:3n6	0.17	0.33	0.25	0.30	0.014	0.04	***
C20:1	0.15	0.22	0.17	0.20	0.009	0.03	***
C18:3n3	65.84	51.90	51.54	53.36	1.430	4.00	***
C21	0.09	0.15	0.12	0.13	0.010	0.03	*
C22:0	0.85	0.93	0.56	0.66	0.061	0.17	***
C22:1n9	0.09	0.05	0.07	0.07	0.015	0.04	NS
C20:3n3	0.29	0.24	0.24	0.25	0.003	0.01	NS
C20:4n6	0.10	0.44	0.38	0.39	0.027	0.08	**
C24:0	0.17	1.02	0.79	0.83	0.064	0.18	***
Concentración de AG (g/kg MS)							
AG total	8.49	11.90	12.70	11.05	0.596	1.66	**

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

Na Táboa 4.10 indícanse os valores da concentración (g/kg de MS) de cada un dos AG das forraxes e da concentración total AGt, medias para cada especie e tempo de mostraxe. Como se pode observar, ademais das significativas diferenzas entre especies na concentración media de AG na MS, que reproducen en liñas xerais o anteriormente apuntado para a proporción dos distintos AG e as diferenzas entre a gramínea e as leguminosas.

Do maior interese é salientar o efecto fortemente significativo do tempo de permanencia no campo da forraxe sobre a concentración de AGt e dos principais AG (C18:3n3, C16:0 e C18:2n6c). A redución na concentración de AGt entre as cero horas e as 24 h oscilou entre o 16% para RG e o 23-26% para as leguminosas. Se consideramos o

intervalo 0 a 48 h, a redución de AGt máis importante aconteceu no raigrás (42%) seguida do trevo branco (32%), da alfalfa (28%) e do trevo violeta (26%). Saliéntase o caso do trevo violeta, onde non se observou unha redución na concentración de AGt na MS no intervalo 24-48h. A non interacción da especie x tempo de secado para ningún dos AG cuantificados indica que a redución da concentración de AG na MS evoluciona de forma parecida independentemente da especie pratense. Como trazos xerais desta variación, ademais do mencionado descenso de AGt, obsérvase en tódalas especies unha notable redución do AG maioritario C18:3n3, mentres que a concentración de C18:2n6c se mantén máis ou menos estábel e a de C16:0 aumenta, así como a do C18:1n9c, este en menor proporción. Así, o perfil de AG das especies herbáceas modifícase co tempo de secado cara a unha maior proporción de saturados (media de 22.3 % AGS na hora cero, 25.6 % ás 24 h e 27.8% ás 48 h) e de monoinsaturados (3.5% AGMI na hora cero, 4.7 ás 24 h e 6.4% ás 48 h) e unha redución da fracción maioritaria poliinsaturada (74.1% AGPI na hora cero, 69.9% ás 24 h e 64.5% ás 24 h), co cal os resultados indicarían a conveniencia de limitar no posíbel a duración do secado no campo para asegurar unha correcta fermentación ao mesmo tempo que se preserva a maior concentración posíbel de AG poliinsaturados na ensilaxe.

Táboa 4.10. Evolución da concentración de AG de raigrás inglés, trevo violeta, trevo branco e alfalfa co tempo de secado (2011)

Especie (T)	RG			TV			TB			AL			s.e.m.	d.m.s	Significación			
	0	24	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48			T	H	T x H	
Horas de secado (H)																		
n	14	12	12	14	12	12	14	12	12	14	12	12						
Concentración de AG (g/kg MS)																		
C12:0	0.00	0.00	0.01	0.10	0.09	0.10	0.09	0.07	0.07	0.09	0.07	0.08	0.023	0.06	***	NS	NS	
C14:0	0.01	0.02	0.01	0.07	0.08	0.07	0.04	0.04	0.05	0.03	0.06	0.05	0.024	0.07	NS	NS	NS	
C15:0	0.01	0.01	0.01	0.04	0.03	0.05	0.02	0.02	0.04	0.02	0.02	0.04	0.003	0.01	***	***	NS	
C16:0	1.53	1.40	1.19	1.85	1.60	1.71	2.16	1.93	1.83	1.81	1.63	1.59	0.083	0.23	***	**	NS	
C16:1	0.01	0.01	0.00	0.02	0.03	0.05	0.03	0.03	0.04	0.02	0.02	0.03	0.004	0.01	***	**	NS	
C17:0	0.01	0.01	0.01	0.04	0.03	0.04	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02	0.03	0.003	0.01	***	NS	NS	
C18:0	0.03	0.02	0.04	0.32	0.28	0.34	0.34	0.27	0.26	0.28	0.23	0.25	0.025	0.07	***	NS	NS	
C18:1n9c	0.13	0.12	0.09	0.47	0.47	0.83	0.49	0.43	0.45	0.33	0.30	0.46	0.077	0.22	***	NS	NS	
C18:2n6c	0.99	0.89	0.62	2.23	1.60	1.66	2.55	2.05	1.69	2.15	1.66	1.57	0.102	0.28	***	***	NS	
C20:0	0.03	0.03	0.03	0.12	0.10	0.13	0.07	0.06	0.07	0.07	0.07	0.08	0.008	0.02	***	NS	NS	
C18:3n6	0.01	0.02	0.01	0.04	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.03	0.03	0.02	0.002	0.01	***	***	NS	
C20:1	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.002	0.01	***	NS	NS	
C18:3n3	5.59	4.50	2.83	6.25	4.07	3.45	6.54	4.64	3.85	5.92	4.06	3.48	0.331	0.92	NS	***	NS	
C21	0.01	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.002	0.01	***	NS	NS	
C22:0	0.07	0.07	0.07	0.11	0.10	0.12	0.07	0.07	0.08	0.07	0.07	0.08	0.002	0.01	***	NS	NS	
C22:1n9	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01	0.006	0.02	NS	NS	NS	
C20:3n3	0.02	0.03	0.02	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02	0.03	0.03	0.02	0.02	0.002	0.00	NS	NS	NS	
C20:4n6	0.01	0.01	0.01	0.05	0.04	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.003	0.01	***	*	NS	
C24:0	0.01	0.01	0.02	0.12	0.10	0.13	0.10	0.07	0.08	0.09	0.07	0.09	0.008	0.02	***	*	NS	
Total AG	8.49	7.16	5.00	11.90	8.73	8.84	12.70	9.86	8.67	11.05	8.41	7.95	0.515	1.44	***	***	NS	

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenca mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$

Foi realizado unha análise de covarianza para obter a relación entre a concentración de AG na MS da herba e o tempo de secado, mediante o axuste dunha regresión lineal simple utilizando o procedemento GLM de SAS, sendo observadas as diferenzas para as distintas especies en canto aos parámetros (intercepto e pendente) que definen a regresión. Como se indica na Táboa 4.11, a ecuación que relaciona a concentración de AG na MS do pasto (Y: g AG/kg MS) co tempo de secado (T: horas) ten unha alta significación ($p < 0.001$) e explica o 49% da varianza total, sendo observado un efecto significativo da especie pratense no valor do coeficiente do intercepto ($p < 0.001$) pero non no da pendente ($p > 0.10$). Isto indica que, se ben as especies estudadas parten dunha diferente concentración de AG no momento da sega (trevo branco > trevo violeta > alfalfa > raigrás inglés), a taxa de redución na concentración de AG por unidade de tempo é semellante para tódalas especies, cun valor medio de -0.080 g de AG total por hora de secado no campo, nas condicións do ensaio.

Táboa 4.11. Variación da concentración de AG da herba co tempo de secado no campo

Ecuación: Y (g AG/kg MS) = $[11.53^{***} (\pm 0.29) + \Delta] - 0.080^{***} (\pm 0.008) \times T$ (horas)
 Varianza explicada R^2 : 0.49^{***} Media: 9.83 ± 1.90 Coeficiente de variación: 19.3%

Especie	Variación no intercepto (Δ)
Raigrás inglés	-2.71 ^{***} (± 0.60)
Alfalfa	-0.65 ^{***} (± 0.20)
Trevo branco	0.72 ^{***} (± 0.36)
Trevo violeta	0.00

4.3.4. Composición das ensilaxes utilizadas nos ensaios de alimentación

4.3.4.1. Composición química, dixestibilidade e valor enerxético

Nas táboas 4.12 e 4.13 móstranse os valores medios correspondentes ás ensilaxes das distintas especies pratenses utilizadas nos ensaios de alimentación nos anos 2010 e 2011, respectivamente. En ambos casos, as características químico-bromatolóxicas das ensilaxes reproducen, con pequenas variacións, as das forraxes orixinais no momento do ensilado. Os contidos de materia seca das ensilaxes foron, en 2010, 50.5% (RG) e 42.2% (TV), sendo 27.1% (RG), 32.8% (TV), 44.1% (TB) e 53.1% (AL) en 2011, todos eles reflectindo as condicións de secado no campo da forraxe e en xeral lixeiramente por riba dos valores das mostras de herba presecada da que procedían.

Como era de esperar, as ensilaxes con valores elevados de MS, superiores ao 40%, mostran claramente unha fermentación restrinxida, con valores de pH próximos ou superiores a 4.5, baixas concentracións de ácido láctico e acético así como de N amoniacal e N solúbel, como é o caso das ensilaxes de raigrás e trevo violeta en 2010 e de trevo branco e de alfalfa en 2011. As restantes ensilaxes mostraron valores de pH próximos a 4.2, sendo os de láctico en torno a 7-8 %MS, de acético entre 2-3 %MS, de N amoniacal ao redor do 10% e de N solúbel inferiores ao 45%, denotando todos eles unha calidade de conservación aceptábel, atendendo aos estándares de clasificación de calidade de ensilaxes en Europa (Pflaum *et al.*, 1997), sen diferenzas importantes entre a gramínea e as leguminosas e indicando que o presecado da forraxe é unha ferramenta eficaz para conseguir unha fermentación adecuada cando se ensilan leguminosas pratenses. A este respecto sinálase que durante as operacións de manipulación da forraxe para o ensilado non se observaron perdas apreciábeis de follas nos trevos nin na alfalfa aínda nos casos en que o secado fora máis intenso.

Os cambios no valor nutricional entre a herba ensilada e a ensilaxe final foron, en xeral, de escasa magnitude e reflectindo, en todo caso, as perdas de MS agardadas pola fermentación dos carbohidratos solúbeis (azucres) en forma de CO₂, toda vez que non se produciron perdas por efluentes. As variacións máis importantes afectaron ao incremento (+3 a +4 unidades) na concentración de FND e FAD da ensilaxe, e unha diminución da dixestibilidade (-2 a -3 unidades) e do valor enerxético no entorno do 5-6%. Dado que non foron efectuadas correccións pola perda de volátiles na estufa durante o secado das mostras, é probábel que as perdas enerxéticas fosen na realidade inferiores ás sinaladas, toda vez que parte dos ácidos de fermentación producidos no ensilado (en particular acético, butírico e láctico en menor medida), totalmente dixestíbeis polo animal, puideron perderse durante o procesado das mostras antes da análise.

Da mesma forma que nas mostras de pasto fresco, as ensilaxes de raigrás mostraron menores concentracións de PB e máis elevadas de FND na MS comparadas coas ensilaxes das leguminosas, sendo de sinalar o moi baixo valor de PB do raigrás en 2010. Os valores medios (en % MS) das ensilaxes foron: para PB, 8.2 (RG) e 19.5 (TV) en 2010 e 11.6 (RG), 17.6 (TV), 16.8 (TB) e 15.1 (AL) en 2011 e para FND, 52.4 (RG) e 42.1 (TV) en 2010 e 59.8 (RG), 45.7 (TV), 42.0 (TB) e 49.7 (AL) en 2011.

En canto á dixestibilidade e concentración enerxética das ensilaxes pratenses, a de raigrás en 2010 e a de raigrás e a de trevo violeta en 2011 mostraron valores significativamente máis elevados ca o resto dos tratamentos, ao igual que acontecera nas mostras de herba tomadas antes de ensilar coa dixestibilidade da materia orgánica. Os valores medios de DMO (%) e de ENLm (Mcal/kg MS) foron, respectivamente 72.4 e 1.53 (RG) e 66.4 e 1.31 (TV) o primeiro ano e 71.2 e 1.44 (RG), 62.0 e 1.20 (TV), 71.7 e 1.40 (TB) e 61.2 e 1.22 (AL) o segundo.

Táboa 4.12. Composición nutricional das ensilaxes de especies pratenses utilizadas no ensaio (Ano 2010)

	RG	TV	s.e.m.	P
n	14.0	14.00		
Materia seca				
MS%	50.5	42.3	1.379	***
Composición química (%MS)				
MO	92.0	88.3	0.161	***
PB	8.2	19.5	0.274	***
FAD	31.9	34.5	0.766	*
FND	52.4	42.1	0.726	***
Dixestibilidade e valor enerxético				
DMO (%)	72.4	66.5	0.762	**
DOMD (%)	66.6	58.7	0.476	***
ENLm (Mcal/kg MS)	1.53	1.31	0.015	***
UFL/kg MS	0.90	0.77	0.057	***
Parámetros fermentativos				
pH	4.45	4.47	0.589	**
Láctico (%MS)	1.96	5.73	0.844	***
Acético (%MS)	0.49	2.35	0.439	***
N-NH3 (%N total)	2.98	4.77	1.427	**
Nsol (%N total)	41.56	29.83	2.904	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico e Acético: ácidos de fermentación.

Táboa 4.13. Composición nutricional das ensilaxes de especies pratenses utilizadas no ensaio (Ano 2011)

	RG	TV	TB	AL	<i>s.e.m.</i>	<i>P</i>	d.m.s.
n	12	12	16	15			
Materia seca							
MS%	27.1	32.8	44.1	53.2	3.313	***	9.42
Composición química (%MS)							
MO	91.0	87.8	88.1	90.5	1.121	***	3.19
PB	11.6	17.6	16.8	15.1	1.099	***	3.12
FAD	37.0	39.1	34.4	36.6	1.145	***	3.26
FND	59.8	45.7	42.0	49.7	2.072	***	5.89
Dixestibilidade e valor enerxético							
DMO (%)	71.2	62.0	71.7	61.2	2.171	***	6.17
DOMD (%)	64.8	54.4	63.2	55.2	1.685	***	4.79
ENLm (Mcal/kg MS)	1.44	1.20	1.40	1.22	0.044	***	0.13
UFL/kg MS	0.85	0.71	0.82	0.72	0.026	***	0.07
Parámetros fermentativos							
pH	4.20	4.27	4.51	4.43	0.367	***	1.04
Láctico (%MS)	6.89	8.16	5.96	2.90	1.073	***	3.05
Acético (%MS)	2.09	3.05	1.77	1.92	0.314	***	0.89
N-NH3 (%N total)	9.58	10.54	7.48	7.25	1.534	**	4.36
Nsol (%N total)	43.89	37.13	34.81	30.65	4.907	***	13.95

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; DMO: dixestibilidade da MO; DOMD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico e Acético: ácidos de fermentación.

Na Táboa 4.14 móstranse os valores medios da composición química, dixestibilidade, valor enerxético e calidade fermentativa das ensilaxes de millo utilizadas nos dous anos de ensaios. As características foron moi semellantes e mostran o baixo contido proteico (PB: 5.7 e 6.3 % MS), alta dixestibilidade (DMO: 69.8 e 71.0 %) e elevada concentración enerxética (ENLm: 1.53 e 1.56 Mcal/kg MS) propia das ensilaxes de millo, en paralelo cunha excelente calidade de conservación, típica deste tipo de forraxes

Táboa 4.14. Composición nutricional das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios (anos 2010 e 2011)

	2010		2011	
	Media	s.d.	Media	s.d.
Materia seca				
MS%	35.0	3.33	38.2	5.10
Composición química (%MS)				
MO	95.5	0.60	95.4	0.59
PB	5.7	0.88	6.3	0.36
FAD	24.0	2.35	22.3	1.54
FND	42.0	2.51	39.0	1.67
AMD	33.9	2.7	35.5	2.8
Dixestibilidade e valor enerxético				
DMO (%)	69.8	2.04	71.0	0.59
DOMD (%)	66.6	1.70	67.7	0.60
ENLm (Mcal/kg MS)	1.53	0.05	1.56	0.02
UFL/kg MS	0.90	0.03	0.92	0.01
Parámetros fermentativos				
pH	3.76	0.20	3.84	0.09
Láctico (%MS)	3.27	2.23	3.48	1.19
Acético (%MS)	1.48	0.47	2.05	0.41
N-NH ₃ (%N total)	7.3	2.4	7.7	0.5
Nsol (%N total)	56.3	13.6	54.6	3.9

s.d.: desviación estándar da media; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; AMD: amidón; DMO: dixestibilidade da MO; DOMD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico e Acético: ácidos de fermentación

4.3.4.2. Perfil de ácidos graxos

En paralelo aos cambios acontecidos na composición química da herba antes de ensilar e tras o proceso de ensilado, a composición de AG das ensilaxes reproducen a mostrada pola forraxe orixinal, como se pode observar nas Táboas 4.15 e 4.16. A concentración de AGt das ensilaxes, comparada coa determinada na herba das rotopacas foi, de media, un 19% máis baixa en 2010 e un 12% inferior en 2011. Os valores medios da concentración de AGt foron de 6.2 e 9.8 %MS para RG e TV no ensaio de 2010 e de 6.5, 7.5, 7.0 e 7.8 %MS para RG, TV, TB e AL, respectivamente, no do seguinte ano. As proporcións dos principais AG nas ensilaxes (en %AGt) foron como segue: para o maioritario alfa-linolénico (C18:3n3), 56.4 e 58.6 (RG) e 62.5 e 53.1 (TV) en 2010 e 2011, respectivamente, con valores de 51.8 (TB) e 53.6 (AL) en 2011; para o saturado ácido palmítico (C16:0), 17.8 e 17.4 (RG) e 16.5 e 17.7 (TV) en 2010 e 2011, respectivamente, sendo de 18.5 (TB) e 17.2 (AL) en 2011 e para o linoleico (C18:2n6c) se observaron valores de 14.2 e 12.8 (RG) e 10.4 e 15.1 (TV) en 2010 e 2011, respectivamente, sendo de 18.2 (TB) e de 17.3 (AL) en 2011. A ensilaxe de raigrás

mostrou unha concentración de AGt significativamente inferior ao do trevo violeta en 2010 e aos desta especie e ao de alfalfa en 2011. Dentro das especies leguminosas, a ensilaxe de trevo violeta mostrou o contido máis baixo de AGt, significativamente inferior comparado co de alfalfa.

Táboa 4.15. Composición de AG das ensilaxes utilizadas no ensaio (Ano 2010)

	RG	TV	s.e.m.	P
n	14.0	14.00		
Composición (% AG total)				
C12:0	1.18	1.45	0.053	*
C14:0	0.69	0.38	0.221	**
C15:0	0.22	0.48	0.216	***
C16:0	17.87	16.55	3.465	NS
C16:1	0.23	0.19	0.060	NS
C17:0	0.19	0.39	0.199	***
C18:0	2.10	1.77	0.848	+
C18:1n9c	3.03	1.88	1.629	NS
C18:2n6c	14.27	10.41	2.144	**
C20:0	0.69	1.03	0.070	**
C18:3n6	0.00	0.70	0.360	***
C20:1	0.28	0.23	0.089	*
C18:3n3	56.47	62.54	14.33	*
C21	0.14	0.10	0.008	NS
C22:0	1.28	0.77	0.941	***
C22:1n9	0.13	0.05	0.068	**
C20:3n3	0.00	0.29	0.108	***
C20:4n6	0.18	0.26	0.232	*
C24:0	1.05	1.00	0.987	NS
AGS	25.40	23.90	3.523	NS
AGMI	3.66	2.34	0.494	NS
AGPI	70.90	74.20	3.173	NS
Concentración de AG (g/kg MS)				
AG total	6.29	9.84	0.323	**

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

A proporción de poliinsaturados nas ensilaxes foron 70.9 e 74.2 % AGt para RG e TV en 2010 e 71.6, 69.6, 70.5 e 71.4 % AGt para RG, TV, TB e AL en 2011, respectivamente. Cando o valor se expresa como concentración na MS das ensilaxes en vez de como porcentaxe os valores foron máis elevados para as leguminosas comparadas co raigrás e para o trevo violeta comparado coas restantes leguminosas, con valores (en g AGPI/kg MS) de 4.45 e 7.30 para RG y TV en 2010 e de 4.66, 5.22, 4.95 e 5.63 para RG, TV, TB e AL en 2011, respectivamente. Cando a concentración se refire

ao AG alfa-linolénico, os valores medios (en g C18:3n3/kg MS) das ensilaxes foron 3.54 e 6.15 para RG e TV en 2010 e 3.82, 3.99, 3.63 e 4.23 para RG, TV, TB e AL en 2011.

Táboa 4.16. Composición de AG das ensilaxes utilizadas no ensaio (Ano 2011)

	RG	TV	TB	AL	s.e.m.	P	d.m.s.
Composición (% AG total)							
C12:0	1.09	1.49	1.27	1.13	0.123	***	0.35
C14:0	0.58	0.69	0.70	0.91	0.111	***	0.32
C15:0	0.23	0.67	0.36	0.25	0.066	***	0.19
C16:0	17.46	17.79	18.52	17.29	1.439	***	4.09
C16:1	0.10	0.19	0.24	0.29	0.059	***	0.17
C17:0	0.02	0.47	0.19	0.23	0.066	***	0.19
C18:0	1.77	1.57	1.32	1.81	0.305	*	0.87
C18:1n9c	3.55	2.52	3.46	3.78	0.531	*	1.51
C18:2n6c	12.86	15.12	18.28	17.35	2.320	***	6.60
C20:0	0.27	1.61	0.76	0.86	0.160	***	0.45
C18:3n6	0.00	0.48	0.09	0.13	0.072	***	0.20
C20:1	0.35	0.44	0.31	0.26	0.371	***	1.05
C18:3n3	58.63	53.13	51.82	53.63	3.687	*	10.48
C21	-	-	-	-	-	-	-
C22:0	1.45	1.19	0.90	0.59	0.143	***	0.41
C22:1n9	0.19	0.01	0.10	0.11	0.018	***	0.05
C20:3n3	0.00	0.36	0.12	0.11	0.051	***	0.15
C20:4n6	0.13	0.52	0.22	0.20	0.066	***	0.19
C24:0	1.31	1.74	1.35	1.08	0.174	***	0.50
AGS	24.19	27.23	25.36	24.14	1.830	***	5.20
AGMI	4.19	3.16	4.11	4.43	0.572	*	1.63
AGPI	71.62	69.61	70.53	71.42	3.658	***	10.40
Concentración de AG (g/kg MS)							
AG total	6.52	7.51	7.02	7.89	0.643	***	1.83

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

Na Táboa 4.17 móstrase a composición dos AG da ensilaxe de millo utilizada no ensaio, onde se poden observar as diferenzas entre este cereal e as forraxeiras herbáceas pratenses, a este respecto. Mentres que a concentración de AGt na MS das ensilaxes de millo (8.0-8.3 g/kg MS) é aproximadamente comparábel á das ensilaxes de herba, o AG maioritario no millo é o linoleico (44.3 e 45.4 %AGt), seguido do oleico (29.9 %AGt), o palmítico (15.5-14.1 %AGt), seguidos do alfa-linolénico (3.4 %AGt) que era maioritario nas especies pratenses. Por outra banda, a proporción de AG saturados, monoinsaturados e poliinsaturados difire tamén do observado para o caso da herba, con valores nas ensilaxes de millo de 21.2-20.1 %AGt para AGS, 30.8 %AGt para AGMI e 47.9-48.9 %AGt para AGPI.

Táboa 4.17. Composición de AG das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios (Anos 2010 e 2011)

	2010		2011	
	Media	s.d.	Media	s.d.
Composición de AG (% AG total)				
C12:0	0.49	0.08	0.52	0.08
C14:0	0.35	0.12	0.28	0.09
C15:0	0.06	0.03	0.05	0.03
C16:0	15.59	1.61	14.16	1.53
C16:1	0.42	0.34	0.39	0.28
C17:0	0.20	0.06	0.20	0.06
C18:0	2.75	0.67	3.20	0.75
C18:1n9c	29.97	5.49	29.94	5.71
C18:2n6c	44.33	6.33	45.46	6.52
C20:0	0.57	0.24	0.75	0.32
C18:3n6	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:1	0.37	0.14	0.42	0.15
C18:3n3	3.48	1.22	3.43	1.13
C21	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.60	0.22	0.49	0.19
C22:1n9	0.09	0.08	0.08	0.07
C20:3n3	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:4n6	0.13	0.05	0.11	0.04
C24:0	0.60	0.19	0.52	0.18
AGS	21.20	2.13	20.17	1.81
AGMI	30.86	5.48	30.84	5.73
AGPI	47.93	5.71	48.99	6.07
Concentración de AG (g/kg MS)				
AG total	8.02	1.64	8.30	1.53

s.d.: desviación estándar da media; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

4.3.5. Resultados do ensaio de dixestibilidade *in vivo*

Na Táboa 4.18 móstranse os valores medios de dixestibilidade e de inxestión voluntaria observados na avaliación de dixestibilidade *in vivo* das ensilaxes consumidas polas vacas de leite no experimento de alimentación. Como media das 6 gaiolas metabólicas por tratamento, o coeficiente de variación do valor de DMO foi inferior ao 5% establecido por Flores *et al.* (2014) como control de calidade nas avaliacións de dixestibilidade *in vivo* con ovinos. As análises da composición química, realizada por métodos de referencia, reproducen en liñas xerais os valores estimados para as mostras de ensilaxe mediante NIRS. Os resultados da avaliación, por outra banda, confirman as estimacións do valor enerxético das ensilaxes obtidas polo método NIRS, confirmando a boa calidade das calibracións dispoñíbeis no CIAM.

Os valores medios da dixestibilidade *in vivo* da materia seca (DMS_{iv}), da materia orgánica (DMO_{iv}), do nitróxeno (DN_{iv}) e da parede celular ($DFND_{iv}$) foron, respectivamente, 66.6, 69.1, 63.1 e 66.6%. As ensilaxes de raigrás e de trevo branco mostraron valores significativamente máis elevados de DMS_{iv} , DMO_{iv} e $DFND_{iv}$ comparados coas de trevo violeta e alfalfa, que non foron diferentes entre si, sendo de salientar a alta dixestibilidade da FND do raigrás (73.5%) seguida do trevo branco (70.0%) que se diferenciaron claramente dos valores observados para as ensilaxes de trevo violeta (62.2%) e de alfalfa (60.4%).

Os valores de inxestión voluntaria medidos en ovinos, a diferenza dos de dixestibilidade, non poden ser extrapolados ao gando vacún (Heaney, 1979), pese ao cal ofrecen unha estimación da inxestibilidade potencial da forraxe. Os resultados mostran que a inxestión das ensilaxes de leguminosas foi superior á do raigrás, sendo de destacar o alto valor para a ensilaxe de trevo branco, confirmando así o seu elevado valor nutricional.

Táboa 4.18. Resultados da avaliación de dixestibilidade *in vivo* das ensilaxes utilizadas no ensaio de alimentación de 2011

a) Materia seca e composición química das ensilaxes

	RG		TV		TB		AL	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
Materia seca (%)								
MS	27.17	2.63	29.37	1.97	42.77	2.05	51.03	3.04
Composición química (%MS)								
MO	89.60	2.86	90.35	2.92	85.83	1.59	88.57	2.99
PB	11.01	3.72	16.82	1.55	17.47	2.46	14.51	4.23
FAD	35.52	2.45	36.88	2.28	33.40	2.76	37.11	3.47
FND	57.22	3.55	47.62	5.86	41.73	1.95	48.04	3.70

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.d.: desviación estándar; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente

b) Dixestibilidade *in vivo* e inxestión voluntaria das ensilaxes

	RG	TV	TB	AL	s.e.m.	P	d.m.s.
n	6	6	6	6			
Dixestibilidade (%)							
DMS _{iv}	71.79	63.41	68.49	63.03	1.004	***	2.95
DMO _{iv}	72.67	66.59	71.98	65.22	1.078	***	3.16
DN _{iv}	63.28	64.43	66.75	58.12	1.268	**	3.72
DFND	73.58	62.28	70.20	60.47	1.644	***	4.82
Inxestión voluntaria (g/kg PV^{0.75})							
IMS _{iv}	28.1	30.3	40.3	36.1	2.965	*	8.70
IMO _{iv}	25.1	27.4	34.7	31.9	2.624	*	7.70

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: n^o de observacións; DMS_{iv}: dixestibilidade aparente da materia seca; DMO_{iv}: dixestibilidade aparente da materia orgánica; DN_{iv}: dixestibilidade aparente do N; DFND_{iv}: dixestibilidade aparente da fibra neutro deterxente; IMS_{iv}: inxestión de materia seca; IMO_{iv}: inxestión de materia orgánica

4.3.6. Resultados dos ensaios de alimentación con vacas de leite

4.3.6.1 Producción, composición fisicoquímica do leite e inxestión voluntaria

O primeiro ano de ensaio desenvolveuse no último terzo da lactación das vacas. Como se pode observar na Táboa 4.19 o efecto do tipo de ensilaxe (RG vs. TV) ou da suplementación con aceites vexetais ao concentrado (L: liño vs. C: soia) sobre a inxestión de MS da ración ofrecida ás vacas foi de escasa magnitude, oscilando entre 16.9 e 17.4 kg MS/vaca e día de media para RG-C e TV-L, respectivamente, sen diferenzas significativas entre tratamentos. A eficiencia de transformación da MS inxerida en leite tampouco foi significativamente diferente entre tratamentos, con valores medios de 1.24 kg leite/kg MS para os tratamentos con ensilaxe de raigrás e 1.26 e 1.29 para TV-C e TV-L, respectivamente. A produción de leite estandarizado en graxa e proteína foi un 4.7% superior nos tratamentos de ensilaxe de trevo violeta comparada cos de raigrás inglés ($p < 0.05$) con valores medios de 21.0 e 22.0 kg de leite/vaca e día para R e TV, respectivamente, sen diferenzas significativas entre o tipo de aceite vexetal dentro de cada tipo de ensilaxe. Aproximadamente da mesma magnitude foron as diferenzas para a produción de proteína (MP), extracto seco magro (ESM) e sólidos totais (ST) do leite entre R e TV con valores medios por vaca e día, respectivamente, de 0.63 e 0.66 kg MP, 1.72 e 1.82 kg ESM e 2.50 e 2.63 kg ST. A produción de materia graxa (MG) do leite non foi significativamente diferente entre tratamentos, toda vez que o menor rendemento por vaca nos tratamentos con ensilaxe de raigrás foi compensado cunha significativa maior porcentaxe de MG do leite, en comparación cos tratamentos de trevo violeta (valores medios de 3.94 e 3.72 %MG para RG e TV, respectivamente), sendo observado que a suplementación con aceite de soia reducía significativamente o contido graxo do leite, comparado co aceite de liño (3.76 vs. 3.89 %MG para C e L, respectivamente). A porcentaxe de proteína do leite foi tamén significativamente superior para os tratamentos de RG, comparado cos de TV pero as diferenzas foron de escasa magnitude (3.17 e 3.13 %MP). Os valores de urea do leite foron significativamente inferiores para os tratamentos con ensilaxe de raigrás, reflectindo o menor contido proteico da gramínea (190 vs. 219 mg/L), se ben tódolos valores entran dentro do rango normal para este parámetro. O consumo de concentrado por kg de leite foi moi semellante entre tratamentos, con valores medios que oscilaron nunha estreita marxe entre 193 e 202 g de concentrado/kg de leite producido.

Táboa 4.19. Efecto do tipo de ensilaxe (raigrás inglés vs. trevo violeta) e da suplementación do concentrado (control vs. aceite de liño) sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (2010)

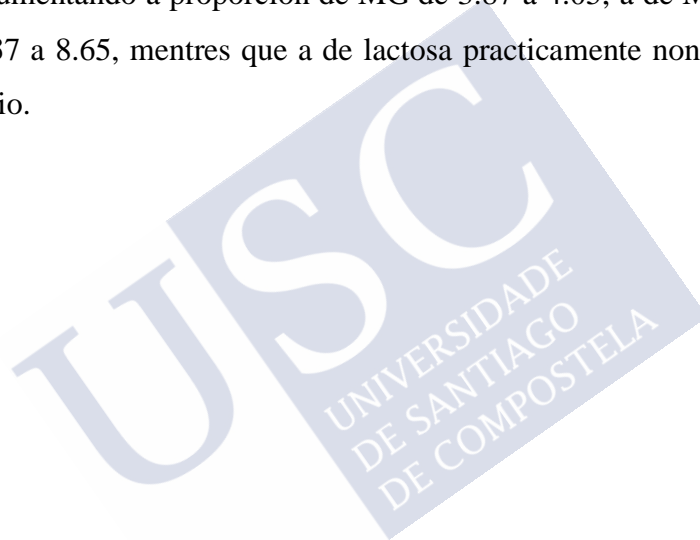
	Tratamento				s.e.m.	d.m.s.	Contrastes		Significación (P)	
	RG-C	RG-L	TV-C	TV-L			RG vs. TV	C vs L	Tratamento	Período
n	72	72	72	72						
Produción de leite (PL, kg/día)										
PL non corrixida	19.8	19.7	21.7	20.8	14.10	1.25	***	NS	**	***
PL corrixida a 3.5% MG	21.0	21.3	22.3	21.8	18.10	1.42	+	NS	NS	***
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2% MP	20.9	21.2	22.3	21.7	17.00	1.37	*	NS	NS	***
Produción de sólidos (kg/día)										
Materia graxa	0.76	0.79	0.80	0.79	0.03	0.06	NS	NS	NS	***
Materia proteica	0.63	0.63	0.67	0.66	0.01	0.04	**	NS	*	***
Extracto seco magro	1.72	1.71	1.87	1.80	0.11	0.11	**	NS	*	***
Sólidos totais	2.49	2.50	2.67	2.59	0.23	0.16	*	NS	+	***
Composición fisicoquímica do leite										
Materia graxa (%)	3.86	4.02	3.67	3.77	0.19	0.15	***	*	***	***
Materia proteica (%)	3.16	3.19	3.11	3.15	0.03	0.06	*	+	*	***
Lactosa (%)	4.76	4.72	4.79	4.75	0.02	0.04	+	*	*	***
Extracto seco magro (%)	8.69	8.68	8.62	8.63	0.05	0.07	+	NS	NS	***
Urea (mg/L)	187	193	220	218	1571	13.2	***	NS	***	***
Inxestión de materia seca (IMS)										
IMS unifeed (kg/vaca e día)	16.9	17.1	17.3	17.4	2.14	0.49	+	NS	NS	***
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.24	1.24	1.29	1.26	0.06	0.08	NS	NS	NS	***

RG: ensilaxe de raigrás; TV: ensilaxe de trevo violeta; C: concentrado con aceite de soia; L: concentrado con aceite de liño; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica

No segundo ano de ensaio (Táboa 4.20) a inxestión de MS da mestura *unifeed* das vacas dos tratamentos con ensilaxe de leguminosas foi significativamente máis elevada que o observado para o tratamento da ensilaxe de raigrás, con valores medios de 20.0, 21.8, 22.3 e 22.1 kg MS/vaca e día para RG, TV, TB e AL, respectivamente. Neste ensaio, no que as vacas estaban na primeira metade da lactación, a eficiencia de transformación da MS en leite foi máis elevada que a observada o ano anterior, con valores medios (kg de leite/kg MS inxerido) de 1.64 para RG, 1.58 para TB, 1.52 para TV e 1.51 para AL., sendo os valores de RG significativamente superiores que os de TV e AL, sen diferenzas significativas entre as especies leguminosas. A produción de leite máis elevada observouse no tratamento con ensilaxe de trevo branco, seguido do de alfalfa, o de trevo violeta e o de raigrás, con valores medios (kg de leite estandarizado en graxa e proteína/vaca e día) de 35.3, 33.4, 33.2 e 32.4, respectivamente, sendo a produción de TB significativamente superior á observada nos restantes tratamentos, que non se diferenciaron entre si. Cando a produción se expresaba en kg dos diferentes constituíntes do leite, o maior rendemento correspondeu tamén ao tratamento de ensilaxe de trevo branco, onde a produción diaria de MG, MP, ESM e ST (1.33, 1.06, 2.84 e 4.18 kg/vaca, respectivamente) foi significativamente superior á observada nos restantes tratamentos. Considerada conxuntamente, a produción media dos tratamentos de ensilaxe de leguminosas foi significativamente superior á do raigrás, con valores medios (kg/vaca e día) para os tratamentos de RG vs. Leguminosas, respectivamente, de 1.23 vs. 1.27 para MG, 0.96 vs. 1.02 para MP, 2.57 vs. 2.74 para ESM e 3.80 vs. 4.01 para ST. O efecto do tratamento na composición fisicoquímica do leite foi significativo para tódolos parámetros considerados. O valor medio de MG do leite correspondente ao tratamento de ensilaxe de raigrás (4.10 %) foi superior ao de alfalfa (3.89), sen diferenzas cos de trevo violeta (4.00 %) e de trevo branco (4.05%). O contido en MP do leite dos tratamentos de ensilaxe de trevo branco (3.22 %) e de alfalfa (3.20 %) non se diferenciaron do observado para o tratamento de raigrás (3.19 %), sendo todos eles significativamente superiores ao de trevo violeta (3.08 %). As diferenzas entre tratamentos para a lactosa e o ESM foron de escasa magnitude (rango 4.58-4.65 % para lactosa e 8.43-8.62 para ESM) sendo de salientar que o tratamento de trevo branco mostrou os valores máis elevados e significativamente diferentes dos do raigrás. Os valores de urea en leite de RG e TV (327 e 301 mg/L, respectivamente) foron significativamente máis elevados que os de TB e AL (246 e 255 mg/L), estando todos eles dentro do rango de normalidade para este parámetro. O consumo de

concentrado por kg de leite foi inferior ao do primeiro ano e moi semellante entre tratamentos, con valores medios de 154, 164, 157 e 165 g de concentrado/kg de leite producido para RG, TV, TB e AL, respectivamente.

O período de ensaio afectou significativamente á produción e composición do leite. No primeiro ano observouse unha redución de aproximadamente un 1% da produción de leite por semana durante o transcurso do ensaio, mentres que no segundo ano dita redución foi de aproximadamente a metade. As porcentaxes de MG, MP, lactosa e ESM do leite aumentaron co avance da lactación, con valores medios para o primeiro ano de 3.70 a 3.98 para MG, de 3.10 a 3.24 para MP, de 4.68 a 4.80 para lactosa e de 8.52 a 8.79 para ESM, períodos inicial e final, respectivamente. No segundo ano a tendencia foi semellante, aumentando a proporción de MG de 3.87 a 4.05, a de MP de 3.0 a 3.28, a de ESM de 8.37 a 8.65, mentres que a de lactosa practicamente non sufriu variación ao longo do ensaio.



Táboa 4.20. Efecto do tipo de ensilaxe (especie pratense) sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (2011)

	Tratamento (especie ensilada)				s.e.m.	d.m.s.	Contrastes RG vs. TV	Significación (P)	
	RG	TV	TB	AL				Tratamento	Período
n	72	72	72	72					
Producción de leite (PL, kg/día)									
PL non corrixida	30.2	31.6	33.1	31.9	0.449	1.27	**	***	**
PL corrixida a 3.5% MG	33.0	34.1	35.9	33.8	0.474	1.34	**	***	*
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2% MP	32.4	33.2	35.3	33.4	0.435	1.23	**	***	*
Producción de sólidos (kg/día)									
Materia graxa	1.23	1.26	1.33	1.23	0.020	0.06	*	**	*
Materia proteica	0.96	0.97	1.06	1.02	0.011	0.03	**	***	***
Extracto seco magro	2.57	2.66	2.84	2.72	0.034	0.10	**	***	+
Sólidos totais	3.80	3.92	4.18	3.95	0.050	0.14	*	***	+
Composición fisicoquímica do leite									
Materia graxa (%)	4.10	4.00	4.05	3.89	0.055	0.16	*	*	+
Materia proteica (%)	3.19	3.08	3.22	3.20	0.026	0.07	NS	***	***
Lactosa (%)	4.58	4.60	4.65	4.60	0.017	0.05	NS	*	NS
Extracto seco magro (%)	8.52	8.43	8.62	8.54	0.096	0.27	NS	***	***
Urea (mg/L)	327	301	246	255	5.766	16.31	***	***	***
Inxestión de materia seca									
IMS unifeed (kg/vaca e día)	20.0	21.8	22.3	22.1	0.328	0.93	***	***	**
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.64	1.52	1.58	1.51	0.029	0.08	***	***	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica

4.3.6.2. Perfil de ácidos graxos do leite

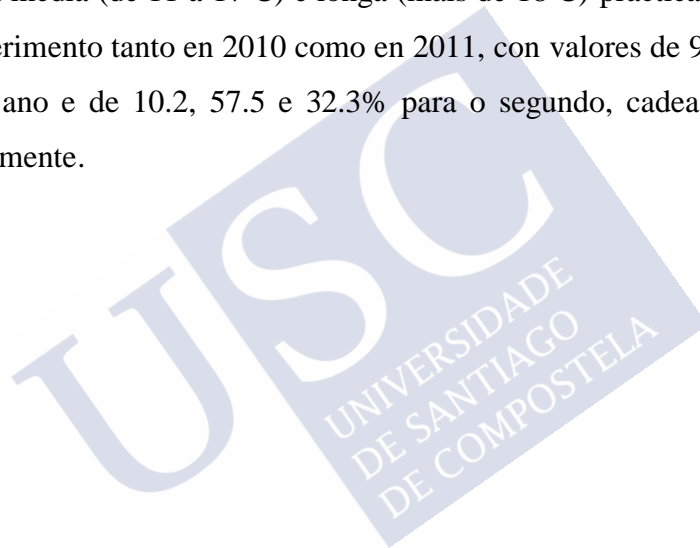
No primeiro experimento, a composición de AG da graxa do leite foi marcadamente influenciada polos tratamentos, como se pode comprobar na Táboa 4.21 onde se mostran os valores medios dos principais grupos de AG e os índices de calidade dos lípidos. O efecto da adición de aceites vexetais sobre a redución da porcentaxe de AG saturados do leite foi evidente, observándose en tódolos tratamentos valores por debaixo do 70%. Os valores medios de AGS (en % AGt) foron significativamente inferiores nos tratamentos que consumiron ensilaxe de trevo violeta comparados cos de raigrás (67.9 % para RG e 65.0 % para TV) e nos suplementados con aceite de soia fronte aos de liño (65.8% para C e 67.2% para L). O leite das vacas que consumiron TV fronte a RG tiña unha porcentaxe de AG monoinsaturados significativamente superiores ao igual que o leite das vacas suplementadas con aceite de soia fronte a aceite de liño, sendo observados valores medios de AGMI (% AGt) de 26.9% para RG vs. 29.4% para TV e de 29.0 % para C vs. 27.3% para L. A proporción de AG poliinsaturados foi claramente máis elevada para os tratamentos con ensilaxe de trevo violeta comparados cos de raigrás, sen diferenzas significativas entre os dous tipos de aceite, con valores medios de AGPI (% AGt) de 3.80 % para RG e de 5.46 % para TV. Esta superioridade a favor do leite producido coa ensilaxe de trevo violeta manifestouse tanto para os AG omega-6 como para os omega-3, con valores medios (en % AGt) de 2.38 vs. 3.05 % e de 0.83 vs. 1.50 % para RG e TV, respectivamente. O leite dos grupos suplementados con aceite de soia mostrou unha superior proporción de C18:2n6c, cabeza da serie omega-6 e de AG omega-6 total, mentres que o leite dos grupos suplementados con aceite de liño tiña unha maior porcentaxe de C18:3n3, cabeza da serie omega-3. Os valores medios (en %AGt) foron 2.85 e 2.59 para omega-6 total, 2.19 e 1.91 para C18:2n6c, 1.01 e 1.32 para omega-3 total e 0.83 e 1.13 para C18:3n3. A presenza no leite do ácido linoleico conxugado (CLA) foi tamén significativamente superior para os grupos que consumiron ensilaxe de trevo violeta (0.49 vs. 0.83 % AGt, RG e TV, respectivamente) e para os suplementados con aceite de soia fronte ao de liño (0.71 vs. 0.60 %AGt para C e L, respectivamente). O ratio omega-6/omega-3 no leite das vacas alimentadas con trevo violeta e suplementadas con aceite de liño foi o máis baixo de tódolos grupos e significativamente inferior ao resto, mentres que o correspondente ás vacas que consumían ensilaxe de raigrás suplementado con aceite de soia foi o máis elevado, con valores medios de 3.63, 2.39, 2.44 e 1.74 para RG-C, RG-L, TV-C e TV-L,

respectivamente. Atendendo a este criterio, o perfil do leite é mellorado polo uso da ensilaxe de trevo fronte ao raigrás e polo uso de aceite de liño fronte ao de soia, se ben o contido en CLA do leite é lixeiramente aumentado cando se usa o aceite de soia. Esta mellora cualitativa do leite polo uso do trevo violeta vese reflectida tamén nun valor máis alto para o índice hipo-hipercolesterolémico (h_H), e máis baixo para os índices ateroxénico (IA) e tromboxénico (IT) con valores significativamente diferentes a favor da leguminosa (h_H: 0.59 vs. 0.70, IA: 2.67 vs. 2.25, IT: 3.08 vs. 2.40, RG e TV, respectivamente). O cálculo da taxa de transferencia de C18:3n3 ao leite (porcentaxe deste AG consumido na dieta que é excretado no leite) ofreceu un valor medio de 6.5%, sendo significativamente superior para as dietas con trevo violeta (RG: 5.25%, TV: 7.9%) .

No segundo experimento (Táboa 4.22), no que non se suplementou con aceites vexetais a dieta das vacas, a proporción de AG saturados foi claramente máis elevada, e a de monoinsaturados máis baixa que as observadas nos tratamentos do anterior ano, cun valor medio (%AGt) de 72.2 % para AGS e de 23.8 % para AGMI, sen diferenzas significativas entre tratamentos. A proporción de AG poliinsaturados do leite foi máis elevada no leite dos tratamentos con ensilaxe de leguminosas comparado co de raigrás, sendo a máis elevada a correspondente ao trevo violeta, con valores medios (%AGt) de AGPI de 2.95 (RG), 3.66 (TV), 3.38 (TB) e 3.54 (AL). A proporción no leite de C18:3n3, C18:2n6c, total de AG omega-6 e omega-3 seguiu o mesmo patrón, con valores máis elevados para as vacas que consumiron as ensilaxes de leguminosas comparados co de raigrás e valores medios (en % AGt) de 0.40 vs. 0.62 para C18:3n3, 1.44 vs. 1.70 para C18:2n6c, 1.91 vs. 2.22 para omega-6 total e 0.54 vs 0.77 para omega-3 total, RG e leguminosas, respectivamente. O leite producido polas vacas que consumiron ensilaxe de trevo violeta mostraron os valores máis altos para os AG omega-3 total (0.92 %) e C18:3n3(0.76 %) e o máis baixo para o ratio omega-6/omega-3 (2.46 para TV, comparado con 3.63 para RG, 3.38 para TB e 3.14 para AL). Non se observaron diferenzas entre tratamentos para a proporción de CLA, que de media tivo un valor de 0.52 %AGt, claramente por baixo (ao igual que os AGPI discutidos anteriormente) dos valores observados no ensaio do ano anterior. Non houbo diferenzas significativas entre tratamentos en canto aos índices de calidade dos lípidos, con valores medios de 0.41 para h_H, 3.64 para IA e 3.95 para IT. A transferencia de C18:3n3 ao leite tivo un valor medio de 12.9% , superior á observada o ano anterior. As ensilaxes

de leguminosas mostraron, de media, unha taxa de transferencia significativamente máis elevada comparada coa ensilaxe de raigrás (11.1% vs. 13.5%, RG e leguminosas, respectivamente) sendo novamente a ensilaxe de trevo violeta a que mostrou un valor máis elevado (16.6%) comparado co do trevo branco (12.8%) e da alfalfa (11.1%), que foi numericamente igual ao da ensilaxe de raigrás.

Nas Táboas 4.23 a 4.26 móstranse os valores medios e a desviación típica do conxunto de AG individuais do leite identificados e cuantificados nas cromatografías. A observación da evolución dos AG co avance da lactación ao longo dos experimentos non permite ver unha tendencia definida para ningún dos AG considerados individualmente ou agrupados, manténdose unha proporción entre os AG de cadea curta (até 10 C), cadea media (de 11 a 17 C) e longa (máis de 18 C) practicamente invariábel ao longo do experimento tanto en 2010 como en 2011, con valores de 9.4, 49.5 e 41.1% para o primeiro ano e de 10.2, 57.5 e 32.3% para o segundo, cadeas curta, media e longa, respectivamente.



Táboa 4.21. Efecto do tipo de ensilaxe (raigrás inglés vs. trevo violeta) e da suplementación do concentrado (control vs. aceite de liño) sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (2010)

	Tratamento				s.e.m.	d.m.s.	Contrastes		Significación (P)	
	RG-C	RG-L	TV-C	TV-L			RG vs. TV	C vs L	Tratamento	Período
n	72	72	72	72						
Grupos de ácidos graxos (% AG total)										
AGS	67.55	68.38	64.17	66.02	16.29	1.35	***	***	***	***
AGMI	27.79	26.11	30.36	28.53	6.99	0.88	***	***	***	***
AGPI	3.84	3.76	5.47	5.45	0.32	0.19	***	***	***	***
LA (C18:2n6c)	1.91	1.66	2.48	2.17	0.07	0.09	***	***	***	**
ALA (C18:3n3)	0.54	0.79	1.12	1.47	0.02	0.05	***	***	***	***
CLA	0.53	0.45	0.90	0.76	0.02	0.05	***	***	***	***
OMEGA6	2.51	2.26	3.19	2.92	0.10	0.10	***	***	***	***
OMEGA3	0.71	0.96	1.31	1.69	0.03	0.06	***	***	***	***
OMEGA6_3	3.63	2.39	2.44	1.74	0.07	0.09	***	***	***	***
Índices de calidade dos lípidos										
h_H	0.61	0.58	0.73	0.67	0.01	0.03	***	***	***	***
IA	2.57	2.77	2.15	2.36	0.10	0.11	***	***	***	***
IT	3.07	3.09	2.39	2.41	0.11	0.11	***	***	***	***
Balace de alfa-linolénico										
Inxestión (g/vaca e día)	58.9	158.4	86.5	185.7	103.2	3.39	***	***	***	***
Outuput (g/vaca e día)	4.0	6.1	8.7	11.4	3.76	0.65	***	***	***	***
Transferencia de (%)	6.7	3.8	9.8	6.0	2.06	0.48	***	***	***	***

RG: ensilaxe de raigrás; TV: ensilaxe de trevo violeta; C: concentrado con aceite de soia; L: concentrado con aceite de liño; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteíca; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico.

Táboa 4.22. Efecto do tipo de ensilaxe (especie pratense) sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (2011)

	Tratamento (especie ensilada)				s.e.m.	d.m.s.	Contrastes RG vs. LEG	Significación (P)	
	RG	TV	TB	AL				Tratamento	Período
n	72	72	72	72					
Grupos de ácidos graxos (% AG total)									
AGS	72.15	72.66	73.31	72.94	0.349	0.99	NS	NS	NS
AGMI	24.82	23.61	23.35	23.44	0.041	0.12	NS	NS	NS
AGPI	2.95	3.66	3.38	3.54	0.038	0.11	***	***	**
C18:2n6c	1.44	1.70	1.67	1.74	0.020	0.06	***	***	***
C18:3n3	0.40	0.76	0.52	0.59	0.012	0.03	*	***	***
CLA	0.50	0.52	0.54	0.53	0.014	0.04	NS	***	***
OMEGA6	1.91	2.22	2.17	2.27	0.022	0.06	***	NS	***
OMEGA3	0.54	0.92	0.66	0.74	0.012	0.03	*	***	***
OMEGA6_3	3.63	2.46	3.38	3.14	0.042	0.12	*	***	***
Índices de calidade dos lípidos									
h_H	0.44	0.41	0.40	0.41	0.010	0.03	NS	NS	NS
IA	3.50	3.59	3.76	3.71	0.067	0.19	NS	NS	NS
IT	3.97	3.79	4.12	3.93	0.059	0.17	NS	NS	NS
Balance de alfa-linolénico									
Inxestión (g/vaca e día)	42.7	56.8	53.3	64.7	0.785	2.22	***	***	***
Outuput (g/vaca e día)	4.8	9.1	6.7	7.1	0.176	0.50	*	***	***
Transferencia (%)	11.1	16.6	12.8	11.1	0.415	1.17	NS	***	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico.

Táboa 4.23. Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento (Ano 2010)

<i>n</i>	Tratamento							
	RG-C		RG-L		TV-C		TV-L	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
	72		72	72		72		
AG individuais (% AG total)								
C4:0	3.50	0.20	3.50	0.17	3.54	0.20	3.59	0.23
C6:0	2.55	0.15	2.57	0.13	2.53	0.14	2.61	0.13
C8:0	1.29	0.10	1.32	0.11	1.26	0.13	1.34	0.11
C10:0	1.98	0.30	2.12	0.36	1.86	0.37	2.07	0.37
C11:0	0.27	0.05	0.28	0.05	0.25	0.05	0.28	0.05
C12:0	2.67	0.39	2.90	0.51	2.52	0.47	2.79	0.48
C13:0	0.15	0.03	0.17	0.04	0.14	0.03	0.15	0.03
C14:0	11.45	1.20	11.76	1.23	10.93	1.13	11.50	0.98
C14:1	1.16	0.26	1.12	0.25	1.13	0.24	1.12	0.22
C15:0	1.09	0.11	1.13	0.13	1.14	0.10	1.17	0.12
C16:0	30.29	3.78	30.37	3.64	27.78	2.81	28.55	2.24
C16:1	1.85	0.30	1.80	0.27	1.80	0.27	1.77	0.24
C17:0	0.70	0.06	0.73	0.07	0.74	0.06	0.77	0.05
C17:1	0.22	0.04	0.21	0.03	0.24	0.04	0.24	0.03
C18:0	11.37	1.93	11.28	2.21	11.23	1.96	10.93	1.93
C18:1n9t	2.09	0.41	1.67	0.39	3.25	0.78	2.65	0.51
C18:1n9c	22.44	2.64	21.28	2.67	23.91	2.45	22.72	2.09
C18:2n6t	0.20	0.08	0.22	0.06	0.28	0.09	0.34	0.07
C18:2n6c	1.91	0.32	1.66	0.25	2.48	0.34	2.17	0.25
C20:0	0.18	0.03	0.20	0.04	0.20	0.04	0.21	0.05
C18:3n6	0.18	0.03	0.16	0.03	0.20	0.04	0.18	0.02
C20:1	0.03	0.02	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01
C18:3n3	0.54	0.16	0.79	0.16	1.12	0.16	1.47	0.24
CLA	0.53	0.12	0.45	0.11	0.90	0.22	0.76	0.17
C22:0	0.06	0.03	0.06	0.02	0.06	0.02	0.07	0.02
C20:2n6	0.08	0.02	0.07	0.01	0.08	0.01	0.07	0.01
C20:3n6	0.03	0.02	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01
C20:4n6	0.12	0.03	0.12	0.02	0.13	0.04	0.13	0.03
C22:2	0.08	0.02	0.08	0.02	0.07	0.02	0.08	0.02
C20:5n3	0.06	0.03	0.06	0.01	0.08	0.01	0.09	0.01
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:5n3	0.11	0.02	0.10	0.02	0.12	0.02	0.13	0.02
C22:6n3	0.00	0.02	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00

RG: ensilaxe de raigrás; TV: ensilaxe de trevo violeta; C: concentrado con aceite de soia; L: concentrado con aceite liño; s.d.:desviación estándar. P1: 20 set-10 out; P2: 11 out-31 out; P3: 1 nov-21 nov; P4: 22 nov-10 dec.

Táboa 4.24. Valores medios do perfil de AG do leite, por período (Ano 2010)

	Período do ensaio							
	P1		P2		P3		P4	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
<i>n</i>	72	72	72	72	72	72	72	72
AG individuais (% AG total)								
C4:0	3.65	0.22	3.63	0.16	3.36	0.14	3.49	0.14
C6:0	2.57	0.15	2.60	0.14	2.53	0.13	2.57	0.14
C8:0	1.25	0.13	1.33	0.11	1.31	0.11	1.32	0.11
C10:0	1.80	0.36	2.07	0.34	2.08	0.35	2.08	0.33
C11:0	0.25	0.06	0.28	0.05	0.27	0.04	0.27	0.05
C12:0	2.43	0.47	2.79	0.46	2.83	0.45	2.83	0.44
C13:0	0.14	0.04	0.16	0.03	0.16	0.03	0.15	0.03
C14:0	10.73	1.39	11.43	1.04	11.83	1.04	11.65	0.87
C14:1	1.14	0.29	1.17	0.26	1.11	0.21	1.11	0.21
C15:0	1.14	0.12	1.12	0.10	1.19	0.12	1.07	0.10
C16:0	27.18	3.43	29.81	2.75	30.62	3.45	29.37	2.76
C16:1	1.88	0.31	1.82	0.28	1.79	0.25	1.74	0.22
C17:0	0.74	0.08	0.72	0.05	0.76	0.07	0.73	0.05
C17:1	0.25	0.05	0.22	0.03	0.22	0.03	0.22	0.03
C18:0	11.48	2.12	11.04	2.00	10.83	1.86	11.46	1.99
C18:1n9t	2.79	0.89	2.28	0.62	2.15	0.61	2.45	0.91
C18:1n9c	23.95	3.40	22.57	2.15	21.43	2.24	22.39	1.90
C18:2n6t	0.31	0.10	0.27	0.08	0.20	0.07	0.25	0.07
C18:2n6c	2.00	0.35	2.07	0.36	2.00	0.47	2.15	0.47
C20:0	0.22	0.05	0.20	0.04	0.18	0.03	0.19	0.04
C18:3n6	0.19	0.03	0.17	0.02	0.17	0.02	0.18	0.04
C20:1	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.02
C18:3n3	0.86	0.31	1.08	0.42	0.94	0.42	1.03	0.39
CLA	0.77	0.24	0.60	0.20	0.59	0.21	0.68	0.26
C22:0	0.06	0.02	0.06	0.02	0.07	0.02	0.07	0.02
C20:2n6	0.07	0.01	0.07	0.01	0.08	0.01	0.08	0.02
C20:3n6	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.03
C20:4n6	0.15	0.03	0.11	0.02	0.11	0.02	0.13	0.02
C22:2	0.07	0.01	0.08	0.02	0.08	0.02	0.08	0.02
C20:5n3	0.07	0.02	0.08	0.02	0.07	0.02	0.08	0.03
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:5n3	0.11	0.02	0.12	0.02	0.12	0.02	0.11	0.03
C22:6n3	0.01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

RG: ensilaxe de raigrás; TV: ensilaxe de trevo violeta; C: concentrado con aceite de soia; L: concentrado con aceite de liño; s.d.:desviación estándar. P1: 20 set-10 out; P2: 11 out-31 out; P3: 1 nov-21 nov; P4: 22 nov-10 dec.

Táboa 4.25. Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento (Ano 2011)

<i>n</i>	Tratamento							
	RG		TV		TB		AL	
	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>
	72		72		72		72	
AG individuais (% AG total)								
C4:0	3.50	0.13	3.48	0.15	3.46	0.11	3.46	0.09
C6:0	2.15	0.12	2.64	0.14	2.63	0.16	2.64	0.10
C8:0	1.34	0.12	1.32	0.12	1.24	0.16	1.45	0.10
C10:0	2.63	0.43	2.58	0.44	2.72	0.54	2.80	0.37
C11:0	0.33	0.06	0.32	0.05	0.33	0.06	0.34	0.05
C12:0	3.68	0.60	3.59	0.63	3.80	0.72	3.96	0.59
C13:0	0.21	0.05	0.20	0.05	0.22	0.04	0.23	0.05
C14:0	13.14	1.43	13.11	1.26	13.29	1.54	13.77	1.16
C14:1	1.21	0.34	1.20	0.30	1.15	0.36	1.27	0.31
C15:0	1.35	0.18	1.44	0.21	1.46	0.16	1.53	0.24
C16:0	33.19	3.60	34.40	2.75	34.60	3.27	33.47	2.95
C16:1	2.14	0.50	2.00	0.46	2.13	0.52	2.01	0.37
C17:0	0.77	0.09	0.77	0.08	0.78	0.07	0.78	0.10
C17:1	0.30	0.10	0.28	0.06	0.28	0.06	0.29	0.05
C18:0	9.03	1.61	8.48	1.20	8.32	1.43	8.30	1.21
C18:1n9t	1.44	0.44	1.72	1.77	1.41	0.40	1.50	0.56
C18:1n9c	19.72	3.15	18.39	2.43	18.24	3.20	18.35	2.04
C18:2n6t	0.15	0.04	0.18	0.04	0.16	0.03	0.18	0.04
C18:2n6c	1.44	0.13	1.70	0.20	1.67	0.22	1.74	0.23
C20:0	0.16	0.03	0.16	0.03	0.15	0.02	0.15	0.03
C18:3n6	0.14	0.03	0.15	0.03	0.14	0.03	0.15	0.02
C20:1	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01
C18:3n3	0.40	0.08	0.76	0.13	0.52	0.13	0.59	0.14
CLA	0.50	0.13	0.52	0.13	0.54	0.13	0.53	0.12
C22:0	0.08	0.02	0.07	0.02	0.07	0.02	0.07	0.02
C20:2n6	0.08	0.02	0.08	0.01	0.08	0.01	0.08	0.01
C20:3n6	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01
C20:4n6	0.09	0.02	0.10	0.02	0.10	0.02	0.10	0.02
C22:2	0.08	0.02	0.08	0.01	0.07	0.02	0.08	0.02
C20:5n3	0.07	0.01	0.07	0.01	0.06	0.01	0.07	0.01
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
C22:5n3	0.08	0.01	0.09	0.01	0.09	0.01	0.09	0.01
C22:6n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; P1: 26 set-16 out; P2: 17 out - 6 nov.; P3: 7 nov-27 nov; P4: 28 nov-18 dec; *s.d.*: desviación estándar

Táboa 4.26. Valores medios do perfil de AG do leite, por período (Ano 2011)

<i>n</i>	Período do ensaio							
	P1		P2		P3		P4	
	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>
	72		72	72		72		
AG individuais (% AG total)								
C4:0	3.45	0.11	3.50	0.13	3.37	0.11	3.49	0.12
C6:0	2.63	0.10	2.70	0.15	2.56	0.13	2.62	0.13
C8:0	1.43	0.12	1.48	0.15	1.40	0.12	1.41	0.11
C10:0	2.68	0.48	2.68	0.48	2.78	0.48	2.60	0.38
C11:0	0.33	0.05	0.30	0.05	0.32	0.04	0.36	0.04
C12:0	3.74	0.69	3.63	0.64	4.02	0.71	3.74	0.54
C13:0	0.21	0.05	0.22	0.04	0.20	0.05	0.21	0.05
C14:0	13.45	1.58	12.99	1.41	13.71	1.15	13.26	1.05
C14:1	1.28	0.29	0.96	0.30	1.23	0.19	1.38	0.29
C15:0	1.43	0.22	1.42	0.20	1.47	0.16	1.46	0.21
C16:0	33.30	3.62	33.56	3.25	33.64	2.50	35.81	2.44
C16:1	2.10	0.43	1.98	0.41	1.77	0.31	2.27	0.54
C17:0	0.81	0.08	0.79	0.10	0.78	0.05	0.72	0.07
C17:1	0.32	0.08	0.27	0.06	0.26	0.04	0.28	0.06
C18:0	8.62	1.55	9.02	1.15	9.07	1.39	7.69	1.01
C18:1n9t	1.33	0.30	1.77	0.49	2.05	2.74	1.25	0.27
C18:1n9c	19.34	3.43	18.99	3.19	17.33	1.92	18.20	1.05
C18:2n6t	0.17	0.04	0.16	0.03	0.17	0.04	0.18	0.04
C18:2n6c	1.54	0.18	1.59	0.22	1.83	0.25	1.70	0.22
C20:0	0.15	0.03	0.16	0.03	0.16	0.03	0.16	0.03
C18:3n6	0.15	0.02	0.15	0.03	0.13	0.03	0.15	0.03
C20:1	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01
C18:3n3	0.51	0.14	0.57	0.18	0.72	0.23	0.57	0.17
CLA	0.46	0.14	0.58	0.13	0.51	0.08	0.53	0.08
C22:0	0.07	0.02	0.08	0.01	0.07	0.01	0.07	0.02
C20:2n6	0.07	0.02	0.08	0.01	0.08	0.01	0.09	0.01
C20:3n6	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
C20:4n6	0.10	0.02	0.10	0.02	0.10	0.01	0.09	0.02
C22:2	0.07	0.02	0.09	0.02	0.07	0.02	0.07	0.02
C20:5n3	0.07	0.01	0.07	0.01	0.07	0.02	0.06	0.01
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:5n3	0.08	0.01	0.09	0.01	0.08	0.01	0.08	0.01
C22:6n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; P1: 26 set-16 out; P2: 17 out - 6 nov.; P3: 7 nov-27 nov; P4: 28 nov-18 dec; *s.d.*:desviación estándar

4.3.6.3. Variación de peso vivo e condición corporal das vacas

Tanto no primeiro como o segundo ano as vacas gañaron peso e condición corporal (CC) durante o ensaio, como se pode observar na Táboa 4.27. En 2010 os animais pasaron de 602.3 kg e CC 2.35 ao inicio do período 1º a 646.9 kg e CC 2.65 ao finalizar o experimento, cunha ganancia de peso vivo media diaria de 0.53 kg e unha mellora de condición corporal de 0.025 ud. por semana. Tamén en 2011, nun estado de lactación menos avanzado, as vacas recuperaron algo de peso e condición corporal durante o ensaio, pasando de 627.6 kg e CC 2.53 ao inicio do período 1º a 642.2 kg e CC 2.62 ao finalizar o experimento, cunha ganancia de peso vivo media diaria de 0.17 kg/d e unha mellora de condición corporal de 0.007 ud. por semana.

Táboa 4.27. Peso vivo e condición corporal das vacas ao longo do experimento

	Inicio	Final P1	Final P2	Final P3	Final P4
Ano 2010					
Peso vivo, kg	602±40.7	613±45.3	625±48.0	633±45.1	646±47.4
Condición corporal	2.35±0.29	2.38±0.31	2.43±0.26	2.58±0.37	2.65±0.37
Ano 2011					
Peso vivo, kg	627±52.2	643±50.1	652±50.5	643±50.9	642±50.3
Condición corporal	2.53±0.31	2.52±0.26	2.61±0.32	2.50±0.19	2.62±0.28

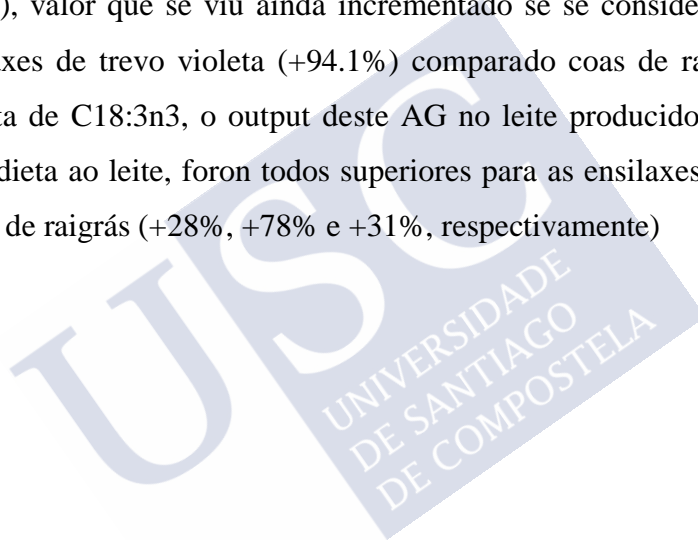
Período do ensaio en 2010 P1: 20 set-10 out; P2: 11 out-31 out; P3: 1 nov-21 nov; P4: 22 nov-10 dec.

Período de ensaio en 2011) P1: 26 set-16 out; P2: 17 out - 6 nov.; P3: 7 nov-27 nov; P4: 28 nov-18 dec.

4.3.7. **Resumo de resultados**

Na Táboa 4.28 seguinte resúmense os resultados observados nos dous ensaios sobre a produtividade animal e calidade do leite, promediando os valores correspondentes aos distintos grupos de ensilaxes e obtendo a resposta media ao uso de leguminosas tomando como referencia os resultados obtidos coas ensilaxes de raigrás inglés. A inxestión voluntaria da dieta con ensilaxes de leguminosas foi un 6.5% superior á da dieta con ensilaxe de raigrás. En canto á produción de leite (estandarizada ao 3.5% MG e 3.2% MP) foi case un 5% superior para as ensilaxes de leguminosas, co cal a eficiencia de transformación da MS inxerida en leite foi lixeiramente superior para as ensilaxes de raigrás (1.44 vs. 1.40 kg leite/kg MS). A porcentaxe de materia graxa do leite de vacas que consumiron ensilaxes de leguminosas foi aproximadamente un 4% inferior á correspondente do tratamento de raigrás. En consecuencia, o incremento do output diario de graxa nas dietas con ensilaxes de leguminosas foi unicamente dun 2.9% comparado co incremento do 6.0 para a proteína ou o 6.8% para o extracto seco magro.

En canto ao perfil graxo do leite, se ben a proporción de AG saturados e de AG monoinsaturados non se viu practicamente modificada polo consumo de ensilaxes de leguminosas (AGPI: -1.5%, AGMI: +2.2%) con relación a RG, observase que as dietas con ensilaxe de leguminosas presentaban un perfil de AG do leite máis saudábel. Así, as porcentaxes (referidas a AGt) de CLA víronse incrementadas nun 37%, un 65% a de AG omega-3 total, un 33% a de AG poliinsaturados e o ratio omega-6/omega-3 diminuíu un 23% . Con relación aos índices de calidade dos lípidos, o leite procedente das ensilaxes de leguminosas presentou un ratio entre AG hipo e hiper-colesterolémicos un 7% inferior ao correspondente ás ensilaxes de raigrás. Saliéntase que o incremento da concentración de C18:3n3 no leite polo uso de ensilaxes de leguminosas foi moi alto (+81% de media), valor que se viu aínda incrementado se se considera illadamente o efecto das ensilaxes de trevo violeta (+94.1%) comparado coas de raigrás inglés. Os valores de inxesta de C18:3n3, o output deste AG no leite producido e a súa taxa de transferencia da dieta ao leite, foron todos superiores para as ensilaxes de leguminosas comparadas coas de raigrás (+28%, +78% e +31%, respectivamente)



Táboa 4.28. Resumo dos efectos medios do tipo de ensilaxe sobre a produtividade e calidade do leite

	Valores medios			Efecto medio	
	RG	LEG	TV	LEG vs. RG	TV vs. RG
Producción de leite (PL, kg/día)					
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2% MP	26.7	28.0	27.6	4.8%	3.5%
Producción de sólidos (kg/día)					
Materia graxa	1.00	1.03	1.03	2.9%	2.2%
Materia proteica	0.79	0.84	0.82	6.0%	3.1%
Extracto seco magro	2.14	2.29	2.25	6.8%	4.9%
Sólidos totais	3.14	3.32	3.27	5.6%	4.0%
Composición fisicoquímica do leite					
Materia graxa (%)	4.02	3.85	3.86	-4.2%	-3.9%
Materia proteica (%)	3.18	3.15	3.10	-1.2%	-2.5%
Lactosa (%)	4.66	4.69	4.68	0.7%	0.6%
Extracto seco magro (%)	8.60	8.58	8.53	-0.3%	-0.9%
Urea (mg/L)	258.7	243.2	260.1	-6.0%	0.5%
Inxestión de materia seca					
IMS unifeed (kg/vaca e día)	18.5	19.7	19.6	6.5%	5.7%
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.44	1.40	1.40	-2.5%	-3.1%
Grupos de ácidos graxos (% AG total)					
AGS	70.1	69.0	68.9	-1.5%	-1.7%
AGMI	25.9	26.5	26.5	2.2%	2.5%
AGPI	3.37	4.49	4.56	33.2%	35.2%
C18:2n6c	1.61	2.01	2.01	25.1%	25.0%
C18:3n3	0.53	0.96	1.03	81.1%	94.1%
CLA	0.50	0.68	0.67	37.0%	35.8%
OMEGA6	2.15	2.64	2.64	22.8%	22.8%
OMEGA3	0.69	1.14	1.21	65.5%	75.9%
OMEGA6_3	3.32	2.54	2.28	-23.4%	-31.4%
Índices de calidade dos lípidos					
h_H	0.52	0.55	0.55	7.3%	7.6%
IA	3.02	3.05	3.06	0.8%	1.2%
IT	3.27	3.22	3.26	-1.5%	-0.1%
Balace de alfa-linolénico					
Inxestión (g/vaca e día)	75.7	97.2	96.4	28.5%	27.5%
Output (g/vaca e día)	5.0	8.8	9.6	78.2%	92.7%
Transferencia (%)	8.2	10.7	12.3	31.3%	50.4%

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; LEG: especies leguminosas; MG: materia graxa; MP: materia proteica; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipocolesterolémico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico.

4.4. DISCUSIÓN

As ensilaxes das leguminosas forraxeiras (trevo branco, alfalfa e trevo violeta) deste ensaio mostraron maiores contidos proteicos en comparación coa ensilaxe de raigrás inglés, coincidindo con numerosos estudos (Minson, 1990; Bues *et al.*, 2013; Dewhurst *et al.*, 2009; Phelan *et al.*, 2015). A este respecto, Kalac (2017) indica a existencia dunha forte correlación positiva entre o contido de nitróxeno dunha forraxe e o contido en AGt e ácido α -linoléico. O maior contido en PB das leguminosas observado no noso traballo vese acompañado por un maior contido en AGt e ALA, coincidindo tamén coas observacións de Arvidsson (2009); Palladino *et al.* (2009) e Khan *et al.* (2012). En canto á proporción de AG individuais, no perfil graxo do raigrás inglés destaca a maior proporción de alfa-linoléico e o menor contido de ácido linoleico comparado coas especies leguminosas, en concordancia coas observacións de Glasser *et al.* (2013). O valor enerxético da ensilaxe de trevo branco foi superior ao de alfalfa e trevo violeta, coincidindo co sinalado por Peyraud *et al.* (2009) e Wilman e Riley (1993) e confirmando o alto valor nutricional desta especie leguminosa.

As condicións climáticas favorábeis durante o presecado realizado no ano 2010, ocasionaron unhas ensilaxes cuns valores de MS elevados, que se traduciron nunha fermentación restrinxida no silo, caracterizada por unha menor concentración de ácidos de fermentación e maior valor de pH (Chamberlain e Wilkinson, 1996). A redución do contido en AG da forraxe polo efecto do presecado no campo foi posto de manifesto por diversos autores, entre eles Ardvison (2009) e Khan *et al.* (2012), sinalando que a duración do período de presecado é, conxuntamente co estado de madurez da herba no momento da sega, o principal factor que afecta ao contido e composición en AG. Este aspecto puido ser claramente comprobado no experimento de 2011 onde se observaron reducións na concentración de AGt entre a sega e o ensilado de entre -16% e -27% ás 24 h de presecado e de entre -29 e -41% ás 48 h de permanencia no campo, tendo todas as especies un comportamento non significativamente diferente, a este respecto. As recomendacións extraídas dos traballos no CIAM e da bibliografía sobre este tema, aconsellan reducir a duración do presecado da herba no campo ao mínimo de tempo que permita compatibilizar a obtención dun contido en MS da forraxe no entorno do 30% para asegurar unha boa conservación, cunha moderada redución da concentración de AGt. As diferenzas observadas entre os valores das mostras tomadas durante as

operacións de ensilado en gran parcela no experimento de 2011 cando se compara a concentración de ALA da herba no momento da sega co da herba presecada no momento do encintado, situáronse no entorno do 25% para os tratamentos de raigrás inglés e de trevo violeta, incrementándose ao 30% para a alfalfa e chegando ao 48% para o trevo branco, o cal se atribúe a que permaneceron algo máis de tempo na parcela e que as condicións de secado no campo se tornaron máis favorábeis para a alfalfa e sobre todo o trevo branco, que foron os últimos en ser recollidos pola tarde tras un día soleado e caloroso, o que podería suxerir que parte da redución na concentración de AGt e do maioritario ALA se debese á perda física de follas demasiado secas durante as labores de encarreirado e posterior rotoempacado da forraxe. Como indican, entre outros autores, Dewhurst e King (1998) e Elgersma *et al.* (2003b), durante a fermentación da forraxe prodúcense procesos fundamentalmente de lipólise dos AG, aumentando a fracción non esterificada, sen que haxa unha redución importante do contido total en AGt nin unha modificación do perfil de AG. O incremento da proporción de AG non esterificados incrementará posteriormente a intensidade da biohidroxenación ruminal dos AG mono e poliinsaturados en comparación á forraxe fresca orixinal (Dewhurst *et al.*, 2006; Van Soest, 1994; Baumont *et al.*, 2011). As pequenas variacións no contido en AGt na MS das ensilaxes utilizadas no ensaio de alimentación, en relación ao observado nas rotopacas no momento do encintado, confirman o correcto proceso de ensilado levado a cabo, mediante unha boa compactación das rotopacas e un selado adecuado co film plástico, típico das rotopacas de forraxes presecadas (Sprague, 1974).

A cantidade de forraxe consumido é o principal determinante da produción animal a partir de dietas a base de forraxes. A calidade nutricional das gramíneas e leguminosas forraxeiras, afecta de maneira determinante á produción de leite. Varios traballos sinalan a maior produción de leite obtida con ensilaxes de leguminosas en comparación con ensilaxes de gramíneas, o cal atribúese principalmente á maior inxestibilidade que presentan as especies leguminosas (Dewhurst *et al.*, 2009; Peyraud *et al.*, 2009). Como resultado dunha metanálise realizada para investigar os efectos da proporción de leguminosas na ensilaxe sobre a inxesta en vacas leiteiras (Huhtanen *et al.*, 2007) foi observada unha resposta cuadrática ao aumento do contido de leguminosas na ración, non incrementándose a inxesta a partir do 80% de leguminosas na MS. Similarmente,

Castle *et al.* (1983) observaron que o incremento da presenza de trevo branco na forraxe ensilada de 0 a 70% resultou no aumento da inxestión un 11% o cal provocou un aumento de 19.0 a 21.0 kg/vaca e día na produción de leite. Nunha revisión realizada por Steinshamn (2010), na que se examinaron os resultados de 20 experimentos publicados que comparaban a alimentación de vacas leiteiras con ensilaxes de especies de leguminosas vs. gramíneas, comprobouse que, de media, as ensilaxes de leguminosas mostraban un maior consumo voluntario (18.3 vs. 20.0 Kg MS/día) e unha maior produción de leite (26.2 vs. 27.9 kg/día). Noutro traballo, Naadland *et al.* (2017) avaliaron o efecto do ratio ensilaxe leguminosa:gramínea, en racións ofrecidas a vacas en lactación, observando que o aumento da porcentaxe de raigrás na ración diminuíu a inxesta nun 7%, se ben o valor de dixestibilidade da FND no tracto dixestivo incrementábase. Dewhurst *et al.* (2003c) observaron un incremento de 2 a 3 kg de materia seca na inxesta de ensilaxe de trevo branco ou violeta en comparación con raigrás inglés. Halmemies-Beauchet-Filleau *et al.* (2014) estudaron o efecto do reempazamento de ensilaxe de gramíneas con ensilaxe de trevo violeta sobre a inxestión de MS, a produción de leite e o metabolismo do nitróxeno en dietas de vacas en lactación, observando maiores inxestións de MS e producións de leite cando se ofreceu a ensilaxe de gramíneas e a ensilaxe de trevo violeta mesturado que cando se ofreceron por separado.

Esta vantaxe da maior inxestibilidade das leguminosas por parte dos animais está asociada ao diferente contido e estrutura química da parede celular (FND), xa que o potencial de inxestión dunha forraxe está estreitamente relacionado con seu contido de FDN. O enchido físico do rume limita a inxesta de forraxes con alto contido de FDN, cando se alimenta a animais que teñen altas demandas de enerxía, como as vacas leiteiras de alta produción. A inxesta de leguminosas é xeralmente máis alta que a das gramíneas debido ao menor contido en parede celular, maior contido en proteína bruta e taxas de paso máis rápidas pola redución do tamaño de partícula no rume (Rook e Yarrow, 2002), a pesar dos contidos de lignina máis elevados. Estudos realizados sobre a cinética da fermentación ruminal, mostraron que as diferenzas na estrutura e contido das paredes celulares mencionadas anteriormente, provocan un aumento na taxa de paso das leguminosas, explicando a maior capacidade de consumo destas últimas, comparadas coas gramíneas (Kuoppala *et al.*, 2009). Allen (1996) estima que ao

incrementarse a densidade das partículas no rume, o tempo de retención acúrtase, ademais, o aumento da gravidade do tamaño de partícula é probabelmente maior nas leguminosas que nas gramíneas, debido á taxa de dixestión máis acelerada da FND potencialmente dixestible, o cal promove un aumento na taxa de paso. No presente traballo as vacas que consumiron ensilaxes de leguminosas mostraron un incremento medio da inxesta voluntaria de 1.2 kg/vaca e día e un aumento na produción de leite diaria de 1.3 kg/vaca, en comparación coas vacas que consumiron ensilaxe de raigrás inglés, co cal estes resultados confirman, en liñas xerais, os indicados anteriormente. Na revisión realizada por Steinshamn (2010) indícase que as vacas que consumiron ensilaxes de leguminosas, comparadas coas que consumiron ensilaxes de raigrás, mostraron de media un incremento na IMS diaria de 1.6 kg e de 1.6 kg de produción diaria de leite, incrementos comparábeis aos observados neste traballo. Outros autores avaliaron o aumento no consumo da ensilaxe de trevo violeta vs. raigrás (Bertilsson e Murphy, 2003; Dewhurst *et al.*, 2003b; Al-Mabruk *et al.*, 2004), obtendo incrementos de inxesta voluntaria do 5.7%, comparábeis aos obtidos no presente traballo. O tratamento que inclúe ensilaxe de trevo branco foi o que mostrou a maior IMS, coincidindo este resultado co indicado por diversos autores que recoñecen o alto valor nutricional desta especie leguminosa, entre eles Thomson (1984), que sinala un incremento constante dun 20% na inxestión voluntaria do trevo branco en comparación con RG, independentemente da especie ruminante (ovella, vaca) e do tipo de forraxe (fresca, ensilada ou seca).

O rendemento en leite das vacas alimentadas con ensilaxes de leguminosas foi un 4.8 % superior, en comparación coas ensilaxes de raigrás, en concordancia cos resultados obtidos por diversos autores, entre eles Moorby *et al.* (2009). No ensaio de 2011, as diferenzas na produción de leite entre as ensilaxes das tres especies de leguminosas avaliadas mostraron a superioridade do trevo branco, en liña co alto valor nutricional desta especie e coincidindo cos resultados de Bertilsson e Murphy (2003). Como indican, entre outros autores Dewhurst *et al.* (2003a) e Baumont e Deswysen (1991) as comparativamente maiores inxestas das ensilaxes de trevo branco deberíanse fundamentalmente ao menor contido en paredes celulares desta especie, que, unido á maior dixestibilidade desta fracción, obtén unha taxa de fermentación ruminal máis

elevada e en consecuencia, maior obtención de nutrientes que se traduce nunha maior produción de leite.

Os tratamentos con ensilaxes de leguminosas, en comparación con ensilaxe de raigrás, mostraron unha redución dun 4,2% no contido en graxa do leite producido. Neste sentido, como media dos ensaios revisados por Steinshamn (2010), indícase que o consumo de ensilaxes de leguminosas reduce o contido en graxa do leite en 1.2 décimas, en comparación co raigrás. Na presente tese, a redución observada foi comparábel, cunha diminución do contido en graxa 1.7 décimas para o leite producido en base a ensilaxe de leguminosas, sendo o rendemento en materia graxa lixeiramente superior para os tratamentos de leguminosas, comparados co raigrás. O menor contido en graxa do leite das dietas que inclúen ensilaxes de leguminosas asóciase, en primeiro lugar, cun menor contido en fibra nestas dietas, sen descartar a posibilidade de actuación de determinados metabolitos da biohidroxenación ruminal con carácter antilipoxénico, como os AG *trans* do C18:1 (Bauman *et al.*, 2008, Vanhatalo *et al.*, 2007), se ben as escasas diferenzas observadas nos valores medios destes AG *trans* no experimento do ano 2011 permiten descartar esta hipótese.

Por outra banda, o contido en proteína no leite producido nos diferentes tratamentos foi superior para as ensilaxes de raigrás en 2010, comparado co trevo violeta, e as ensilaxes de raigrás e de trevo branco en 2011, comparadas coas de trevo violeta e alfalfa. A superior dixestibilidade e contido enerxético das ensilaxes de raigrás e de trevo branco, comparadas co trevo violeta explicarían o maior contido proteico do leite, sendo suficiente a achega proteica do concentrado para compensar o menor valor proteico do raigrás inglés. O menor valor proteico do leite do tratamento de trevo violeta comparado co de alfalfa, non estaría xustificado polo menor valor enerxético da ensilaxe de trevo comparado coa de alfalfa, toda vez que non foron significativamente diferentes, se ben o maior contido en urea do leite da ensilaxe de trevo violeta en 2011, comparado co de alfalfa, suxire unha utilización da PB menos eficiente no primeiro caso, discrepando cos resultados da bibliografía que indican unha mellor utilización do N nas ensilaxes de trevo violeta, comparados con outras especies de leguminosas (por exemplo, Dewhurst *et al.*, 2003a; Dewhurst *et al.*, 2006), se ben outros autores mostran resultados coincidentes cos observados no presente traballo (Moorby *et al.*, 2009) en canto a un menor teor proteico do leite de vacas alimentadas con ensilaxes de trevo violeta.

A suplementación das dietas con aceites vexetais, non ocasionou efectos significativos na produción de leite e sólidos do leite, nin na inxestión de MS, se ben observouse que as dietas de ensilaxe suplementadas con aceite de soia reducían o contido en graxa do leite comparadas coas suplementadas con aceite de liño, o cal se relaciona coa maior concentración no leite de AG *trans* do C18:1 no primeiro caso (Bauman *et al.*, 2008), mentres o contido proteico do leite era lixeiramente superior neste último caso. A información bibliográfica acerca da variación na composición fisicoquímica do leite como resposta á suplementación con liño é moi diversa. Por exemplo, Flowers *et al.* (2008) observan un incremento no contido en materia graxa e proteica do leite de vacas suplementadas con aceite de liño, coincidindo cos presentes resultados, mentres Flachowsky *et al.* (2006) comprobaron como o contido de graxa se reducía cando se engadía liño na ración e outros autores, como (Bu *et al.*, (2007) observaron que esta adición non tivo ningún efecto sobre o contido en graxa ou en proteína.

Os resultados da bibliografía acerca do efecto da suplementación da dieta con aceites vexetais sobre a produción de leite e de sólidos do leite é moi variado, dependendo da concentración enerxética das dietas experimentais, do posíbel efecto depresor da dixestibilidade da MS por un exceso de graxa na ración e da variación na composición fisicoquímica do leite. Benchaar *et al.* (2012) observan que o aumento lineal da suplementación na dieta até do 4% da MS con semente de liño (2, 3, 4 %) provoca un aumento na produción de leite, mentres Roy *et al.* (2006) non atopan diferenzas entre o consumo de dietas suplementadas ou non co 5% da MS con semente de liño extrusionada, a un nivel semellante ao empregado no presente traballo, coincidindo coa observación de Loor *et al.* (2005), neste caso cun 3% de suplementación da MS con semente de liño.

O importante incremento en AG poliinsaturados do leite producido nos tratamentos de ensilaxes de leguminosas, en comparación co raigrás, observados no presente traballo concordan, en liñas xerais, coas indicacións de diversos autores (Von Shacky *et al.*, 1999, Dewhurst *et al.*, 2003b; Lourenço *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2009a) que sinalan que as vacas que consumen dietas que inclúen as ensilaxes de trevos violeta e branco producen leite e carne cun mellor perfil lipídico, desde o punto de vista da saúde humana. En relación ao ratio omega-6/omega-3 do leite, considerado como un importante parámetro na caracterización de produtos saudábeis (Simopoulos, 2016) é de

salientar que, se ben a dieta que incluía ensilaxes de leguminosas incrementou tanto os contidos totais en AG omega-3 como omega-6, o incremento do primeiro grupo foi tres veces superior ao segundo, co cal a relación omega-6/omega-3 reduciuse proporcionalmente, mellorando as características da graxa do leite. Das ensilaxes de leguminosas avaliadas, o trevo violeta foi a especie que mostrou unha maior redución desta relación e por tanto mostrou un efecto máis favorábel, a este respecto. Os resultados obtidos concordan con outros traballos (por exemplo, Dewhurst *et al.*, 2003a; Elgersma *et al.*, 2006; Moorby *et al.*, 2009) que poñen de manifesto a potencialidade das ensilaxes de leguminosas, especialmente do trevo violeta, para mellorar o perfil graxo do leite de vaca, desde o punto de vista da saúde humana.

Existe numerosa información experimental que demostra que a suplementación de dietas de vacas de leite con aceite de liño permite incrementar o contido en AG poliinsaturados do leite, en particular os do grupo omega-3 e CLA (por exemplo, Dhiman *et al.*, 1999 ; Lock y Garnsworthy, 2002; Dewhurst *et al.*, 2006), sendo coñecido que a suplementación con aceites vexetais ricos en LA é máis efectiva para incrementar o contido en CLA do leite comparada coas sementes ricas en ALA (Dhiman *et al.*, 2000). O cal coincide cos resultados obtidos no experimento de 2010 onde o leite dos tratamentos suplementados con aceite de soia mostrou valores de CLA superiores ao leite producido nos tratamentos suplementados con semente de liño, acontecendo á inversa para a concentración de ALA, que se ve especialmente incrementada no tratamento que combina a ensilaxe de trevo violeta coa suplementación con liño.

O contido en ALA do leite producido co tratamento de ensilaxe de trevo violeta duplicou o contido deste poliinsaturado no leite en comparación co tratamento de ensilaxe de raigrás. Cómpre destacar os contidos medios en ALA do leite producido polas vacas que consumen ensilaxe de TV que foron sempre superiores a 0.9, valor mínimo marcado pola industria leiteira para a diferenciación deste leite, criterio que non se cumpre no leite producido nos tratamentos coas outras ensilaxes sen suplementación con aceites vexetais avaliadas neste traballo. Dewhurst *et al.* (2003b) observaron que o contido en ALA no leite chegábase a triplicar no caso de dietas constituídas por unha alta porcentaxe de ensilaxe de trevo violeta, en comparación con dietas baseadas en ensilaxe de raigrás, observando Moorby *et al.* (2009) un efecto semellante. Nun estudo

onde se comparaba a utilización de ensilaxes de trevo violeta en dun pasto de gramíneas na dieta de vacas leiteiras alimentadas *ad libitum* con ensilaxe e suplementadas con 9 kg de concentrado, Vanhatalo *et al.* (2007) comprobaron que a utilización do trevo violeta permitía aumentar o contido de AG poliinsaturados na graxa do leite, en particular de LA e ALA, reducindo paralelamente a concentración de AG saturados. Indican tamén, que o efecto de utilizar ensilaxe de trevo violeta colleitado precozmente no perfil lipídico do leite foi equivalente a engadir diariamente ao concentrado entre 250 y 500 g de aceites vexetais. A capacidade do trevo violeta para promover unha alta taxa de transferencia de AG poliinsaturados da forraxe ao leite está relacionada coa actividade da enzima polifenol-oxidasa (PPO) que reduce o alcance dos procesos proteolíticos (Hatfield y Muck, 1999) e lipolíticos (Dewhurst *et al.*, 2006) na planta tras a colleita e no rume, cando se consume tanto fresca como en forma de ensilaxe.

Na citada revisión realizada por Steinshamn (2010) sobre oito experimentos nos que compara as dietas baseadas en ensilaxe de TV vs. ensilaxe de RG, conclúe que a inclusión de ensilaxe de TV aumenta a proporción de ácido α -linolénico no leite, cun promedio entre 0.53 e 0.91%, e a relación omega6/omega3 diminúe de 2.7 para o leite procedente de dietas con ensilaxe de RG a 1.9 nas dietas con ensilaxe de TV. Resultados que concordan cos obtidos nos ensaios deste traballo, no que o leite producido en base a ensilaxe de TV obtivo os valores máis baixos na relación omega6/omega3 das 5 especies avaliadas con valores de 2.46 (2011) e 2.44 (2010), fronte a 3.63 do leite en base a ensilaxe de RG nos dous anos de ensaios.

Leduc *et al.* (2017), comparando ensilaxes de trevo violeta e de alfalfa en dietas de vacas leiteiras observan unha relación negativa entre a inxesta diaria de ALA e a súa produción diaria no leite. Como media dos resultados obtidos no presente traballo, tanto as inxestas de ALA como o seu outup no leite foi superior para as ensilaxes de leguminosas en comparación coas ensilaxes de raigrás, sendo tamén máis elevadas as taxas de transferencia, cun valor medio do 31% superior, para as especies leguminosas comparadas co raigrás e especialmente no caso do trevo violeta, cuxa superioridade chega ao 50% do valor medio das ensilaxes da gramínea. Van Ranst *et al.* (2011) suxiren que a encapsulación dos lípidos de trevo violeta nun complexo proteína-fenol reduce a súa dispoñibilidade á acción dos enzimas lipolíticos no rume e a súa posterior biohidroxenación. Os resultados deste traballo son tamén similares ós sinalados por

Dewhurst *et al.* (2003c), que informaron dunha menor extensión da biohidroxenación ruminal de ALA, e en consecuencia unha maior recuperación aparente, cando comparaban ensilaxes de trevo violeta coas de trevo branco. Unha menor intensidade da biohidroxenación ruminal debido á presenza da enzima PPO na primeira especie (Lee *et al.*, 2004), unido a un incremento da taxa de paso no rume para estas dietas (Vanhatalo *et al.*, 2007), pode ser a explicación dos resultados observados.

4.5. CONCLUSIONES

As ensilaxes de leguminosas mostran vantaxes nutricionais con relación ás ensilaxes de raigrás, con incrementos moderados na inxesta voluntaria e na produción de leite. Cando se suplementa con aceites vexetais dietas baseadas en ensilaxes de pratenses, a calidade dos lípidos do leite é alta, con valores de AG saturados e de C18:3n3 comparábeis aos que se poden observar con vacas que consumen pastos frescos, en particular cando se emprega aceite de liño. Cando as dietas con ensilaxe de pratenses non están suplementadas con aceites vexetais, a calidade dos lípidos do leite é máis baixa, se ben o perfil graxo é mellorado polo consumo de ensilaxe de leguminosas fronte ao ensilaxe de raigrás, e polo de trevo violeta fronte ás outras leguminosas.





5. CAPÍTULO II



CAPITULO II:

Estudo do efecto do tipo de pasto sobre a produción e o perfil de ácidos graxos do leite de vacún: comparación do pastoreo de pradeiras de raigrás e de leguminosas pratenses plurianuais.

4.1. INTRODUCCIÓN

É posíbel producir leite de vacún cun perfil de ácidos graxos máis saudábel, á luz dos coñecementos médicos actuais, a través da subministración ás vacas de suplementos enriquecidos en sementes de oleaxinosas. A utilización en pastoreo da herba de pradeira por vacas en lactación podería permitir obter leite cun perfil de AG superior ou semellante de forma máis económica e sostíbel. Esta posibilidade, sustentada por resultados de diversos estudos consultados, debe ser sen embargo comprobada nas condicións das explotacións galegas, debido tanto ao efecto do xenotipo das especies utilizadas como ao elevado efecto das condicións ambientais e de manexo na concentración e composición de AG das forraxes e a correspondente resposta animal en termos de produción e de variación no perfil de AG do leite. O consumo de forraxeiras pratenses en pastoreo podería permitir manter unha alta produtividade animal e producir un leite cun perfil de AG adecuado aos requirimentos dietéticos actuais. A este respecto, as leguminosas pratenses plurianuais trevo violeta, trevo branco e alfalfa poderían presentar vantaxes nutricionais comparadas co raigrás inglés, podendo haber diferenzas entre aquelas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Deseño experimental

Realizáronse tres experimentos en pastoreo os anos 2010, 2011 e 2012, con vacas que pastoreaban pradeiras monofitas das especies pratenses trevo violeta (*Trifolium pratense* L.), trevo branco (*Trifolium repens* L.) e alfalfa (*Medicago sativa* L.), comparadas coa especie gramínea raigrás inglés (*Lolium perenne* L.) que se utilizou como referencia (tratamentos TV, TB, AL e RG, respectivamente). As especies raigrás inglés e trevo violeta estiveron presentes en tódolos ensaios realizados, tal e como se indica na Táboa 5.1. O deseño experimental foi de cadrado latino completo, cun número de tratamentos (tipos de pasto) igual ao de períodos de ensaio e cinco repeticións (vacas) por

tratamento nos dous primeiros anos de estudo e seis repeticións no terceiro. Os períodos experimentais foron de tres semanas de duración e foron precedidos por un período pre-experimental de dúas semanas de duración.

Os experimentos realizáronse nun período diferente cada ano. En 2010 o período experimental tivo lugar durante o verán, do 26 de xullo ao 26 de setembro, en 2011 tivo lugar na parte final da primavera-comezos de verán, do 25 de abril ao 17 de xullo e en 2012 o experimento realizouse en plena primavera, do 9 de abril ao 10 de xuño. O calendario debeuse a razóns operativas e de dispoñibilidade de animais no proxecto de investigación que sustentou este estudo.

O número de tratamentos foi de tres (RG, TV e AL) en 2010, catro (RG, TV, TB e AL) en 2011 e tres (RG, TV e TB) en 2012. A deficiente implantación do cultivo de alfalfa no primeiro ano fixo descartar os resultados para este tratamento, polo que no presente traballo, no relativo ao experimento realizado no ano 2010, só se ofrecen os resultados obtidos nos pastos de raigrás e de trevo violeta.

Táboa 5.1. Experimentos en pastoreo 2010-2012

Ano de ensaio	Tratamento (tipo de pasto)				Períodos de ensaio	
	RG	TV	TB	AL	Pre-experimental	Experimental
2010	x	x			12-25 xullo	26 xullo-26 setembro
2011	x	x	x	x	11-24 abril	25 abril-17 xullo
2012	x	x	x		26 marzo-8 abril	9 abril-10 xuño

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa

5.2.2. Superficie de ensaio, fertilización e sementeira das pradeiras

Os ensaios realizáronse na finca do Centro de Investigacións Agrarias de Mabegondo (A Coruña, 43° 15' N, 8° 18' W), situada na zona costeira de Galicia a 100 m de altitude s.n.m. Os solos das parcelas de pastoreo eran de tipo cambisol húmico, franco-limosos de profundidade media, moderadamente ácidos (pH 5.66 ± 0.04 , porcentaxe de saturación de aluminio 19.6 ± 5.5) e de riqueza media en fósforo e potasio (P: 24.5 ± 7.4 ppm y K: 249 ± 74.9 ppm).

A superficie destinada a cada tratamento de pastoreo foi de 1.5 ha, sendo utilizadas en total 4.5 ha en 2010 e 2012 e 6.0 ha en 2011, que foron aproveitadas en pastoreo

rotacional durante os períodos de ensaio sinalados na táboa anterior, cunha carga media de 4 vacas/ha. Inicialmente, tódalas parcelas dos tratamentos de pastoreo foron sementadas no outono do ano 2009, debendo ser resemantadas no outono do ano seguinte as parcelas dos tratamentos de alfalfa e de trevo branco debido ás dificultades na implantación destas especies. A fertilización achegada axustouse ao indicado por Piñeiro *et al.* (2009) para cultivos forraxeiros en solos de moderada acidez e contido medio en fósforo e potasa, precedidos por un encalado con calcarias moídas en cantidade equivalente a 1.5 t/ha de óxido de calcio. Como fertilización de fondo aplicáronse 100 kg/ha de P_2O_5 e 150 kg/ha de K_2O en tódalas parcelas, xunto con 50 kg/ha de N unicamente na parcela de raigrás inglés. A fertilización de mantemento anual foi de 50 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O en tódalas parcelas. As leguminosas non recibiron nitróxeno, mentres que o raigrás inglés recibiu un total de 100 kg/ha e ano de N, do que 50 kg/ha foron aplicados á saída do inverno. O resto do N fraccionouse en dúas achegas de 25 kg/ha iguais aplicadas a comezos de xuño e a mediados de xullo no 2010 e a mediados de maio e de xuño en 2011, mentres que no último ano (2012) aplicáronse 50 kg/ha de N tras finalizar o primeiro pastoreo, a comezos de maio.

As sementeiras realizáronse cunha única especie pratense por parcela. A data de sementeira foi a finais de setembro de 2009 para as parcelas de raigrás inglés e de trevo violeta e a finais de setembro de 2010 para a resemantada das de trevo branco e alfalfa. As variedades utilizadas e as doses de sementeira foron, para RG: cv. Heraut a dose de 36 kg/ha, para TV: cv. Lemon a dose de 30 kg/ha, para TB: cv. Haifa a dose de 10 kg/ha e para AL: cv. Europe a dose de 30 kg/ha. A finais de setembro de 2011, tras un pastoreo con alta carga instantánea de vacas secas para apurar a herba, a parcela de trevo violeta foi resemantada coa mesma variedade (cv. Lemmon) a dose de 25 kg de semente/ha utilizando unha máquina de sementeira directa Sulky Unidrill (Sulky Burel S.A., Châteaubourg – Francia).

5.2.3. Animais, manexo e dieta

Nos experimentos utilizáronse vacas leiteiras da raza Holstein do rabaño experimental do CIAM. O número de animais por grupo foi de 5 en 2010 e 2011 e de 6 en 2012, sendo utilizadas en total, respectivamente, 15, 20 e 18 animais. Estas foron agrupadas en tres (anos 2010 e 2012) ou catro (ano 2011) lotes aproximadamente homoxéneos en canto aos valores medios de número de partos, data de parto, produción de leite e peso

vivo, sendo posteriormente asignado ao azar cada lote a un dos respectivos tratamentos. O número de vacas de primeiro parto foi do 40% do total nos dous primeiros anos de ensaio e do 50% no último ano, todas elas procedentes do grupo do rabaño experimental do CIAM con partos de inverno (xaneiro-marzo). En 2010 o ensaio desenvolveuse na época de verán, con vacas que pariron de media o 20 de febreiro, chegando ao comezo do período experimental a principios da segunda metade da lactación con 154 ± 18.0 días en leite (DEL), 597 ± 42.6 kg de peso vivo (PV) e unha produción media de 26.2 ± 4.1 kg/vaca e día. No ano seguinte, a data media de partos foi o 7 de xaneiro, desenvolvéndose o ensaio no terzo central da lactación, con valores medios ao comezo do experimento de 108 ± 16.0 DEL, 586 ± 40.7 kg PV e 28.8 ± 3.6 kg de leite/vaca e día. O último ano (2012) a data media de parto dos animais utilizados foi o 8 de febreiro, desenvolvéndose a execución experimental no primeiro terzo de lactación tras o pico de produción das vacas, con valores medios de 61 ± 18.1 DEL, 558.7 ± 81.9 kg PV e 36.2 ± 7.0 kg de leite/vaca e día ao inicio do primeiro período de ensaio.

As vacas foron muxidas dúas veces ao día, ás 8:00 h e ás 20:00 h. O período de pastoreo tiña lugar polo día, entre as dúas muxiduras de mañá e tarde, permanecendo as vacas estabuladas pola noite. A dieta consistía no consumo de pasto a vontade durante o pastoreo e unha mestura *unifeed* a base de ensilaxe de millo e concentrado durante a estabulación nocturna. A composición dos concentrados empregados durante os experimentos móstrase na Táboa 5.2. A pesaxe e a mestura dos ingredientes foi feita nun carro autopropulsado de dobre eixo horizontal de 4 m^3 especialmente adaptado para a nave experimental de alimentación de vacún de leite, como se describiu no capítulo anterior.

En 2010 a mestura compoñíase de 23 kg de ensilaxe de millo (30.9% MS) e 2.5 kg de concentrado (86% MS), achegando un total de 9.25 kg MS/vaca e día. En 2011 e 2012 as mesturas estaban compostas por 15 kg de ensilaxe de millo (30.1 e 31.2% MS en 2011 e 2012, respectivamente) e 2.5 kg de concentrado por vaca e día. A MS total achegada no comedero ás vacas no segundo e terceiro ano de experimentos foi, respectivamente, de 6.66 e 6.83 kg MS/vaca e día. A ración completa correspondente a cada vaca era pesada durante a descarga do carro mesturador nos comederos individuais de cada vaca, controlado mediante o citado sistema de portas Calan-Broadbent descrito no capítulo anterior. Ao día seguinte comprobábase a existencia de

rexeitados no comedero, sendo estes pesados, no seu caso, nunha báscula con plataforma de solo de forza 600 kg e precisión ± 0.1 kg (WP 2817 Soehnle Industrial Solutions GmbH-Alemania).

O manexo do pastoreo das vacas realizouse coa axuda de dous fíos móbiles electrificados, que se cambiaban cada dous ou tres días. O deseño das subparcelas foi realizado de forma que as vacas dos diferentes tratamentos tivesen sempre acceso a unha zona arborada onde os animais podían descansar á sombra e dispuñan de auga fresca. A superficie media de cada subparcela durante os experimentos variou entre os 500 e os 1500 m² sendo de media 1116 ± 551 m² e o tempo de ocupación oscilou entre un e tres días, con un valor medio de 2.35 ± 0.83 días por subparcela.

Táboa 5.2. Composición do concentrado utilizado nos experimentos

	2010		2011		2012	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
Ingrediente (% MS)						
Fariña de millo	14.8		16.3		20.1	
Fariña de cebada	30.0		49.8		49.6	
Torta de soia 44	45.1		20.0		16.0	
Torta de colza	-		-		8.0	
DDGS de millo	-		10.3		4.5	
Cascarilla de soia	6.1		-		2.0	
Núcleo mineral	2.7		2.5		2.5	
Corrector	1.3		1.1		1.3	
Composición nutricional (%MS)						
MS	86.2	0.86	86.8	1.04	86.5	1.12
MO	93.5	1.87	94.0	1.13	93.6	2.43
PB	29.2	0.73	21.3	0.55	21.0	0.65
FAD	8.4	0.34	6.8	0.17	7.7	0.22
FB	6.7	0.24	5.4	0.12	6.2	0.17
EE	3.7	0.07	4.0	0.06	3.7	0.06
AMD	28.9	0.87	42.6	1.96	44.7	2.23
Valor enerxético						
ENLm (Mcal/kg MS)	1.98	0.039	2.01	0.036	1.99	0.029
Vitaminas						
Vitamina A (UI/kg MS)	30000		30000		30000	
Vitamina D3 (UI/kg MS)	4500		4500		4500	
Vitamina E (alfa-tocoferol, mg/kg)	60		60		60	
Ácidos graxos (% MS)						
Linoleico	1.13	0.029	1.30	0.043	1.28	0.071
Alfa-linolénico	0.14	0.005	0.20	0.009	0.19	0.009
% linoleico s/EE	16.9%		24.1%		20.6%	
% alfa-linolénico s/EE	3.8%		5.0%		5.0%	

s.d.: desviación estándar; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FB: fibra bruta; EE: extracto etéreo; AMD: amidón; ENLm: Enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

5.2.4. Toma de mostras de herba nas parcelas experimentais para determinar o nivel de pasto en oferta

Nas semanas 2ª e 3ª de cada período experimental, en dous días diferentes por semana, tomáronse mostras de herba da subparcela de cada tratamento que correspondía ser pacida inmediatamente antes da entrada das vacas no novo pasto. O número de puntos de mostraxe de cada subparcela eran de cinco, elixidos como representativos das zonas de alta, media e baixa produción da superficie asignada. A mostraxe realizábase utilizando unha máquina eléctrica de 16 cm. de anchura de corte (Makita UM164D, Makita S.A., Coslada-Madrid) en toda a lonxitude dun transecto marcado por un listón de madeira de sección cadrada (5 cm) e 200 cm de longo, sendo efectuado o corte apurando a vexetación aproximadamente ao nivel do solo. A herba cortada, que correspondía a unha superficie de 0.32 m² en cada un dos cinco puntos de mostraxe da subparcela, era recollida nunha bolsa de plástico que, ao finalizar os traballos, era trasladada ao laboratorio onde se pesada e se determinaba o seu contido en MS en estufa de aire forzado a 80°C durante 16 h. Outra parte era utilizada para determinar a proporción da especie sementada, en cada tratamento, na materia seca total da mostra.

No terceiro ano de ensaios (2012) a mostraxe do pasto á entrada das vacas nunha nova subparcela estendeuse á primeira semana de cada período, sendo tomadas mostras en cinco puntos da subparcela correspondente en dous días por cada semana ao igual que os anos anteriores. Previamente ao corte da herba para estimar a produción, en cada un dos cinco puntos de mostraxe e unha vez marcado o transecto, mediuse a altura da herba cada 20 cm (10 medidas/transecto) mediante unha regra graduada provista dunha lámina de metacrilato transparente que se deslizaba ao longo do corpo da regra (HFRO sward-stick, Barthram 1985), sendo rexistrada a altura do primeiro contacto coa masa de herba en cada medida. En cada transecto, asemade, mediuse a altura da herba comprimida por un prato metálico de aluminio (30 cm x 30 cm de superficie e 420 g de peso) deslizante ao longo dun eixo graduado (Rising plate. Frame 1993) a intervalos de 40 cm (5 medidas por transecto). Posteriormente procedeuse ao corte da herba e traslado ao laboratorio da mesma forma mencionada no procedemento dos dous anos anteriores.

5.2.5. Toma de mostras de herba para análises químico-bromatolóxico e perfil de ácidos graxos

A metodoloxía seguida para a toma das mostras para análise foi semellante á descrita no apartado anterior en canto ao número de puntos de mostraxe por subparcela e semanas de toma de mostra. O corte da herba realizábase tomando como referencia a altura do listón de madeira, co cal o corte se efectuaba a uns 6 cm do solo a fin de representar a masa de herba potencialmente consumíbel polas vacas durante o pastoreo. Non se controlaba o peso da herba cortada en cada transecto, sendo embolsada a forraxe e introducida nunha neveira portátil con placas de xeo, que se trasladaba inmediatamente ao laboratorio tras finalizar a mostraxe de cada subparcela para ser procesada como se indica no apartado correspondente.

5.2.6. Toma de mostras de herba para determinación de dixestibilidade *in vivo*

Un día por semana, en cada unha das tres semanas de control do experimento do primeiro ano, ao finalizar un dos controis de pasto sinalados no punto anterior, cortouse a herba nun transecto dunha lonxitude aproximada de 120-150 m utilizando unha motosegadora de 80 cm de anchura de corte (BCS 615 L Max, BCS Ibérica S.A.U. Terrassa, Barcelona), obténdose uns 100-120 kg de herba que foron trasladados á nave metabólica do CIAM e cortados a unha lonxitude teórica de 3-5 cm utilizando unha picadora de forraxe (Galignani P09E, Ravenna-Italia) accionada por tractor, repartidos en sacos de plástico (aprox. 15 kg de materia fresca/saco) e conxelados a -18 °C para ser obxecto dunha avaliación de dixestibilidade *in vivo* con ovinos que se realizou unha vez finalizado o experimento de alimentación das vacas de leite. Os resultados do pasto de alfalfa do ano 2010, sen embargo, non se expoñen no presente traballo, tanto no relativo ao ensaio de dixestibilidade *in vivo* como aos resultados de produción e composición do leite, debido á escasa implantación da alfalfa no primeiro ano de cultivo, sendo a porcentaxe da especie sementada inferior ao 40% da MS na biomasa total de herba da parcela.

5.2.7. Toma de mostras de ensilaxe e concentrado

Durante a confección das mesturas no carro *unifeed* tomáronse mostras da ensilaxe de millo e do concentrado durante dous días na terceira semana de cada período experimental. As mostras das ensilaxes trasladáronse inmediatamente refrixeradas ao

laboratorio onde se secaron en estufa a 80° C durante 16 h, no mesmo día da mostraxe, e foron almacenadas a 4°C até seren analizadas.

5.2.8. Toma de mostras de leite durante os ensaios de alimentación

A produción de leite de cada vaca foi rexistrada diariamente ao longo de tódolos ensaios. Na última semana de cada período (semana de control) tomáronse tres mostras do leite de cada vaca durante tres días en seis muxiduras consecutivas de mañá e tarde. Unha de cada tres mostras individuais foi enviada ao Laboratorio Interprofesional Galego de Análise de Leite (LIGAL) para a análise fisicoquímica do leite. O segundo grupo de mostras de leite conxeláronse inmediatamente a -18 °C e enviáronse ao laboratorio de control de calidade da empresa LEYMA, S.A. onde foron analizadas para determinar o perfil de ácidos graxos. O terceiro grupo mantívose conxelado a -18 °C no CIAM como mostras de reserva.

5.2.9. Pesaxe e medida da condición corporal das vacas

As vacas foron pesadas trala muxidura da mañá, en dous días consecutivos, ao inicio do período pre-experimental e ao comezo e ao final de cada período de ensaio. A condición corporal mediuse usando unha escala de 5 puntos (1: extremadamente magra, 5: obesa) con incrementos de ¼ de punto, funcionando como unha escala de 17 puntos. A medida foi feita sempre polo mesmo persoal adestrado mediante palpación da columna vertebral (parte dianteira do espiñazo, lombo na parte central e parte traseira) para avaliar o grao de recubrimento graxo, así como do cóccix, sacro e base da cola, segundo o descrito por Edmonson *et al.* (1989).

5.2.10. Métodos de análises de mostras

Forraxes e concentrados.- A preparación das mostras de forraxes e concentrados para as posteriores análises realizouse mediante secado en estufa de aire forzado Unitherm, a 80 °C, durante 16 horas, determinando o contido en materia seca por gravimetría e posterior moído a 1 mm en muíño de martelos Christy&Norris. Como se indicou anteriormente no Capítulo I desta tese, a determinación da composición nutricional das mostras de forraxes realizouse preferentemente mediante o método NIRS utilizando un espectrofotómetro monocromador Foss NIRSystem 6500 (Foss NIRSystem, Silver Spring, Washington, USA) seguindo o procedemento descrito anteriormente. O espectro NIRS das mostras foi interpretado utilizando as ecuacións de calibración desenvolvidas

no CIAM (Pereira-Crespo *et al.*, 2012; Pereira-Crespo *et al.*, 2014; Pereira-Crespo *et al.*, 2015; Pereira-Crespo e Flores-Calvete, 2015) que permiten a cuantificación da concentración de MO, PB, FAD, FND, CSA, CNET e DMO en forraxes frescas, e de MO, PB, FAD, FND, DMO, AMD, pH, ácidos láctico e acético, N amoniacal (N-NH₃) e N solúbel (Nsol) na ensilaxe de millo. As mostras aberrantes ou “outliers” non recoñecidas polas calibracións NIRS dispoñíbeis no momento, eran analizadas no laboratorio do CIAM por métodos de referencia, tal e como se indicou nos apartados correspondentes a “Análises químicas por vía húmida” e a “Dixestibilidade da materia orgánica *in vitro*” do Capítulo I deste traballo. A análise da composición química dos concentrados realizouse no LIGAL mediante NIRS seguindo procedementos internos (LIGAL, 2019b).

5.2.11. Determinación da dixestibilidade *in vivo*

As determinacións de dixestibilidade *in vivo* realizáronse utilizando seis ovinos machos castrados por tratamento, aloxados en gaiolas metabólicas dotadas con separadores de feces e ouriños durante un período pre-experimental de 7 días, seguido dun período de adaptación ás gaiolas e de axuste de inxestión voluntaria doutros 7 días e de 11 días de control ininterrompido de inxestión voluntaria e produción de feces, seguindo o procedemento indicado no apartado correspondente do Capítulo I. O nivel de alimentación foi *ad libitum*, permitíndose un 10% de rexeitados.

5.2.12. Análise de ácidos graxos en mostras de forraxes

A preparación das mostras de pasto para a análise de AG realizouse mediante o secado en estufa a 80° C durante 16 h e posterior moenda a 1 mm. Sobre as mostras moídas realizouse simultaneamente a extracción e metilación dos AG mediante adaptación do procedemento proposto por Sukhija e Palmquist (1988). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foron separados, identificados e cuantificados utilizando un equipo cromatógrafo TRACE ULTRA con detector FID e autosampler modelo AI/AS 3000 (Thermo Scientific) e software Chrom Card Gas Chromatography Dáche System (Thermo Scientific). Os procedementos de análise seguidos foron semellantes aos detallados no apartado correspondente do Capítulo I da presente tese.

5.2.13. Análise físico-química do leite

A composición fisicoquímica do leite foi realizada no LIGAL por espectroscopía infravermella FTMIR (Milkoscan), segundo o procedemento interno PE/LIGAL/34 do citado laboratorio (LIGAL, 2019a), sendo determinadas as concentracións de materia graxa, materia proteica, lactosa e extracto seco magro do leite.

5.2.14. Análise de ácidos graxos en mostras de leite

Foron procesadas seguindo os procedementos do laboratorio de control de calidade da empresa LEYMA, S.A. Os procedementos de extracción e metilación de AG, de separación de fases, identificación e cuantificación en cromatógrafo de gases (Agilent Technologies 6850 Network GC System) con FID dotado dunha columna capilar Supelco SP2560 de 100 m x 0,25 mm x 0,2 μm e helio como gas portador, foron os descritos no apartado correspondente do Capítulo I desta tese.

5.2.15. Cálculos realizados

a) Enerxía neta leite das forraxes.- Os cálculos dos valores de enerxía neta leite a nivel mantemento (ENL_m) da herba e das ensilaxes de millo realizáronse a partir do valor DOMD utilizando a ecuación ENL_m (Mcal/kg MS) = 0.0174 x DOMD + 0.000076 x DOMD².

b) Enerxía neta dos concentrados.- A concentración en ENL_m dos concentrados estímose a partir do contido en FAD, utilizando a ecuación (adaptada da fórmula 8. i de Clemson Univ. 1996): ENL_m (Mcal/kg MS) = 2.17 – 0.0229 x FAD (% MS).

c) Dixestibilidade *in vivo*.- A partir dos resultados da avaliación *in vivo* calculouse para cada animal utilizado no ensaio o valor da dixestibilidade aparente *in vivo* da materia seca (DMS_{iv}), da materia orgánica (DMO_{iv}), do nitróxeno (DN_{iv}) e da parede celular (DFND_{iv}) das mostras de ensilaxe. Para elo utilizouse a expresión

$$DX = \frac{\sum Xi - \sum Xe}{\sum Xi} \times 100, \text{ onde } DX \text{ é o coeficiente de dixestibilidade aparente (en \%),}$$

do constituínte X (MS, MO, N, FAD), sendo $\sum Xi$ y $\sum Xe$, respectivamente, as cantidades ingeridas e excretadas polo animal de dito constituínte durante os 11 días de control que durou o ensaio. A inxestión voluntaria diaria de MS e MO foi referida ao peso vivo metabólico do animal, expresado como $\text{PV}^{0.75}$, onde PV está expresado en kg.

d) Estimación da inxesta de pastod.1.- Mediante o cálculo de necesidades e achegas enerxéticas das vacas de leite

A estimación da inxesta diaria de pasto (IMS_{pasto}) realizouse mediante o cálculo das necesidades enerxéticas diarias totais das vacas de leite, deducindo as achegas realizadas pola alimentación no comedero, e referindo a fracción enerxética restante á concentración de enerxía neta leite do pasto. Para elo utilizáronse as seguintes expresións:

$$(1) ENL_p = (ENL_{\text{Mant}} + ENL_L + ENL_x + ENL_g) - (ENL_{\text{conc}} + ENL_{\text{ens}})$$

$$(2) IMS_{\text{pasto}} = ENL_p / ENL_{\text{pasto}}$$

onde:

ENL_p é a enerxía neta leite extraída do pasto (Mcal ENL/día).

ENL_{Mant} , ENL_L , ENL_x e ENL_g son as necesidades diarias da vaca de enerxía neta (Mcal ENL/día) para os propósitos de mantemento, produción de leite, xestación e variación de peso vivo, respectivamente.

ENL_{conc} e ENL_{ens} son as achegas enerxéticas diarias (Mcal ENL/día) polo consumo de concentrados e ensilaxes, respectivamente, calculadas a partir da inxesta individual de cada vaca (kg MS/día) e da concentración enerxética (Mcal ENL/kg MS) de cada ingrediente, afectada polo desconto correspondente debido ao nivel de alimentación.

IMS_{pasto} é a inxesta diaria de pasto (kg MS/día).

ENL_{pasto} é a concentración enerxética do pasto (Mcal ENL/kg MS), afectada polo desconto correspondente ao nivel de alimentación.

O cálculo das necesidades enerxéticas realizouse seguindo as recomendacións do NRC (2001) contidas nas normas FEDNA (Casalmiglia *et al.*, 2009) para a alimentación de ruminantes, de acordo ás seguintes expresións:

$$ENL_{\text{Mant}} = 0.080 \times PV^{0.75} \text{ onde PV é o peso vivo da vaca, en kg.}$$

$ENL_L = PL \times (0.0929 \times MG + 0.0547 \times MP + 0.192)$, onde PL é o rendemento de leite (kg/día) e MG e MP son as concentracións de materia graxa e materia proteica do leite, respectivamente, en g/100 g.

$ENL_x = (0.00318 \times D - 0.0352) \times (PV_n/45)/0.218$ onde D son os días de gravidez, contados a partir dos 190 días e PV_n é o peso vivo ao nacemento da cría, en kg, tomándose de media un PV_n de 45 kg.

O cálculo da ENL para a variación de peso calculouse de dúas formas diferentes. En caso de que a vaca gañe peso corporal $ENL_g = 5.4 \times GPV$, e en caso de perda de peso $ENL_g = -4.7 \times GPV$, sendo GPV os kg de variación de peso vivo diario da vaca.

d.2.- A partir da produción de leite estandarizado e do consumo en comedero

Alternativamente, a inxesta de pasto calculouse tamén a partir da seguinte expresión:

$IMS_{\text{Pasto(L)}} = IMS_{\text{Total(L)}} - (IMS_{\text{comedero}})$, sendo:

$IMS_{\text{Pasto(L)}}$ = inxesta (g MS/día) de pasto

$IMS_{\text{Total(L)}}$ é a inxesta total diaria de MS (kg MS/día) calculada segundo a expresión do NRC (2001): $IMS_{\text{Total(L)}} = ((0.372 * PL_{4MG}) + (0.0968 \times PV^{0.75})) \times (1 - e^{(-0.192 * (SEL + 3.67))})$ onde PL_{4MG} é a produción diaria de leite corrixida ao 4% de materia graxa calculada segundo $PL_{4MG} = PL \times (0.15 \times MG + 0.4)$ onde MG é a materia graxa do leite (g/100g), PV é o peso vivo da vaca (kg) e SEL é a semana de lactación.

IMS_{comedero} é o consumo de MS (kg/día) de cada vaca no comedero durante o período de estabulación.

e) Desconto no valor enerxético dos alimentos

O nivel de alimentación das vacas de leite estimouse mediante a relación $ENL_{\text{total}}/ENL_{\text{Mant}}$ onde ENL_{total} (Mcal/kg MS) é a suma das necesidades de ENL de mantemento, lactación, xestación e variación de peso vivo, calculadas como se expuxo anteriormente e ENL_{Mant} (Mcal/kg MS) son as necesidades enerxéticas de mantemento. O desconto a aplicar no valor enerxético dos alimentos polo incremento da inxesta sobre mantemento calculouse seguindo ao NRC (2001) mediante a expresión:

$D_{\text{esc}} = (TDN - ((0.18 \times TDN) - 10.3) \times \Delta) / TDN$, onde:

D_{esc} é o factor de desconto polo que hai que multiplicar os valores enerxéticos calculados a nivel de mantemento, TDN é o total de nutrientes dixestíbeis, calculado como $TDN = \text{DOMD} + 1.62$ para forraxes e $TDN = \text{DOMD} + 5.20$ para concentrados (Huhtanen *et al.*, 2009), considerando unha concentración de extracto etéreo de 3% MS nas forraxes e de 5% MS nos concentrados e estando expresados TDN e DOMD en g/100 g MS, sendo Δ o incremento de inxesta sobre as necesidades de mantemento, calculado mediante a expresión $\Delta = (ENL_{\text{total}}/ENL_{\text{Mant}}) - 1$.

f) Índices de calidade dos lípidos

As concentracións dos diferentes AG utilizáronse para o cálculo dos seguintes índices de calidade da graxa do leite:

(i) Ratio omega-6/omega-3, calculado como o cociente entre as respectivas sumas dos AG individuais de ambas series.

$$\text{Omega-6/omega-3} = (\text{C18:2n6t} + \text{C18:2n6c} + \text{C18:3n6} + \text{C20:2n6} + \text{C20:3n6} + \text{C20:4n6}) / (\text{C18:3n3} + \text{C20:5n3} + \text{C22:5n3} + \text{C22:6n3})$$

(ii) Ratio hipo/hiper colesterolémico (Santos-Silva *et al.*, 2002).

$$\text{h/H} = (\text{C18:1c9} + \text{C18:2n6} + \text{C20:4 n6} + \text{C18:3 n3} + \text{C20:5 n3} + \text{C22:5 n3} + \text{C22:6 n3}) / (\text{C14:0} + \text{C16:0})$$

(iii) Índice ateroxénico (Ulbrich and Southgate 1991).

$$\text{IA} = (\text{C12:0} + \text{C14:0} \times 4 + \text{C16:0}) / (\text{omega-3 AGPI} + \text{omega-6 AGPI} + \text{AGMI})$$

(iv) Índice tromboxénico (Ulbrich and Southgate 1991).

$$\text{IT} = (\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}) / (0.5 \times \text{AGMI} + 0.5 \times \text{omega-6 AGPI} + 3 \times \text{omega-3 AGPI} + (\text{omega-3 AGPI} / \text{omega-6 AGPI}))$$

5.2.16. Análise estatística dos resultados

Os datos foron analizados estatisticamente mediante o procedemento GLM de SAS v. 9.4 (SAS Institute, 2012) . Para as medidas relativas ao nivel de pasto en oferta, composición químico-bromatolóxica e perfil de AG da herba, a unidade experimental foi a media dos valores obtidos nos dous días de mostraxe de cada semana en cada período de ensaio. O modelo utilizado na análise foi $y = \mu + \alpha T + \beta P + (\alpha\beta) \text{TxP} + \varepsilon$, onde o tratamento (T), o período (P) e a súa interacción (TxP) foron considerados factores fixos. A separación de medias foi realizada mediante o procedemento LSMEANS, aplicando o valor da diferenza mínima significativa (d.m.s.) entre dúas medias calculado como $d.m.s. = t_{0,025,g.l.e} \times \sqrt{\frac{2MSE}{n}}$ onde *g.l.e* son os graos de liberdade do denominador do test F, *MSE* é o cuadrado medio do erro e *n* é o número de observacións por tratamento.

Para a análise da relación entre as medidas indirectas de altura de pasto e o pasto en oferta a unidade experimental foi a media das medidas tomadas en cada un dos transectos de cada subparcela, sendo aplicado un procedemento de regresión linear coa

opción SOLUTION de PROC GLM para avaliar as diferenzas entre os coeficientes de regresión dos distintos tipos de pasto mediante análise de covarianza.

Para as medidas realizadas na avaliación *in vivo* a unidade experimental foi a media dos valores de dixestibilidade e de inxestión voluntaria correspondentes a cada animal durante o período de control, sendo utilizado o modelo $y = \mu + \alpha T + \varepsilon$, onde o tratamento (T) é a especie pratense.

Para as medidas sobre o animal no ensaio de alimentación (inxestión, produción e composición do leite), a unidade experimental foi o animal en cada día de mostraxe de cada período, e o modelo utilizado foi $y = \mu + \alpha T + \beta P + (\alpha\beta) TxP + \varepsilon$, onde o tratamento, o período e a súa interacción consideráronse factores fixos. Dado o deseño do ensaio, onde tódolos animais pasaron por tódolos tratamentos, non se utilizaron covariábeis. Un valor de P de 0.05 considerouse significativo e un valor de $P < 0.10$ considerouse unha tendencia. A separación de medias realizouse mediante o procedemento LSMEANS da forma indicada anteriormente.

Para describir a relación entre a recuperación aparente no leite do AG alfa-linolénico e a súa concentración na dieta axustouse un modelo non linear utilizando o procedemento PROC NLIN de SAS 9.4 aplicado aos valores medios obtidos por tratamento e período de ensaio, tanto dos experimentos de pastoreo como dos de ensilaxes e o conxunto de ambos. O modelo utilizado foi $y = a + b \times e^{(-c \times ALA)}$ onde "y" é a recuperación aparente de alfa-linolénico do leite (%), ALA é a concentración de C18:3n3 na dieta (g/kg MS), "a" o intercepto da ecuación e "b" e "c" son coeficientes que definen a forma da curva.

5.3. RESULTADOS

5.3.1. Condicións climáticas durante os ensaios

Na táboa 5.3 móstranse os datos de precipitación acumulada temperaturas medias mensuais durante os tres anos nos que se levaron a cabo os ensaios de pastoreo. En 2010 o ensaio realizouse durante os dous meses máis calorosos do verán, con temperaturas lixeiramente por encima da media da zona. As máximas diarias dos períodos 1º a 3º foron, respectivamente, 33,4°C, 32,5°C e 33,4°C. A precipitación total rexistrada durante o ensaio ascendeu a 42,2 mm, cantidade que foi un 40% inferior á media da zona para o citado período (70,3 mm) e que se corresponderon a 14 días con choiva (3,01 mm/día) centrados nos períodos 2º e 3º, con sete e catro días de choiva, respectivamente. A pesar da elevada temperatura e da escasa contía das precipitacións, os pastos de leguminosas e, en menor medida, o de gramíneas resistiron ben a calor e non se agostaron, aínda que o raigrás estaba visiblemente espigado e o trevo violeta estaba ao 50% de floración desde o comezo do ensaio.

A precipitación total acumulada dos anos 2011 e 2012 foi moi inferior á rexistrada o ano 2010 (811 e 742 mm vs. 1340 mm), mostrando a variabilidade que caracteriza o réxime de precipitacións da zona polo que, globalmente, o segundo e terceiro ano de ensaios poden ser cualificados como secos. Sen embargo, as condicións climáticas durante o período de ensaio (de 26 abril a 17 de xullo en 2011 e de 9 abril a 10 xuño en 2012) permitiron, en liñas xerais, un crecemento adecuado do pasto acorde co que é habitual no período de primavera-comezos de verán nas condicións de ensaio. A temperatura media durante o experimento en 2011 foi de 16.1 ± 3.5 °C, comparábel á media dos últimos 30 anos en Mabegondo (15.8 ± 2.1 °C) e a precipitación acumulada foi de 141 mm, algo inferior aos 163 mm da media da zona no mesmo período. O espigado do raigrás nas parcelas non pacidas fíxose evidente a partir da segunda metade de maio, mentres que para as leguminosas o comezo da floración máis precoz foi a do trevo branco, iniciada a partir da segunda metade de abril e seguido polo da alfalfa e a do trevo violeta que se iniciaron aproximadamente ao mesmo tempo que o espigado do raigrás. En 2012 o ensaio iniciouse unhas dúas semanas antes que o ano anterior, coa primavera menos avanzada, rexistrándose unha temperatura media durante o experimento de 14.7 ± 2.0 °C, lixeiramente por baixo da media da estación para o mesmo período (15.0 ± 2.1 °C), e a precipitación acumulada de 270 mm, máis alta que a media

rexistrada nese período (208 mm). O espigado da gramínea e a floración das leguminosas pratenses aconteceron aproximadamente na mesma época que a observada no ano anterior, se ben o aproveitamento do pasto durante o experimento en 2012 fíxose nun estado menos avanzado de madurez que o ano anterior.

Táboa 5.3. Precipitación acumulada e temperaturas medias mensuais durante os anos de ensaio na estación da finca experimental de Mabegondo

	Precipitación acumulada, mm				Temperatura media °C			
	2010	2011	2012	Media 30 a. [§]	2010	2011	2012	Media 30 a. [§]
Xaneiro	184	97	34	123	7.9	9.2	7.8	8.6
Febreiro	118	90	26	107	7.7	9.2	6.6	8.6
Marzo	82	69	20	95	9.6	10.2	11.1	10.2
Abril	44	104	154	96	12.7	14.6	9.7	11.4
Maio	85	18	79	79	14.1	15.2	15.0	13.7
Xuño	117	13	64	45	16.8	16.3	16.9	16.4
Xullo	38	17	10	29	18.9	17.7	17.7	18.3
Agosto	12	36	27	33	19.3	18.0	18.7	18.6
Setembro	39	13	31	57	16.8	18.3	17.6	17.3
Outubro	251	130	54	129	13.6	14.8	14.4	14.3
Novembro	247	134	146	138	10.1	11.6	10.1	11.1
Decembro	123	91	96	133	8.1	9.4	10.5	9.4
Anual	1340	811	742	1063	13.0	13.7	13.0	13.2

[§] Media dos últimos 30 anos en Mabegondo

5.3.2. Duración da rotación, pasto en oferta e dispoñibilidade diaria de pasto

A duración da rotación foi variábel nos tres anos de ensaio, respondendo ás condicións do estado do pasto e da climatoloxía durante os experimentos. En 2010 a superficie total foi pastoreada por completo durante unha rotación alcanzándose na segunda rotación o 40% da superficie de raigrás inglés e o 70% da de trevo violeta. En 2011 completáronse tres rotacións en tódolos tratamentos agás no de alfalfa, en que a terceira rotación se fixo no 60% da superficie aproximadamente. O último ano de ensaios, en 2012, déronse tres aproveitamentos completos a tódolos tratamentos, sen diferenzas apreciábeis entre eles.

Na Táboa 5.4. móstranse os valores medios por tratamento e período de ensaio do pasto en oferta antes da entrada das vacas ás novas parcelas (PO, kg MS/ha) e da dispoñibilidade de pasto (DP, kg MS/vaca e día), para os tres anos de ensaio. En 2010

os valores medios de PO foron 3655 ± 983 kg MS/ha para as parcelas de raigrás inglés e de 4298 ± 1049 kg MS/ha para as de trevo violeta, oscilando estes valores medios entre 4032 e 3194 kg MS/ha e entre 4197 e 3764 kg MS/ha para o primeiro e último período nos tratamentos de RG e de TV, respectivamente. En canto á dispoñibilidade de pasto, no primeiro ano de ensaios o valor medio foi de 36.2 ± 9.7 kg MS/vaca e día para RG e de 42.5 ± 10.4 kg MS/vaca e día para TV, oscilando entre 39.9 e 31.6 kg MS/vaca e día e entre 41.5 e 37.3 kg MS/vaca e día para os períodos 1 e 3 dos tratamentos RG e TV, respectivamente.

En 2011 os pastos de primavera-comezos de verán utilizados no ensaio mostraron valores medios (e rango de valores medios máximo e mínimo dos períodos 1 a 4) de pasto en oferta antes da entrada das vacas ás parcelas de 3267 ± 973 (3908-2689) kg MS/ha para RG, de 3645 ± 881 (3993-3421) kg MS/ha para TV, 3273 ± 977 (3752-2862) kg MS/ha para TB e 4120 ± 1162 (4372-3837) kg MS/ha para AL. Os valores medios de dispoñibilidade de pasto (kg MS/vaca e día) foron de 32.3 ± 9.6 kg para RG, 36.1 ± 8.7 kg para TV, 32.4 ± 9.7 kg para TB e 40.8 ± 11.5 kg para AL.

En 2012, último ano de ensaio, o ensaio desenvolveuse enteiramente en primavera e os valores de dispoñibilidade de pasto para RG, TV e TB foron algo máis elevados que o ano anterior, con valores medios de pasto en oferta de 4436 ± 1730 (rango 4836-4075) kg MS/ha para RG, de 3979 ± 1200 (rango 4215-3546) kg MS/ha para TV e de 3745 ± 571 (rango 3280-4343) kg MS/ha para TB. Os valores de dispoñibilidade de pasto por vaca e día foron tamén máis elevados que os observados o ano anterior para os tratamentos RG, TV e TB, o cal puido estar influenciado polas favorábeis condicións climáticas para o crecemento do pasto na primavera de 2012 a pesar de que abril foi un mes algo máis frío que a media. Os valores medios de DP (kg MS/vaca e día) foron de 43.9 ± 17.1 kg para RG, 39.4 ± 11.9 kg para TV e 37.1 ± 5.6 kg para TB.

Táboa 5.4. Valores medios de pasto en oferta (PO, kg MS/ha) e de dispoñibilidade diaria de pasto (DP, kg MS/vaca e día) á entrada nas parcelas, por período de ensaio e tratamento

Ano 2010

Período	P1		P2		P3		Total ensaio	
	PO	DP	PO	DP	PO	DP	PO	DP
Raigrás inglés								
Media	4032	39.9	3738	37.0	3194	31.6	3655	36.2
s.d.	1315	13.0	966	9.6	750	7.4	983	9.7
Trevo violeta								
Media	4197	41.5	4935	48.8	3764	37.3	4298	42.5
s.d.	1337	13.2	621	6.1	1393	13.8	1049	10.4

P1: 25 xullo a 15 agosto; P2: 16 agosto a 5 setembro; P3: 6 a 26 de setembro; PO: pasto en oferta; DP: dispoñibilidade de pasto; s.d.: desviación estándar da media;

Ano 2011

Período	P1		P2		P3		P4		Total ensaio	
	PO	DP	PO	DP	PO	DP	PO	DP	PO	DP
Raigrás inglés										
Media	3532	29.1	3908	32.2	2938	24.2	2689	22.2	3267	32.3
s.d.	745	6.1	949	7.8	1304	10.8	752	6.2	973	9.6
Trevo violeta										
Media	3420	28.2	3993	32.9	3744	30.9	3421	28.2	3645	36.1
s.d.	626	5.2	1039	8.6	1053	8.7	621	5.1	881	8.7
Trevo branco										
Media	3752	30.9	2862	23.6	3558	29.3	2920	24.1	3273	32.4
s.d.	1134	9.4	605	5.0	1359	11.2	323	2.7	977	9.7
Alfalfa										
Media	4181	34.5	4089	33.7	4372	36.1	3837	31.6	4120	40.8
s.d.	970	8.0	1005	8.3	1613	13.3	731	6.0	1162	11.5

P1: 25 abril a 15 maio; P2: 16 maio a 5 xuño; P3: 6 a 26 de xuño; P4: 27 xuño-17 xullo; PO: pasto en oferta; DP: dispoñibilidade de pasto; s.d.: desviación estándar da media

Ano 2012

Período	P1		P2		P3		Total ensaio	
	PO	DP	PO	DP	PO	DP	PO	DP
Raigrás inglés								
Media	4836	39.9	4075	33.6	4396	36.3	4436	43.9
s.d.	2240	18.5	1078	8.9	2148	17.7	1730	17.1
Trevo violeta								
Media	4175	34.4	3546	29.3	4215	34.8	3979	39.4
s.d.	755	6.2	1533	12.6	1496	12.3	1200	11.9
Trevo branco								
Media	3612	29.8	3280	27.1	4343	35.8	3745	37.1
s.d.	148	1.2	1035	8.5	1218	10.0	571	5.6

P1: 9 abril a 29 abril; P2: 30 abril a 20 maio; P3: 21 maio a 10 xuño; PO: pasto en oferta; DP: dispoñibilidade de pasto; s.d.: desviación estándar da media

5.3.3. Relacións entre pasto en oferta e medidas de altura da herba

Na Táboa 5.5 indícanse os valores medios de pasto en oferta e as alturas da herba medidas pola técnica da compresión co prato deslizando (G) ou mediante o primeiro contacto do visor da regra graduada (H) sobre a superficie inalterada da masa de herba, todos eles correspondentes ao experimento realizado na primavera de 2012. Considerando o conxunto das medidas realizadas, o valor medio de PO foi de 3863 ± 850 kg MS/ha cun valor máximo e mínimo de 6933 e 2023 kg MS/ha. A medida da altura do pasto comprimido polo prato deslizando (25.6 ± 4.62 cm) acadou un valor máximo de 49.8 cm e un mínimo de 13.7 cm, mentres que a altura da masa inalterada de herba medida coa regra foi de 39.6 ± 10.3 cm, cun máximo de 55.0 cm no raigrás e un mínimo de 22.3 no trevo branco. Os valores medios de PO, G e H para os tres tratamentos do no 2012 e o conxunto do ensaio foron, para RG 4180 ± 1212 kg MS/ha, 28.9 e 47.8 cm, para TV 3867 ± 967 kg MS/ha, 23.5 e 38.9 cm e para TB 3574 ± 643 , 24.8 e 32.8 cm, respectivamente.

Táboa 5.5. Valores medios de pasto en oferta (PO), altura comprimida da herba medida con prato deslizando (G) e altura medida con regra graduada (H) no ensaio de 2012

Parámetro	n	Media	s.d.	Máximo	Mínimo	c.v.
a) Xeral, tódalas especies						
PO (kg MS/ha)	180	3863	850	6933	2023	22.0
G (cm)		25.6	4.62	49.8	13.7	18.0
H (cm)		39.6	10.3	55.0	22.3	26.0
b) Raigrás inglés						
PO (kg MS/ha)	60	4180	1212	6933	2608	29.0
G (cm)		28.9	6.06	49.8	15.5	21.0
H (cm)		47.8	5.74	55.0	22.3	12.0
c) Trevo violeta						
PO (kg MS/ha)	60	3867	967	5659	2234	25.0
G (cm)		23.5	4.47	33.7	13.7	19.0
H (cm)		38.9	5.83	48.3	22.8	15.0
d) Trevo branco						
PO (kg MS/ha)	60	3574	643	5896	2023	18.0
G (cm)		24.8	3.97	35.6	13.8	16.0
H (cm)		32.8	6.88	40.8	22.3	21.0

n: número de mostras; s.d.: desviación estándar; c.v.: coeficiente de variación

Na Táboa 5.6 móstranse as regresións lineais simples que relacionan os valores de PO, G e H para o conxunto das medidas realizadas e para cada unha das especies pratenses RG, TV e TB. Tanto no modelo xeral como nos modelos calculados para cada especie pratense, a altura medida co prato mostrou un mellor poder predictivo da cantidade de pasto en oferta comparado coa medida realizada coa regra, con valores de R^2 de 0.41 e 0.32 para o modelo xeral, de 0.45 e 0.32 para RG, de 0.49 e 0.38 para TV e de 0.33 e 0.28 para TB. Se ben tódolos modelos foron altamente significativos ($p < 0.001$) a porcentaxe de varianza explicada polas regresións foi relativamente baixa reflectindo a variabilidade existente tanto na produción como na estrutura da herba nas parcelas respectivas. O erro mínimo de predición das ecuacións baseadas nos preditores G e H foi, respectivamente, de 667 e 725 kg MS/ha para o modelo xeral, de 669 e 774 kg MS/ha para RG, de 513 e 563 para TV e de 751 e 779 para TB. Cando se utilizaban modelos que forzaban o paso da regresión polo orixe de coordenadas a porcentaxe de varianza explicada polos modelos aumentaba considerabelmente por riba do 95%, pero o erro mínimo de predición do valor PO a partir de G ou de H tamén se incrementaba respecto dos modelos que contaban co termo independente da ecuación. Considerando unicamente estes últimos, o incremento unitario de pasto en oferta (kg MS/ha) por cada cm de aumento da altura da herba era, para as medidas de G e H, respectivamente, de 85.1 e 55.7 kg MS/cm no modelo xeral, de 72.1 e 54.8 kg MS/cm para RG, de 109.9 e 81.3 kg MS/cm para TV e de 99.6 e 123.2 kg MS/cm para TB.

Táboa 5.6. Regresións da cantidade de pasto en oferta (PO) sobre a medida de altura do pasto do prato medidor (G) ou regra graduada (H), por tipo de pasto

Ecuación de predición [§]	Media	n	R ²	RSD
a) Xeral, tódalas especies				
PO= 1679.4 + 85.1 G; s.e.: ±180 ^{***} ±6.81 ^{***}	3863	180	0.41 ^{***}	667
PO= 1658.2 +55.7 H s.e.: ±218 ^{***} ± 5.73 ^{***}			0.32 ^{***}	725
b) Raigrás inglés				
PO= 2096.4 + 72.1 G s.e.: ±284 ^{***} ±9.48 ^{***}	4180	60	0.45 ^{***}	669
PO= 139.1 G s.e.: ±3.50 ^{***}			0.95 ^{***(1)}	887
PO= 1556.8 + 54.8 H s.e.: ±461 ^{***} ± 9.47 ^{***}			0.32 ^{***}	744
PO= 86.1 H s.e.: ± 1.94 ^{***}			0.96 ^{***(1)}	797
c) Trevo violeta				
PO= 1282.2+ 109.9 G s.e.: ±311.9 ^{***} ±13.0 ^{***}	3867	60	0.49	513
PO= 162.5 G s.e.: ± 2.71 ^{***}			0.97 ^{***(1)}	565
PO= 704.4 + 81.3 H s.e.: ±466 ^{***} ± 11.8 ^{***}			0.38 ^{***}	563
PO= 99.1 H s.e.: ± 1.66 ^{***}			0.97 ^{***(1)}	568
d) Trevo branco				
PO= 1100 + 99.6 G s.e.: ±405 ^{***} ±15.9 ^{***}	3574	60	0.33 ^{***}	751
PO= 142.0 G s.e.: ± 3.46 ^{***}			0.95 ^{***(1)}	781
PO= -466.9 + 123.2 H s.e.: ±733.9 ^{ns} ± 22.2 ^{***}			0.28 ^{***}	779
PO= 109.2 H s.e.: ± 2.64 ^{***}			0.95 ^{***(1)}	776

[§]Ecuacións de predición (válidas unicamente entre os intervalos máximo e mínimo da variábel independente); R²: coeficiente de determinación; RSD: erro estándar residual;

⁽¹⁾ Ecuación obtida forzando o paso da recta de regresión pola orixe de coordenadas;

PO: pasto en oferta (kg MS/ha); G: medida de altura co grassmeter (cm); H: medida de altura coa regra graduada (cm); Significación do modelo (*** p<0.001; ** p<0.01; * p<0.05; n.s.: non significativo p>0.05); s.e.: erro estándar do parámetro estimado

5.3.4. Dixestibilidade *in vivo* do raigrás inglés e do trevo violeta durante o pastoreo de verán de 2010

Os resultados da avaliación da dixestibilidade *in vivo* da herba procedente das parcelas de raigrás e trevo violeta acumulada durante a execución do ensaio de pastoreo de verán en 2010 móstranse na Táboa 5.7. En canto aos valores medios de materia seca e composición química, o pasto de raigrás, comparado co de trevo violeta, mostrou valores máis altos de MS (32.4 vs. 19.0), de MO (88.6 vs 85.7 %MS), e de FND (62.2 vs. 49.6 %MS), mentres que os de PB foron máis baixos (10.4 vs. 15.0) e foron moi semellantes os de FAD (35.2 vs. 35.9 %MS). Os coeficientes de dixestibilidade aparente da materia seca (DMS_{iv}) e da materia orgánica (DMO_{iv}) foron significativamente superiores para o pasto de trevo violeta comparado co de raigrás sendo observada unha tendencia ($P < 0.10$) a favor do trevo violeta para a dixestibilidade aparente do nitróxeno (DN_{iv}). Os valores de dixestibilidade aparente da $DFAD_{iv}$ e da $DFND_{iv}$ foron numericamente superiores para o trevo violeta, pero as diferenzas co raigrás inglés non acadaron significación ($P > 0.10$). Os valores medios de dixestibilidade corrixidos a nivel de mantemento para TV e RG foron, respectivamente, DMS_{iv} 60,3% e 55,6%; DMO_{iv} 61,4% e 55,5%; DN_{iv} 59,1% e 55,3% ; $DFAD_{iv}$ 48,9% e 45,3% e $DFND_{iv}$ 56,9% e 54,0%. A inxestión voluntaria de MS (IMS) e de MO (MO) foi significativamente máis elevada para o pasto de trevo violeta, con valores de 36.8 e 31.6 g/kg $PV^{0.75}$ para TV e de 30.1 e 26.7 g/kg $PV^{0.75}$ para RG, se ben todos eles estaban moi achegados ao nivel de mantemento (30 g MS/kg $PV^{0.75}$). Os resultados indican que o pasto de trevo violeta presentou un valor nutritivo medio máis elevado que o de raigrás inglés durante o período de verán no que se desenvolveu o ensaio.

Táboa 5.7. Resultados da avaliación de dixestibilidade *in vivo* de mostras de pasto no experimento de pastoreo de 2010**a) Materia seca e composición química**

	RG		TV	
	Media	s.d.	Media	s.d.
Materia seca (%)				
MS	32.4	1.83	19.0	2.00
Composición química (%MS)				
MO	88.6	2.75	85.7	3.02
PB	10.4	1.25	15.0	1.40
FAD	35.2	2.55	35.9	3.21
FND	62.2	3.68	49.6	4.50

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.d.: desviación estándar; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente

b) Dixestibilidade *in vivo* e inxestión voluntaria

	RG	TV	s.e.m.	P
n	6	6		
Dixestibilidade (%)				
DMS _{iv}	55.6	60.3	1.25	*
DMO _{iv}	55.5	61.4	1.28	**
DN _{iv}	55.3	59.1	1.28	+
DFAD _{iv}	45.3	48.9	1.69	NS
DFND _{iv}	54.0	56.9	1.49	NS
Inxestión voluntaria (g/kg PV^{0.75})				
IMS	30.1	36.8	0.69	***
IMO	26.7	31.6	0.62	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n: nº de observacións; DMS_{iv}: dixestibilidade aparente da materia seca; DMO_{iv}: dixestibilidade aparente da materia orgánica; DN_{iv}: dixestibilidade aparente do N; DFAD_{iv}: dixestibilidade aparente da fibra ácido deterxente; DFND_{iv}: dixestibilidade aparente da fibra neutro deterxente; IMS_{iv}: inxestión de materia seca; IMO_{iv}: inxestión de materia orgánica

5.3.5. Composición química e dixestibilidade dos pastos**5.3.5.1. Pastoreo de verán, ano 2010**

As características medias dos pastos de raigrás e de trevo violeta no pastoreo de verán do ano 2010 relativas á composición químico-bromatolóxica e á súa variación durante os períodos de ensaio móstranse nas Táboas 5.8 e 5.9. Os valores medios da porcentaxe da especie sementada na biomasa seca total da pradeira (PCTSEM) foi significativamente superior para a gramínea (95.3 vs. 87.5 % para RG e TV, respectivamente) manténdose esta superioridade ao longo dos tres períodos de ensaio. O raigrás tivo un valor medio de MS aproximadamente 12 unidades superior ao do trevo violeta (32.0 vs. 20.7%), diferenza que se mantivo ao longo do mes de agosto (períodos

1 e 2) e reducíndose a 8 unidades no último período, tras as primeiras chuvias de finais de verán a comezos de setembro, que permitiron un certo rebrote do pasto, que se fixo especialmente patente para a gramínea. A composición química e dixestibilidade da herba reflectiu o estado de madurez avanzada do pasto, máis marcada para o raigrás inglés, que comparativamente tivo un valor nutricional claramente máis baixo que o trevo violeta. A composición química media (en %MS) foi MO: 93.0 e 91.4, PB: 11.3 e 16.1, FAD: 34.5 e 31.9, FND: 64.0 e 45.5, CSA: 11.8 e 8.2, CNET 14.1 e 10.8, respectivamente, para RG e TV, mentres que a dixestibilidade e valor enerxético do raigrás foron aproximadamente un 12% inferior á do trevo violeta (56.7 vs. 64.7 % e 1.16 vs. 1.33 Mcal/kg MS), sendo tódolos valores significativamente diferentes entre as dúas especies. O trevo violeta mantivo mellor a calidade nutricional conforme avanzaba o verán, principalmente atendendo ás diferenzas en DMO (+4.9, +10.1 e +9.5 unidades) e de ENL (+0.09, +0.23 e +0.20 Mcal/kg MS) a favor da leguminosa, respectivamente, nos tres períodos de ensaio. O rebrote do pasto observado no último terzo do ensaio, que permite un certo rexuvenecemento da pradeira, explica a estabilización dos valores de DMO e ENL e o incremento do valor de PB en ambas especies.

Táboa 5.8. Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2010)

	Tratamento		s.e.m	Tratamento	Período
	RG	TV		P	P
n	6	6			
Especies sementadas (%)					
PCTSEM	95.3	87.5	3.07	**	NS
Materia seca					
MS%	32.0	20.7	1.55	*	NS
Composición química (%MS)					
MO	93.0	91.4	0.08	***	***
PB	11.3	16.1	0.34	***	**
FAD	34.5	31.9	0.29	**	**
FND	64.0	45.5	0.59	***	**
CSA	11.8	8.2	0.17	***	***
CNET	14.1	10.8	0.13	***	***
Dixestibilidade e valor enerxético					
DMO (%)	56.7	64.7	0.35	***	***
DOMD (%)	52.7	59.1	0.26	***	***
ENLm (Mcal/kg MS)	1.16	1.33	0.007	***	***
UFL/kg MS	0.68	0.78	0.004	***	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

Táboa 5.9. Interacción tratamento x período: Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada (Ano 2010)

Tratamento Período	RG			TV			Trat x Per		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P	s.e.m.	d.m.s.
n	2	2	2	2	2	2			
Especies sementadas (%)									
PCTSEM	95.5	95.7	93.9	67.3	93.1	82.1	NS	5.3	17.7
Materia seca									
MS%	31.3	35.5	26.7	19.5	22.9	18.6	NS	2.7	9.0
Composición química (%MS)									
MO	92.3	93.7	92.9	90.6	92.6	90.9	NS	0.1	0.5
PB	12.3	9.2	13.6	16.8	14.1	18.8	NS	0.6	1.9
FAD	31.2	37.1	35.8	29.5	34.5	31.5	NS	0.5	1.7
FND	58.6	68.2	66.5	42.2	49.2	45.1	NS	1.0	3.4
CSA	14.3	10.0	10.2	9.4	7.0	7.9	*	0.3	1.0
CNET	17.2	12.4	11.0	11.9	9.9	10.5	**	0.2	0.8
Dixestibilidade e valor enerxético									
DMO (%)	62.5	52.8	53.3	67.4	62.9	62.8	*	0.6	2.0
DOMD (%)	57.6	49.4	49.5	61.0	58.3	57.1	**	0.5	1.5
ENLm (Mcal/kg MS)	1.29	1.07	1.07	1.38	1.30	1.27	*	0.012	0.040
UFL/kg MS	0.76	0.63	0.63	0.81	0.77	0.75	*	0.007	0.024

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; P1: 25 xullo a 15 agosto; P2: 16 agosto a 5 setembro; P3: 6 a 26 de setembro; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha = 0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

5.3.5.2. Pastoreo de primavera-verán, ano 2011

Os resultados obtidos en 2011, realizado en primavera-comezos de verán, e no que o raigrás inglés se compara cos trevos violeta e branco e a alfalfa, sustentan en xeral os resultados observados o ano anterior, como se pode observar na Táboa 5.10. O raigrás mostrou unha maior agresividade no establecemento na pradeira, cunha porcentaxe do 94.5% da biomasa seca total, significativamente superior á observada para o trevo violeta (81.2%), trevo branco (88.8%) e alfalfa (72.6%) que non se diferenciaron entre si. O contido medio en MS da gramínea (27.8%) foi significativamente superior ao das leguminosas, entre as que o trevo branco mostrou un valor inferior ao resto (TV 18.2%, TB 15.7%, AL 20.7%). Os valores medios de PB do raigrás foron baixos (10.2% MS) o que se relaciona cun uso moderado do N aplicado (100 kg/ha durante todo o ensaio) e os elevados valores de CSA e CNET (18.9 e 19.9%). As especies leguminosas mostraron valores significativamente máis elevados de PB (15.9, 18.4 e 17.0 %MS) e máis baixos de CSA (12.4, 11.6 e 7.4 %MS) e CNET (13.0, 12.0 e 10.3 %MS) para TV, TB e AL. En canto aos contidos en fibra, as maiores diferenzas atopáronse para a FND, tendo o raigrás inglés unha concentración superior en 18.2 unidades á media das leguminosas, con valores de 59.0, 42.0, 36.4 e 44.0 % MS para RG, TV, TB e AL, respectivamente, sendo de salientar que o valor do trevo branco foi significativamente inferior ao do resto das especies. Esta indicación do alto valor nutricional do trevo branco vese confirmada pola superior dixestibilidade media desta especie comparada coa do resto das pratenses, con valores de DMO de 74.0% para TB, seguida de 68.5% para TV, de 66.5% para RG e de 65.7% para AL. Os valores de ENL seguiron esta mesma relación (1.48, 1.42, 1.38 e 1.36 Mcal/kg MS para TB, TV, RG e AL, respectivamente) se ben o valor de ENL de TB e TV e os de TV, RG e AL non se diferenciaron significativamente entre si.

A porcentaxe de especie sementada tendeu a diminuír coa madurez, de forma semellante en tódalas especies, se ben no trevo branco advírtese un incremento no último período que non chega a facer significativo o efecto da interacción entre o tratamento e o período (Táboa 5.12). O inicio do espigado do raigrás coincidiu aproximadamente na metade do segundo período sendo observado un forte incremento do contido en MS nos dous períodos seguintes, pasando de aproximadamente 21% de media nos dous primeiros a 30.9% no terceiro e 38.7% no cuarto, xa no primeiro mes do

verán. A variación do contido de MS das leguminosas foi menos intenso, con valores do primeiro ao cuarto período de 15.0 e 23.2% para TV, de 12.9 a 20.4% para TB e de 17.4 a 27.9% para AL. Consideradas globalmente tódalas especies pratenses, o valor nutricional do pasto diminuíu claramente co avance da madurez da herba, sendo este descenso máis marcado no raigrás inglés e máis atenuado nas leguminosas, que mantiveron mellor súa calidade nutritiva ao longo do ensaio, como se pode observar polas diferenzas na composición química e na dixestibilidade entre o primeiro e último período de ensaio. A variación semanal experimentada ao longo do ensaio para o raigrás comparado coa media das especies leguminosas foi, respectivamente, de +0.97 vs. +0.36 para FND (%MS), de -0.14 vs. 0.02 para PB (%MS), de -1.22 vs. -0.35 para CSA (%MS) e de -1.40 vs. -0.58 para DMO (%). Así, partindo de valores de DMO similares para RG e para a media de leguminosas (72.9 e 72.1 %, respectivamente), a diminución da DMO é unhas 2.4 veces superior no raigrás, e partindo de valores de FND de 53.6 %MS para RG e de 38.7 %MS para a media das leguminosas, o incremento na concentración de paredes celulares do raigrás é aproximadamente 2.7 superior. Entre as leguminosas, o trevo branco mostrou o menor descenso en DMO (-0.41 vs. -0.73 e -0.61 ud/semana) e o menor incremento en FND (+0.21 vs +0.55 e + 0.33 ud/semana) comparado co trevo violeta e a alfalfa, respectivamente.

Táboa 5.10. Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2011)

	RG	TV	TB	AL	s.e.m	d.m.s.	Tratamento P	Período P
n	8	8	8	8				
Especies sementadas (%)								
PCTSEM	94.5	81.2	88.8	72.6	3.14	9.6	***	*
Materia seca								
MS%	27.8	18.2	15.7	20.7	1.11	3.4	***	***
Composición química (%MS)								
MO	92.0	91.2	87.7	91.7	0.40	1.2	***	***
PB	10.2	15.9	18.4	17.0	0.88	2.7	***	NS
FAD	33.0	30.3	29.4	32.1	0.93	2.8	+	+
FND	59.0	42.0	36.4	44.0	1.41	4.3	***	+
CSA	18.9	12.4	11.6	7.4	0.89	2.7	***	*
CNET	19.9	13.0	12.0	10.3	0.59	1.8	***	**
Dixestibilidade e valor enerxético								
DMO (%)	66.5	68.5	74.0	65.7	1.10	3.4	**	**
DOMD (%)	61.1	62.4	64.8	60.2	0.86	2.6	*	*
ENLm (Mcal/kg MS)	1.38	1.42	1.48	1.36	0.02	0.07	*	*
UFL/kg MS	0.81	0.83	0.87	0.80	0.01	0.04	*	*

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenca mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

5.3.5.3. Pastoreo de primavera, ano 2012

O ensaio do último ano realizouse nos meses centrais da primavera, nun estado de madurez do pasto menos avanzado que os anos anteriores e, consecuentemente, tanto o raigrás inglés como as leguminosas (trevo violeta e trevo branco neste ano) mostraron unha mellor calidade nutricional en comparación cos anos anteriores, como se indica nas Táboa 5.11. A porcentaxe de especie sementada na biomasa seca total do raigrás foi, novamente (80.8%), significativamente superior á dos trevos (TV: 61.1%, TB: 80.0%), que non se diferenciaron entre si, manténdose esta superioridade ao longo dos tres períodos de ensaio. A comparación dos valores medios de MS, composición química e dixestibilidade das tres especies mostrou, novamente, o menor contido en MS dos trevos en comparación co raigrás (RG: 17.0%, TV: 14.6%, TB: 14.3%) e unha mellor calidade nutricional das leguminosas con relación ao raigrás inglés. Esta especie, comparada, respectivamente, cos trevos violeta e branco mostrou contidos medios significativamente máis elevados en MO (90.2, 88.3 e 88.0 %MS), FAD (29.3, 24.5 e

26.8 %MS), FND (52.4, 35.3 e 38.3 %MS), CSA (19.3, 8.3 e 9.5 %MS) e CNET (21.1, 10.1 e 11.4 %MS) e significativamente inferiores en PB (13.0, 23.4 e 20.8 %MS), e DMO (70.2, 73.2 e 74.4 %). O seu contido enerxético, aínda que numericamente foi tamén inferior para RG comparado con TV e TB (ENL: 1.44 vs. 1.48 vs. 1.50 Mcal/kg MS), non acadou significación debido ao maior contido en cinzas na MS dos trevos.

Globalmente, a calidade de tódalas especies descendeu ao longo do ensaio (Táboa 5.13), mostrando a caída do valor nutricional coa madurez do pasto, o cal se fixo notar sobre todo na significativa redución dos contidos medios por período en proteína, dixestibilidade e enerxía e no aumento do contido en fibra, con valores medios das tres especies, para os períodos 1º a 3º, respectivamente, de 20.4, 19.9 e 17.4 %MS para PB, 74.9, 72.7 e 71.0% para DMO, de 1.52, 1.47 e 1.44 Mcal/kg MS para ENL, de 24.1, 26.3 e 29.3 %MS para FAD e de 37.9, 41.0 e 45.7 % para FND. A interacción entre a especie pratense e o período de ensaio para as principais variábeis de composición química e valor nutricional non acadou significación estatística, indicando que a variación do valor nutricional co avance da estación na primavera produciuse de forma comparábel para a gramínea e os trevos, nas condicións de ensaio. Sen embargo, é de interese a revisión dos valores de variación semanais do raigrás inglés coa media dos trevos, toda vez que permite apreciar unha tendencia cara a unha menor perda de calidade co avance da estación para os trevos, que resulta máis evidente no caso do trevo branco. Así, a variación semanal entre o 1º e o 3º período, comparando o raigrás coa media dos trevos, foi de +0.83 vs. +0.39 ud. para MS (%), de -0.57 vs. -0.47 ud. para PB (%MS), de +1.26 vs. +0.65 ud. para FAD (%MS), de +2.13 vs. +0.86 ud. para FND (%MS), de -0.83 vs. 0.0 ud. para CSA (%MS) e de -1.08 vs. -0.42 ud. para DMO (%). Esta variación, para os contidos en PB, FND e DMO dos trevos violeta e branco, foi respectivamente de -0.71 e -0.23 ud. PB (%MS), de +1.05 e +0.68 ud. FND (%MS) e de -0.50 e -0.35 ud. DMO (%).

A comparación destes resultados cos dos dous ensaios anteriores indicaría que é nos estados de madurez máis avanzados do pasto e nos meses de verán cando as especies leguminosas mostran a súa maior capacidade de manter un valor nutricional máis elevado co avance da estación, en relación ao raigrás inglés.

Táboa 5.11. Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2012)

	RG	TV	TB	s.e.m	d.m.s.	Tratamento	
						P	P
n	8	8	8				
Especies sementadas (%)							
PCTSEM	80.8	61.1	70.0	2.80	8.4	**	+
Materia seca							
MS%	17.0	14.6	14.3	0.45	1.4	**	***
Composición química (%MS)							
MO	90.2	88.3	88.0	0.26	0.8	***	NS
PB	13.0	23.4	20.8	0.69	2.1	***	*
FAD	29.3	24.5	26.8	0.70	2.1	**	***
FND	52.4	35.3	38.3	0.98	2.9	***	***
CSA	19.3	8.3	9.5	0.85	2.6	***	NS
CNET	21.1	10.1	11.4	0.83	2.5	***	NS
Dixestibilidade e valor enerxético							
DMO (%)	70.2	73.2	74.4	0.64	1.9	**	**
DOMD (%)	63.3	64.6	65.5	0.58	1.7	+	*
ENLm (Mcal/kg MS)	1.44	1.48	1.50	0.02	0.05	+	*
UFL/kg MS	0.85	0.87	0.88	0.01	0.03	+	*

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenca mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

Táboa 5.12. Interacción tratamento x período: Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada (Ano 2011)

Tratamento	RG				TV				TB				AL				Trat x Per		
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P	s.e.m.	d.m.s.
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2			
Especies sementadas (%)																			
PCTSEM	95.3	91.1	98.9	92.4	82.8	83.4	79.8	78.8	88.8	90.2	84.1	92.1	70.7	79.4	71.3	69.0	NS	6.3	19.2
Materia seca																			
MS%	21.3	20.4	30.9	38.7	15.0	16.9	17.5	23.2	12.9	15.6	14.0	20.4	17.4	17.9	19.8	27.9	*	2.2	6.8
Composición química (%MS)																			
MO	91.3	89.8	93.0	95.5	89.7	92.1	90.7	92.3	83.8	89.8	88.2	90.2	91.6	90.9	91.7	93.7	*	0.8	2.5
PB	10.7	10.9	9.9	9.4	15.8	13.4	19.2	15.4	19.2	16.2	20.0	18.1	15.5	18.3	17.0	17.5	NS	1.8	5.4
FAD	31.1	33.3	34.6	32.9	30.4	32.8	26.9	31.2	30.4	30.5	27.5	28.6	31.3	35.9	28.9	32.4	NS	1.9	5.7
FND	53.6	58.3	63.4	62.4	39.6	45.1	39.2	44.6	33.9	40.3	35.5	35.8	42.6	47.8	40.6	45.6	NS	2.8	8.6
CSA	27.0	15.4	15.6	16.0	14.2	13.1	11.2	10.7	10.8	12.2	11.7	11.8	10.5	4.6	8.3	5.2	+	1.8	5.4
CNET	26.1	15.4	16.9	22.3	14.0	13.9	12.0	12.2	10.9	11.8	12.2	14.1	14.0	6.0	11.8	8.9	**	1.2	3.6
Dixestibilidade e valor enerxético																			
DMO (%)	72.9	66.6	63.1	60.3	72.0	66.8	69.4	65.4	76.6	72.3	73.7	72.9	67.7	63.2	67.8	62.2	NS	2.2	6.7
DOMD (%)	66.6	59.8	58.7	57.6	64.6	61.5	62.9	60.4	64.2	64.8	65.0	65.8	62.0	57.4	62.2	58.3	NS	1.7	5.3
ENLm (Mcal/kg MS)	1.53	1.34	1.31	1.28	1.47	1.39	1.43	1.36	1.47	1.48	1.49	1.51	1.40	1.28	1.41	1.30	NS	0.05	0.14
UFL/kg MS	0.90	0.79	0.77	0.76	0.87	0.82	0.84	0.80	0.86	0.87	0.87	0.89	0.83	0.75	0.83	0.77	NS	0.03	0.09

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; P1: 25 abril a 15 maio; P2: 16 maio a 5 xuño; P3: 6 a 26 de xuño; P4: 27 xuño-17 xullo; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

Táboa 5.13. Interacción tratamento x período: Materia seca e composición nutricional da herba pastoreada (Ano 2012)

Tratamento Período	RG			TV			TB			Trat x Per		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P	s.e.m.	d.m.s.
n	3	3	2	3	3	2	3	3	2			
Especies sementadas (%)												
PCTSEM	77.5	81.4	82.5	67.4	58.1	60.0	76.3	56.2	79.6	NS	4.85	14.62
Materia seca												
MS%	15.1	15.1	20.1	13.7	14.4	15.5	12.6	14.4	15.5	NS	0.78	2.34
Composición química (%MS)												
MO	89.9	89.8	90.7	87.4	88.1	89.0	88.1	88.0	87.9	NS	0.45	1.37
PB	15.0	13.0	11.8	25.3	24.6	21.0	20.9	22.0	19.5	NS	1.20	3.62
FAD	24.9	28.9	32.5	22.3	23.6	27.0	25.1	26.3	28.3	NS	1.22	3.67
FND	45.5	51.0	58.3	31.9	34.7	38.2	36.4	37.4	40.5	NS	1.69	5.10
CSA	22.1	19.5	17.1	8.0	7.7	9.0	10.6	8.6	9.6	NS	1.47	4.44
CNET	24.1	21.9	18.3	9.6	9.6	11.0	12.9	10.5	11.4	NS	1.44	4.34
Dixestibilidade e valor enerxético												
DMO (%)	73.7	71.0	67.2	75.1	73.1	72.1	76.0	73.9	73.9	NS	1.11	3.34
DOMD (%)	66.2	63.8	61.0	65.7	64.4	64.1	66.9	65.0	64.9	NS	1.01	3.03
ENLm (Mcal/kg MS)	1.52	1.45	1.38	1.51	1.47	1.46	1.54	1.49	1.48	NS	0.027	0.082
UFL/kg MS	0.89	0.85	0.81	0.89	0.86	0.86	0.91	0.88	0.87	NS	0.016	0.049

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; P1: 9 abril a 29 abril; P2: 30 abril a 20 maio; P3: 21 maio a 10 xuño; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; CSA: carbohidratos solúbeis en auga; CNET: carbohidratos non estruturais; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS)

5.3.6. Composición química e dixestibilidade das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios de alimentación

Na Táboa 5.14 móstranse os valores medios da composición química, dixestibilidade, valor enerxético e calidade fermentativa das ensilaxes de millo utilizadas nos tres anos de ensaios. Tanto o contido en MS como a composición química e a dixestibilidade foron moi semellantes os tres anos e indican, por unha banda, o alto valor enerxético do millo forraxeiro e a baixa variabilidade (relativamente a outras forraxes) do seu valor nutricional. O contido en MS oscilou entre 30.1 e 31.2 %, o de amidón entre 24.2 e 26.9 %MS, a DMO entre 67.3 e 68.4% e a ENLm entre 1.44 e 146 Mcal/kg MS. O contido proteico foi baixo, como caracteriza a esta especie, oscilando entre 5.8 e 6.7 %MS. A calidade foi excelente, con valores de pH entre 3.72 e 3.76, de ácido láctico entre 7.0 e 7.3 %MS e de ácido acético inferiores ao 3% MS sinalado como indicador de boa conservación, típica deste tipo de forraxes (Pflaum *et al.*, 1997).

Táboa 5.14. Composición nutricional das ensilaxes de millo utilizadas nos experimentos

	2010		2011		2012	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
Materia seca						
MS%	30.9	1.86	30.1	1.03	31.2	1.81
Composición química (%MS)						
MO	95.5	0.75	95.8	0.35	96.0	0.56
PB	6.7	0.93	5.8	0.59	5.8	0.56
FAD	27.0	2.14	26.4	2.24	25.1	3.21
FND	41.2	2.70	40.3	2.61	42.6	2.15
AMD	24.2	3.85	26.0	2.99	26.9	1.96
Dixestibilidade e valor enerxético						
DMO (%)	68.4	0.97	67.3	1.11	68.1	1.28
DOMD (%)	65.4	1.76	64.4	2.00	65.3	1.31
ENLm (Mcal/kg MS)	1.46	0.04	1.44	0.04	1.46	0.03
UFL/kg MS	0.86	0.02	0.84	0.02	0.86	0.02
Parámetros fermentativos						
pH	3.72	0.12	3.76	0.11	3.85	0.16
Láctico (%MS)	7.3	0.6	7.0	1.1	7.3	0.5
Acético (%MS)	2.9	0.5	2.1	0.6	2.7	0.6
N-NH ₃ (%N total)	9.7	0.3	9.7	0.4	9.0	0.6
Nsol (%N total)	59.3	2.7	57.9	3.2	55.6	2.2

s.d.: desviación estándar da media; MS: Materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FAD: fibra ácido deterxente; FND: fibra neutro deterxente; AMD: amidón; DMO: dixestibilidade da MO; DMOD: concentración de MO dixestíbel na MS; ENLm: enerxía neta leite a nivel de mantemento; UFL: unidades forraxeiras leite (1 UFL=1.7 Mcal/kg MS); Láctico e Acético: ácidos de fermentación

5.3.7. Composición de ácidos graxos dos pastos

5.3.7.1. Pastoreo de verán, ano 2010

Na Táboa 5.15 móstrase a composición media de ácidos graxos das mostras de pasto do ensaio. A concentración na MS de AG totais (AGt) do trevo violeta duplicou á do raigrás inglés (RG: 5.15, TV: 11.6 g/kg MS) mostrando a maior capacidade do trevo violeta para manter no verán un maior contido de AG comparado coa gramínea. Ponse de manifesto o carácter predominantemente non saturado dos lípidos da forraxe en ambos casos, dominando o AG poliinsaturado alfa-linolénico seguido do tamén poliinsaturado AG linoleico e o saturado ácido palmítico. Os valores (en g/kg MS) destes tres AG foron, para RG e TV respectivamente de: 35.6 e 48.4 para o alfa-linolénico, de 20.3 e 20.6 para o linoleico e de 22.8 e 15.6 para o palmítico.

Táboa 5.15. Perfil de AG da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2010)

	Tratamento		s.e.m	Tratamento P	Período P
	RG	TV			
n	6	6			
Composición de AG (% AG total)					
C12:0	1.73	1.15	0.10	*	*
C14:0	1.25	0.60	0.09	*	NS
C15:0	0.54	0.33	0.04	*	NS
C16:0	22.81	15.61	0.44	***	NS
C16:1	0.61	0.17	0.04	**	NS
C17:0	0.50	0.49	0.03	NS	*
C18:0	2.87	3.21	0.21	NS	NS
C18:1n9c	6.08	4.76	0.49	NS	NS
C18:2n6c	20.32	20.63	0.96	NS	NS
C20:0	1.20	1.05	0.10	NS	*
C18:3n6	0.83	0.49	0.27	NS	NS
C20:1	0.27	0.13	0.03	*	NS
C18:3n3	35.69	48.45	1.54	**	*
C21	0.37	0.15	0.06	NS	NS
C22:0	1.69	0.93	0.06	***	**
C22:1n9	0.43	0.06	0.04	**	NS
C20:3n3	0.40	0.38	0.05	NS	NS
C20:4n6	0.68	0.43	0.08	NS	NS
C24:0	1.73	0.98	0.12	*	*
AGS	34.69	24.51	0.48	***	**
AGMI	7.38	5.12	0.56	NS	NS
AGPI	57.92	70.38	0.68	***	**
Concentración de AG (g/kg MS)					
AG total	5.15	11.65	0.42	***	**

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

Como se mostra na Táboa 5.16, a variación da concentración de AGt co avance do verán seguiu un modelo semellante para as dúas especies, cunha marcada redución no segundo período, coincidindo co mes central do verán en agosto, aumentando de novo ao final do ensaio coincidindo co rexuvenecemento do pasto tras as primeiras chuvias de setembro. Os valores medios de AGt (g/kg MS) nos períodos 1º a 3º foron de 6.8, 3.3 e 5.4 para RG e de 14.6, 6.4 e 15.9 para TV. A proporción relativa de AG tamén se viu alterada polo avance da estación, sendo observada unha redución da proporción de alfa-linolénico e un aumento da de linoleico e de palmítico no segundo período, moito máis marcada para o raigrás. As proporcións medias de alfa-linolénico foron, nos períodos 1º a 3º de 42.7, 25.8 e 41.3 % para RG e de 53.1, 42.3 e 51.4 % para TV, evidenciando unha maior proporción de alfa-linolénico no trevo ao longo de toda a estación.

Táboa 5.16. Interacción tratamento x período: Perfil de AG da herba pastoreada, por tratamento (Ano 2010)

Tratamento	RG			TV			Trat x Per	P	s.e.m.	d.m.s.
	P1	P2	P3	P1	P2	P3				
n	2	2	2	2	2	2				
Composición de AG (% AG total)										
C12:0	2.11	1.78	0.88	1.17	1.39	0.64	NS	0.17	0.56	
C14:0	1.08	1.56	0.95	0.47	0.83	0.41	NS	0.15	0.51	
C15:0	0.46	0.69	0.40	0.28	0.43	0.24	NS	0.06	0.20	
C16:0	21.59	24.78	21.32	15.53	15.93	15.12	NS	0.76	2.54	
C16:1	0.41	0.75	0.72	0.13	0.21	0.17	NS	0.06	0.21	
C17:0	0.44	0.62	0.39	0.38	0.68	0.34	NS	0.06	0.20	
C18:0	2.04	3.53	3.22	2.80	3.87	2.69	NS	0.37	1.24	
C18:1n9c	5.49	7.07	5.27	3.00	6.40	4.99	NS	0.85	2.85	
C18:2n6c	19.17	22.59	18.09	19.42	22.27	19.78	NS	1.67	5.56	
C20:0	0.73	1.66	1.22	0.82	1.36	0.90	NS	0.17	0.55	
C18:3n6	0.48	1.41	0.36	0.54	0.50	0.37	NS	0.47	1.58	
C20:1	0.25	0.33	0.21	0.12	0.17	0.07	NS	0.04	0.15	
C18:3n3	42.72	25.85	41.33	53.10	42.31	51.41	NS	2.66	8.89	
C22:0	1.05	2.23	1.89	0.68	1.19	0.90	*	0.10	0.34	
C22:1n9	0.31	0.60	0.31	0.04	0.09	0.03	NS	0.06	0.20	
C20:3n3	0.31	0.51	0.36	0.29	0.53	0.24	NS	0.08	0.27	
C20:4n6	0.28	1.13	0.60	0.35	0.48	0.48	NS	0.14	0.46	
C24:0	0.95	2.37	2.01	0.75	1.20	0.97	NS	0.20	0.67	
AGS	30.60	39.76	32.75	23.00	27.05	22.46	+	0.84	2.79	
AGMI	6.45	8.75	6.51	3.30	6.86	5.26	NS	0.98	3.26	
AGPI	62.95	51.49	60.74	73.71	66.09	72.28	NS	1.18	3.93	
Concentración de AG (g/kg MS)										
AG total	6.81	3.35	5.42	14.64	6.49	15.98	*	0.73	2.42	

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; P1: 25 xullo a 15 agosto; P2: 16 agosto a 5 setembro; P3: 6 a 26 de setembro; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

5.3.7.2. Pastoreo de primavera-verán, ano 2011

O contido en AGt das especies leguminosas no ensaio de 2011 foi significativamente superior ao do raigrás, con valores de 6.0, 10.6, 11.6 e 9.8 g/kg MS para RG, TV, TB e AL respectivamente (Táboa 5.17). O perfil de AG do pasto foi marcadamente insaturado, con valores de AG poliinsaturados superiores ao 75% AGt en tódalas especies. Os AG máis importantes foron, por esta orde, os poliinsaturados alfa-linolénico e linoleico seguido do palmítico. A proporción relativa destes tres AG (en %AGt) foi de 60.3, 15.9 e 15.7 % para RG, de 52.7, 22.7 e 15.2% para TV, de 57.6, 19.7 e 13.6% para TB e de 52.9, 21.0 e 14.8% para AL. A proporción de alfa-linolénico en RG e TB foi significativamente superior á de TV e AL, a de linoleico foi significativamente inferior no RG comparado coas leguminosas e a de palmítico foi significativamente inferior para o trevo branco comparado co resto das especies.

Táboa 5.17. Perfil de AG da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Ano 2011)

n					s.e.m	d.m.s.	Tratamento	Período
	RG	TV	TB	AL			P	P
	8	8	8	8				
Composición de AG (% AG total)								
C12:0	0.52	0.88	0.68	0.88	0.04	0.11	***	***
C14:0	0.51	0.61	0.31	0.77	0.17	0.51	***	**
C15:0	0.12	0.20	0.12	0.23	0.03	0.09	+	+
C16:0	15.72	15.22	13.63	14.83	0.01	0.04	**	***
C16:1	0.21	0.16	0.20	0.19	0.02	0.06	NS	+
C17:0	0.21	0.28	0.18	0.32	0.03	0.09	*	*
C18:0	0.19	1.89	1.31	2.05	0.09	0.26	***	***
C18:1n9c	2.50	3.74	2.65	2.57	0.44	1.36	NS	NS
C18:2n6c	15.90	22.77	19.77	21.01	0.91	2.77	**	***
C20:0	0.72	0.82	0.48	0.90	0.06	0.18	**	**
C18:3n6	0.11	0.32	0.21	0.33	0.06	0.18	NS	NS
C20:1	0.28	0.18	0.20	0.22	0.01	0.04	**	+
C18:3n3	60.36	52.73	57.67	52.91	1.45	4.43	*	***
C22:0	1.11	0.76	0.55	0.58	0.03	0.09	***	***
C22:1n9	0.15	0.05	0.06	0.07	0.01	0.04	***	NS
C20:3n3	0.24	0.27	0.24	0.31	0.02	0.05	+	**
C20:4n6	0.16	0.27	0.26	0.27	0.03	0.08	*	***
C24:0	0.52	0.67	0.51	0.90	0.08	0.25	*	**
AGS	19.99	20.96	17.91	21.60	0.54	1.64	**	***
AGMI	3.20	4.08	3.11	3.06	0.44	1.35	NS	NS
AGPI	76.81	74.96	78.98	75.34	0.74	2.26	*	***
Concentración de AG (g/kg MS)								
AG total	6.06	10.61	11.06	9.84	0.52	1.60	***	NS

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

Consideradas globalmente tódalas especies, o avance da estación non afectou significativamente á concentración de AGt, que se mantivo entre o 1º e o 4º período entre 6.0 e 4.7 g/kg MS no raigrás, entre 10.6 e 9.8 g/kg MS no trevo violeta, entre 11.6 e 10.4 g/kg MS no trevo branco e entre 9.8 e 8.2 g/kg MS na alfalfa, non sendo significativa a interacción entre a especie pratense e o período de ensaio (Táboa 5.18). Sen embargo observase que conforme avanza a primavera a proporción de AG poliinsaturados diminúe significativamente, aumentando a de AG saturados, con proporcións medias para o conxunto de especies pratenses de 79.2, 77.6, 75.8 e 70.6% de AGPI e de 17.8, 18.9, 20.8 e 24.9 % de AGS para os períodos 1º a 4º, respectivamente. A variación destas proporcións foi diferente para o raigrás comparado coas leguminosas para AGPI, AGS e os principais AG, como indica a interacción significativa entre a especie pratense e o período de ensaio para estas variábeis. Entre o primeiro e o último período de ensaio, comparando o raigrás coa media das leguminosas, a variación da proporción dos principais AG e os seus grupos (en % AGt) foi: para AGPI de 82.4 a 67.0% vs. 78.2 a 72.2 %, para AGS de 15.2 a 28.9% vs. 18.7 a 23.6%, para alfa-linolénico de 78.5 a 30.7% vs. 57.7 a 47.9%, para linoleico de 6.1 a 27.5% vs. 17.4 a 23.1% e para palmítico de 14.1 a 19.9% vs. 13.8 a 16.9%. Entre as especies leguminosas non houbo diferenzas importantes en canto ás variacións das proporcións de AG ao longo do ensaio, mostrando que a superior concentración de AGt e o perfil de AG destas especies mantense máis estábel, comparado co raigrás, conforme avanza a estación de pastoreo.

Táboa 5.18. Interacción tratamento x período: Perfil de AG da herba pastoreada (Ano 2011)

Tratamento	RG				TV				TB				AL				Trat x Per		
	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P1	P2	P3	P4	P	s.e.m.	d.m.s.
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2			
Composición de AG (% AG total)																			
C12:0	0.03	0.61	0.83	0.67	0.69	0.90	1.00	0.93	0.50	0.69	0.85	0.69	0.65	0.93	0.89	1.24	*	0.07	0.22
C14:0	0.14	0.47	0.85	0.67	0.48	0.75	0.54	0.70	0.11	0.50	0.34	0.26	0.65	0.80	0.69	1.10	+	0.33	1.02
C15:0	0.01	0.06	0.27	0.20	0.16	0.20	0.18	0.28	0.12	0.08	0.12	0.18	0.18	0.25	0.19	0.35	NS	0.06	0.18
C16:0	14.10	14.71	16.24	19.95	14.27	15.73	14.75	16.32	12.60	13.54	14.45	14.24	14.60	12.87	15.58	17.69	+	0.03	0.08
C16:1	0.09	0.19	0.26	0.38	0.15	0.15	0.13	0.23	0.29	0.14	0.16	0.20	0.18	0.25	0.14	0.21	*	0.04	0.12
C17:0	0.12	0.10	0.30	0.41	0.20	0.31	0.24	0.37	0.17	0.16	0.16	0.26	0.29	0.35	0.26	0.47	NS	0.06	0.19
C18:0	0.00	0.22	0.32	0.28	1.42	1.84	1.82	2.60	0.79	1.29	1.60	1.83	1.78	1.97	1.95	2.95	NS	0.17	0.53
C18:1n9c	2.00	2.45	2.99	2.60	3.35	4.27	2.77	4.76	1.81	2.77	3.06	3.29	2.52	2.55	2.56	2.71	NS	0.89	2.72
C18:2n6c	6.12	14.62	21.15	27.52	19.41	25.93	21.21	24.89	15.57	21.24	21.47	21.83	17.41	22.83	21.97	22.69	*	1.81	5.53
C20:0	0.41	0.60	0.88	1.30	0.53	0.90	0.81	1.07	0.43	0.57	0.42	0.55	0.79	0.77	0.86	1.45	NS	0.12	0.37
C18:3n6	0.01	0.09	0.13	0.34	0.22	0.30	0.37	0.39	0.17	0.24	0.22	0.17	0.28	0.27	0.38	0.49	NS	0.11	0.35
C20:1	0.20	0.25	0.35	0.34	0.16	0.16	0.18	0.24	0.23	0.18	0.18	0.22	0.19	0.24	0.20	0.26	NS	0.03	0.09
C18:3n3	78.50	69.64	47.76	30.70	56.80	50.37	57.26	45.26	61.01	56.82	57.76	52.52	55.46	53.07	53.60	46.13	***	2.90	8.87
C22:0	0.87	1.06	1.40	1.12	0.63	0.77	0.73	0.95	0.42	0.58	0.60	0.64	0.54	0.50	0.66	0.67	*	0.06	0.18
C22:1n9	0.10	0.13	0.22	0.19	0.06	0.05	0.04	0.05	0.06	0.07	0.07	0.05	0.07	0.08	0.06	0.07	NS	0.03	0.08
C20:3n3	0.21	0.17	0.26	0.42	0.24	0.26	0.26	0.34	0.23	0.23	0.24	0.30	0.31	0.28	0.32	0.39	NS	0.03	0.10
C20:4n6	0.00	0.09	0.30	0.30	0.14	0.29	0.26	0.39	0.29	0.16	0.27	0.36	0.13	0.36	0.23	0.45	*	0.05	0.16
C24:0	0.00	0.40	0.91	0.99	0.49	0.56	0.72	0.95	0.41	0.55	0.53	0.62	0.59	0.94	0.86	1.50	NS	0.16	0.50
AGS	15.23	17.25	23.03	28.94	18.97	21.17	20.13	24.09	16.30	17.97	18.60	19.61	20.84	19.56	21.64	27.15	*	1.07	3.28
AGMI	2.34	2.87	4.00	3.96	3.72	4.47	3.02	5.30	2.50	3.11	3.38	3.82	3.05	3.12	2.92	3.22	NS	0.89	2.70
AGPI	82.44	79.89	72.97	67.09	77.30	74.36	76.85	70.61	81.20	78.92	78.02	76.57	76.11	77.32	75.45	69.62	***	1.48	4.52
Concentración de AG (g/kg MS)																			
AG total	6.01	7.80	5.02	4.75	10.64	8.90	12.93	9.84	11.66	10.82	11.00	10.45	9.81	9.27	11.24	8.24	NS	1.04	3.19

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; P1: 25 abril a 15 maio; P2: 16 maio a 5 xuño; P3: 6 a 26 de xuño; P4: 27 xuño-17 xullo; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados.

5.3.7.3. Pastoreo de primavera, ano 2012

Na Táboa 5.19 móstranse os resultados da composición de AG dos pastos no último ano de ensaios, realizado en primavera. Comparados co raigrás inglés, a concentración de AG na MS da herba durante o pastoreo foi significativamente máis elevada nos trevos violeta e branco (valores medios de 8.1, 14.2 e 11.4 g/kg MS para RG, TV e TB, respectivamente), sendo o valor do trevo violeta significativamente superior ao resto. A maior concentración de AGt das especies leguminosas confirma os resultados dos dous anos anteriores, esta vez con pastos de primavera. Aínda que o valor medio de AGt tendeu a descender co avance da estación de pastoreo, os valores medios entre períodos de ensaio non foron significativamente diferentes, observándose un comportamento uniforme das tres especies pratenses, a este respecto. Os tres AG máis importantes, ao igual que aconteceu en anos anteriores, foron o alfa-linolénico, o linoleico e o palmítico, por esta orde que, a diferenza do observado nos ensaios de 2010 e 2011 mantiveron unha proporción no total de AG moi similar e non significativamente diferente entre as tres especies pratenses. Os valores medios para RG, TV e TB para as porcentaxes dos principais AG foron de 58.5, 59.9 e 56.7 %AGt para o alfa-linolénico, de 19.6, 19.0 e 19.7 %AGt para o linoleico e de 14.8, 13.4 e 15.3 %AGt para o palmítico. Non houbo diferenzas significativas entre especies nin entre períodos para a proporción dos principais AG nin para a dos grupos de AGPI e AGS no total de AG da herba. A interacción entre especie pratense e período de ensaio tampouco foi significativa para ningunha destas variábeis, suxerindo unha evolución comparativamente semellante para o perfil de AG de estas especies co avance da primavera..

Táboa 5.19. Perfil de AG da herba pastoreada. Medias por tratamento e significación dos efectos principais (Año 2012)

n	RG	TV	TB	s.e.m	d.m.s.	Tratamento Período	
						P	P
	8	8	8				
Composición de AG (% AG total)							
C12:0	0.69	0.96	0.86	0.03	0.09	***	+
C14:0	0.48	0.46	0.44	0.02	0.05	NS	**
C15:0	0.18	0.17	0.15	0.01	0.02	*	***
C16:0	14.81	13.47	15.34	0.56	1.68	+	NS
C16:1	0.16	0.10	0.14	0.01	0.03	**	NS
C17:0	0.16	0.20	0.17	0.01	0.02	**	**
C18:0	0.58	1.36	1.42	0.07	0.22	***	+
C18:1n9c	1.44	1.05	1.41	0.06	0.19	**	***
C18:2n6c	19.64	19.08	19.79	0.75	2.25	NS	NS
C20:0	0.50	0.74	0.65	0.04	0.12	**	*
C18:3n6	0.20	0.42	0.34	0.02	0.07	***	*
C20:1	0.24	0.17	0.22	0.01	0.03	***	NS
C18:3n3	58.53	59.93	56.73	1.04	3.12	NS	NS
C22:0	1.01	0.60	0.77	0.04	0.13	***	NS
C22:1n9	0.10	0.01	0.05	0.01	0.02	***	NS
C20:3n3	0.25	0.23	0.23	0.01	0.04	NS	***
C20:4n6	0.23	0.24	0.25	0.01	0.04	NS	**
C24:0	0.80	0.79	1.01	0.05	0.15	*	*
AGS	19.21	18.76	20.83	0.66	1.98	NS	NS
AGMI	1.95	1.34	1.82	0.07	0.20	***	**
AGPI	78.84	79.90	77.35	0.65	1.97	*	NS
Concentración de AG (g/kg MS)							
AG total	8.19	14.28	11.47	0.57	1.73	***	NS

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; ; d.m.s.: diferenca mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

Táboa 5.20. Interacción tratamento x período: Perfil de AG da herba pastoreada (Ano 2012)

Tratamento	RG			TV			TB			Trat x Per		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P	s.e.m.	d.m.s.
n	3	3	2	3	3	2	3	3	2			
Composición de AG (% AG total)												
C12:0	0.68	0.70	0.69	0.92	1.03	0.90	0.82	0.94	0.81	NS	0.05	0.15
C14:0	0.36	0.48	0.55	0.44	0.47	0.46	0.42	0.53	0.38	**	0.03	0.08
C15:0	0.20	0.21	0.14	0.17	0.18	0.16	0.18	0.16	0.12	*	0.01	0.03
C16:0	15.01	14.00	15.49	14.08	12.81	13.72	15.46	15.38	15.23	NS	0.97	2.91
C16:1	0.14	0.17	0.17	0.10	0.10	0.11	0.12	0.13	0.17	NS	0.02	0.06
C17:0	0.19	0.19	0.12	0.19	0.21	0.21	0.17	0.19	0.15	*	0.01	0.04
C18:0	0.79	0.30	0.71	1.50	1.26	1.38	1.58	1.44	1.31	NS	0.13	0.38
C18:1n9c	1.26	1.09	1.90	0.97	0.90	1.26	1.33	1.30	1.57	NS	0.11	0.33
C18:2n6c	17.78	19.37	21.14	19.67	18.09	19.68	20.10	18.30	21.07	NS	1.30	3.90
C20:0	0.61	0.51	0.42	0.73	0.75	0.75	0.75	0.75	0.49	NS	0.07	0.21
C18:3n6	0.30	0.17	0.15	0.43	0.44	0.40	0.40	0.37	0.28	NS	0.04	0.13
C20:1	0.23	0.25	0.24	0.17	0.18	0.17	0.24	0.21	0.20	NS	0.02	0.05
C18:3n3	60.00	60.17	55.91	58.62	61.74	59.00	55.76	57.88	56.24	NS	1.79	5.40
C22:0	0.88	0.97	1.15	0.63	0.59	0.61	0.83	0.81	0.71	NS	0.07	0.22
C22:1n9	0.07	0.11	0.12	0.01	0.01	0.01	0.05	0.05	0.06	+	0.01	0.03
C20:3n3	0.35	0.27	0.16	0.24	0.22	0.23	0.29	0.22	0.21	*	0.02	0.07
C20:4n6	0.27	0.24	0.19	0.26	0.25	0.21	0.31	0.26	0.21	NS	0.02	0.07
C24:0	0.88	0.80	0.74	0.87	0.78	0.75	1.20	1.10	0.79	NS	0.09	0.26
AGS	19.60	18.16	20.00	19.51	18.08	18.93	21.40	21.29	19.99	NS	1.14	3.43
AGMI	1.70	1.63	2.44	1.26	1.18	1.55	1.74	1.69	2.00	NS	0.11	0.34
AGPI	78.71	80.22	77.56	79.23	80.74	79.52	76.86	77.02	78.01	NS	1.13	3.41
Concentración de AG (g/kg MS)												
AG total	10.38	7.58	7.34	15.32	14.44	13.42	11.90	11.20	11.45	NS	0.99	2.99

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; P1: 9 abril a 29 abril; P2: 30 abril a 20 maio; P3: 21 maio a 10 xuño; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ; d.m.s.: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha = 0.05$); AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

5.3.8. Composición de AG das ensilaxes de millo utilizadas nos ensaios

Na Táboa 5.21 móstrase a composición dos AG da ensilaxe de millo utilizada no ensaio. A concentración media de AG totais foi moi semellante entre anos, como era de esperar, con valores de 7.8, 8.8 e 7.2 g/kg MS para os anos 2010, 2011 e 2012 respectivamente. O AG maioritario foi o linoleico, seguido polo oleico, o palmítico e o alfa-linolénico. Os valores medios para os tres anos de ensaio 2010 a 2012 foron de 42.5, 45.6 e 40.9 g/kg MS para o linoleico, de 33.2, 29.7 e 32.0 g/kg MS para o oleico, de 14.4, 15.1 e 15.5 g/kg MS para o palmítico e de 3.2, 2.9 e 4.0 g/kg MS para o alfa-linolénico, o que indica as evidentes diferenzas na composición do perfil de AG da planta de millo comparada coas especies herbáceas pratenses.

Táboa 5.21. Composición de AG das ensilaxes de millo utilizadas nos experimentos

	2010		2011		2012	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
Composición de AG (% AG total)						
C12:0	0.45	0.07	0.51	0.04	0.45	0.09
C14:0	0.30	0.09	0.34	0.16	0.38	0.06
C15:0	0.05	0.04	0.04	0.04	0.07	0.01
C16:0	14.44	0.46	15.14	1.75	15.57	1.50
C16:1	0.19	0.05	0.42	0.46	0.41	0.34
C17:0	0.21	0.09	0.16	0.03	0.23	0.06
C18:0	2.81	0.63	2.70	0.58	3.04	0.38
C18:1n9c	33.21	3.57	29.79	1.73	32.04	5.87
C18:2n6c	42.50	6.93	45.60	2.69	40.99	5.90
C20:0	0.61	0.29	0.50	0.19	0.69	0.18
C18:3n6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:1	0.47	0.04	0.38	0.11	0.41	0.15
C18:3n3	3.21	1.64	2.98	0.89	4.08	0.89
C21	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C22:0	0.66	0.23	0.58	0.09	0.72	0.20
C22:1n9	0.14	0.05	0.13	0.08	0.09	0.06
C20:3n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C20:4n6	0.11	0.06	0.10	0.06	0.15	0.03
C24:0	0.64	0.17	0.62	0.11	0.69	0.13
AGS	20.16	2.02	20.58	2.06	21.84	2.18
AGMI	34.02	5.78	30.73	5.22	32.95	5.60
AGPI	45.82	5.04	48.69	5.36	45.21	4.97
Concentración de AG (g/kg MS)						
AG total	7.84	1.64	8.83	0.51	7.23	1.22

s.d.: desviación estándar da media; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados

5.3.9. Producción, composición fisicoquímica do leite e inxestión voluntaria das vacas

5.3.9.1. Pastoreo de verán, ano 2010

O primeiro ano o experimento foi realizado entre o 26 de xullo ao 29 de setembro, na segunda metade da lactación das vacas, entre os días 154 e 217 tras o parto, como media de tódolos animais, tendo un 40% de vacas de primeiro parto en cada grupo. Como resposta á mellor calidade nutricional do pasto de trevo violeta no pastoreo de verán do ano 2010, este tratamento produciu, de media, un 11% máis de leite que o raigrás inglés (Táboa 5.22). A produción de leite (kg/vaca e día) para RG e TV foi significativamente diferente a favor da leguminosa, con valores medios de 23.8 e 26.6 kg para o leite estandarizado ao 3,5% de graxa e 3.2 % de proteína (FPCM), de 0.88 e 1.00 kg para a produción de graxa, de 0.70 e 0.79 para a de proteína e de 2.82 e 3.15 para os sólidos totais. Non houbo diferenzas significativas entre a gramínea e a leguminosa nas porcentaxes no leite de materia graxa, materia proteica e lactosa, con valores de 3.83 e 3.96%, 3.06 e 3.12% e 4.56 e 4.58%, respectivamente, pero o nivel de urea en leite foi significativamente inferior para o raigrás mostrando o baixo valor proteico da gramínea neste momento do ano, con valores de 128 e 224 mg urea/L de leite..

A produción de leite ao longo do ensaio mostrou un mínimo en ambos tratamentos no 2º período, coincidente co período de maiores temperaturas en agosto, con valores medios para RG de 26.7, 20.9 e 23.8 kg e para TV de 27.9, 23.4 e 28.4 kg FPCM/vaca e día para os períodos 1º, 2º e 3º, respectivamente, mostrando a superioridade de TV fronte RG ao longo de todo o ensaio, así como o efecto do rebrote do pasto no último período tras as primeiras chuvias de setembro. Agás para a produción de proteína no leite e os contidos en materia proteica e urea do leite, que foron menos variábeis ao longo do ensaio no TV, comparado co RG, non se observaron interaccións significativas entre a especie pratense e o período de ensaio para o resto das variábeis.

A estimación da inxesta total de MS foi, para RG e TV de 21.5 e 22.1 kg MS/vaca e día, correspondendo ao pasto 12.2 e 12.8 kg MS/vaca e día, respectivamente, sen diferenzas significativas entre ambas especies. A evolución da inxestión ao longo do ensaio mostrou un descenso no 2º período correspondendo á parte máis calorosa do mes de agosto, con valores de 24.5, 18.0 e 22.9 kg MS/vaca e día para os tres períodos de ensaio e un comportamento semellante para as dúas especies de pasto. O consumo de

pasto representou no primeiro e último períodos de ensaio aproximadamente o 60% da inxesta total de MS en ambos tratamentos, descendendo até o 50% no mes central do verán. A eficiencia de transformación da MS en leite foi baixa en conxunto pero significativamente superior para o trevo violeta, con valores medios de 1.11 e 1.21 kg FPCM/kg MS inxerida para RG e TV, respectivamente, o que se corresponde co avanzado estado de lactación e a calidade media-baixa do pasto a finais de verán. Este valor seguiu unha tendencia cadrática ao longo dos tres períodos de ensaio, sendo superior no segundo período, de forma máis marcada para o trevo violeta.

Táboa 5.22. Efecto do tipo de pasto sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (Ano 2010)

	Tratamento (tipo de		s.e.m	Significación (P)		
	RG	TV		Tratament	Period	Trat x Period
n	45	45				
Producción de leite (PL, kg/día)						
PL non corrixida	23.1	25.2	0.42	***	***	NS
PL corrixida a 3.5% MG	24.3	27.1	0.51	***	***	NS
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2%	23.8	26.6	0.48	***	***	NS
Producción de sólidos (kg/día)						
Materia graxa	0.88	1.00	0.02	***	***	NS
Materia proteica	0.70	0.79	0.01	***	***	*
Extracto seco magro	1.94	2.15	0.03	***	***	NS
Sólidos totais	2.82	3.15	0.05	***	***	NS
Composición fisicoquímica leite						
Materia graxa (%)	3.83	3.96	0.07	NS	***	NS
Materia proteica (%)	3.06	3.12	0.02	NS	***	*
Lactosa (%)	4.56	4.58	0.01	NS	*	NS
Extracto seco magro (%)	8.43	8.51	0.03	NS	***	NS
Urea (mg/L)	128	224	5.80	***	*	***
Inxestión de materia seca						
IMS (kg/vaca e día)	21.5	22.1	0.35	NS	***	NS
IMS pasto (kg MS/vaca e día)	12.2	12.8	0.35	NS	***	NS
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.11	1.21	0.00	***	***	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica

Na táboa 5.23 móstranse os valores medios por tratamento e período das necesidades enerxéticas das vacas de leite e das achegas dos alimentos. Referido ao leite producido, o consumo de concentrado oscilou entre 74 e 82 g/kg FPCM para o pasto de trevo violeta e o de raigrás inglés, respectivamente. Como pode observarse, o pasto chega a cubrir aproximadamente o 50% das necesidades dos animais (49.3% en RG e 52.9% en TV), variando entre o 58.5%, o 41.7% e o 53.0 % nos períodos 1º, 2º e 3º do ensaio, como media das dúas especies pratenses.

Táboa 5.23. Valores medios das necesidades e achegas enerxéticas na alimentación das vacas, por tratamento e período (Año 2010)

	Tratamento				Período					
	RG		TV		P1		P2		P3	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
<i>n</i>	45		45		30		30		30	
Necesidades enerxéticas (Mcal ENL/vaca e día)										
Mantemento	9.8	0.71	9.7	0.68	9.7	0.79	9.8	0.71	9.6	0.57
Produción de leite	16.5	2.63	18.4	2.89	18.9	2.12	15.3	2.33	18.1	2.96
Ganancia de peso	1.4	1.24	1.4	1.24	3.8	0.00	-1.0	0.00	1.5	0.00
Total	27.7	3.76	29.6	3.83	32.5	2.62	24.1	2.76	29.3	3.32
N.A.	2.8	0.35	3.1	0.33	3.3	0.20	2.5	0.20	3.0	0.26
Achegas alimentarias (Mcal ENL/vaca e día)										
Concentrado	3.8	0.09	3.7	0.09	3.7	0.05	3.9	0.05	3.7	0.07
Ensilaxe de millo	9.9	0.09	9.8	0.09	9.7	0.05	10.0	0.06	9.8	0.07
Pasto	14.0	3.92	16.0	3.98	19.1	2.66	10.3	2.85	15.7	3.43
% cobertura pasto	49.3	6.89	52.9	6.77	58.5	3.30	41.7	7.01	53.0	5.74

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; P1: 26 xullo-15 agosto; P2: 16 agosto- 5 setembro; P3: 6 setembro-26 setembro; s.d.:desviación estándar; ENL: enerxía neta leite; N.A.: nivel de alimentación

5.3.9.2. Pastoreo de primavera-verán, ano 2011

No segundo ano, o ensaio realizouse entre o 25 de abril e o 17 de xullo, estando as vacas no segundo terzo da lactación (entre os días 108 a 192 tras o parto, de media) e tendo un 40% de animais de primeiro parto en cada grupo. Como se mostra na Táboa 5.24 a produción de leite, a de sólidos totais e a de proteína do leite das vacas nos tratamentos de leguminosas foron significativamente superiores á rexistrada para o tratamento de raigrás inglés, con valores medios (en kg/vaca e día) de 26.2, 28.9, 28.1 e 28.4 kg FPCM, de 3.14, 3.45, 3.39 e 3.41 kg sólidos e de 0.78, 0.85, 0.85 e 0.80 kg de proteína para RG, TV, TB e AL, respectivamente. O trevo violeta e a alfalfa, comparados co raigrás inglés, tiveron unha produción significativamente superior de materia graxa, con valores de 0.96, 1.08, 1.02 e 1.10 kg graxa/vaca e día para RG, TV,

TB e AL, respectivamente. O tipo de pasto afectou significativamente ao contido en materia graxa (MG) e en urea do leite, observándose que a MG do leite dos pastos de trevo branco foi inferior á do trevo violeta e da alfalfa e o contido en urea do leite das vacas que pastoreaban raigrás inglés foi máis baixo comparado co do resto dos tratamentos, con valores medios de 3.74, 3.87, 3.65 e 3.86 % MG e de 120, 183, 193 e 154 mg de urea/L para RG, TV, TB e AL, respectivamente.

Entre o final do 1º e do 4º período a produción estandarizada de leite pasou, de media, de 29.1 a 25.4 kg FPCM/vaca e día, cun descenso de -0.41 kg FPCM/semana, mentres que a de sólidos do leite descendeu, en dito intervalo, desde 3.52 a 3.03 kg/vaca e día e unha redución semanal de -0.054 kg de sólidos/semana e experimentando unha evolución semellante a produción de graxa e proteína do leite. A redución da produción de leite co avance da estación de pastoreo non foi uniforme para tódalas especies, como indica a significativa interacción entre o tipo de pasto e o período de ensaio. Entre o final do primeiro e do último período, a produción de leite (kg FPCM/vaca e día) pasou de 29.2 a 23.6 kg para o RG, de 31.1 a 25.8 kg para o TV, de 31.5 a 24.4 kg para o TB e de 29.4 a 27.9 kg para AL. A menor redución da produción de leite no pasto de alfalfa produciuse sobre todo no cuarto período, no que se fixo patente a falta de humidade tras unha segunda metade da primavera bastante seca, con precipitacións claramente por debaixo da media.

A variación da composición do leite ao longo do ensaio notouse especialmente no contido graxo, aumentando significativamente de 3.60 a 3.91 % MG entre o primeiro e o último período, como media de tódolos tratamentos, mentres o contido en materia proteica (MP) se incrementaba tamén de forma significativa, pero en menor contía, desde 3.01 a 3.10 %MP e o de lactosa se reducía lixeiramente, de 4.74 a 4.70%. A variación da MG do leite ao longo do ensaio foi de diferente magnitude para os distintos tratamentos, sendo máis importante o incremento no raigrás inglés, seguido dos trevos violeta e branco e da alfalfa, con valores de +6, +4, +2 e +1 décimas de MG, respectivamente.. Tamén o contido en urea do leite mostrou unha evolución descendente ao longo do ensaio, de forma especialmente marcada no tratamento de raigrás inglés, no cal este valor pasou de 159 a 89 mg/L de leite, mostrando a redución de proteína na especie gramínea co avance da estación, con valores inferiores ao 10% de PB na materia seca no último período.

A inxestión total de materia seca nos tratamentos de trevo violeta e de alfalfa foi significativamente superior á do raigrás, que non se diferenciou, á súa vez, da do trevo branco, con valores medios de 20.7, 21.8, 20.9 e 21.7 kg MS/vaca e día para RG, TV, TB e AL, respectivamente. A estimación da inxestión de pasto mostrou un valor significativamente superior para o trevo violeta, comparado co do raigrás inglés, non sendo diferente dos do resto dos tratamentos de especies leguminosas, con valores medios (kg MS/vaca e día) de 14.0 kg para RG, de 15.2 kg para TV, de 14.4 kg para TB e de 14.3 kg para AL. A eficiencia de transformación da MS inxerida en leite foi significativamente superior, globalmente, para as especies leguminosas comparadas co raigrás inglés, e máis alta para o trevo branco, con valores medios de 1.26, 1.32, 1.34 e 1.31 kg FPCM/kg MS para RG, TV, TB e AL, respectivamente.

Para o conxunto das especies pratenses a inxestión de MS descendeu ao longo do experimento de forma moi parecida para RG, TV e TB, con valores medios (en Kg de MS/vaca e día), respectivamente, de 21.1 a 19.5 kg, de 22.7 a 19.8 kg e de 22.8 a 18.3 kg, mentres que para a alfalfa a inxestión de MS mantívose entre os 21.0 kg do primeiro período e os 20.8 kg do último. A variación da inxestión de pasto seguiu unha tendencia semellante, reducíndose desde 14.8 kg MS/vaca e día ao final do primeiro período a 13.2 kg MS/vaca e día no último, cunha menor variación para a alfalfa. A eficiencia de transformación da MS en leite se reduciu ao longo do experimento pasando de 1.34 a 1.28 kg FPCM/kg MS entre o 1º ao 4º período e sendo o raigrás inglés o tratamento que experimentou unha maior redución en dito intervalo, ao pasar de 1.37 a 1.20 kg FPCM/kg MS, mentres que para a media das especies leguminosas pasouse de 1.37 a 1.30 kg FPCM/kg MS.

Na táboa 5.25 móstranse os valores medios por tratamento e período das necesidades enerxéticas das vacas de leite e das achegas dos alimentos. O consumo de concentrado foi moi baixo, de 82.0, 74.3, 76.5 e 78.7 g/kg FPCM para RG, TV, TB e AL. No pastoreo de primavera-verán realizado neste ensaio, a inxesta de herba cubre, de media, o 65.8% das necesidades enerxéticas estimadas para os animais (RG: 64.5%, TV: 66.9%, TB: 66.2%, AL: 65.6%), variando entre o 66.9% no 1º período de ensaio e o 63% do último, como media de tódalas especies pratenses.

Táboa 5.24. Efecto do tipo de pasto sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (Ano 2011)

	Tratamento (tipo de pasto)				s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	RG	TV	TB	AL			Tratamento	Período	Trat x Período
n	60	60	60	60					
Producción de leite (PL, kg/día)									
PL non corrixida	25.8	27.9	27.9	26.5	0.547	1.53	*	***	***
PL corrixida a 3.5% MG	26.7	29.5	28.6	27.9	0.595	1.67	**	***	**
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2% MP	26.2	28.9	28.1	28.4	0.571	1.60	**	***	***
Producción de sólidos (kg/día)									
Materia graxa	0.96	1.08	1.02	1.10	0.024	0.07	**	*	*
Materia proteica	0.78	0.85	0.85	0.80	0.017	0.05	**	***	***
Extracto seco magro	2.18	2.38	2.37	2.35	0.045	0.13	**	***	***
Sólidos totais	3.14	3.45	3.39	3.45	0.066	0.18	**	***	***
Composición fisicoquímica do leite									
Materia graxa (%)	3.74	3.87	3.65	3.86	0.058	0.16	*	***	***
Materia proteica (%)	3.03	3.06	3.05	3.01	0.022	0.06	NS	*	NS
Lactosa (%)	4.69	4.72	4.71	4.72	0.020	0.05	NS	**	NS
Extracto seco magro (%)	8.47	8.54	8.47	8.46	0.029	0.08	NS	NS	***
Urea (mg/L)	120	183	193	154	4.72	13.2	***	***	***
Inxestión de materia seca									
IMS (kg/vaca e día)	20.7	21.8	20.9	21.7	0.328	0.92	*	***	***
IMS pasto (kg MS/vaca e día)	14.0	15.2	14.4	14.9	0.328	0.92	*	***	***
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.26	1.32	1.34	1.31	0.008	0.02	***	***	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica

Táboa 5.25. Valores medios das necesidades e achegas enerxéticas na alimentación das vacas, por tratamento e período (Ano 2011)

	Tratamento (tipo de pasto)								Período							
	RG		TV		TB		AL		P1		P2		P3		P4	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
<i>n</i>	60		60		60		60		60		60		60		60	
Necesidades enerxéticas (Mcal ENL/vaca e día)																
Mantemento	9.6	0.5	9.6	0.5	9.6	0.5	9.7	0.5	9.6	0.4	9.6	0.5	9.7	0.5	9.7	0.5
Produción de leite	18.1	3.4	20.0	3.3	19.5	3.5	18.9	3.2	20.2	4.1	19.5	2.9	19.2	3.0	17.6	2.9
Ganancia de peso	0.8	0.9	0.8	0.9	0.8	0.9	0.8	0.9	0.8	0.0	0.0	0.0	2.3	0.0	0.2	0.0
Total	28.6	3.4	30.5	3.8	29.9	3.8	29.4	3.5	30.5	4.3	29.1	3.1	31.2	3.1	27.5	3.0
N.A.	3.0	0.4	3.2	0.4	3.1	0.4	3.0	0.3	3.2	0.4	3.0	0.3	3.2	0.3	2.8	0.3
Achegas alimentarias (Mcal ENL/vaca e día)																
Concentrado	3.8	0.1	3.7	0.1	3.8	0.1	3.8	0.1	3.7	0.1	3.8	0.1	3.7	0.1	3.8	0.1
Ensilaxe de millo	6.2	0.1	6.2	0.1	6.2	0.1	6.2	0.0	6.2	0.1	6.2	0.0	6.2	0.1	6.2	0.0
Pasto	18.6	3.6	20.5	3.9	20.0	4.0	19.4	3.6	20.6	4.5	19.1	3.2	21.3	3.2	17.4	3.1
% cobertura pasto	64.5	4.9	66.9	4.4	66.2	4.9	65.6	4.6	66.9	5.3	65.3	4.0	68.0	3.7	63.0	4.5

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; P1: 25 abr-15 mai; P2: 16 mai-5 xuño; P3: 6 xuño-26 xuño; P4: 27 xuño-17 xullo; s.d.:desviación estándar ; ENL: enerxía neta leite; N.A.: nivel de alimentación

5.3.9.3. Pastoreo de primavera, ano 2012

No último ano, tres dos seis animais de cada grupo de vacas eran de primeiro parto. O ensaio realizouse totalmente en primavera, entre o 9 de abril e o 10 de xuño, dando comezo a fase experimental cando as vacas estaban iniciando a fase descendente da lactación, sendo executado o experimento entre os días 60 a 123 tras o parto, como media dos tres grupos de vacas. Como se mostra na Táboa 5.26 a produción de leite non estandarizada foi significativamente máis elevada para os tratamentos de trevo branco e trevo violeta comparados co de raigrás inglés, pero a diferenza non chegou a ser significativa cando a produción se corrixiu polo contido en graxa ou en graxa e proteína, con valores medios (en kg de leite/vaca e día) para RG, TV e TB, respectivamente, de 32.4, 34.6 e 35.0 kg de leite non estandarizado e de 32.6, 34.0 e 34.0 kg de FPCM. A produción de proteína e de extracto seco magro do leite foi tamén significativamente máis elevada para os dous tratamentos de trevos, comparados co de raigrás inglés, con valores medios (en kg de sólidos/vaca e día) de 0.97, 1.04 e 1.05 kg de MP e de 2.78, 2.96 e 2.98 kg de ESM para, respectivamente, RG, TV e TB. As diferenzas entre tratamentos para a produción diaria de graxa e de sólidos totais do leite non acadou significación estatística, con valores medios para RG, TV e TB de 1.19, 1.20 e 1.19 kg MG e de 3.97, 4.16 e 4.17 kg de sólidos totais por vaca e día, respectivamente. O contido en MG do leite dos tratamentos de pastoreo dos trevos violeta (3.45%) e branco (3.38 %) foi significativamente inferior ao de raigrás inglés (3.67%), mentres que a concentración de urea no leite deste último tratamento (133 mg urea/L) foi significativamente inferior á dos tratamentos de trevo violeta (277 mg urea/L) e trevo branco (201 mg de urea/L). As diferenzas entre tratamentos para o resto da composición fisicoquímica do leite non foron significativas.

A produción de leite e de sólidos do leite diminuíu significativamente en tódolos tratamentos co avance da lactación, sendo observado un comportamento semellante dos tres tratamentos como se evidencia pola non significación da interacción entre a especie pratense e o período de ensaio. De media, a redución da produción de leite das vacas foi de 0.93 kg FPCM/semana e a de sólidos do leite de 0.115 kg/semana. A variación entre o final do primeiro e do último período (kg/vaca e día) foi, para RG de 36.2 a 30.0 kg FPCM e de 4.4 a 3.6 kg de sólidos totais, para TV de 36.8 a 32.7 kg FPCM e de 4.5 a 4.0 kg de sólidos totais e para TB de 38.0 a 31.3 kg FPCM e de 4.6 a 3.8 kg de sólidos

totais. Non se observou un efecto significativo do período de ensaio sobre ningún parámetro de composición fisicoquímica do leite, pero o contido en MG do leite de RG tendeu a aumentar no último período do experimento, probabelmente como resposta ao maior contido en fibra do raigrás, mentres que para os dous trevos non se viu sensibelmente alterada en dito período. O contido en urea do leite do tratamento de RG tivo un valor mínimo no segundo período de ensaio, pasando de 132 a 103 mg/L para volver a aumentar a 156 mg/L, o que se atribúe ao distinto contido en PB do pasto na semana de control do citado período.

A inxestión total de MS e a de pasto non foron significativamente diferentes entre tratamentos, con valores medios de 24.2 e 17.4 kg MS/vaca e día, respectivamente. A maior produción de leite nos tratamentos dos trevos fixo que a eficiencia de transformación da MS en leite fose significativamente superior para TV e TB (1.39 e 1.40 kg FPCM/kg MS, respectivamente) comparados con RG (1.36 kg FPCM/kg MS). A inxestión de MS e a eficiencia foron afectadas significativamente polo período de ensaio. Os valores medios dos tres tratamentos para os tres períodos de ensaio foron de 19.5, 15.4 e 17.3 kg MS/vaca e día para a inxestión de pasto e de 1.41, 1.45 e 1.30 kg FPCM/kg MS. A variación da inxestión e do índice de eficiencia co avance do experimento seguiu o mesmo patrón para os tres tratamentos, cun menor valor no segundo período para a inxestión e un lixeiro incremento no último, mentres que a eficiencia de transformación da MS en leite do último período foi o máis baixo nos tres tratamentos, reflectindo a caída na produción de leite co avance da lactación.

Os valores medios por tratamento e período das necesidades enerxéticas das vacas e as achegas dos alimentos móstranse na táboa 5.27. A proporción das necesidades de enerxía das vacas cuberta polo pasto foi a máis elevada dos tres anos de ensaio, correspondéndose co maior valor nutricional do pasto en primavera. O consumo de concentrado foi de 65.9, 63.2 e 63.2 g/kg FPCM. Para os tratamentos RG, TV e TB o pasto cubriu o 70.5, 71.2 e 71.2 % das necesidades totais de enerxía. Móstranse os valores medios por tratamento e período das necesidades enerxéticas das vacas de leite e das achegas dos alimentos. Considerando os tres períodos de ensaio, como media das tres especies pratenses, o pasto permitiu cubrir o 75.8, o 67.3 e o 69.8% das necesidades de ENL.

Táboa 5.26. Efecto do tipo de pasto sobre a produción, composición fisicoquímica do leite e inxestión de materia seca (Ano 2012)

	Tratamento			s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	RG	TV	TB			Tratamento	Período	Trat x Período
n	54	54	54					
Producción de leite (PL, kg/día)								
PL non corrixida	32.4	34.6	35.0	0.632	1.77	**	***	NS
PL corrixida a 3.5% MG	33.3	34.4	34.4	0.761	2.13	NS	***	NS
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2% MP	32.6	34.0	34.0	0.742	2.08	NS	***	NS
Producción de sólidos (kg/día)								
Materia graxa	1.19	1.20	1.19	0.032	0.09	NS	***	NS
Materia proteica	0.97	1.04	1.05	0.023	0.06	*	***	NS
Extracto seco magro	2.78	2.96	2.98	0.055	0.15	*	***	NS
Sólidos totais	3.97	4.16	4.17	0.084	0.24	NS	***	NS
Composición fisicoquímica do leite								
Materia graxa (%)	3.67	3.45	3.38	0.052	0.15	***	NS	*
Materia proteica (%)	3.00	3.01	3.00	0.026	0.07	NS	NS	NS
Lactosa (%)	4.82	4.79	4.80	0.013	0.04	NS	NS	NS
Extracto seco magro (%)	8.59	8.56	8.53	0.008	0.02	NS	NS	NS
Urea (mg/L)	133	227	201	3.981	11.15	***	NS	***
Inxestión de materia seca								
IMS (kg/vaca e día)	24.0	24.4	24.3	0.469	1.31	NS	***	NS
IMS pasto (kg MS/vaca e día)	17.1	17.6	17.5	0.469	1.31	NS	***	NS
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.36	1.39	1.40	0.005	0.01	***	***	NS

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; s.e.m.: erro estándar da media; d.m.s: diferenza mínima significativa entre dúas medias da mesma fila ($\alpha=0.05$); P: significación do test F no ANOVA. NS: $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica

Táboa 5.27. Valores medios das necesidades e achegas enerxéticas na alimentación das vacas, por tratamento e período (Ano 2012)

	Tratamento (tipo de pasto)						Período					
	RG		TV		TB		P1		P2		P3	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
<i>n</i>	54		54		54		54		54		54	
Necesidades enerxéticas (Mcal/vaca e día)												
Mantemento	9.5	0.9	9.3	0.9	9.4	0.9	9.3	1.0	9.4	0.9	9.5	0.8
Produción de leite	22.6	3.7	23.5	4.7	23.5	4.0	25.6	4.6	22.3	3.6	21.7	3.0
Ganancia de peso	2.6	2.5	2.6	2.5	2.6	2.5	5.7	0.0	-0.3	0.0	2.4	0.0
Total	34.6	5.5	35.4	6.2	35.5	6.1	40.6	5.3	31.4	4.3	33.6	3.7
N.A.	2.7	0.5	2.8	0.6	2.7	0.4	3.4	0.3	2.3	0.3	2.5	0.2
Achegas alimentarias (Mcal ENL/vaca e día)												
Concentrado	3.6	0.1	3.6	0.2	3.6	0.1	3.4	0.1	3.7	0.1	3.6	0.0
Ensilaxe de millo	6.4	0.1	6.3	0.1	6.3	0.1	6.2	0.1	6.4	0.0	6.4	0.0
Pasto	24.7	5.7	25.5	6.4	25.6	6.3	30.9	5.4	21.3	4.3	23.6	3.8
% cobertura pasto	70.5	5.2	71.2	5.4	71.2	5.4	75.8	3.6	67.3	4.7	69.8	3.6

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; P1: 9 abril-29 abril; P2: 30 abril-20 maio; P3: 21 maio-10 xuño; s.d.: desviación estándar ; ENL: enerxía neta leite; N.A.: nivel de alimentación

5.3.9.4. Comparación dos resultados de inxestión de materia seca polos dous métodos de estimación

Foi efectuada a comprobación das estimacións da inxestión de MS (total e a inxestión de pasto) das vacas cando se realiza mediante o cómputo das necesidades enerxéticas dos animais e a concentración enerxética da herba, ou cando se utiliza a fórmula do NRC (2001) baseada na produción de leite, o peso vivo das vacas e a semana de lactación, sen que interveña nos cálculos o valor nutricional, tal e como se indicou no apartado correspondente da metodoloxía. As estimacións de inxesta por ambos métodos foi moi semellante, con valores medios para IMS e IMS_{pasto} de 22.4 e 15.1 kg MS/vaca e día cando na estimación se utiliza a concentración enerxética do pasto e de 22.2 e 14.9 kg MS/vaca e día cando non se utiliza este criterio. A diferenza entre ambos métodos para a estimación da inxesta de pasto foi do 5.3%, como media da variación, en valor absoluto, en cada tratamento. Esta variación foi superior para o pastoreo de verán do ano 2010, no cal a calidade da herba era máis baixa do habitual, comparado cos resultados dos outros dous anos, no que o pastoreo se realizou principalmente en primavera (8.2 vs. 2.8 % de variación, respectivamente) o que parece suxerir como máis adecuado o primeiro método de estimación, dada a variabilidade no valor enerxético do pasto, tanto entre especies como sobre todo ao longo da estación de pastoreo anual.

Táboa 5.28. Comparación de resultados de inxestión de pasto calculada: 1) a partir das necesidades en enerxía das vacas e a concentración enerxética dos alimentos e 2) a partir da produción de leite estandarizada

	1) Por necesidades e achegas enerxéticas			2) Por produción de leite estandarizado		
	IMS	IMS _{pasto}	EFI	IMS _{Total(L)}	IMS _{Pasto(L)}	EFI _(L)
Ano 2010						
RG	21.5	12.2	1.11	20.4	11.1	1.17
TV	22.1	12.8	1.21	21.3	12.1	1.25
Ano 2011						
RG	20.7	14.0	1.26	21.2	14.5	1.23
TV	21.8	15.2	1.32	22.2	15.5	1.30
TB	20.9	14.2	1.34	21.8	15.2	1.28
AL	21.5	14.8	1.26	21.6	14.9	1.26
Ano 2012						
RG	24.0	17.1	1.31	23.5	16.6	1.39
TV	24.4	17.6	1.34	23.8	17.0	1.43
TB	24.3	17.5	1.35	23.8	17.0	1.44

IMS e IMS_{Total(L)}: inxestión total de MS (kg/vaca e día); IMS_{pasto} e IMS_{Pasto(L)}: inxestión de MS no pastoreo (kg/vaca e día); EFI e EFI_(L): kg de leite estandarizado (3.5% graxa e 3.2% proteína)/kg MS consumida; RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa.

5.3.10. Perfil de ácidos graxos do leite

5.3.10.1. Pastoreo de verán, ano 2010

Como se indica na Táboa 5.29, no experimento de pastoreo de verán, con animais na segunda metade da lactación, non houbo diferenzas entre tratamentos para a proporción de AG saturados do leite, a de AG monoinsaturados foi lixeira, pero significativamente máis alta para o tratamento de raigrás, e a de poliinsaturados máis elevada para o de trevo violeta, con valores, respectivamente para RG e TV, de 71.8 e 71.9 % AGS, de 24.8 e 23.7 % AGMI e de 3.32 e 4.29% AGPI. Entre estes últimos, o leite do tratamento de trevo violeta tivo unha proporción máis elevada de C18:2n6c, C18:3n3, total de AG omega-6 e total de AG omega-3, con valores medios para RG e TV, respectivamente, de 1.35 e 1.72 %AGt para o linoleico, de 0.55 e 0.94 %AGt para o alfa-linolénico, de 1.82 e 2.31 %AGt para o total de omega-6 e de 0.74 e 1.14 %AGt para o total de omega-3. O leite de trevo violeta tivo un contido en CLA lixeiramente superior ao do tratamento de raigrás (valores medios de 0.69 %AGt para RG e de 0.76% AGt para TV), pero as diferenzas non foron significativas. A relación omega-6/omega-3 foi significativamente inferior para o leite do tratamento de trevo violeta, completando a indicación acerca do mellor perfil de AG do leite do tratamento de trevo violeta, o cal mostrou, por outra banda, un índice tromboxénico significativamente inferior, coincidente cunha menor proporción de AG saturados C14:0, C16:0 e C18:0 en relación aos AG mono e poliinsaturados do leite.

O período de ensaio (Táboa 5.30) influenciou significativamente o perfil dos principais AG do leite, agás o contido en CLA. Como media dos dous tratamentos, entre o primeiro e o último período de ensaio, o contido en AGS diminuíu lixeiramente, pasando de 72.8 a 71.1 % AGt, e aumentaron os AGMI (de 23.5 a 24.9 %AGt), os AGPI (de 3.7 a 4.0 %AGt), o AG oleico (de 18.1 a 19.3 %AGt) e o AG linoleico (de 1.4 a 1.7 %AGt). O índice tromboxénico tamén diminuíu significativamente pasando de 3.5 a 3.3 do primeiro ao último período. Globalmente, a calidade do perfil de AG do leite mellorou no último período de ensaio, o cal se asocia ao rexuvenecemento dos pastos tras as chuvias de setembro.

O incremento da proporción de AGPI no leite das vacas entre o primeiro e o terceiro período no tratamento de raigrás foi inferior ao correspondente ao tratamento de trevo, pasando de 3.4 a 3.5 % AGt no primeiro caso e de 4.1 a 4.3 % AGt no segundo. No

citado intervalo, o contido en omega-3 total aumentou de 1.1 a 1.3 %AGt para TV e diminuíu de 0.8 a 0.7 % para RG. O contido en linoleico aumentou en ambos tratamentos de forma semellante, pasando no caso do RG de 1.3 a 1.5 % AGt e no do TV de 1.6 a 1.9 % AGt. Consecuentemente, a relación omega-6/omega-3 aumentou ao longo do ensaio no leite das vacas que pastoreaban o raigrás (de 2.2 a 2.8) e mantivo no entorno do 2.0 para o trevo violeta. Tamén o índice tromboxénico dos AG do leite tivo unha evolución máis favorábel para o pasto de trevo violeta, xa que aumentou lixeiramente, de 3.5 a 3.6 para RG e se reduciu de 3.5 a 3.1 para o TV, co cal confirmase que o leite das vacas que pastorearon trevo violeta mantivo un perfil de AG máis saudábel ao longo da estación de pastoreo de verán.

A observación da evolución dos principais AG individuais do leite identificados e cuantificados nas cromatografías ao longo do ensaio mostra que o contido medio de CLA e de alfa-linolénico mostraron o seu mínimo (0.68%AGt en ambos casos) e o de palmítico o su máximo (36.4 %AGt) no segundo período, na parte máis calorosa do verán na segunda metade de agosto, coincidindo tamén cun aumento na proporción de oleico até o 19.0% AGT. A proporción entre os AG de cadea curta (até 10 C), cadea media (de 11 a 17 C) e longa (máis de 18 C) foi moi semellante ao longo do experimento con valores de 9.8, 9.5 e 10.3% para os AG de cadea curta, de 55.9, 56.7 e 55.7% para os AG de cadea media e de 34.3, 33.8 e 34.0 para os AG de cadea longa, períodos primeiro a terceiro, respectivamente.

A inxestión de alfa-linolénico procedente da dieta no tratamento de trevo violeta practicamente triplicou o valor medio correspondente ao raigrás inglés (92.5 vs. 32.1 g/vaca e día), mentres que o output de alfa-linolénico no leite do tratamento de trevo non chega a duplicar o valor do tratamento de raigrás (9.2 vs. 4.8 g/día). Consecuentemente, a taxa de transferencia de alfa-linolénico na dieta de raigrás foi, porcentualmente, máis alta comparada co da dieta de trevo violeta, con valores medios de 18.1 e 14.0 % para RG e TV, respectivamente. Este valor tende a aumentar conforme avanza a estación de pastoreo dunha forma moi parecida para ambos tratamentos, mostrándose un valor máximo no período central do experimento, coincidente cos menores valores de inxestión de alfa-linolénico da dieta debido ao agostamento dos pastos, máis evidente no caso do raigrás inglés.

Táboa 5.29. Efecto do tipo de pasto sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (Ano 2010)

	Tratamento		s.e.m	Significación (P)		
	RG	TV		Trat	Períod	Trat x Períod
n	45	45				
Grupos de ácidos graxos (%)						
AGS	71.82	71.94	0.315	NS	*	NS
AGMI	24.85	23.77	0.296	*	*	NS
AGPI	3.32	4.29	0.057	***	***	*
C18:2n6c	1.35	1.72	0.021	***	***	NS
C18:3n3	0.55	0.94	0.023	***	**	NS
CLA	0.69	0.76	0.042	NS	NS	NS
OMEGA6	1.82	2.31	0.025	***	***	NS
OMEGA3	0.74	1.14	0.025	***	**	*
OMEGA6_3	2.52	2.08	0.043	***	***	***
Índices de calidade dos lípidos						
h_H	0.46	0.45	0.008	NS	NS	**
IA	3.18	3.23	0.055	NS	NS	*
IT	3.57	3.33	0.046	***	**	*
Balance de alfa-linolénico						
Inxestión (g/vaca e día)	32.1	92.5	1.751	***	***	***
Output (g/vaca e día)	4.8	9.2	0.284	***	***	**
Transferencia (%)	18.1	14.0	0.623	***	***	NS

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteíca; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico.

Táboa 5.30. Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento e período (Ano 2010)

	Tratamento				Período					
	RG		TV		P1		P2		P3	
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.
<i>n</i>	45		45		30		30		30	
AG individuais (% AGt) total										
C4:0	3.57	0.191	3.56	0.160	3.52	0.125	3.56	0.138	3.62	0.242
C6:0	2.62	0.154	2.65	0.138	2.61	0.114	2.58	0.082	2.72	0.193
C8:0	1.35	0.109	1.39	0.132	1.37	0.097	1.30	0.070	1.44	0.146
C10:0	2.20	0.315	2.35	0.442	2.33	0.312	2.03	0.244	2.46	0.463
C11:0	0.29	0.050	0.29	0.055	0.29	0.043	0.27	0.058	0.31	0.048
C12:0	2.97	0.391	3.12	0.572	3.15	0.367	2.75	0.338	3.25	0.606
C13:0	0.16	0.028	0.16	0.038	0.16	0.029	0.15	0.030	0.16	0.041
C14:0	12.08	1.177	12.25	1.265	12.24	1.044	11.65	1.108	12.66	1.325
C14:1	1.15	0.282	1.06	0.258	1.05	0.261	1.13	0.333	1.14	0.202
C15:0	1.14	0.177	1.21	0.142	1.25	0.127	1.16	0.092	1.09	0.222
C16:0	35.27	2.740	35.00	3.077	34.85	2.942	36.35	2.528	34.11	2.832
C16:1	2.05	0.547	1.91	0.555	1.79	0.470	2.15	0.603	2.01	0.532
C17:0	0.78	0.093	0.82	0.073	0.84	0.060	0.81	0.063	0.74	0.097
C17:1	0.27	0.035	0.26	0.038	0.26	0.036	0.28	0.031	0.25	0.037
C18:0	9.19	1.761	8.91	1.440	9.92	1.461	8.79	1.703	8.35	1.226
C18:1n9t	2.08	0.535	2.33	0.719	2.23	0.520	2.02	0.548	2.38	0.806
C18:1n9c	19.27	1.703	18.18	1.794	18.16	1.813	19.09	1.383	19.03	2.139
C18:2n6t	0.13	0.023	0.23	0.061	0.19	0.076	0.16	0.059	0.18	0.066
C18:2n6c	1.35	0.162	1.72	0.197	1.44	0.192	1.50	0.291	1.66	0.243
C20:0	0.15	0.028	0.16	0.026	0.16	0.020	0.17	0.030	0.13	0.022
C18:3n6	0.15	0.021	0.15	0.023	0.14	0.019	0.16	0.019	0.14	0.021
C20:1	0.03	0.008	0.03	0.007	0.03	0.005	0.03	0.010	0.03	0.005
C18:3n3	0.55	0.096	0.94	0.221	0.76	0.249	0.68	0.219	0.78	0.298
CLA	0.69	0.215	0.76	0.340	0.71	0.274	0.68	0.226	0.80	0.341
C22:0	0.06	0.017	0.06	0.012	0.06	0.009	0.07	0.017	0.05	0.011
C20:2n6	0.07	0.011	0.07	0.010	0.07	0.010	0.07	0.010	0.07	0.013
C20:3n6	0.04	0.008	0.04	0.009	0.04	0.008	0.04	0.010	0.04	0.006
C20:4n6	0.09	0.014	0.10	0.017	0.09	0.015	0.10	0.015	0.10	0.015
C22:2	0.07	0.010	0.07	0.014	0.07	0.013	0.07	0.011	0.07	0.010
C20:5n3	0.07	0.009	0.08	0.013	0.08	0.013	0.07	0.009	0.07	0.016
C24:1	0.00	0.002	0.00	0.000	0.00	0.002	0.00	0.000	0.00	0.000
C22:5n3	0.12	0.015	0.12	0.024	0.13	0.019	0.11	0.019	0.12	0.017
C22:6n3	0.00	0.003	0.00	0.001	0.00	0.004	0.00	0.000	0.00	0.000

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; P1: 26 xullo-15 agosto; P2: 16 agosto- 5 setembro; P3: 6 setembro-26 setembro; s.d.:desviación estándar

5.3.10.2. Pastoreo de primavera-verán, ano 2011

No segundo ano de ensaio de pastoreo, realizado nos dous meses finais da primavera e o primeiro do verán, o perfil dos principais AG do leite foi significativamente modificado polo tipo de especie pratense pastoreada (Táboa 5.31). A proporción de AGS do leite do tratamento de raigrás inglés (69.5 %AGt) foi numericamente inferior á dos tratamentos de leguminosas (70.3, 70.9 e 70.3 % AGt para TV, TB e AL, respectivamente), chegando a ser significativamente diferente da correspondente ao trevo branco. Non houbo diferenzas significativas entre especies en canto aos valores medios da proporción de AGMI na graxa do leite (que oscilou entre 24.4 %AGt para TB e 25.3 %AGt para RG), mentres que a de AGPI foi significativamente superior para RG e TV (4.90 e 5.05 %AGt, respectivamente) comparados con TB e AL (4.55 e 4.58 %AGT, respectivamente). O leite das vacas do tratamento de trevo violeta mostrou os valores máis altos de AG linoleico, alfa-linolénico, total de omega-6 e total de omega-3, significativamente superiores aos dos restantes tratamentos, con valores medios respectivos, para RG, TV, TB e AL de 2.02, 2.19, 1.86 e 1.96 %AGt para linoleico, de 1.09, 1.25, 0.98 e 1.09 para alfa-linolénico, de 2.75, 2.91, 2.50 e 2.65 para omega-6 total e de 1.33, 1.47, 1.18 e 1.31 para omega-3 total. A proporción de CLA no leite das vacas dos tratamentos de raigrás inglés e de trevo branco foi significativamente superior á dos restantes tratamentos, con valores medios de 0.82, 0.66, 0.87 e 0.62 % AGt, respectivamente, para RG, TV, TB e AL. A relación omega-6/omega-3 do leite do tratamento de trevo violeta (2.02) resultou numericamente a máis baixa de tódolos tratamentos e foi significativamente inferior comparada cos tratamentos de trevo branco (2.16) e alfalfa (2.14) , non sendo diferente da correspondente ao raigrás inglés (2.10). O leite do tratamento de trevo branco tivo un índice hipo-hipercolesterolémico máis baixo e significativamente diferente dos outros tratamentos (RG: 0.57, TV: 0.56, TB: 0.50, AL: 0.56), sendo os outros dous índices de calidade dos lípidos significativamente máis altos para este tratamento, con valores medios para RG, TV, TB e AL, respectivamente, de 2.84, 2.92, 3.09 e 2.94 para o índice ateroxénico e de 2.81, 2.87, 3.09 e 2.96 para o tromboxénico, o que parece indicar unha menor calidade do perfil de AG do leite neste tratamento, segundo este criterio.

Ao longo do experimento, e como media dos catro tratamentos, as porcentaxes de AGS e AGMI non variaron de forma significativa entre o primeiro e o último período de

ensaio, sendo observado que en dito intervalo de tempo a proporción do total de AGPI, de linoleico e de alfa-linolénico reducíanse de forma significativa. O total de AG omega-6 pasou de 2.89 a 2.65 %AGt e o total de AG omega-3 tamén descendeu, aínda que de forma menos marcada, desde 1.38 a 1.29 % AGt, co cal a relación omega-6/omega-3 baixou lixeira pero significativamente desde 2.17 a 2.12. O índice tromboxénico incrementouse desde 2.82 a 2.95 entre o final do primeiro e do cuarto período mostrando un incremento relativo dos AG saturados C14:0, C16:0 e C18:0 do leite, respecto dos mono e poliinsaturados.

Foron observadas interaccións significativas entre a especie pratense e o período de ensaio para os principais AG e índices de calidade dos lípidos, debidos principalmente á diferenza no patrón de variación nos tratamentos de raigrás e de alfalfa respecto dos tratamentos de trevo. Entre o final do primeiro e do último período, a proporción de AGS no leite diminuíu lixeiramente en RG e AL (de 70.6 a 69.3 e de 71.2 a 70.4% AGt, respectivamente) e incrementouse nunha proporción aproximadamente semellante en TV e TB (de 66.9 a 70.8 e de 69.5 a 71.4% AGt, respectivamente), mentres que a de AGMI aumentaba en RG (de 23.4 a 25.7% AGt) e descendía en TV (de 27.1 a 24.1% AGt) e TB (de 25.2 a 24.1 % AGt) para manterse case invariábel en AL (25.2 a 25.0% AGt). No citado intervalo de tempo, o contido en AGPI do leite dos tratamentos de RG, TV e TB descendía (de 5.8 a 4.9, de 5.9 a 4.2 e de 5.2 a 4.4% AGt, respectivamente) mentres o de AL aumentaba de 3.5 a 4.5% AGt. Este mesmo comportamento observouse no tratamento de pastoreo de alfalfa, en comparación cos restantes tratamentos, para os contidos no leite en linoleico, alfa-linolénico, omega-6 total e omega-3 total, que descendieron co avance da estación en tódolos tratamentos mentres que no de alfalfa incrementáronse lixeiramente, probabelmente debido á mellor adaptación deste cultivo ás condicións de déficit de humidade na fase final do experimento, no primeiro mes do verán. O índice ateroxénico do leite de RG diminuíu de 3.0 a 2.8 mentres que o de TV aumentou de 2.5 a 2.9 e o de TB e AL mantíñase arredor de 3.0-3.2 durante todo o experimento. O índice tromboxénico mantívose relativamente constante para o leite do tratamento de RG no entorno de 2.7 a 3.0, aumentando de 2.4 a 2.9 para TV, de 2.8 a 3.2 para TB, e de 2.5 a 3.0 no de AL.

A inxestión de alfa-linolénico nos catro tratamentos foi de 55.2, 92.1, 95.7 e 80.2 g/día para RG, TV, TB e AL, respectivamente, sendo a de TV e TB significativamente

superior á de AL e esta, á sua vez, superior á de RG. O output de alfa-linolénico no leite foi moito menos variábel, con valores medios de 10.4, 13.2, 9.9 e 11.1 g/día para RG, TV, TB e AL, respectivamente, sendo o do tratamento de trevo violeta significativamente máis elevado ca o do resto dos tratamentos. A taxa de transferencia de alfa-linolénico máis elevada, como acontecera o ano anterior, foi a do tratamento de raigrás, cun valor do 21.8%, seguida do trevo violeta (15.3%), alfalfa (13.7%) e trevo branco (10.3%), todas elas significativamente diferentes entre si. Este valor tende a aumentar conforme avanza a estación de pastoreo, desde o 12.6% no primeiro período, a 21.3 no último, como media de tódolos tratamentos. A variación neste intervalo foi diferente, dependendo das especies, pasando de 17.9 a 37.1% para RG, de 15.6 a 18.5% para TV, de 9.4 a 11.7% para TB e de 7.4 a 17.6% para AL.

Na Táboa 5.32 móstranse os valores medios e a desviación típica do conxunto de AG individuais do leite identificados e cuantificados nas cromatografías. A proporción entre os AG de cadea curta (até 10 C), cadea media (de 11 a 17 C) e longa (máis de 18 C) foi moi semellante ao longo do experimento con valores de 10.7, 10.7, 10.6 e 10.7% para os AG de cadea curta, de 50.7, 51.0, 51.6 e 51.4 % para os AG de cadea media e de 38.6, 38.4, 37.8 e 37.9% para os AG de cadea longa, períodos primeiro a cuarto, respectivamente.

Táboa 5.31. Efecto do tipo de pasto sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (Ano 2011)

	Tratamento (tipo de pasto)				s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)		
	RG	TV	TB	AL			Tratamento	Período	Trat x Período
n	60	60	60	60					
Grupos de ácidos graxos (% AG total)									
AGS	69.59	70.31	70.94	70.30	0.288	0.81	*	NS	***
AGMI	25.39	24.54	24.41	25.01	0.283	0.79	NS	NS	***
AGPI	4.90	5.05	4.55	4.58	0.062	0.17	***	***	***
C18:2n6c	2.02	2.19	1.86	1.96	0.031	0.09	***	***	***
C18:3n3	1.09	1.25	0.98	1.09	0.025	0.07	***	*	***
CLA	0.82	0.66	0.87	0.62	0.026	0.07	***	***	***
OMEGA6	2.75	2.91	2.50	2.65	0.036	0.10	***	***	***
OMEGA3	1.33	1.47	1.18	1.31	0.026	0.07	***	***	***
OMEGA6_3	2.10	2.02	2.16	2.14	0.031	0.09	***	*	***
Índices de calidade dos lípidos									
h_H	0.57	0.56	0.50	0.56	0.012	0.03	***	NS	NS
IA	2.84	2.92	3.09	2.94	0.041	0.11	***	NS	***
IT	2.81	2.87	3.09	2.96	0.034	0.09	***	***	***
Balance de alfa-linolénico (ALA)									
Inxestión (g/vaca e día)	55.2	92.1	95.7	80.2	1.737	4.86	***	***	***
Outuput (g/vaca e día)	10.4	13.2	9.9	11.1	0.415	1.16	***	**	***
Transferencia (%)	21.8	15.3	10.3	13.7	0.355	0.99	***	***	***

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolemico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico

Táboa 5.32. Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento e período (Ano 2011)

n	Tratamento (tipo de pasto)										Período							
	RG		TV		TB		AL		P1		P2		P3		P4			
	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.	Media	s.d.		
	60		60		60		60		60		60		60		60		60	
AG individuais (% AG total)																		
C4:0	3.51	0.15	3.54	0.14	3.50	0.15	3.50	0.14	3.46	0.17	3.57	0.14	3.51	0.15	3.52	0.06		
C6:0	2.75	0.10	2.78	0.12	2.74	0.11	2.73	0.12	2.72	0.12	2.78	0.12	2.76	0.13	2.75	0.05		
C8:0	1.55	0.09	1.57	0.10	1.53	0.09	1.52	0.15	1.53	0.12	1.54	0.11	1.57	0.14	1.54	0.07		
C10:0	2.91	0.36	2.91	0.35	2.87	0.39	2.72	0.37	2.99	0.47	2.79	0.38	2.77	0.34	2.87	0.23		
C11:0	0.32	0.05	0.29	0.04	0.32	0.05	0.29	0.05	0.32	0.06	0.30	0.05	0.29	0.05	0.30	0.03		
C12:0	3.89	0.52	3.80	0.49	3.84	0.66	3.63	0.53	4.05	0.72	3.70	0.55	3.60	0.50	3.82	0.31		
C13:0	0.21	0.06	0.18	0.05	0.20	0.07	0.18	0.05	0.24	0.07	0.19	0.05	0.15	0.05	0.20	0.03		
C14:0	12.98	0.83	12.76	1.10	13.14	0.97	12.66	1.22	13.06	1.26	12.92	1.23	12.57	0.95	12.99	0.53		
C14:1	1.03	0.24	0.90	0.14	1.00	0.18	0.99	0.19	0.91	0.15	0.94	0.17	1.11	0.27	0.96	0.09		
C15:0	1.32	0.17	1.29	0.15	1.38	0.23	1.24	0.21	1.39	0.25	1.33	0.18	1.21	0.18	1.31	0.10		
C16:0	27.61	1.88	28.32	3.17	29.94	2.73	29.34	2.98	27.73	2.94	28.70	3.36	29.84	2.58	28.93	2.08		
C16:1	1.77	0.22	1.70	0.18	1.80	0.27	1.80	0.29	1.78	0.32	1.77	0.24	1.74	0.26	1.77	0.15		
C17:0	0.89	0.08	0.85	0.10	0.82	0.14	0.85	0.09	0.92	0.09	0.85	0.10	0.78	0.12	0.85	0.07		
C17:1	0.29	0.05	0.27	0.05	0.27	0.05	0.28	0.06	0.29	0.05	0.27	0.06	0.28	0.05	0.28	0.03		
C18:0	11.37	1.52	11.78	1.19	10.42	1.82	11.35	1.61	10.89	1.80	11.36	1.57	11.53	1.87	11.14	1.10		
C18:1n9t	2.87	0.70	2.64	0.59	2.99	0.70	2.24	0.37	3.09	0.72	2.60	0.69	2.32	0.51	2.74	0.48		
C18:1n9c	19.38	1.73	18.99	2.49	18.31	1.43	19.65	3.29	19.08	2.66	19.17	3.26	19.17	1.95	18.91	1.22		
C18:2n6t	0.24	0.08	0.27	0.10	0.22	0.06	0.22	0.06	0.28	0.11	0.25	0.07	0.19	0.05	0.23	0.06		
C18:2n6c	2.02	0.43	2.19	0.33	1.86	0.32	1.96	0.40	2.11	0.53	2.05	0.38	1.91	0.34	1.96	0.24		
C20:0	0.18	0.04	0.17	0.03	0.16	0.04	0.18	0.03	0.18	0.05	0.18	0.03	0.17	0.04	0.18	0.02		
C18:3n6	0.18	0.06	0.16	0.04	0.16	0.03	0.17	0.04	0.16	0.07	0.17	0.03	0.17	0.04	0.16	0.02		
C20:1	0.05	0.05	0.05	0.03	0.04	0.03	0.05	0.03	0.07	0.06	0.04	0.02	0.03	0.01	0.05	0.02		
C18:3n3	1.09	0.27	1.25	0.24	0.98	0.21	1.09	0.36	1.11	0.39	1.16	0.31	1.07	0.23	1.07	0.18		
CLA	0.82	0.28	0.66	0.20	0.87	0.27	0.62	0.15	0.81	0.28	0.73	0.28	0.66	0.22	0.77	0.19		
C22:0	0.09	0.05	0.08	0.03	0.08	0.03	0.08	0.04	0.10	0.06	0.07	0.02	0.09	0.03	0.08	0.03		
C20:2n6	0.11	0.04	0.10	0.04	0.10	0.03	0.11	0.04	0.11	0.05	0.11	0.04	0.10	0.03	0.10	0.02		
C20:3n6	0.06	0.05	0.05	0.03	0.04	0.03	0.05	0.04	0.08	0.06	0.04	0.03	0.04	0.03	0.05	0.02		
C20:4n6	0.14	0.06	0.14	0.05	0.12	0.04	0.13	0.04	0.16	0.07	0.13	0.03	0.11	0.04	0.13	0.03		
C22:2	0.12	0.05	0.10	0.04	0.10	0.03	0.11	0.04	0.13	0.06	0.09	0.02	0.10	0.03	0.11	0.03		
C20:5n3	0.11	0.04	0.10	0.03	0.09	0.03	0.10	0.03	0.12	0.05	0.09	0.02	0.09	0.02	0.10	0.02		
C24:1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
C22:5n3	0.12	0.04	0.12	0.04	0.11	0.04	0.13	0.04	0.15	0.05	0.12	0.04	0.10	0.02	0.12	0.03		
C22:6n3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; AL: alfalfa; P1: 25 abr-15 mai; P2: 16 mai-5 xuño; P3: 6 xuño-26 xuño; P4: 27 xuño-17 xullo; s.d...desviación estándar

5.3.10.3. Pastoreo de primavera, ano 2012

Como se pode ver na Táboa 5.33, o contido do leite en AGS foi semellante entre tratamentos, se ben o correspondente ao de trevo violeta foi o máis baixo (67.4 % AGt) e significativamente inferior ao de raigrás inglés (68.7% AGt), non sendo ambos diferentes do de trevo branco (68.2% AGt). Non houbo diferenzas entre tratamentos para o contido en AGMI do leite, con valores de 26.5, 26.3 e 26.0% AGt para RG, TV e TB, respectivamente. A proporción de AGPI no leite do tratamento de trevo violeta foi a máis alta (6.15 % AGt), significativamente diferente da do trevo branco (5.58 %AGt) e esta, á sua vez, foi superior á do raigrás (4.70% AGt). Da mesma forma, o leite do tratamento de trevo violeta mostrou tamén os valores máis altos para a proporción de linoleico, alfa-linolénico, omega-6 total e omega-3 total no leite, significativamente superiores aos do resto dos tratamentos, con valores medios (en % AGt) para RG, TV e TB, respectivamente, de 2.18, 2.98 e 2.56% para o linolénico, de 0.88, 1.33 e 1.12% para o alfa-linolénico, de 2.81, 3.67 e 3.17% para o total de omega-6 e de 1.04, 1.51 e 1.29% para o total de omega-3. Os valores correspondentes ao tratamento de trevo branco foron, á sua vez, significativamente máis elevados que os do tratamento de raigrás inglés. A proporción de CLA na graxa do leite mostrou valores medios de 0.85, 0.97 e 1.13% AGt para RG, TV e TB, sendo todos eles significativamente diferentes entre si. A relación omega-6/omega-3 máis alta correspondeu a RG (2.71), sendo significativamente superior aos valores observados para os tratamentos de TV e de TB (2.46 e 2.49, respectivamente). Os índices hipo-hipercolesterolémico e ateroxénico non foron diferentes entre tratamentos, oscilando entre 0.54 e 0.57 e entre 2.79 e 2.90, respectivamente. O valor máis elevado do índice tromboxénico correspondeu ao tratamento RG (3.19), seguido do de TB (2.98) e o de TV (2.78), sendo todos eles significativamente diferentes. Globalmente, os valores mostran a superior calidade do perfil de AG para o leite producido nos tratamentos de trevo comparado co de raigrás, sendo de salientar o trevo violeta para o contido en AG omega-3 no leite e un menor ratio omega-6/omega-3, mentres que o pasto de trevo branco permite producir leite cos valores de CLA máis elevados.

O avance da estación afectou significativamente ás variábeis que caracterizan o perfil de AG do leite. Entre o primeiro e o último período de ensaio, como media dos tres tratamentos, a proporción de AGS do leite aumentou de 66.1 a 70.0% AGt, mentres que

descendía a de AGMI, de 27.2 a 25.0% AGt e a de AGPI de 6.54 a 4.81% AGT. Tamén descendía no mesmo intervalo de tempo a proporción de linoleico, alfa-linolénico, omega-6 total e omega-3 total, con valores medios (en % AGt, primeiro e último período de ensaio) de 2.91 a 2.33% para o linoleico, de 1.17 a 1.02% para o alfa-linolénico, de 3.95 a 2.84% para o total de omega-6 e de 1.40 a 1.16 % para o total de omega-3. A relación omega-6/omega-3 pasou de 2.87 a 2.51 cun mínimo de 2.40 no 2º período de ensaio.

O aumento de AGS do leite ao longo do ensaio foi parecido para os tres tratamentos, se ben o TB foi o que tivo a menor variación (de 66.2 a 69.4% AGT) seguido do RG (de 67.9 a 71.0% AGt) e do TV (de 64.2 a 69.7% AGT). A proporción de AGMI no leite reduciuse en TB (de 27.5 a 25.7% AGt) aproximadamente na mesma proporción observada en RG (de 26.3 a 24.7% AGt), sendo máis alto o descenso en TV (de 28.0 a 24.8% AGt). A variación do contido en AGPI do leite seguiu o mesmo patrón, baixando de 6.2 a 4.8% AGt en TB, de 5.7 a 4.2% AGt en RG e de 7.7 a 5.4% AGt en TV entre o primeiro e o último período de ensaio. A redución do linoleico (valores medios de 2.54 a 2.02, de 3.48 a 2.64 e de 2.70 a 2.32% AGt para RG, TV e TB, 1º a 3º período, respectivamente) foi máis acusada, proporcionalmente, que a experimentada polo alfa-linolénico (valores medios de 1.02 a 0.81, de 1.38 a 1.25 e de 1.12 a 0.99% AGt para RG, TV e TB, 1º a 3º período, respectivamente), co que a relación omega-6/omega-3 do leite fíxose máis baixa conforme avanzaba o experimento, pasando de 2.9 a 2.7 para RG, de 3.0 a 2.3 para TV e de 2.7 a 2.5 para TB. Os resultados mostran unha maior redución proporcional nos AG poliinsaturados de interese para o leite do tratamento de trevo violeta, pero que aínda así mantén os valores máis elevados e polo tanto unha mellor calidade do leite ao longo da estación.

A inxestión de alfa-linolénico procedente da dieta foi claramente máis elevada para os tratamentos de leguminosas, comparados co de raigrás, con valores medios de 97.8, 165.7 e 125.9 g/vaca e día, sendo todos eles significativamente diferentes. A exportación de alfa-linolénico no leite foi máis semellante, con valores medios de 10.2, 15.3 e 12.8 g/vaca e día, novamente significativamente diferentes entre si. A recuperación aparente de alfa-linolénico no leite (taxa de transferencia) no tratamento de raigrás inglés (11.5%) foi significativamente superior á dos tratamentos de leguminosas e, á súa vez, a do trevo branco (10.8%), superior á do trevo violeta (9.7%),

indicando que a superior presenza no leite do alfa-linolénico cando as vacas consumen pastos de trevo violeta débese a unha maior inxestión deste AG aínda que a transferencia desde o pasto ao leite sexa, aparentemente, máis baixa que con outros tipos de pasto. Tanto a inxesta de alfa-linolénico como o seu output no leite reduciuse co avance da estación, de forma semellante para as tres especies de pasto. A taxa de transferencia tendeu a aumentar, sendo de 9.10% no primeiro período e do 10.0% no último, cun máximo de 12.3% na metade do experimento. Esta resposta produciuse de forma semellante para as tres especies, se ben o pasto de RG mostrou os valores máis elevados durante todo o experimento e aumentou desde 9.3% no primeiro período a 11.8% no último, mentres que para TV pasou de 8.7 a 9.1% e para TB de 9.3 a 9.2%, sendo o valor no segundo período de 12.7, 11.1 e 13.4% para RG, TV e TB, respectivamente.

Na Táboa 5.34 móstranse os valores medios e a desviación típica do conxunto de AG individuais do leite identificados e cuantificados nas cromatografías. A proporción entre os AG de cadea curta (até 10 C), cadea media (de 11 a 17 C) e longa (máis de 18 C) foi moi semellante ao longo do experimento con valores de 10.6, 10.4 e 10.2% para os AG de cadea curta, de 47.1, 48.9 e 52.0% para os AG de cadea media e de 42.3, 40.7 e 37.8% para os AG de cadea longa, períodos primeiro a terceiro, respectivamente.

En comparación coa composición do leite dos dous anos anteriores pódese apreciar que o efecto combinado dunha lactación máis precoz vs. máis tardía e do consumo de pastos de primavera vs. pastos de verán sobre a proporción de AG de cadea curta, media e longa, sería que os primeiros se ven pouco afectados, mentres que a proporción de AG de cadea media se vai reducindo e os de cadea longa aumentando, con valores medios de 9.86, 10.6 e 10.4% AGt para os AG de cadea curta, de 56.1, 51.1 e 49.4% AGt para os de cadea media e de 34.0, 38.3 e 40.2% AGt para os de cadea longa, anos 2010, 2011 e 2012, respectivamente.

Táboa 5.33. Efecto do tipo de pasto sobre os principais AG e agrupacións, índices de calidade dos lípidos e porcentaxe de transferencia de alfa-linolénico (Ano 2012)

	Tratamento			s.e.m.	d.m.s.	Significación (P)			
	RG	TV	TB			Tratamento	Período	Trat x Período	
n	54	54	54						
Grupos de ácidos graxos (% AG total)									
AGS	68.71	67.42	68.25	0.330	0.92	**	***	**	
AGMI	26.51	26.33	26.09	0.302	0.85	NS	***	***	
AGPI	4.70	6.15	5.58	0.073	0.20	***	***	***	
C18:2n6c	2.18	2.98	2.56	0.037	0.10	***	***	***	
C18:3n3	0.88	1.33	1.12	0.021	0.06	***	***	**	
CLA	0.85	0.97	1.13	0.036	0.10	***	***	***	
OMEGA6	2.81	3.67	3.17	0.041	0.11	***	***	***	
OMEGA3	1.04	1.51	1.29	0.022	0.06	***	***	*	
OMEGA6_3	2.71	2.46	2.49	0.043	0.12	**	***	*	
Índices de calidade dos lípidos									
h_H	0.54	0.57	0.54	0.014	0.04	NS	***	*	
IA	2.90	2.79	2.89	0.052	0.14	NS	***	*	
IT	3.19	2.78	2.98	0.038	0.11	***	***	NS	
Balance de alfa-linolénico (ALA)									
Inxestión (g/vaca e día)	97.8	165.7	125.9	3.463	9.70	***	***	NS	
Outuput (g/vaca e día)	10.2	15.3	12.8	0.349	0.98	***	***	NS	
Transferencia (%)	11.5	9.7	10.8	0.202	0.57	***	***	***	

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; s.e.m.: erro estándar da media; P: significación do test F no ANOVA. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; n: número de observacións; MG: materia graxa; MP: materia proteica; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolemico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico.

Táboa 5.34. Valores medios do perfil de AG do leite, por tratamento e período (Ano 2012)

<i>n</i>	Tratamento (tipo de pasto)						Período					
	RG		TV		TB		P1		P2		P3	
	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>	Media	<i>s.d.</i>
	54		54		54		54		54		54	
AG individuais (% AG total)												
C4:0	3.52	0.112	3.53	0.112	3.51	0.087	3.54	0.115	3.53	0.100	3.50	0.098
C6:0	2.62	0.121	2.67	0.134	2.64	0.087	2.66	0.130	2.64	0.111	2.64	0.115
C8:0	1.40	0.141	1.49	0.135	1.45	0.091	1.50	0.140	1.45	0.126	1.41	0.112
C10:0	2.59	0.514	2.93	0.476	2.82	0.325	2.91	0.482	2.78	0.470	2.69	0.435
C11:0	0.20	0.036	0.20	0.040	0.21	0.039	0.20	0.046	0.20	0.035	0.21	0.035
C12:0	3.45	0.744	3.84	0.688	3.74	0.477	3.81	0.687	3.64	0.657	3.62	0.654
C13:0	0.18	0.043	0.20	0.053	0.21	0.042	0.19	0.052	0.19	0.047	0.20	0.047
C14:0	12.45	1.425	12.83	1.327	12.96	1.017	12.66	1.403	12.60	1.241	12.95	1.224
C14:1	1.09	0.185	1.03	0.166	1.13	0.204	1.27	0.192	0.95	0.122	1.09	0.127
C15:0	1.20	0.171	1.35	0.243	1.43	0.211	1.36	0.244	1.32	0.244	1.31	0.208
C16:0	33.15	4.072	31.42	2.753	32.01	2.392	25.22	2.598	27.19	2.479	29.84	2.856
C16:1	1.71	0.393	1.68	0.234	1.64	0.165	1.39	0.215	1.78	0.185	1.76	0.268
C17:0	0.71	0.090	0.75	0.093	0.75	0.081	0.75	0.103	0.72	0.071	0.74	0.096
C17:1	0.27	0.051	0.27	0.054	0.27	0.037	0.27	0.069	0.27	0.047	0.27	0.028
C18:0	11.55	2.056	10.48	2.062	10.80	1.640	11.09	2.301	11.05	1.850	10.74	1.860
C18:1n9t	2.74	0.738	3.15	1.360	3.03	0.976	3.96	1.435	2.83	0.648	2.46	0.557
C18:1n9c	20.68	2.770	20.18	2.692	20.01	1.703	20.35	3.065	21.07	2.298	19.47	1.794
C18:2n6t	0.31	0.312	0.35	0.317	0.29	0.225	0.75	0.273	0.18	0.034	0.17	0.051
C18:2n6c	2.18	0.314	2.98	0.452	2.56	0.321	2.91	0.523	2.60	0.449	2.33	0.363
C20:0	0.13	0.045	0.14	0.046	0.13	0.034	0.16	0.048	0.13	0.035	0.11	0.030
C18:3n6	0.12	0.054	0.12	0.042	0.12	0.052	0.06	0.039	0.14	0.026	0.14	0.039
C20:1	0.01	0.006	0.02	0.009	0.01	0.005	0.02	0.010	0.01	0.007	0.02	0.006
C18:3n3	0.88	0.124	1.33	0.195	1.12	0.201	1.17	0.245	1.17	0.260	1.02	0.229
CLA	0.85	0.251	0.97	0.379	1.13	0.326	1.19	0.366	1.02	0.325	0.81	0.235
C22:0	0.08	0.024	0.09	0.021	0.08	0.019	0.06	0.028	0.09	0.014	0.09	0.013
C20:2n6	0.09	0.016	0.10	0.024	0.09	0.017	0.09	0.033	0.09	0.013	0.09	0.010
C20:3n6	0.01	0.006	0.02	0.011	0.01	0.006	0.02	0.012	0.01	0.005	0.01	0.007
C20:4n6	0.09	0.020	0.10	0.045	0.09	0.018	0.12	0.044	0.08	0.013	0.10	0.013
C22:2	0.08	0.015	0.10	0.035	0.08	0.021	0.10	0.047	0.09	0.011	0.08	0.012
C20:5n3	0.07	0.013	0.08	0.017	0.08	0.015	0.09	0.022	0.07	0.008	0.07	0.010
C24:1	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000
C22:5n3	0.09	0.029	0.10	0.047	0.09	0.031	0.14	0.044	0.08	0.011	0.07	0.008
C22:6n3	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; TB: trevo branco; P1: 9 abril-29 abril; P2: 30 abril-20 maio; P3: 21 maio-10 xuño; s.d.:desviación estándar

5.3.10.4. Recuperación aparente no leite do AG alfa-linolénico consumido na dieta

Na Táboa 5.35 móstranse as funcións obtidas para predicir a taxa de transferencia de alfa-linolénico da dieta ao leite das vacas, cando se utilizan os resultados medios por tratamento e período obtidos nos ensaios de pastoreo e os de ensilaxes. En total foron utilizadas 31 observacións para os ensaios de pastoreo (6 en 2010, 16 en 2011 e 9 en 2012) e 32 para os ensaios de ensilaxe (16 en 2010 e 16 en 2011). Como se pode observar, o axuste dun modelo exponencial onde a concentración de alfa-linolénico na dieta é a variábel independente, foi altamente significativo e explica o 52% da varianza total da taxa de transferencia cando se utilizan as 63 observacións, o 66% cando o modelo se aplica aos resultados de pastoreo e o 47% cando se aplica aos de ensilaxe.

Táboa 5.35. Relación entre a concentración de alfa-linolénico na dieta e a taxa de transferencia aparente ao leite

Experimentos	Ecuación	Erro estándar dos coeficientes			P	R ²
		a	b	c		
Todos	$y=7.54+35.60 \times e^{(-0.654 \times ALA)}$	± 1.16	± 7.68	± 0.148	<0.001	0.52
Ensilaxe	$y=4.03+16.94 \times e^{(-0.275 \times ALA)}$	± 3.04	± 5.64	± 0.23	<0.001	0.47
Pastoreo	$y=8.30+33.81 \times e^{(-0.538 \times ALA)}$	± 2.62	± 6.42	± 0.207	<0.001	0.66

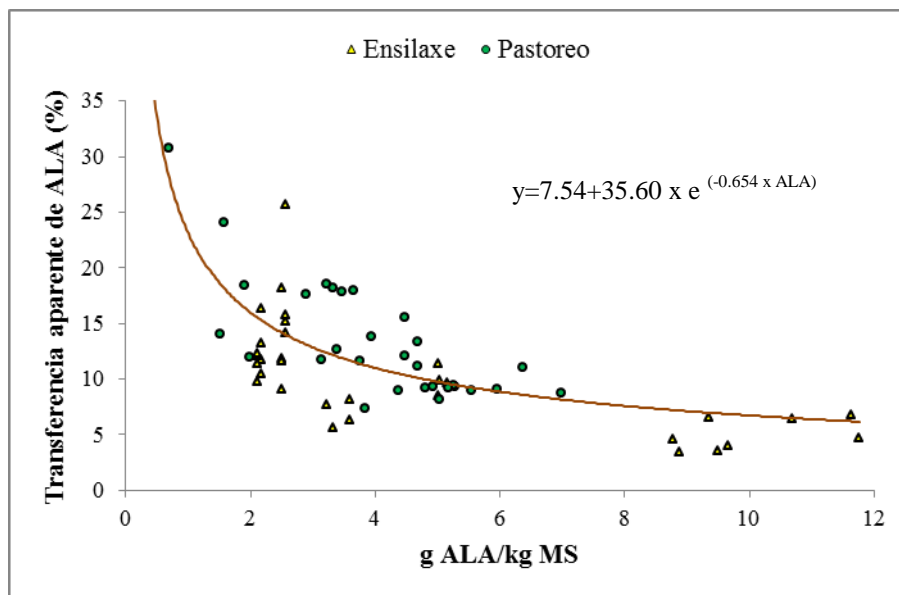
P: Significación do test F no ANOVA do modelo; R²: coeficiente de determinación; y: recuperación aparente de C18:3n3 no leite (%); ALA: concentración de C18:3n3 na dieta (g/kg MS)

Na Figura 5.1 móstranse os valores a partir dos cales se construíron as ecuacións onde se pode observar unha relación inversa entre a concentración de alfa-linolénico na dieta e a recuperación aparente deste AG no leite, seguindo un modelo non lineal semellante ao descrito. O maior valor do intercepto na ecuación obtida para o leite de vacas que consumen pastos frescos indica unha superior taxa de transferencia cando a dieta é rica en alfa-linolénico, en comparación á situación de alimentación baseada no consumo de ensilaxes, se ben a redución da transferencia deste AG ao leite co seu incremento na dieta tamén é numericamente máis elevada no caso do pastoreo.

Como indican diversos autores, entre eles Dewhurst *et al.* (2006), dietas con valores elevados de alfa-linolénico producen leite cuxa graxa ten altos contidos neste AG, como se observou no presente traballo. Sen embargo, a relación entre a inxestión de alfa-linolénico e o seu output no leite está suxeita á acción de diferentes factores entre os

que se conta a modificación dos pasos da biohidroxenación ruminal no rume (Chilliard *et al.*, 2007), a mobilización da graxa corporal (Khiaosa-ard *et al.*, 2015) e a existencia de algún tipo de regulación homeostática que favorece unha recuperación máis eficiente de alfa-linolénico cando a súa concentración na dieta é baixa (Leiber *et al.*, 2004).

Figura 5.1. Relación entre a recuperación aparente de alfa-linolénico no leite das vacas e a concentración deste AG na dieta



Outros autores sinalaron a relación inversa entre os valores de recuperación aparente de C18:3n3 no leite e a súa concentración na dieta, sendo de salientar a citada meta-análise realizada por Khiaosa-ard *et al.* (2015) onde revisaron resultados de 88 experimentos e concluíron que a eficiencia de transferencia de alfa-linolénico ao leite se reducía cando se incrementaba o seu contido na dieta, o cal foi tamén comprobado no noso traballo. Estes autores sinalaron tamén que existía un umbral de concentración a partir do cal se chegaba a unha situación asintótica, sen variación na taxa de recuperación aparente, citando un valor de 2 g de alfa-linolénico/kg MS, sobrepasado o cal a recuperación mantíñase no entorno do 5%. Na análise dos resultados do presente traballo obsérvase que, globalmente, os valores da taxa de transferencia con dietas de alta concentración de alfa-linolénico serían do 4.0% para o caso da alimentación con herba ensilada, do 8.30% para a alimentación en pastoreo e de 7.5% cando se considera o conxunto dos ensaios.

5.3.11. Variación de peso vivo e condición corporal das vacas

As vacas recuperaron peso e condición corporal (CC) en tódolos ensaios, como se pode observar na Táboa 5.35. No pastoreo de verán do ano 2010 nos grupos había un 40% de vacas de primeiro parto e os animais estaban na segunda metade da lactación, pasando de 597.0 kg e CC 2.19 ao inicio do primeiro período a 613.3 kg e CC 2.37 ao finalizar o experimento, cunha ganancia de peso vivo media diaria de 0.257 kg/vaca e unha mellora de CC de 0.020 ud. por semana. En 2011, no terzo central da lactación de pastoreo de primavera-verán, as vacas (tamén cun 40% de primíparas) pasaron de 586.4 kg e CC 2.42 ao comezo do ensaio a 599.4 kg e CC 2.65 ao finalizar o experimento, cunha ganancia de peso vivo media diaria de 0.154 kg/vaca e unha mellora da condición corporal de 0.019 ud. por semana. O último ano de ensaios, con pastos de primavera, a metade das vacas eran de primeiro parto, sendo iniciado tras o pico de produción dos animais. Estes pasaron, como media, dun peso vivo de 558.7 kg e CC 2.04 ao inicio da fase experimental a 588.7 kg e CC 2.37 ao finalizar o último período, con ganancia diaria de peso vivo de 0.471 kg/vaca e un aumento de CC de 0.036 ud/semana.

Táboa 5.36. Peso vivo e condición corporal medios das vacas, por período, nos tres experimentos

2010	Inicio	Final P1	Final P2	Final P3
Peso vivo				
Media, kg	597.0	611.9	607.4	613.3
s.d.	42.6	62.9	58.8	54.4
cv	7.1	10.3	9.7	8.9
Condición corporal				
Media, kg	2.19	2.29	2.24	2.37
s.d.	0.65	0.75	0.74	0.71
cv	29.8	32.9	32.9	29.8

P1: 25 xullo a 15 agosto; P2: 16 agosto a 5 setembro; P3: 6 a 26 de setembro; s.d.: desviación estándar da media; c.v.: coeficiente de variación

2011	Inicio	Final P1	Final P2	Final P3	Final P4
Peso vivo					
Media, kg	586.4	589.5	589.6	598.7	599.4
s.d.	40.7	37.4	40.4	42.5	40.5
cv	6.9	6.3	6.9	7.1	6.8
Condición corporal					
Media, kg	2.42	2.38	2.43	2.58	2.65
s.d.	0.29	0.31	0.26	0.37	0.37
cv	10.8	11.5	9.4	13.2	12.5

P1: 25 abril a 15 maio; P2: 16 maio a 5 xuño; P3: 6 a 26 de xuño; P4: 27 xuño-17 xullo; s.d.: desviación estándar da media; c.v.: coeficiente de variación

2012	Inicio	Final P1	Final P2	Final P3
Peso vivo				
Media, kg	558.7	580.8	579.4	588.7
s.d.	81.9	81.7	68.1	69.6
cv	14.7	14.1	11.8	11.8
Condición corporal				
Media, kg	2.04	2.23	2.21	2.37
s.d.	0.37	0.45	0.49	0.62
cv	18.1	20.2	22.1	26.3

P1: 9 abril a 29 abril; P2: 30 abril a 20 maio; P3: 21 maio a 10 xuño; s.d.: desviación estándar da media; c.v.: coeficiente de variación

5.3.12. Resumo de resultados

Na Táboa 5.36 resúmense os resultados observados nos dous ensaios sobre a produtividade animal e calidade do leite, promediando os valores correspondentes aos distintos grupos de pastoreo e obtendo a resposta media ao uso de leguminosas tomando como referencia os resultados obtidos co pasto de raigrás inglés. A inxestión (en MS) total e do pasto foron, respectivamente, un 3.6% e un 6.2% superiores para as especies leguminosas, sendo este último valor moi parecido ao observado nos ensaios con ensilaxe. En canto á produción de leite (estandarizada ao 3.5% MG e 3.2% MP) e a produción de sólidos do leite foron un 8.3% e un 8.5% superiores para as ensilaxes de leguminosas. En contra do observado nos ensaio con ensilaxes, a eficiencia de transformación da MS en leite foi superior para os pastos de leguminosas (1.24 vs. 1.32 kg FPCM/kg MS). A porcentaxe de materia graxa do leite das vacas que pastorearon leguminosas foi lixeiramente máis baixa (-1.4%) comparada coa dos tratamentos de raigrás (3.75 vs. 3.70%), sendo moi semellante o contido en proteína do leite (3.03 vs. 3.04%) para ambas familias de especies herbáceas. En consecuencia, o incremento do output diario de graxa e de proteína do leite das vacas que pastorearon leguminosas, con relación ao raigrás, foi de +7.3% para MG e de 9.5% para MP. O efecto sobre a proporción de AGS e AGMI do leite de vacas que pastorearon raigrás ou especies leguminosas foi baixo (70.0 vs 69.9 %AGt e 25.6 vs. 25.0 %AGt, respectivamente). Ao igual que acontecera nos ensaios con ensilaxes, o consumo de especies leguminosas, en comparación co raigrás inglés, tradúcese na mellora do perfil graxo do leite na fracción de AG poliinsaturados e, de forma máis marcada, no caso dos pastos de trevo violeta. No caso de consumo de pastos frescos, as diferenzas entre a gramínea e as especies

leguminosas non son tan acentuadas como no caso das dietas con ensilaxes, pero aínda así, os cambios producidos no perfil de AG do leite de animais que pastorean leguminosas son relevantes. Así, para estas especies e comparado co raigrás, a proporción (en % AGt) no leite de AGPI aumenta un 16.8%, a de linoleico un 19.6%, a de alfa-linolénico un 32.8%, a de omega-6 total un 16.4% e a de omega-3 total un 27.2%, mentres que a proporción omega-6/omega-3 redúcese un 8.9%. En termos absolutos, as porcentaxes de mellora dos principais AG observadas para o consumo de especies leguminosas cando se consumen frescas, é entre un 25 e un 75% inferior á obtida nos ensaios con ensilaxes. A mellora do perfil de AG é sempre algo máis elevada cando se comparan unicamente os resultados obtidos para os pastos de trevo violeta. A diferenza do observado nos ensaios con ensilaxes, onde a proporción de CLA no leite mellora un 37% polo uso de leguminosas, nos ensaios de pastoreo este valor foi moi semellante para os pastos de raigrás, comparados cos de leguminosas, con valores medios de 0.79 e 0.84 %AGt, respectivamente.

Con relación aos índices de calidade dos lípidos, a diferenza entre o leite de pastoreo de raigrás e o de especies leguminosas para os índices hipo-hipercolesterolémico e o ateroxénico foi 0.52 vs. 0.53 e 2.97 vs. 2.98, respectivamente, mentres que o índice tromboxénico foi lixeiramente menos favorábel para o leite de pastoreo de raigrás (3.19) comparado co de leguminosas (3.00).

Os valores de inxestión de alfa-linolénico foron máis elevados nos tratamentos de leguminosas (+76.1%) comparados co tratamento de raigrás e tamén o foi, en menor proporción (+40%) o output de alfa-linolénico no leite, resultando que a taxa de recuperación aparente de C18:3n3 no leite foi, a diferenza do observado nos experimentos con ensilaxes, máis elevada para os tratamentos de pastoreo de raigrás, comparada cos de especies leguminosas, con valores medios de 17.1 e 12.3%, respectivamente.

Táboa 5.37. Resumo de efectos medios do tipo de pasto sobre a produtividade e calidade do leite

	Valores medios			Efecto medio	
	RG	LEG	TV	LEG vs. RG	TV vs. RG
Producción de leite (PL, kg/día)					
PL corrixida a 3.5% MG e 3.2% MP	27.5	29.8	29.8	8.3%	8.3%
Producción de sólidos (kg/día)					
Materia graxa	1.01	1.08	1.09	7.3%	8.2%
Materia proteica	0.82	0.90	0.89	9.5%	9.1%
Extracto seco magro	2.30	2.51	2.49	9.1%	8.3%
Sólidos totais	3.31	3.59	3.59	8.5%	8.3%
Composición fisicoquímica do leite					
Materia graxa (%)	3.75	3.70	3.76	-1.4%	0.3%
Materia proteica (%)	3.03	3.04	3.06	0.4%	1.1%
Lactosa (%)	4.69	4.72	4.70	0.6%	0.2%
Extracto seco magro (%)	8.50	8.51	8.54	0.2%	0.5%
Urea (mg/L)	127	197	211	54.9%	66.1%
Inxestión de materia seca					
IMS (kg/vaca e día)	22.1	22.5	22.8	2.0%	3.2%
IMS pasto (kg MS/vaca e día)	14.5	15.4	15.2	6.2%	5.1%
Eficiencia (kg leite/kg MS)	1.24	1.32	1.31	6.3%	5.2%
Grupos de ácidos graxos (% AG total)					
AGS	70.0	69.9	69.9	-0.3%	-0.2%
AGMI	25.6	25.0	24.9	-2.2%	-2.7%
AGPI	4.31	5.03	5.16	16.8%	19.8%
C18:2n6c	1.85	2.21	2.30	19.6%	24.2%
C18:3n3	0.84	1.12	1.17	32.8%	39.3%
CLA	0.79	0.84	0.80	6.2%	1.6%
OMEGA6	2.46	2.87	2.97	16.4%	20.4%
OMEGA3	1.04	1.32	1.37	27.2%	32.6%
OMEGA6_3	2.44	2.23	2.19	-8.9%	-10.5%
Índices de calidade dos lípidos					
h_H	0.52	0.53	0.53	2.1%	1.6%
IA	2.97	2.98	2.98	0.0%	0.1%
IT	3.19	3.00	2.99	-5.9%	-6.1%
Balance de alfa-linolénico (ALA)					
Inxestión (g/vaca e día)	61.7	108.7	116.7	76.1%	89.2%
Output (g/vaca e día)	8.5	11.9	12.6	40.8%	48.5%
Transferencia (%)	17.1	12.3	13.0	-28.1%	-24.0%

RG: raigrás inglés; TV: trevo violeta; LEG: especies leguminosas; MG: materia graxa; MP: materia proteica; AGS: AG saturados; AGMI: AG monoinsaturados; AGPI: AG poliinsaturados; LA: ácido linoleico; ALA: AG alfa-linolénico; CLA: ácido linoleico conxugado; OMEGA6: Σ AG da serie omega-6; OMEGA3: Σ AG da serie omega-3; OMEGA6_3: ratio OMEGA6/OMEGA3; h-H: ratio hipo-hipercolesterolémico; IA: índice ateroxénico; IT: índice tromboxénico.

5.4. DISCUSIÓN

A cantidade de pasto en oferta é un factor clave que inflúe directamente na inxestión de herba polos animais en pastoreo. O aumento da oferta por animal maximiza a súa inxestión voluntaria, como demostran diversos traballos que estudan a relación entre oferta e consumo de pasto (por exemplo, Peyraud *et al.*, 1996). Os valores de PO e DP obtidos no ensaio son considerados como comparábeis cos indicados na bibliografía (por exemplo, Gordon *et al.*, 2000 e Ferris *et al.*, 2002) tendo en conta que a toma de mostras foi realizada aproximadamente a nivel do chan. Pérez-Prieto e Delagarde (2013) indican que dispoñibilidades de pasto de 12, 24 e 36 kg MS/vaca e día considéranse baixas, medias e altas cando as medicións son realizadas a 3 cm. Sen embargo, valores no entorno de 20-25 kg MS/vaca e día considéranse medios-baixos cando a mostra de pasto se toma ao nivel do solo (Wales *et al.*, 1999), pero que serían altos se a mostra se tomase a 5 cm como é habitual en moitos casos (Delagarde *et al.*, 2011). A fin de poder relacionar os valores ofrecidos por diferentes fontes bibliográficas onde as mostras se toman a diferentes alturas, Pérez-Prieto e Delagarde (2013) indican a ecuación $PO_5 = 0.85 \times PO_0 - 1811$ onde PO_5 sería a masa de herba ou pasto en oferta antes do pastoreo (kg MS/ha) medida a 5 cm sobre o nivel do solo e PO_0 correspondería ao mesmo valor cando se corta a mostra a rentes do chan. Os mesmos autores, en base á revisión de máis de 50 traballos de investigación, indican que os valores teóricos de dispoñibilidade de pasto (kg MS/vaca e día) que se considerarían baixos, medios e altos serían de 20, 40 e 60 kg cando a mostra se toma a nivel do chan, de 12, 24 e 36 kg cando se toma a 3 cm e de 9, 18 e 27 kg cando a herba se corta a unha altura de 5 cm, con valores respectivos de pasto en oferta de 4.6, 2.7 e 2.1 t MS/ha para as mostras tomadas ao nivel do chan, a 3 e a 5 cm. Diversos autores (Le Du *et al.*, 1979; Gordon *et al.*, 2000 e Ferris *et al.*, 2002) suxiren que unha dispoñibilidade de pasto de 23 kg MS/vaca e día, medida a unha altura de 4 cm permitiría acadar unha boa produción de leite no pastoreo de primavera-verán, de forma compatíbel co mantemento dun adecuado nivel de utilización do pasto e de produtividade da pradeira. Por outra banda, McEvoy *et al.* 2009 indican que valores de PO de 1700 kg MS/ha (medidos a 4 cm) permiten un adecuado mantemento da pradeira e unha alta produtividade por hectárea cando a dispoñibilidade de pasto por vaca é de 20 kg MS/e día. Peyraud *et al.* (1996) indican que a inxesta de herba e a produción de leite están relacionadas coa

dispoñibilidade de pasto e que o valor óptimo depende tamén da estrutura do pasto. A este respecto debe ser salientado que os pastos das zonas húmidas que están afectados pola seca estival, como é o caso do presente traballo adoitan ter unha menor densidade comparada coa de zonas de veráns máis húmidos, o cal afecta tamén aos valores de pasto en oferta que optimizan a produción animal de forma compatíbel co mantemento da produtividade da pradeira.

O mellor poder predictivo da cantidade de pasto en oferta foi a través da medida de altura de pasto co prato (G), en comparación coa medida realizada coa regra (H). López-Díaz e González-Rodríguez (2011), na revisión sobre métodos indirectos para estimar a masa de pasto, indican valores de R^2 de 0.74 cando se utiliza a altura comprimida con prato deslizante e de 0.69 cando se utilizada a altura do primeiro contacto do visor da regra graduada, todos eles máis elevados que os encontrados no presente traballo, se ben o rango de valores do estatístico R^2 dos diferentes traballos revisados é moi ampla, de 0.31 a 0.97 para G e de 0.10 a 0.91 para H.

Nos resultados produtivos de vacas en pastoreo, McGilloway e O'Riordan (1999) indican que o factor máis limitante é a inxestión voluntaria de herba. Alder e Minson (1963) indican que as vacas consumen entre o 15 e 20% máis de materia seca cando pacen leguminosas puras que cando pacen gramíneas. No presente traballo a inxestibilidade das leguminosas, de media, en comparación coas leguminosas mostrou un incremento máis baixo. A maior capacidade de inxestión das leguminosas está asociada ao diferente contido e estrutura química da parede celular desta especie, en comparación coas gramíneas.

A forraxe en estado vexetativo pouco avanzado, no inicio de primavera e outono, presenta concentracións en AG máis elevadas que na forraxe nun estado fenoloxico máis avanzado a finais da primavera e principios do verán (Elgersma, 2013). Segundo Khan *et al.* (2012), a medida que a planta alcanza o estado de madurez, o contido en PB diminúe en paralelo co contido en AGt e o contido de ALA, mentres que a FND aumenta xunto coa proporción de C16:0, C18:0, ácido oleico e ácido linoleico no total de AG da planta, sendo atribuídas estas variacións á diminución na proporción das follas respecto ós talos (Dewhurst *et al.*, 2001), toda vez que as follas presentan un maior contido en AGt e polo tanto un maior contido en ALA (Buccioni *et al.*, 2012).

Noutros traballos sinálase a existencia dunha estreita relación entre os contidos en PB e en AGt (Palladino *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2012; Hawke, 1973), o cal coincide, en liñas xerais, cos resultados do presente traballo. No primeiro ano de estudo (2010) o pasto estaba nunha etapa fenolóxica máis avanzada e presentaba uns contidos en PB, AGt e ALA menores, en comparación co pasto de primavera-verán do ano 2011 e sobre todo co de primavera do ano 2012, que se mantivo nun estado vexetativo durante practicamente todo o ensaio. Cabe salientar o mantemento do valor enerxético e proteico das leguminosas, en comparación co raigrás, cunha caída da dixestibilidade máis lenta segundo avanza o estado de madurez, particularmente para o trevo branco. Un comportamento similar descríbese nos traballos de Dewhurst *et al.* (2009); Peyraud *et al.* (2009). Binnie *et al.* (1997) e Hennessy *et al.* (2006), indican que o raigrás inglés presenta un forte descenso da DMO co avance da madurez, debido ao aumento da proporción de talos e do material morto en relación coas follas novas que aparecen co rebrote e que dito efecto é menos marcado para as especies leguminosas pratenses, feito que se puido observar nos tres experimentos realizados, en particular no do ano 2010, no que a herba estaba nun estado fenolóxico avanzado a finais da estación de pastoreo.

Os efectos da inclusión de trevos nas pradeiras, en comparación coas especies gramíneas, polo xeral melloran os resultados produtivos e/ou o perfil graxo do leite, pero a información bibliográfica ao respecto é moi variada, dependendo das especies de pasto, o estado de madurez, o nivel de suplementación e o estado de lactación das vacas, entre outros factores. Nun ensaio onde se ofrecía herba cortada en pesebre, Stergiadis *et al.* (2018) concluíron que a substitución parcial de raigrás inglés por trevo branco nunha dieta co 40% de concentrado non afectou á inxesta de MS, ao rendemento en leite nin ás concentracións de proteína e lactosa do leite, sen embargo si observaron un incremento das concentracións de omega-3, omega-6, LA e ALA, coincidindo co observado no presente traballo. As concentracións máis baixas da materia graxa do leite das vacas que paceron trevo branco, en comparación con raigrás, son similares ás observacións de Egan *et al.* (2016) e O'Callaghan *et al.* (2016), e atribúense fundamentalmente a unha maior taxa de paso ruminal do trevo branco en comparación co raigrás como resposta ao menor contido en FND da leguminosa, reducíndose a fermentación ruminal da dieta, e en consecuencia, a síntese de acetato e butirato do rume, substratos da síntese de graxa do leite na glándula mamaria (Beever *et al.*, 1986). Este feito reproducése, de forma

máis ou menos marcada, para as restantes especies leguminosas, comparadas co raigrás inglés.

Nun experimento onde se comparaban dietas a base de pastos frescos de trevo violeta e raigrás inglés nun sistema de alimentación con herba verde en pesebre e 2 kg de concentrado/día, Lee *et al.* (2009b) atoparon que os respectivos valores de proteína (3.18% vs. 3.11%), alfa-linolénico (1.47% vs. 0.81% AGt) e AG totais de cadea longa (>20 C, 0.70% vs. 0.50% AGt) eran máis elevados no leite das vacas que consumiron o trevo violeta. Os resultados deste traballo coinciden, en liñas xerais, cos observados polos devanditos autores.

É frecuente atopar na bibliografía valores do ácido α -linolénico superiores ao 1% de AGt no leite de vacas que consumen pastos novos. Demostrouse que cando o estado de madurez da forraxe é máis avanzado devanditos valores adoitan ser máis baixos, como resposta á menor concentración de ALA na materia seca do pasto. Ferlay *et al.* (2006) atopan que nas tres primeiras semanas de pastoreo da tempada, o leite de vacas pastando unha pradeira natural tiña valores de 1.2% AGt de ALA, mentres que dita concentración descendía ao 0.8% AGt ás 6 semanas. Resultados semellantes, reportados por Delaby *et al.* (2002) e Kay *et al.* (2005) foron atribuídos ao avanzado estado vexetativo da herba en pastoreos tardíos. Atendendo aos resultados deste traballo, isto sucede para o raigrás inglés (0.74% de AG omega-3 totais no leite) pero non para o trevo violeta, que mostrou unha concentración un 50% superior (1.14% de AG omega-3). En correspondencia co maior nivel de ALA do leite, a relación omega6/omega3 foi un 20% inferior para o tratamento de pastoreo de trevo violeta comparado co de raigrás, observación que confirma resultados doutros estudos realizados coas mesmas especies (Van Dorland *et al.*, 2008).

Lourenço *et al.* (2008), nunha meta-análise de datos de alimentación de vacún con forraxes, indican que a maior riqueza en AG omega 3 do leite de vacas que consumen trevo violeta débese, fundamentalmente, a unha menor taxa de biohidrogenación ruminal nas devanditas dietas, nas que adoita observarse un aumento do fluxo duodenal de ALA e de CLA. Esta circunstancia atribúese á presenza no trevo violeta do enzima polifenol-oxidasa, capaz de reducir os fenómenos de lipólise e posterior

biohidroxenación no rume (Merry *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007) e de aumentar, por tanto, a presenza de AG poliinsaturados no leite.

Mentres que parece haber acordo sobre o aumento da concentración de AG omega-3 en leite de vacas que consumen dietas de trevo violeta, parece menos claro o efecto que esta alimentación ten sobre o contido en CLA. Wu *et al.* (1997) observaron unha maior concentración de CLA no leite de vacas que pastaron trevo violeta comparada co pastoreo de gramíneas diversas, con valores medios de 1.4% e 0.9% de AG totais, respectivamente. Outros estudos non atoparon diferenzas, como é o caso do citado traballo de Lee *et al.* (2009b) onde o contido en CLA do leite de vacas que consumían trevo violeta e raigrás inglés era similar (1.06% AGT) e, nalgún caso, asociouse o consumo de trevo violeta cunha redución do contido en CLA do leite (Van Dorland *et al.*, 2008). Estes autores indican que, posto que o CLA é un metabolito intermedio da desaturación parcial do LA, a protección ruminal dos AG poliinsaturados limitaría a produción daquel no rume. Por outra banda, dita protección reduciría tamén a dispoñibilidade de ácido vaccénico a partir dos AG alfa-linolénico e linoleico e por tanto a síntese *ex novo* de CLA na glándula mamaria mediante a desaturación encimática do vaccénico. No presente ensaio, con todo, observouse que o tratamento de pastoreo de TV presentaba conxuntamente valores máis elevados de AG omega-3 e de CLA que o de raigrás, coincidindo tamén cun maior contido en AG trans-C18:1 e que, conxuntamente, mostra un perfil de AG claramente máis adecuado desde o punto de vista da saúde humana.

Os resultados do presente traballo concordan coas referencias atopadas na bibliografía que indican que a alimentación con forraxes permite aumentar o contido en AG poliinsaturados omega-3 e de CLA do leite (Dewhurst *et al.*, 2003a, 2006), debido a que son fonte natural rica en ácido ALA, a pesar do baixo teor en graxa das forraxeiras pratenses, e que as leguminosas teñen o potencial de mellorar o perfil de AG do leite, comparado co raigrás, en termos das recomendacións dietéticas actuais para os humanos (Dewhurst *et al.*, 2003b).

O bo comportamento do trevo violeta nos distintos ensaios confirma as vantaxes específicas como planta pratense citadas por distintos autores, entre eles Smith (2000). Como se indicou anteriormente, a mellora dos resultados produtivos observada con esta

especie podería estar relacionada coa presenza do enzima polifenol-oxidasa, que mellora a utilización do N e a protección á saturación dos lípidos no rume, como indican entre outros Sullivan e Hatfield (2006), se ben este aspecto non foi analizado no presente traballo. Ao seu alto valor nutricional e bo rendemento únese a característica da súa raíz pivotante e fonda, que permite extraer humidade de horizontes inferiores do chan e presentar un mellor comportamento ás situacións de falta de humidade, comparado cos raigrases.

Por último, debemos indicar que en ningún dos experimentos de pastoreo das parcelas de leguminosas se rexistrou ningún caso de meteorismo. O feito de que as vacas saían diariamente do estábulo ao pasto tras a muxidura da mañá tendo consumido a ración nocturna e por tanto sen apetito excesivo, así como a existencia dunha moderada proporción de adventicias como *Rumex* spp. , que conteñen taninos, e eran consumidas polas vacas durante o pastoreo diúrno son razóns que poderían explicar a ausencia deste tipo de problemas no pastoreo das pradeiras onde a especie dominante era unha leguminosa. Estes resultados concordan cos doutros autores revisados, por exemplo Auld *et al.* (1999); Hoffman *et al.* (1998); Thomas *et al.* (1985) e Castle *et al.* (1983) os cales, non reportan problemas de meteorismo en pradeiras con dominancia de trevos e alfalfa, en condicións normais de manexo.

5.5. CONCLUSIÓNS

Os resultados mostran que os pastos de leguminosas, en comparación co raigrás inglés, melloraron a produción de leite e de sólidos do leite cando son aproveitados a dente polas vacas de leite, tanto en pastoreo de verán como en primavera, en sistemas con baixos inputs de concentrado. O consumo de pastos frescos, tanto de raigrás como de especies leguminosas, permite producir leite enriquecido de forma natural en AG omega-3 e CLA e cun baixo ratio entre o total de AG omega-6 e omega-3, que encaixa dentro das recomendacións dietéticas actuais para ser incluído na denominada “dieta sá”. A utilización de pastos de leguminosas, en particular de trevo violeta, no que se refire ao incremento dos omega-3 e de trevo branco no relativo á mellora no contido de CLA no leite, permite mellorar o perfil do leite, con relación ao raigrás. Fronte a estas vantaxes, ás que hai que sumar o aforro en fertilizantes nitroxenados de síntese, se

deben confrontar as maiores dificultades de establecemento e menor competencia coas malas herbas das especies leguminosas, así como a menor duración na pradeira do trevo violeta fronte ao raigrás inglés, o trevo branco e a alfalfa.



6. CONCLUSIÓNS FINAIS





CONCLUSIÓNS FINAIS

1. Existe unha resposta positiva na produción de leite derivada do uso de leguminosas na ración nas condicións de ensaio descritas, que oscilou entre 6-8% de media, sendo maior en situación de pastoreo.
2. Demóstrase que utilizando forraxes frescas e ensiladas de boa calidade é posíbel reducir considerabelmente o consumo de concentrado nas explotacións leiteiras e mellorar a súa sustentabilidade económica e ambiental, en particular cando se integran leguminosas nos sistemas de cultivo
3. Existe así mesmo unha mellora da calidade do perfil graxo do leite producido con racións que integran leguminosas, sendo máis superior a resposta nos ensaios con ensilados
4. Destácase o incremento na concentración de AG poliinsaturados totais e de Omega-3 total no leite en situación de alimentación con ensilaxes de leguminosas, particularmente cando se usa o trevo violeta
5. En situación de pastoreo de primavera, non é preciso aportar aceites vexetais (liño) á dieta das vacas para acadar unha concentración de AG omega-3 total na porcentaxe esixida pola industria. Cando o pastoreo se realiza coa estación avanzada a finais do verán, o trevo violeta, pero non o raigrás inglés, permite acadar o nivel de omega-3 requirido.
6. Cando as vacas se encontraron en réxime estabulado, alimentadas en base a ensilaxes, foi o trevo violeta a forraxe que acadou as porcentaxes máis elevadas de Omega-3, sendo sempre superior este ratio no leite producido con leguminosas en comparación co raigrás.
7. A redución da concentración de AG saturados por debaixo do 70% só se produce en pastoreo de primavera con pastos en estado vexetativo pouco avanzado, ou con dietas de ensilados aos que se suplementou con aceites vexetais ricos en Omega-3.
8. Confírmase unha relación inversa entre a taxa de recuperación aparente do alfa-linolénico no leite e a súa concentración na dieta, sendo máis elevada para as leguminosas no caso da alimentación con ensilaxes, e para o raigrás no caso de consumo en pastoreo.

9. Cómpre refinar a tecnoloxía de ensilado das leguminosas pratenses, en particular evitando presecados excesivamente longos que reducen o contido na forraxe en AG poliinsaturados, en particular de alfa-linolénico, debendo ser considerada a conveniencia da utilización de aditivos a tal efecto.



CONCLUSIONES FINALES

1. Existe una respuesta positiva en la producción de leche derivada del uso de leguminosas en la ración en las condiciones de ensayo descritas, que osciló entre 6-8% de media, siendo mayor en situación de pastoreo.
2. Se demuestra que usando forrajes frescos y ensilados de buena calidad es posible reducir considerablemente el consumo de concentrado en las explotaciones lecheras gallegas y mejorar su sustentabilidad económica y ambiental, en particular cuando se integran leguminosas en los sistemas de cultivo.
3. Existe así mismo una mejora de la calidad del perfil graso de la leche producida con las raciones que integran leguminosas, siendo más superior su respuesta en los ensayos con ensilados.
4. Se destaca el incremento en la concentración de AG poliinsaturados totales y de Omega-3 total en situación de alimentación con ensilados de leguminosas, particularmente cuando se usa trébol violeta.
5. En situación de pastoreo, no es necesario aportar aceites vegetales (lino) a la dieta de las vacas para conseguir una concentración de AG Omega-3 total en el porcentaje exigido por la industria. Cuando el pastoreo se realiza con estación avanzada a finales del verano, el trébol violeta, pero no el raigrás inglés, permite conseguir el nivel de omega-3 requerido
6. Cuando las vacas se encontraron en régimen estabulado, alimentadas en base a ensilados, fue el trébol violeta el forraje que consiguió porcentajes más elevados de Omega-3, siendo siempre superior este ratio en la leche producida con leguminosas en comparación con el raigrás.
7. La reducción de la concentración de AG saturados por debajo del 70% solo se produce en pastoreo de primavera con pastos en estado vegetativo poco avanzado, o con dietas de ensilados a los que se suplementó con aceites vegetales ricos en Omega-3
8. Se confirma una relación inversa entre la tasa de recuperación aparente del alfa-linolénico en la leche y su concentración en la dieta, siendo más elevada para las

leguminosas en el caso de la alimentación con ensilados, y para el raigrás en el caso de consumo en pastoreo.

9. Es necesario refinar la tecnología de ensilado de las leguminosas pratenses, en particular evitando presecados excesivamente largos que reducen el contenido en el forraje de AG poliinsaturados, en particular de alfa-linolénico, debiendo ser considerada la conveniencia de la utilización de aditivos a tal efecto



FINAL CONCLUSIONS

1. A positive response, even higher when animals are grazing, has been observed regarding milk production (6-8% increased) derived from legume-based diets as compared with those of perennial ryegrass, under the experimental conditions described.
2. Dairy farms could significantly reduce the amount of concentrate in diets by using high quality fresh or silage forages, improving both economic and environmental sustainability, especially when legume species are integrated into pastures and crops.
3. Diets based on pasture legumes, compared with grass, improved milk fatty acid profile, being this effect more evident when the forage is ensiled, rather than when consumed at grazing.
4. Red clover was the best option in terms of producing milk with the higher ratio of polyunsaturated fatty acids when dairy cows were fed silage based diets.
5. In spring grazing pasture systems it is not necessary to supplement the diet with vegetal oils (linseed) in order to reach the omega-3 concentration level in milk required by the dairy industry, regardless of the fact that pasture species are composed by grasses or legumes. When grazing takes place in the extended season, at the end of summer, red clover but not perennial ryegrass will permit achieve the required target level.
6. When permanently stalled dairy cows are fed complete mixed rations based on herbage silage, red clover silage showed the superior performance in terms of total omega-3 concentration in milk, compared with white clover and lucerne silages. All pasture legumes, compared with perennial ryegrass, performed better, to this regard, when fed as silage.
7. A level of saturated fatty acids in milk below 70% is only achieved when cows graze young herbage in spring, in a vegetative stage, or when fed silage diets supplemented with vegetal oils rich in omega-3.
8. It is confirmed an inverse relationship between the apparent recovery rate of alpha-linolenic in milk and its concentration in diet. In silage feeding situations this rate was higher for pasture legumes compared to ryegrass; however this situation is reversed when dairy cows were fed based on grazing, being the apparent recovery higher for the ryegrass compared with legumes.

9. Extending the wilting time of forage beyond 24 hours dramatically reduces the total fatty acids and alpha-linolenic content of swathed herbage. In order to make compatible a short wilting time to maintain a high fatty acid concentration in the silage and an adequate fermentation quality it seems that the use of an effective biological additive would be an interesting and sound option.





7. BIBLIOGRAFÍA



- AbuGhazaleh, A.A.; Felton, D.O.; Ibrahim S.A. (2007). Milk conjugated linoleic acid response to fish oil and sunflower oil supplementation to dairy cows managed under two feeding systems. *Journal of Dairy Science*, 90, 4763-4769.
- AFRC (1993). Energy and Protein Requirements of Ruminants. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. 159 pp. CAB Int., Wallingford, Reino Unido.
- Ailhaud G.; Massiera F.; Weill P.; Legrand P.; Alessandri J.M.; Guesnet P. (2006). Temporal changes in dietary fats: role of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Progress in Lipid Research* 45, 203-236.
- Alder, F.E.; Minson, D.J. (1963). The herbage intake of cattle grazing lucerne and cocksfoot pasture. *Journal of Agricultural Science*, 60, 359-369.
- Alexander, R.H.; McGowan M. (1966). The routine determination of in vitro digestibility of organic matter in forages. *J. Brit. Grassld. Soc.*, 21, 140-147.
- Allen, M.S. (1996). Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.*, 74, 3063-3075.
- Al-Mabruk, R.M.; N.F.G. Beck; R.J. Dewhurst (2004). Effects of silage species and supplemental vitamin E on the oxidative stability in milk. *J. Dairy Sci.*, 87, 406-412
- American Diabetes Association (2019). Management of diabetes in pregnancy: standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*, 42(Suppl.1), S165-S172.
- Andries, A. (1982). Rôle du trèfle violet dans la production fourragère belge, évolution et perspective. *Fourrages*, 90, 27-37.
- AOAC (2003). Official Method 2003.06 Crude Fat in Feeds, Cereal Grains and Forages. *Journal of AOAC International*, 86, 888-899.
- Arnaud, J.D.; Le Gall, A.; Pflimlin, A. (1993). Evolution des surfaces en légumineuses fourragères en France. *Fourrages*, 134, 145-154.
- Arvidsson, K. (2009). Factors affecting fatty acid composition in forage and milk (Vol. 2009, No. 62). (Tese). Swedish University of Agricultural science. <http://pub.epsilon.slu.se/2097>
- Arvidsson, K.; Gustavsson, A.M.; Martinsson K. (2009a). Effects of conservation method on fatty acid composition of silage. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 241-252.
- Arvidsson, K.; Gustavsson, A.M.; Martinsson K. (2009b). Fatty acids in forages: A comparison of different pre-treatments prior to analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 151, 143-152.

Auldist, D.E.; Atkinson, K.L.; Silvapulle, M.J.; Dellow, D.W.; McDowell, G.H. (1999). Utilization of white clover silage fed alone or with maize silage for lactating dairy cows. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 39, 237-246.

Bargo, F.; Delahoy, J.E.; Schroeder, G.F.; Baumgard, L.H.; MULLER, L.D. (2006). Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugated linoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 226-240.

Barthram, G.T. (1985). Experimental Techniques: The HFRO Sward Stick. En: *The Hill Farming Research Organization*. Biennial Report, HFRO, Midlothian, pp. 29-30.

Basset-Mens, C.; Ledgard, S.; Carran, A. (2005). "First Life Cycle Assessment of Milk Production from New Zealand Dairy Farm Systems" AgResearch Ltd. www.anzsee.org/anzsee2005papers/Basset-Mens_LCA_NZ_milk_production.pdf

Bauchart, D.; Verité, R.; Rémond, B. (1984). Long-chain fatty acid digestion in lactating ewes of fresh grass from spring to autumn. *Canadian Journal of Animal Science*, 64 (supl.), 330-331.

Bauman, D.E.; Davis, C.L. (1974). Biosynthesis of milk fat. En: *Lactation: A comprehensive treatise*, ed. BL Larson, VR Smith, Vol. 2, pp. 31-75. New York: Academic.

Bauman, D.E.; Griinari, J.M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Ann. Rev. Nutr.*, 23, 203-227.

Bauman, D.E.; Lock, A.L. (2010). Milk fatty acid composition: Challenges and opportunities related to human health. *Proceedings of 26th World Buiatrics Congress*, Santiago, Chile, pp. 278- 289.

Bauman, D.E.; Perfield II, J.W.; Harvatine, K.J.; Baumgard, L.H. (2008). Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and the ruminant model. *J. Nutr.*, 138, 403-409.

Baumont, R.; Arrigo, Y.; Niderkorn, V. (2011). Changes in plants during conservation and the consequences on their nutritional value for ruminants. *Fourrages*, 205, 35-46.

Beever, D.E.; Dhanoa, M.S.; Losada, H.R.; Evans, R.T.; Cammell, S.B.; France, J. (1986). The effect of forage species and stage of harvest on the processes of digestion occurring in the rumen of cattle. *British Journal of Nutrition*, 56, 439-454.

Beever, D.E.; Thomson, D.J.; Ulyatt, M.J.; Cammell, S.B.; Spooner, M.C. (1985). The digestion of fresh perennial ryegrass (*Lolium perenne* L. cv. Melle) and white clover (*Trifolium repens* L. cv. Blanca) by growing cattle fed indoors. *British Journal of Nutrition*, 54, 763-775.

- Benchaar, C.; Romero-Pérez, G.A.; Chouinard, P.Y.; Hassanat, F.; Eugene, M.; Petit, H.V.; Côrtes, C. (2012). Supplementation of increasing amounts of linseed oil to dairy cows fed total mixed rations: Effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, protozoal populations, and milk fatty acid composition. *J. Dairy Sci.*, 95:4578-4590.
- Bertilsson, J.; Murphy, M. (2003). Effects of feeding clover silages on feed intake, milk production and digestion in dairy cows. *Grass and Forage Science*, 58, 309-322.
- Bhat, Z.; Bhat, H. (2011). Milk and Dairy Products as Functional Foods: A Review. *International Journal of Dairy Science*, 6, 1-12.
- Binnie, R.C.; Kilpatrick, D.J.; Chestnutt, D.M.B. (1997). Effect of altering the length of the regrowth interval in early, mid- and late season on the productivity of grass swards. *J. Agric. Sci.*, 128: 303-309.
- Boufaïed, H.; Chouinard, P.Y.; Tremblay G.F.; Petit H.V.; Michaud R.; Belanger G. (2003). Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science*, 83, 501-511.
- Broderick, G.A. (1995). Performance of lactating dairy cows fed either alfalfa silage or alfalfa hay as the sole forage. *Journal of Dairy Science*, 78, 320-329.
- Brown, H.E.; Moot, D.J.; Pollock, K.M. (2005). Herbage production, persistence, nutritive characteristics and water use of perennial forages grown over 6 years on a Wakanui silt loam. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 48, 423-439.
- Bu, D.P.; Wang, J.Q.; Dhiman, T.R.; Liu, J. (2007). Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 90, 998-1007.
- Buccioni, A.; Decandia, M.; Minieria, S.; Molle, G., Cabiddu, A. (2012). Lipid metabolism in the rumen: new insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 174, 1-25.
- Bues, A., S. Preissel, M. Reckling, P. Zander, T. Kuhlman, K. Topp, C. A. Watson, F. Stoddard, and M. Bokem. (2013). The environmental role of protein crops in the new Common Agricultural Policy (D4). European Parliament, Directorate General for Internal Policies, Policy Department B: Structural and Cohesion Policies, Agricultural and Rural Development.
- Burdge, G.C.; Jones, A.E.; Wootton, S.A. (2002). Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids are the principal products of α -linolenic acid metabolism in young men. *British Journal of Nutrition*, 88(4), 355-364.
- Burdge, G.C.; S. Tricon.; R. Morgan; K.E. Kliem; C. Childs; E. Jones; J.J. Russell; R.F. Grimble; C.M. Williams; P. Yaqoob; P.C. Calder. (2005). Incorporation of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid and vaccenic acid (*trans*-11 18:1) into plasma and leucocyte lipids

in healthy men consuming dairy products naturally enriched in these fatty acids. *British Journal of Nutrition*, 94, 237-243.

Burr, G.O.; Burr, M.M. (1930). On the nature and role of the fatty acids essential in nutrition. *J. Biol. Chem.*, 86, 587-621.

Calsamiglia, S. (2009). La leche y productos derivados: más allá de sus cualidades nutritivas. Ponencia de clausura del XIV Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina. A Coruña, España.

Calsamiglia, S.; Bach, A.; de Blas, C.; Fernández, C.; García-Rebollar, P. (2009). Necesidades nutricionales para rumiantes de leche. Normas FEDNA. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 68 pp. http://www.fundacionfedna.org/sites/default/files/NORMAS_RUMIANTES_LECHE_2009_rev_0.pdf

Carballeira, A.; Devesa, C.; Retuerto, R.; Santillan, F.; Ucieda, F. (1983). Bioclimatología de Galicia. Fundación Barrié de la Maza. A Coruña.

Castle, M.E.; Reid, D.; Watson, J.N. (1983). Silage and milk production: studies with diets containing white clover silage. *Grass and Forage Science*, 38, 193-200.

Castro, P. (2000). Determinación de carbohidratos no estructurales en forrajes. En: Consellería de Agricultura, Gandería e Política Agroalimentaria (Ed) *Actas de la III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes*, pp. 447-453. Santiago de Compostela, España: Sociedad Española para el Estudio de los Pastos.

Castro, P.; González-Quintela, A.; Prada-Rodríguez, D. (1990). Determinación simultánea de nitrógeno y fósforo en muestras de pradera. En: Pastos (Ed) *Actas de la XXX Reunión Científica de la SEEP*, pp. 200-207. San Sebastián, España: Sociedad Española para el Estudio de los Pastos.

Chamberlain, A.T.; J.M. Wilkinson (1996). The ideal silage. *Feeding the Dairy Cow* (Ed. A.T. Chamberlain e J.M. Wilkinson), Chalcombe Publications Lincol UK pp. 28-30.

Chebais, F. (1993). Ensilage de légumineuses et production laitière. *Fourrages*, 134, 258-265.

Chenais, F.; Le Gall, A.; Jullien, J.P. (1993). Intérêt de l'introduction d'ensilage de légumineuses dans les rations à base d'ensilage de maïs en production laitière. *Fourrages*, 134, 259-265.

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.

- Chilliard, Y.; Glasser, F.; Ferlay, A.; Bernard, L.; Rouel, J.; Doreau, M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 109, 828-855.
- Chorley, G.P.H. (1981). The Agricultural revolution in Northern Europe, 1750-1880: Nitrogen, Legumes and Crop Productivity. *Economic History Review*, 34, 38-105.
- Chow, T.T.; Fievez, V.; Ensberg, M.; Elgersma, A.; De Smet, S. (2004). Fatty acid content, composition and lipolysis during wilting and ensiling of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.): preliminary findings. En: Lüscher, A., Jeangros, B., Kessler, W., Huguenin, O., Lobsiger, M., Millar, N., Suter, D. (Eds.) *Land Use Systems in Grassland Dominated Regions*, 9. *Grassland Science in Europe*, 9, 981-983.
- CIAM (Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo) (2008). Valor Agronómico das Variedades Comerciais de Gramíneas e Leguminosas Pratenses. http://www.ciam.es/publicaciones/difusion/variedades_pratenses2008.pdf
- Clapham, W.M.; Foster J.G.; Neel, J.P.S.; Fedders, J.M. (2005). Fatty acid composition of traditional and novel forages. *Journal of Agricultural and Chemistry*, 53 (26), 10068-10073.
- Clemson University (1996). Formulas for Feed and Forage Analysis Calculations. Agricultural Service Laboratory. Pendleton, South Carolina (USA) rev. 8/21/96. http://www.clemson.edu/public/regulatory/ag_svc_lab/feed_and_forage/calculations.txt
- Corrot, G. (1993). Entre foin et ensilage, l'enrubannage, brochure Institut de l'Élevage, CEMAGREF, INRA, ITCF, 42 pp.
- Couvreur, S., C. Hurtaud, P. G. Marnet, P. Faverdin, and J. L. Peyraud. (2007). Composition of milk fat from cows selected for milk fat globule size and offered either fresh pasture or a corn silage-based diet. *J. Dairy Sci.*, 90, 392-403.
- Croissant, A. E.; Washburn, S. P.; Dean, L.L.; Drake, M.A. (2007). Chemical properties and consumer perception of fluid milk from conventional and pasture-based production systems. *Journal of Dairy Science*, 90, 4942-4953.
- Davies, W. (1960). Seeds mixtures. En: *The grass crop, its development, use and maintenance*, 218-243. Second edition, revised and enlarged. Spon Agricultural Books. Londres (UK).
- De Caterina, R.; Basta, G. (2001). n-3 Fatty acids and the inflammatory response – biological background. *Europ. Heart J.*, t. 3, Suppl. D, D42-D49. http://eurheartjsupp.oxfordjournals.org/cgi/reprint/3/suppl_D/D42.pdf.
- Delaby L.; Rulquin H.; Peyraud J.L. (2002). Influence de quelques facteurs zootechniques sur la composition en acides gras du lait de vaches au pâturage. *Rencontres Recherches Ruminants*, 9, 364.

- Delagarde, R.; Faverdin, P.; Baratte, C.; Peyraud, J.L. (2011). Graze In: A model of herbage intake and milk production for grazing dairy cows. 2. Prediction of intake under rotational and continuously stocked grazing management. *Grass Forage Science*, 66:45-60.
- Demarquilly, C. (1986). L'ensilage et l'évolution récente des conservateurs. Bulletin Technique C.R.Z. V.Theix, INRA, 63, 5-12.
- Dewhurst, R. J.; Delaby, L.; Moloney, A.; Boland, T.; Lewis, E. (2009). Nutritive value of forage legumes used for grazing and silage. *Irish J. Agric. Food Res.*, 48 (2), 167-188.
- Dewhurst, R.J.; Evans, R.T.; Scollan, N.D.; Moorby, J.M.; Merry, R.J.; Wilkins, R.J., (2003c). Comparison of grass and legume silages for milk production. 2: In vivo and in sacco evaluations of rumen function. *Journal of Dairy Science*, 86, 2598-2611.
- Dewhurst, R.J.; Fisher, W.J.; Tweed, J.K.S.; Wilkins R.J., (2003b). Comparison of grass and legume silages for milk production. 1: Production responses with different levels of concentrate. *Journal of Dairy Science*, 86, 2598-2611.
- Dewhurst, R.J.; King, P.J. (1998). Effects of extended wilting, shading and chemical additives on the fatty acids in laboratory grass silages. *Grass Forage Sci.*, 53, 219-224.
- Dewhurst, R.J.; Scollan N.D.; Lee M.R.F.; Ougham H.J., Humphreys M.O. (2003a). Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. Proceedings of the Nutrition Society, 62, 329-336.
- Dewhurst, R.J.; Scollan, N.D.; Youell, S.J., Tweed, J.K.S.; Humphreys, M.O. (2001). Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass For. Sci.*, 56, 68-74.
- Dewhurst, R.J.; Shingfield, K.J.; Lee, M.R.F.; Scollan, N.D. (2006). Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 131, 168-206.
- Dhiman, T. R.; Anand, G.R.; Satter, L.D.; Pariza. M.W. (1999). Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 82, 2146-2156.
- Dhiman, T.R.; Nam, S.H; Ure, A.L. (2005). Factors affecting Conjugated Linoleic Acid content in milk and meat. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 463-482.
- Dhiman, T.R.; Satter, L.D.; Pariza, M.W.; Galli, M.P.; Albright, K.; Tolasa, M.X. (2000). Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *Journal of Dairy Science*, 83, 1016-1027.
- Dierking, R. M. ; Kallenbach, R. L. ; Grun, I. U. (2010). Effect of forage species on fatty acid content and performance of pasture-finished steers. *Meat Science*, 85 (4): 597-605.
- Dixon R.M.; Stockdale C.R. (1999). Associative effects between forages and grains: Consequences for feed utilisation. *Aust. J. Agric. Res.*, 50, 757-774.

- Doreau, M.; Poncet, C., (2000). Ruminal biohydrogenation of fatty acids originating from fresh or preserved grass. *Reproduction Nutrition Development*, 40, 201-211.
- Doyle, P.T.; Francis, S.A.; Stockdale, C.R. (2005). Associative effects between feeds when concentrate supplements are fed to grazing dairy cows: A review of likely impacts on metabolisable energy supply. *Aust. J. Agric. Res.*, 56, 1315-1329.
- Edmonson A.J.; Lean I.J.; Weaver L.D.; Farver T.; Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72, 68-78.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA) (2010). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8(3), 107.
- Egan, M.; Lynch, M.B.; Hennessy, D. (2016). Including white clover in nitrogen fertilized perennial ryegrass swards: effects on dry matter intake and milk production of spring calving dairy cows. *J. Agric Sci.*, 155, 657-668.
- Elgersma A., Ellen G., van der Horst H., Muuse B.G., Boer H., Tamminga S. (2003b). Influence of cultivar and cutting date on the fatty acid composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science*, 58, 323-331.
- Elgersma, A. (2012). New developments in the Netherlands: Dairies reward grazing because of public perception. *Grassland Science in Europe*, 17, 420-422.
- Elgersma, A.; Ellen, G.; van der Horst, H.; Muuse, B.G.; Boer, H.; Tamminga, S. (2003a). Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) affected by cultivar and regrowth interval. *Animal Feed Science and Technology*, 108, 191-205.
- Elgersma, A.; Søegaard, K.; Jensen, S.K. (2013). Fatty acids, α -tocopherol, β -carotene and lutein contents in forage legumes, forbs and grass- clover mixture. *J. Agric. Food Chem.*, 61, 11913-11920.
- Elgersma, A.; Tamminga, S.; Ellen, G. (2006). Modifying milk composition through forage. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 207-225.
- Elgersma, A.; Weber, A.C.; Nałęcz-Tarwacka, T. (2006). Grazing versus indoor feeding: effects on milk quality. En: *Sustainable Grassland Productivity*. (Eds) J. Lloveras, A. González, O. Vázquez, J. Piñeiro, O. Santamaría, L. Olea, M.J. Poblaciones. *Grassland Science in Europe*, 11, 419-427.
- EUROPEAN PARLIAMENT (2018). REPORT on a European strategy for the promotion of protein crops-encouraging the production of protein and leguminous plants in the European agriculture sector (2017/2116 (INI)) Committee on Agriculture and Rural Development.

EUROSTAT (2019). Agricultural trade statistics 2007-2016. <https://ec.europa.eu/agriculture/statistics/trade.en>

FAO/WHO (2008). Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids. *Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition*. Geneva: WHO, 2008,1-14.

FEGA (2019). Declaraciones obligatorias del sector vacuno de leche. Diciembre 2018. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica. Madrid (España).

https://www.fega.es/sites/default/files/Fega_Declarac_Lacteo_Vacuno_2018_12.pdf?token=Snb9b53B

Ferguson J.D. (2000). Milk Urea Nitrogen. University of Pennsylvania. School of Veterinary Medicine. Center For Animal Health and Productivity. 382 West Street Road, Kennett Square, PA 19348-1692 USA
<http://research.vet.upenn.edu/DairyPoultrySwine/DairyCattle/MUN/MilkUreaNitrogen/tabid/1596/Default.aspx>.

Ferlay, A.; Martin, B.; Pradel, P.; Coulon J.B.; Chilliard Y. (2006). Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in tarentaise and Montbéliarde cow breeds. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4026-4041.

Fernández-Lorenzo, B.; Dagnac, T.; González-Arraéz, A.; Valladares, J.; Pereira-Crespo, S.; Flores, G. (2009). Estructura productiva de las explotaciones lecheras gallegas. *Pastos*, XXXIX (2), 251-299.

Ferris, C.P.; Gordon, F.J.; Patterson, D.C.; Murphy, J. (2002). A three year comparison of four contrasting grassland based systems of milk production. En: *Profitable grass and forage: meeting the needs of the farmer and society*. Proc. Br. Grassld. Soc. Winter Meet. Stafford, UK.

Field, J.C.; Blewett, H.; Proctor S.; Vine, D. (2009). Human health benefits of vaccenic acid. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*, 34, 979-91.

FIL-IDF. Fédération Internationale du Lait-International Dairy Federation (2013). Questions on Trans and CLA of Dairy Products <https://www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2016/04/Question-on-Trans-and-CLA-of-Dairy-Product.pdf>

Flachowsky, G.; Erdmann, K.; Hüther, G.; Jahreis, G., Möckel, P.; Lebzien, P. (2006). Influence of roughage/concentrate ratio and linseed oil on the concentration of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid in duodenal chyme and milk fat of late lactating cows. *Arch. Anim. Nutr.*, 60, 501-511.

Flores, G.; Amor, J.; Resch, C. (2003). Valor nutritivo del ensilaje de hierba en las explotaciones ganaderas gallegas. *Pastos*, 30, 149-191.

- Flores, G.; González-Arráez, A.; Castro-González, J.; Castro-García, P.; Cardelle, M.; Fernández-Lorenzo, B.; Valladares, J. (2005). Evaluación de métodos de laboratorio para la predicción de la digestibilidad *in vivo* de la materia orgánica de ensilajes de hierba y planta entera de maíz. *Pastos*, XXXIII, 5-99.
- Flowers, G.; Ibrahim, S.A.; AbuGhazaleh, A.A. (2008). Milk fatty acid composition of grazing dairy cows when supplemented with linseed oil. *J. Dairy Sci.*, 91, 722-730.
- Food and Agriculture Organisation (FAO) (2006). *Livestock's Long Shadow, Environmental issues and options*. United Nations Food and Agriculture Organisation, Rome, 390 pp.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine (2002). *Dietary Fats: Total Fat and Fatty Acids. Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. Washington, D.C.: National Academies Press, 2002, 422-541.
- Frame, J. (1993). Herbage mass. En: *Sward Measurement Handbook*, 59-63. A. Davies et al. (eds.). The British Grassland Society, Reading (UK).
- Frame, J. (2005). Forage Legumes for temperate grasslands. FAO, Roma, Italia e Science Publishers Inc., Enfield USA, 309 pp.
- Frame, J.; Baker, R.D.; Henderson, A.R. (1995). Advances in grassland technology over the past fifty years. *Pastos*, XXV(2), 155-192.
- Frame, J.; Charlton, J.F.L.; Laidlaw, A.S. (1998). *Temperate forage legumes*. CAB International, Wallingford.
- Garrabou-Segura, S. (1993). Revolución o revoluciones agrarias en el siglo XIX: su difusión en el mundo mediterráneo. En: *Agriculturas mediterráneas y mundo campesino: cambios históricos y retos actuales*. 95-109. Coord.: Andrés Sánchez Picón. *Actas de las Jornadas de Historia Agraria*: Almería, 19-23 de abril de 1993.
- Givens, D.I.; Rulquin, H. (2004). Utilization by ruminants of nitrogen compounds in silage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 114, 1-18.
- Givens, D.I.; Shingfield, K. J. (2006). Optimising dairy milk fatty acid composition. En: *Improving the Fat Content of Foods*. Eds. C. Williams, J. Buttriss, Woodhead Publishing Limited, Cambridge (UK), pp. 252-280.
- Glasser, F.; Doreau, M.; Maxin, G., Baumont, R. (2013). Fat and fatty acid content and composition of forages: A meta-analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 185, 19-34.
- Goering H.; van Soest P. (1970). Forage fiber analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and some applications). *Agriculture Handbook*, 379, 20 pp. ARS, USDA, Washington, EEUU.

González-Rodríguez, A. (2011). Using grassland resources for dairy production with low concentrates in humid Spain. *Grassland Science in Europe*, 9, 581-583.

Gordon, F.J.; Ferris, C.P.; Patterson, D.C.; Mayne, C.S. (2000). A comparison of two grassland-based systems for autumn calving dairy cows of high genetic merit. *Grass and Forage Science*, 55, 83-96.

Guckert, A.; Hay, R.K.M. (2001). The overwintering, spring growth, and yield in mixed species swards, of white clover in Europe. *Annals of Botany*, 88: 667-668.

Halmemies-Beauchet-Filleau, A.; Vanhatalo, A.; Toivonen, V.; Heikkilä, T.; Lee, M.R.F.; Shingfield, K.J. (2014). Effect of replacing grass silage with red clover silage on nutrient digestion, nitrogen metabolism, and milk fat composition in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *J. Dairy Sci.*, 97, 3761-3776.

Harfoot C.G., Hazlewood G.P. (1997). Lipid metabolism in the rumen. En: Hobson PN, Stewart CS (Eds.) *The rumen microbial ecosystem*. Blackie Academic & Professional, Elsevier Science, London (UK), pp. 285-322.

Harris, S.L.; Clark, D.A.; Auldish, M.J.; Waugh, C.D.; Laboyrie, P.G. (1997). Optimum white clover content for dairy pastures. *Proceeding of the New Zealand Grassland Association*, 59, 29-33. Auckland, New Zealand.

Hatfield, R.; Muck, R. (1999). Characterising proteolytic inhibition in red clover silage. *Proceedings of the 12th International Silage Conference*. Uppsala. Suecia. 147-148.

Hawke, J.C. (1973). Lipids. En: Butler G.W.; Bailey R.W. (Eds). *Chemistry and Biochemistry of the Herbage*. London Academic Press, pp. 213-263.

Heaney, D.P. (1979). Sheep as pilot animals. En: Pidgen, W.J.; Balch, C.C.; Graham, M. (Eds.) *Proceedings of the Workshop on standardization of analytical methodology for feeds*, IDRC, pp. 45-48. Ottawa, Canada.

Hennessy, D.; O'Donovan, M.; French, P.; Laidlaw, A.S. (2006). Effects of date of autumn closing and timing of winter grazing on herbage production in winter and spring. *Grass Forage Sci.*, 61 (4), 363-374.

Hoffman, P.C.; Combs, D.K.; Kassler, M.D. (1998). Performance of lactating dairy cows fed alfalfa silage or perennial ryegrass silage. *Journal of Dairy Science*, 81, 162-168.

Huhtanen, P.; Rinne, M.; Nousiainen, J. (2009). A meta-analysis of feed digestion in dairy cows. 2. The effects of feeding level and diet composition on digestibility. *Journal of Dairy Science*, 92(10):5031-42.

Hurtaud, C. (2006). Effet d'un apport de lin Tradilin ou le lin broyé sur la production et impact sur la qualité technologique beurrière. P résentation INRA, Unité Mixte de Recherche sur la Production du Lait.

INRA (2007). Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoins des animaux. Valeur des aliments. *Feeding of cattle, sheep and goats. Animal needs. Feed value*. Tables INRA 2007 Paris, France: Editions Quae.

IPCC (2019). Informe especial sobre el cambio climático y la tierra. <https://www.ipcc.ch/report/srccl/>

Jahries, G., Fritsche, J.; Steinhart, H. (1997). Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutrition Research*, 17, 1479-1484.

Jakobsen, M.U.; Overvad, K.; Dyerberg, J.M.U.; Heitmann, B.L. (2007). Intake of ruminant trans fatty acids and risk of coronary heart disease. *International Journal of Epidemiology*, 37, 173-182.

Jensen, R. G. (2002). Invited review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J. Dairy Sci.*, 85:295-350.

Jump, D.B. (2002). The biochemistry of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Biol Chem.*, 277(11), 8755-8758.

Kalač P.; Samková E. (2010). The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech J. Anim. Sci.*, 55 (12), 521-537.

Kalač, P. (2017). Effects of Forage Feeding on Milk: Bioactive Compounds and Flavor. Academic Press, 248 pp.

Kar, S.; Wong M.; Rogozinska, E.; Thangaratinam, S. (2016). Effects of omega-3 fatty acids in prevention of early preterm delivery: a systematic review and meta-analysis of randomized studies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*, 198, 40-46.

Kay, J.K.; Roche, J.R.; Kolver, E.S.; Thomson, N.A.; Baumgard, L.H. (2005). A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 72 (3), 322-332.

Khan, N.A.; Cone, J.W.; Fievez, V.; Hendrics, W.H. (2012). Causes of variation in fatty acid content and composition in grass and maize silages. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 174, 36-45.

Khanal, R.C.; Dhiman, T.R.; Ure, A.L.; Brennand, C.P.; Boman, R.L.; McMahon, D.J. (2005). Consumer acceptability of Conjugated Linoleic Acid-Enriched milk and cheddar cheese from cows grazing on pasture. *J. Dairy Sci.*, 88, 1837-1847.

Khiaosa-ard, R.; Kreuzer, M.; Leiber, F. (2015). Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: A meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. *J. Dairy Sci.*, 98:6399-6414.

- Kirwan, L.; Connolly, J.; Finn, J.A.; Brophy, C.; Lüscher, A.; Nyfeler, D.; Sebastià, M.T. (2009). Diversity-interaction modelling: estimating contributions of species identities and interactions to ecosystem function. *Ecology*, 90(8): 2032-2038.
- Krause, K.; Oetzel, G.R. (2005). Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 88, 3633-3639.
- Krizsan, S.; Nyholm, L.; Nousianen, J., Südekum, K.H., Huhtanen, P. (2012). Comparison of *in vitro* and *in situ* methods in evaluation of forage digestibility in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 90 (9), 3162-3173.
- Kuoppala, K.; Ahvenjarvi, S.; Rinne, M.; Vanhatalo, A. (2009). Effects of feeding grass or red clover silage cut at two maturity stages in dairy cows. 2. Dry matter intake and cell wall digestion kinetics. *Journal of Dairy Science*, 92, 5634-5644.
- Laranjo, M.; Zea, J.; Díaz, D. (1993). Utilización de la alfalfa en pastoreo para el engorde de terneros. En: *III Jornadas Pratenses: Intensificación da produción forraxeira*, pp. 125-145. Lugo, España: Servicio de Publicaciones. Diputación Provincial.
- Le Du, Y.L.P.; Combellas, J.; Hodgson, J.; Baker, R.D. (1979). Herbage intake and milk production by grazing dairy cows. 2. The effects of level of winter feeding and daily herbage allowance. *Grass and Forage Science*, 34, 249- 260.
- Le Gall, A. (1993). Les grandes légumineuses: situation actuelle, atouts et perspectives dans le nouveau paysage fourrager français. *Fourrages*, 134, 121-144.
- Leddin, C.M.; Stockdale, C.R.; Hill, J., Heard, J.W., Doyle, P.T. (2010). Increasing amounts of crushed wheat fed with Persian clover herbage reduced ruminal pH and dietary fibre digestibility in lactating dairy cows. *Animal Production Science*, 50, 837-846.
- Ledgard, S.F.; Penno, J.W.; Sprosen, M.S. (1999). Nitrogen inputs and losses from clover/grass pastures grazed by dairy cows, as affected by nitrogen fertilizer application. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 132, 215-225.
- Leduc, M.; Gervais, R.; Tremblay, G.F.; Chiquette, J.; Chouinard, P.Y. (2017). Milk fatty acid profile in cows fed red clover or alfalfa silage based diets differing in rumen-degradable protein supply. *Animal Feed Sci and Technology*. 223, 59-72.
- Lee, M.R.F.; Evans, P.R.; Nute, G.R.; Richardson, R.I.; Scollan, N.D. (2009). A comparison between red clover silage and grass silage feeding on fatty acid composition, meat stability and sensory quality of the m. Longissimus muscle of dairy cul cows. *Meat Science*, 81,738-744.
- Lee, M.R.F.; Parfitt, L.J.; Scollan, N.D.; Minchin, F.R. (2007). Lipolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities in the presence and absence of rumen fluid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1308-1314.

Lee, M.R.F.; Theobald, V.J.; Tweed, J.K.S.; Winters, A.L.; Scollan, N.D. (2009). Effect of feeding fresh or conditioned red clover on milk fatty acids and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 1136-1147.

Lee, M.R.F.; Winters, A.L.; Scollan, N.D.; Dewhurst, R.J.; Theodorou, M.K.; Minchin, F.R. (2004). Plant-mediated lipolysis and proteolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1639-1645.

Leiber, F.; Scheeder M.R.L.; Wettstein H.R.; Kreuzer, M. (2004). Milk fatty acid profile of cows under the influence of alpine hypoxia and high mountainous forage quality. *J. Anim. Feed Sci.*, 13, 693-696.

LIGAL, (2019a). <http://www.ligal.es/gl-es/Analisis/AlimentosDestinadosAlimentacionAnimal/Paxinas/default.aspx>

LIGAL, (2019b). <http://www.ligal.es/gl-es/Analisis/InstrumentalLecheCrudaVaca/Paxinas/default.aspx>

Lock, A.L.; Bauman, D.E. (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, 39 (12), 1197-1206.

Lock, A.L.; Garnsworthy, P.C. (2002). Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Anim. Sci.*, 74, 163-176.

Lock, A.L.; Shingfield, K.L. (2004). Optimising milk composition. En: *Dairying-Using Science to Meet Consumer's Needs*. Kebreab, E.; Mills, J.; Beever, D.E. (Eds.) British Society of Animal Science, Publication 29. Nottingham University Press. Loughborough (UK), pp. 107-188.

Loor, J.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.

López-Díaz, J.; González-Rodríguez, A. (2011). Measuring grass yield by non-destructive methods: A review. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 1(3), 303-314.

Lordan, R.; Tsoupras, A.; Mitra, B.; Zabetakis, I (2018). Dairy Fats and Cardiovascular Disease: Do We Really Need to Be Concerned? *Foods*, 7, 29.

Lough, A. K.; L. J. Anderson. (1973). Effect of ensilage on lipids of pasture grasses. *Proc. Nutr. Soc.* 32; 61A-62A.

Lourenço, M., De Smet, S.; Raes, K; Fievez, V. (2007). Effect of botanical composition of silages on rumen fatty acid metabolism and fatty acid composition in longissimus muscle and subcutaneous fat of lambs. *Animal*, 1, 911-921.

Lourenço, 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.

Lüscher, A.; Finn, J.A.; Connolly, J.; Sebastià, M.T.; Collins, R.P.; Fothergill, M., Porqueddu, C.; Brophy, C.; Huguenin-Elie, O.; Kirwan, L.; Nyfeler, D.; Helgadóttir, A. (2008). Benefits of sward diversity for agricultural grasslands. *Biodiversity*, 9, 29-32.

MacLean, C.; Mojica, W.; Morton, S.; Pencharz, J.; Garland, R.; Tu, W.; Newberry, S.; Jungvig, L.; Grossman, J.; Khanna, P.; Rhodes, S.; Shekelle, P. (2004). Effects of omega-3 fatty acids on lipids and glycemic control in type II diabetes and the metabolic syndrome and on inflammatory bowel disease, rheumatoid arthritis, renal disease, systemic lupus erythematosus, and osteoporosis. *Evid. Rep. Technol. Assess (Summ)*, 89, 1-4.

Martínez, A.; Piñeiro, J. (1996). Disponibilidad de la producción de la alfalfa y de las mezclas de raigrás italiano o de bromo con trébol violeta. *Actas de la XXXVI Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos*, 251-256.

Massiera, A.; Legrand, W.; Guesnet, A. (2006). Temporal changes in dietary fats: Roles of n-6 polyunsaturated fatty acids in excessive adipose tissue development and relationship to obesity. *Progress in Lipid Research*, 45, 203-236.

McDonald, P.; Henderson, N.; Heron, S. (1991). *The Biochemistry of Silage*, 2nd edition. Chalcombe Publications, 340 pp. Marlow, Bucks, Reino Unido.

McEvoy, M.; O'Donovan, M.; Kennedy, E.; Murphy, J.; Delaby, L.; Boland, T. (2009). Effect of pre-grazing herbage mass and pasture allowance on the lactation performance of Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 414-22.

McGilloway, D.A.; O'Riordan, E.G., (1999). The potential for grassland based ruminant production systems beyond 2000. *Irish Grassland Animal Production Association J.*, 33, 316.

Merry, R.J.; Lee, M.R.F.; Davies, D.R.; Dewhurst, R.J.; Moorby, J.M.; Scollan, N.D.; Theodorou, M.K. (2006). Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 1. *In vitro* and *in vivo* studies of nitrogen utilization. *Journal of Animal Science*, 84, 3049-3060.

Minson, D. J. (1990). *Forage in Ruminant Nutrition*. Academic Press. London, UK.

Moon, K.; Rao S.C.; Schulzke S.M.; Patole S.K.; Simmer, K. (2016). Longchain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12. Art. No.: CD000375.

Moorby, J.M.; Lee, M.R.F.; Davies, D.R.; Kim, E.J.; Nute, G.R.; Ellis, N.M.; Scollan, N.D. (2009). Assessment of dietary rations of red clover and grass silages on milk production and milk quality in dairy cows. *Journal of dairy science*, 92, 1148-1160.

Moorby, J.M.; Lee, M.R.F.; Davies, D.R.; Kime, J.; Nute, G.R.; Ellis, N.M.; Scollan, N.D. (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.

Mosley, E.E.; McGuire, M.A. (2007). Methodology for the in vivo measurement of the delta9-desaturation of myristic, palmitic, and stearic acids in lactating dairy cattle. *Lipids*, 42, 939- 945.

Mottet, A.; de Haan, C.; Falcucci, A.; Tempio, G.; Opio, C.; Gerber, P. (2017). Livestock: On our plates or eating at our table? A new analysis of the feed/food debate. *Global Food Security*, 14, 1-8.

Muck, R.E.; Moser, L.E.; Pitt, R.E. (2003). Postharvest factors affecting ensiling. En: *Silage Science and Technology*, 42. Buxton, D.; Muck, R.; Harrison, J. (Eds), pp. 251-304. ASA-CSSASSSA, Madison, WI.

Naadland, S.S.; Sternshamn, H.; Randby, Å.T. (2017). Effect of replacing organic grass-clover silage from primary growth with regrowth on feed intake and milk yield of dairy cows. *Organic Agriculture*, 7, 41-51.

National Institute of Health (2005). Omega-3 fatty acids, fish oil, alpha-linolenic acid. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/druginfo/natural/patient-fishoil.html>

NRC (2001). Nutrients Requirements of Dairy Cattle. 7th Revised Edition. National Academic Press. Washington D.C. (USA).

O'Callaghan, T.F.; Hennessy, D.; McAuliffe, S.; Kilcawley, K.N.; O'Donovan, M.; Dillon, P. ; Ross, R. P.; Stanton, C. (2016). Effect of pasture versus indoor feeding systems on raw milk composition and quality over an entire lactation. *J. Dairy Sci.*, 99, 9424-9440.

Paccard, P.; Chenais, F.; Brunshwig, P. (2006). Maitrise de la matière grasse du lait par l'alimentation de vaches laitieres. Institut de l'Elevage e Onilait. Compte rendu 030631012. París, Francia. 36 pp.

Palladino, R.A.; O'Donovan, M.; Kennedy, E.; Murphy, J.J., Boland, T.M., Kenny, D.A. (2009). Fatty acid composition and nutritive value of twelve cultivars of perennial ryegrass. *Grass and Forage Science*, 64, 219-226.

Palmquist, D.L. (2006). Milk fat: Origin of fatty acids and influence of nutritional factors thereon. P.F. Fox, P.L.H. McSweeney (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry: Lipids*, Vol. 2, Springer, New York, NY, pp. 43-91.

Palmquist, D.L.; Jenkins, T.C. (2003). Challenges with fats and fatty acid methods. *Journal of Animal Science*, 81, 3250-3254.

Peeters, A.; Parente, G.; Le Gall, A. (2006). Temperate Legumes: key-species for sustainable temperate mixtures. En: *Sustainable Grassland Productivity*. J. Lloveras, A.

González, O. Vázquez, J. Piñeiro, O. Santamaría, L. Olea, M.J. Poblaciones (Eds). *Grassland Sci Eur*, 11, 205-219.

Pena M.J.; Zea J. y Díaz M.D. (2000). Estudio comparativo de la eficiencia de utilización de la proteína de ensilados de alfalfa y trébol violeta en mezcla con el ensilado de maíz por terneros en crecimiento. Actas da III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes (XL Reunión Científica de la SEEP), Bragança, A Coruña, Lugo, pp.640-644.

Pereira-Crespo, S. Flores-Calvete, G.; Valladares-Alonso, J.; Díaz-Díaz, N.; Díaz-Díaz, D.; Resch-Zafra, C.; Fernández-Lorenzo, B.; Latorre, A.; González, L.; Dagnac, T. (2014). Prediction of fatty acids composition of annual forage clovers and serradella by near infrared spectroscopy. *Options méditerranéennes. Series A*, 109, 375-378.

Pereira-Crespo, S.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch-Zafra, C.; Valladares-Alonso, J.; González, L.; Dagnac, T.; Botana, A.; Flores-Calvete G. (2015). Predicción de la calidad fermentativa de ensilados de hierba mediante NIRS sobre muestras secas y molidas. En: Cifré P. et al. (Eds). *Pastos y Forrajes en el siglo XXI*, pp. 169-176. Palma de Mallorca, España: SEEP LIV Reunión Científica de la SEEP, Mallorca, España.

Pereira-Crespo, S.; Flores-Calvete, G. (2015). Informe final do proxecto FEADER 2013/22 Aplicacións analíticas avanzadas en forraxes para racións de vacas de leite de baixo custo e reducido impacto ambiental (A3F). Xunta de Galicia, 28 pp.

Pereira-Crespo, S.; Valladares, J.; Flores, G.; Fernández-Lorenzo, B.; Resch, C.; Piñeiro, J.; Díaz, N., González-Arráez, A.; Bande-Castro, M.J.; Rodríguez-Diz, X. (2012). Prediction of the nutritive value of annual forage clovers and serradella by near infrared spectroscopy (NIRS). *Options méditerranéennes. Series A: Mediterranean Seminars*, 102, 241-244.

Pérez-Alberti, A. (1982). Xeografía de Galicia. Editorial Sálvora (Eds.) A Coruña, 210 pp.

Pérez-Prieto, L.A.; Delagarde, R. (2013). Meta-analysis of the effect of pasture allowance on pasture intake, milk production, and grazing behavior of dairy cows grazing temperate grasslands. *J. Dairy Sci.*, 96, 1-19.

Peyraud, J.L. (1993). Comparaison de la digestion du trèfle blanc et des graminées prairiales chez la vache laitière. *Fourrages*, 135, 465-473.

Peyraud, J.L.; Comeron, E.A.; Wade, E.A.; Lemaire, G. (1996). The effect of daily herbage allowance, herbage mass and animal factors upon herbage intake by grazing dairy cows. *Ann. Zootech.*, 45, 201-217.

Peyraud, J.L.; Le Gall, A.; Lüscher, A. (2009). Potential food production from forage legume-based-systems in Europe: an overview. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 48, 115-135.

Pflaum, J.; Gartner, L.; Demarquilly, C.; Andrieu, J. P.; Honig, H., Staudacher, W.; Wyss, U. (1997). Silage additive testing. Comparison of the German DLG and the French INRA Schemes. *Das Wirtschaftseigene Futter*, 42(3), 217-248.

Pflimlin, A.; Arnaud, J.D.; Gautier, D.; Le Gall, A. (2003). Les légumineuses fourragères, une voie pour concilier autonomie en protéines et préservation de l'environnement. *Fourrages*, 174, 183-203.

Phelan, P.; Moloney, E.J.; McGeough, J.; Humphreys, J.; Bertilsson, J.; O'Riordan, E.G.; O'Kiely, P. (2015). Forage legumes for grazing and conserving in ruminant production systems. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 281-326.

Picard, J. (1982a). Las légumineuses dans la producción fourragère française, evolución au cours des vingt dernières années. *Fourrages*, 90, 17-26.

Picard, J. (1982b). Quelques remarques en forme de conclusion. *Fourrages*, 90, 249-251.

Piñeiro, J. (2002). Guía práctica para a sementeira en superficie de trevo branco en pradeiras establecidas. Cooperación Galega, nº 61. Cadernillo de divulgación técnica, pp. 1-15

Piñeiro, J.; Díaz, N.; Bande, M.J. (2008). Improving organic pastures legume content by grazing, surface seeding and direct drilling. Editorial: Book of Abstracts, 22nd General Meeting of the European Grassland Federation (EGF), Uppsala, Sweden, p. 113.

Piñeiro, J.; Barbeyto, F.; Castro, J.; Díaz, N. (2000). El redescubrimiento del trébol blanco en Europa. *Agricultura* 81, 296-300.

Piñeiro, J.; Castro-Insua, J.; Blázquez, R. (2009). Adubado de forraxeiras e pratenses. *Revista Cooperación Galega. Cadernillo de divulgación técnica*, 92, 1-1.

Piñeiro, J.; Díaz, N. (2005). La producción forrajera en la España húmeda. En: *Producciones ganaderas. Gestión eficiente y conservación del medio natural*. Actas da XLV Reunión Científica de la SEEP, 425-463, Gijón (Asturias): SEEP.

Piñeiro, J.; Pérez, M. (1984). Mezclas pratenses para la España húmeda. Memoria 1983, 31-36. Centro Regional de Investigación y Desarrollo Agrario 01. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. A Coruña (España).

Piñeiro, J.; Pérez, M. (1988). Mezclas pratenses para la España húmeda. Memoria 1984-85, 21-28. Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo. Consellería de Agricultura. A Coruña (España).

Piñeiro, J.; Díaz, N.; Díaz, M. D.; Castro, J.; Barbeyto, F. (2002b). Efecto del contenido en trébol de una pradera sobre el crecimiento de los corderos. En: *Pastagens e forragens: Qualidade e ambiente. Resumos*. Sociedade Portuguesa de Pastagens e Forragens, 58-59. Guimaraes (Portugal).

Piñeiro, J.; Díaz, N.; Díaz, M.D.; Castro, J.; Barbeyto, F. (2002a). Efecto de la siembra en superficie y del manejo en la presencia del trébol blanco en praderas. En: *Producción de pastos, forrajes y céspedes*, 283-288. Eds: C. Chocarro, C.; Santiveri, R.; Fandlo, R.; Lloveras, J. (Eds) Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. Madrid (España).

Raff, M.; Tholstrup, T.; Toubro, S.; Bruun, J.M.; Lund, P.; Straarup, E.M.; Christensen, R.; Sandberg, M.B.; Mandrup, S. (2009). Conjugated linoleic acids reduce body fat in healthy postmenopausal women. *J Nutr.*, 139(7), 1347-52.

Reglamento (CE) n° 999/2001 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de mayo de 2001, por el que se establecen disposiciones para la prevención, el control y la erradicación de determinadas encefalopatías espongiiformes transmisibles.

Rodríguez-Alcalá, L.M.; Castro-Gómez, M.P.; Pimentel, L.L.; Fontecha, J. (2017). Milk fat components with potential anticancer activity-a review. *Bioscience reports*, 37(6), BSR20170705.

Rook, A.J.; Yarrow, N.H. (2002). Incorporating grazing behaviour measurements in models to predict herbage intake by grazing dairy cows. *Grass and Forage Science*. 57, 19-24.

Roy, A.; Ferlay, A.; Shingfield, K.J.; Chilliard, Y. (2006). Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to plant oils in cows given different basal diets, with particular emphasis on tran-C18:1 fatty acids and isomers of conjugated linoleic acid. *Anim. Sci.*, 82:479-492.

Samková, E. (2008). The effects of selected factors on fatty acid composition in cow milk fat. Thesis, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Czech Republic. 186 pp.

Santos-Silva, J.; Bessa, R.J.B.; Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. II. Fatty acid composition of meat. *Livest Prod Sci*, 77, 187-194.

SAS v 9.4 (2012). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Shingfield, K.J.; Bernard, L.; Leroux, C.; Chilliard, Y. (2010). Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4 (7), 1140-1166.

Shingfield, K.J.; Bonnet, M.; Scollan N.D. (2010). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant derived food. *Animal* 7, 132-162.

Shingfield, K.J.; Chilliard, Y.; Toivonen, V.; Kairenius, P.; Givens, D.I. (2008). Trans Fatty Acids and Bioactive Lipids in Ruminant Milk. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 3-65.

- Simopoulos, A. (2001). Evolutionary aspects of diet and essential fatty acids. *World Rev Nutr Diet*, 88, 18-27.
- Simopoulos, S. (2016). An increase in the omega-6/Omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8, 128.
- Simopoulos, A. (2008). The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233, 674-688.
- Smith, R.R. (2000). Red clover in the “twenty-first” century. *Proc. Wisconsin Forage Council. 24th Annual Forage Production and Use Symp.*, Wisconsin Forage Council, Madison, WI.
- Sprague, M.A. (1974). Oxygen disappearance in alfalfa silage (*Medicago sativa* L.). *Proceedings of the XIIth International Grassland Congress*, 3, 651-656.
- Steger, S. (2005). Der Flächenrucksack des europäischen Außenhandels mit Agrarprodukten, Wuppertal Papers 152, Wuppertal Institute.
- Steinshamn, H. (2010). Effect of forage legumes on feed intake, milk production and milk quality – a review. *Animal Science Papers and Reports*, 28 (3), 195-206.
- Steinshamn, H.; Bleken, M.A.; Langeland, Å; Thuen, E. (2006). Influence of clover species in mixtures with grasses on fatty acid composition of mixtures. *Grassland Science in Europe*, 11, 351-352.
- Stergiadis, S.; Hynes, D.N., Thomson, A.L., Kliem, K.E., Berlitz, C.G., Günal, M.; Yan, T. (2018). Effect of substituting fresh-cut perennial ryegrass with fresh-cut white clover on bovine milk fatty acid profile. *J. Sci. Food Agric.*, 98, 3982-3993.
- Sukhija, S.; Palmquist, D.L. (1988). Rapid Method for Determination of Total Fatty Acid Content and Composition of Feedstuffs and Feces. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 36, 1202-1206.
- Sullivan, M.L.; Hatfield, R.D. (2006). Polyphenol oxidase and o-diphenols inhibit postharvest proteolysis in red clover and alfalfa. *Crop Science*, 46, 662-670.
- Tamminga, S. (1992). Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science*, 75, 345-357.
- Thomas, C.; Aston, K.; Daley, S.R. (1985). Milk production for silage. 3. A comparison of red clover with grass silage. *Animal Production*, 41, 23-31.
- Thomas, R.J. (1992). The role of the legume in the nitrogen cycle of productive and sustainable pastures. *Grass and Forage Science*, 47, 133-142.
- Thomson, D.J. (1984). Forage Legumes. British Grassland Society, Berkshire, UK.

- Tilley, J.M.A.; Terry, R.A. (1963). A two stage technique for in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grasslands Society*, 18, 104-111.
- Turpeinen, A.M.; Mutanen, M.; Aro, A.; Salminen, I.; Basu, S.; Palmquist, D.L.; Griinari, J.M. (2002). Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr.*, 76 (3), 504-510.
- Ueda, K.; Chabrot, J.; Doreau, M. (2002). Effect of silage and hay making on fatty acid content and composition of legumes. *Grassland Science in Europe*, 7, 98-99.
- Ulbrich, T.L.V.; Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart disease seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985-992.
- Valladares, J.; Flores, G.; González-Arraéz, A.; Fernández-Lorenzo, B.; Castro, P.; Cardelle, M. (2005). Diseño de una sonda mecanizada para toma de muestras de silos. *Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservación del medio natural*, 145-152.
- Van Dorland, H. A.; Kreuzer M.; Leuenberger, H.; Wettstein, H.R. (2008). Comparative potential of white and red clover to modify the milk fatty acid profile of cows fed ryegrass-based diets from zero-grazing and silage systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88: 77-85.
- Van Es, A.J.H. (1975). Feed evaluation for dairy cows. *Livestock Production Science*, 2, 95-107.
- Van Ranst, G.; Fievez, V.; Vandewalle, M.; De Riek, J.; Van Bockstaele, E. (2009). Influence of herbage species, cultivar and cutting date on fatty acid composition of herbage and lipid metabolism during ensiling. *Grass and Forage Science*, 64, 196-207.
- Van Ranst, G.; Lee, M.R.F.; Fievez, V. (2011). Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism. *Animal*, 5, 512-521.
- Van Soest, P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. 2nd Edition, Cornell University Press, Ithaca, pp. 325-336
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. (1985). Analysis of Forages and Fibrous Foods a Laboratory Manual for Animal Science. Cornell University, Ithaca, NY.
- Vanhatalo, A.; Kuoppala, K.; Toivonen, V.; Shingfield, K.J. (2007). Effects of forage species and stage of maturity on bovine milk fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 856-867.
- Vázquez-Yáñez, O.P.; González-Rodríguez, A. (2006). Análise do contido de urea en leite e o seu uso na alimentación do gando leiteiro. *Afriga*, 65, 29-34.

- Vermorel, M. (1989). Energy: the Feed Unit System. En: *Ruminant nutrition: Recommended allowances and feed tables*, 23-32. Ed: R. Jarrige. INRA e John Libbey Eurotext, París, Francia.
- Vlaemick, B.; Fievez, V.; Cabrita, A.R.J.; Fonseca, A.J.M.; Dewhurst, R.J. (2006). Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 131, 289-417.
- Von Schacky, C.; Angerer, P.; Kothny, W.; Theisen, K.; Mudra, H. (1999). The effect of dietary omega-3 fatty acids on coronary atherosclerosis – a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Annals of Internal Medicine*. 130, 554-562.
- Waghorn, G.C.; Tavendale, M.H.; Woodfield, D.R. (2006). Methanogenesis from forages fed to sheep. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 64, 159-165.
- Wales, W.J.; Doyle, P.T. (2003). Effect of grain and straw supplementation on marginal milk production responses and rumen function of cows grazing highly digestible subterranean clover pasture. *Aust. J. Exp. Agric.*, 43, 467-474.
- Wales, W.J.; Doyle, P.T.; Stockdale, C.R.; Dellow, D.W. (1999). Effects of variations in herbage mass, allowance, and level of supplement on nutrient intake and milk production of dairy cows in spring and summer. *Aust. J. Exp. Agric.*, 39, 119-130.
- Wei, J.; Hou, R.; Xi, Y.; Kowalski, A.; Wang, T.; Yu, Z.; Hu, Y.; Chandrasekar, E.K.; Sun, H.; Ali, M.K. (2018). The association and dose-response relationship between dietary intake of alpha-linolenic acid and risk of CHD: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Br J Nutr.*, 119(1), 83-89.
- White, S.L.; Bertrand, J.A.; Wade, M.R.; Washburn, S.P.; Green, J.T.Jr.; Jenkins, T C. (2001). Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84, 2295-2301.
- Wilkins, J. (2001). Legume silages for milk production. Resultados del proyecto LEGSIL (Fair CT96-1832). <http://www.fao.org/ag/AGP/agpc/doc/silage/legume/english.pdf>.
- Wilman, D.; Riley, J.A. (1993). Potential nutritive value of a wide range of grassland species. *J. Agric. Sci.*, 43-49.
- Wilson, J.R.; Kennedy, P.M. (1996). Plant and animal constraints to voluntary feed intake associated with fibre characteristics and particle breakdown and passage in ruminants. *Australian Journal of Agricultural Research*, 47, 199-225.
- WIN ISI (2000). v 1.5. ISI WINDOWS. Near-Infrared Software, The Complete Software Solution for Routine Analysis, Robust Calibration and Networking, Port Matilda, PA, USA. ISI (Infrasoft International).

- Winters, A.L.; Lloyd, J.; Jones, R.; Merry, R.J. (2002). Evaluation of a rapid method for estimating free amino acids in silages. *Animal Feed Science and Technology*, 99, 177-187.
- Witkowska, I.M.; Wever, C.; Gort, G.; Elgersma, A. (2008). Effects of nitrogen rate and regrowth interval on perennial ryegrass fatty acid content during the growing season. *Agronomy Journal*, 100, 1371-1379.
- Wu, Z.; Satter, L.D.; Kanneganti, V.R.; Pariza, M.W. (1997). Paddocks Containing Red Clover Compared to All Grass Paddocks Support High CLA Levels in Milk. US Dairy Forage Research Center. Wisconsin University. http://www.dfrc.wisc.edu/RS97_pdfs/FU11.pdf
- Wyss, U.; Morel, I.; Collomb, M. (2006). Fatty acid content of three grass/clover mixtures. *Grassland Science in Europe*, 11, 348-350.
- Yepes, V. (1961). Plan Forrajero para Galicia. *Actas de la II Reunión Científica da SEEP*. 15 pp. Galicia, 11-15 julio 1961.
- Zea, J.; Díaz M.D. (2001). Utilización de alfalfa en pastoreo, I. Efecto de la duración de la rotación en el valor nutritivo y la estructura del pasto. *Actas da III Reunión Ibérica de Pastos y Forrajes (XL Reunión Científica de la SEEP)*, Bragança, A Coruña, Lugo, pp 558-564.
- Zea, J.; Díaz, M.D. (1996). Utilización de pastos y ensilados en la producción de carne de vacuno. *Pastos*, XXVI (2), 129-173.