

Capítulo 5

EFFECTO DEL CONSUMO DE BALLICAS CON ENDÓFITO (*N.lolii*) SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y CARNE BOVINA

Francisco Lanuza A.; Héctor Uribe M.; Oscar Araya V. ; Fernando Wittwer M.;
Alfredo Torres B.; Ernesto Cisternas A.; Stella Moyano A. ;
Nelly Morales R. y Cristián Vergara M.

5.1 Introducción

La alimentación del rebaño bovino en base a praderas es uno de los pilares estructurales de los sistemas lecheros en el Sur de Chile, ya que este ítem participa entre un 45-55% de los costos de producción. En la medida que estas praderas perduren mayor tiempo y sean altamente productivas será posible disminuir los costos de producción y así poder ser más competitivos en el mercado de la leche y carne.

Como se explicó anteriormente, frente al problema de la plaga de *L. bonariensis*, se cuenta con la opción del uso de ballicas con el endófito *N.lolii*, que permiten su perennidad a través del alcaloide peramina, que repele al insecto. Sin embargo, los otros dos tóxicos (ergovalina y lolitrem B), provocan problemas de salud en los animales que los consumen y en especial lolitrem B quién es el responsable principal del “Temblor de las ballicas”, cuadro tremorgénico ya descrito anteriormente.

El efecto adverso del endófito *N.lolii*, en ballica perenne sobre la salud y producción animal en Nueva Zelandia está bien documentado (Fletcher, 1993; Thom *et al.*, 1994; Clark *et al.*, 1996; Cosgrove *et al.*, 1996; Thom *et al.*, 1997) En Chile solo se han reportado experimentos relacionados al tema con vacas en lactancia (Butendieck *et al.*, 1994; Lanuza *et al.*, 1999) y con hembras de reemplazo (Lanuza *et al.*, 1998).

En general en los experimentos de producción de leche se han observado diferentes respuestas productivas al consumo de praderas de ballicas con endófito; en algunas ocasiones se ha afectado con distinta magnitud y en otras los efectos han sido inconsistentes o no han existido.

En producción de carne, no se han reportado efectos negativos en ensayos que abarcan buena parte de la estación de pastoreo, solo ha habido un efecto negativo en un período corto del verano en uno de los ensayos de Cosgrove *et al.*, 1993, citados por Easton (1999).

Se hace difícil homologar las distintas condiciones en las que se desarrollan los experimentos y junto a eso, los diferentes materiales forrajeros con niveles distintos de *N.lolii* y las condiciones climáticas de verano-otoño, llevan a respuestas productivas diferentes en los animales.

Los experimentos que más adelante se mencionan abordan varios temas relacionados con el uso de ballicas con endófito *N. lolii* a saber: la intensidad de pastoreo en el verano-otoño con vacas lecheras y vaquillas en crecimiento; el manejo alimenticio de vacas lecheras a pastoreo en verano-otoño; el forraje conservado como ensilaje para vacas con lactancia invernal y el consumo permanente de ballicas con endófito desde edad temprana hasta la primera lactancia de las hembras de reemplazo.

5.2 Intensidad de pastoreo en verano-otoño

5.2.1 Vacas lecheras

Para establecer una norma de manejo de pastoreo de praderas de ballicas con alto nivel de endófito *N. lolii* asociadas a trébol blanco en vacas lecheras durante el verano - otoño se llevó a cabo un ensayo para evaluar el efecto de la intensidad de pastoreo sobre su salud y producción.

El ensayo se desarrolló entre los meses de noviembre del 2000 y abril 2001 y se dispuso de 34,4 ha de pradera mixta formada por ballica perenne cultivar Yatsyn 1 y trébol blanco, que fueron sembradas al azar con endófito (16,2 ha) y sin endófito (16,2 ha), en los años 1996 y 2000. Las praderas se utilizaron con una disponibilidad inicial de 1.800 a 2.200 kg de MS/ha, en potreros que fueron parcelados, dividiendo las franjas con y sin infección de endófito. Además, dentro de cada franja una mitad se utilizó dejando un residuo de 8 cm. y la otra mitad con 4 cm de residuo medidos con plato.

Se emplearon 44 vacas con parto en primavera distribuidas en un diseño factorial de medidas repetidas a los siguientes tratamientos:

- (T1): sin endófito y 4 cm de residuo post-pastoreo.
- (T2): sin endófito y 8 cm de residuo post-pastoreo.
- (T3): con endófito y 4 cm de residuo post-pastoreo.
- (T4): con endófito y 8 cm de residuo post-pastoreo .

Adicionalmente a la pradera recibieron 1 kg. de trigo chancado, como suplemento energético, 1 kg de concentrado comercial (18% PC ; 2,90 Mcal/kg, base MS) y 200 g de sales minerales por vaca/día, además de agua *ad libitum*.

Semanalmente, se evaluó individualmente la condición clínica de los animales en cuanto a su temperatura rectal y frecuencia respiratoria. El peso vivo de cada animal se registró cada 15 días.

La presentación del síndrome “temblor de ballicas” en los animales, se observó en la pradera y al momento del arreo a la sala de ordeña, ó en los cambios de potrero; según la severidad de los signos, se le asignó un puntaje de 0 a 4, desde ningún efecto (grado 0), hasta animal postrado con imposibilidad de movimiento (grado 4); la pauta evaluativa diseñada por Araya citado por Vergara (2002) se basó en una escala utilizada para describir el temblor de las ballicas en ovejas (Keogh, 1973, citado por Thom *et al* 1997)

Cuadro 5.2.1.1 Pauta evaluativa para el cuadro “temblor de las ballicas”

Grado	Intensidad	Signos clínicos
0	Negativo	No presenta
1	Leve	Tremor de cabeza, orejas y musculares leves
2	Mediano	Tremores musculares severos e hipermetría
3	Intenso	Tremores severos y ataxia
4	Grave	Incoordinación severa, caídas y postración, convulsiones y opistótono

Se tomaron muestras de sangre para bioquímica clínica de las vacas mensualmente, a fin de detectar afecciones de tipo neuromuscular de los animales durante el estudio, evaluando los niveles plasmáticos de las enzimas séricas CK y AST.

En la pradera, se realizaron evaluaciones de disponibilidad, contenido de materia seca, proteína cruda, digestibilidad *in vitro* y energía metabolizable.

Las mediciones realizadas en cada vaca y en cada período de evaluación están correlacionadas por lo que se pierde la independencia de los elementos de la variable de intereses a medir. Una manera de corregir estadísticamente esto es usando el efecto vaca, anidada dentro de tratamiento como error experimental. También al incluir el efecto fijo de vaca dentro del tratamiento implica incluir como covariable parámetros propios del animal como es la medida inicial de la variable a estudiar. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza, los datos se editaron utilizando el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS/TAT (1999).

Producción y composición de Leche

Al analizar estadísticamente los resultados de la producción diaria de leche por vaca, para los controles efectuados durante todo el ensayo, se encontró un efecto

significativo de los factores hongo endófito ($P=0,018$) y altura del residuo postpastoreo ($P=0,040$). La interacción entre ambos factores no fue estadísticamente significativa ($P >0,05$).

En la Figura 5.1, se puede apreciar las diferencias que se generan entre los distintos grupos experimentales a causa de los factores en estudio y se confirma que la interacción entre ambos factores no es significativa, debido al paralelismo que se observa entre las dos alturas de residuo para cada uno de los niveles de infección de endófito en las ballicas.

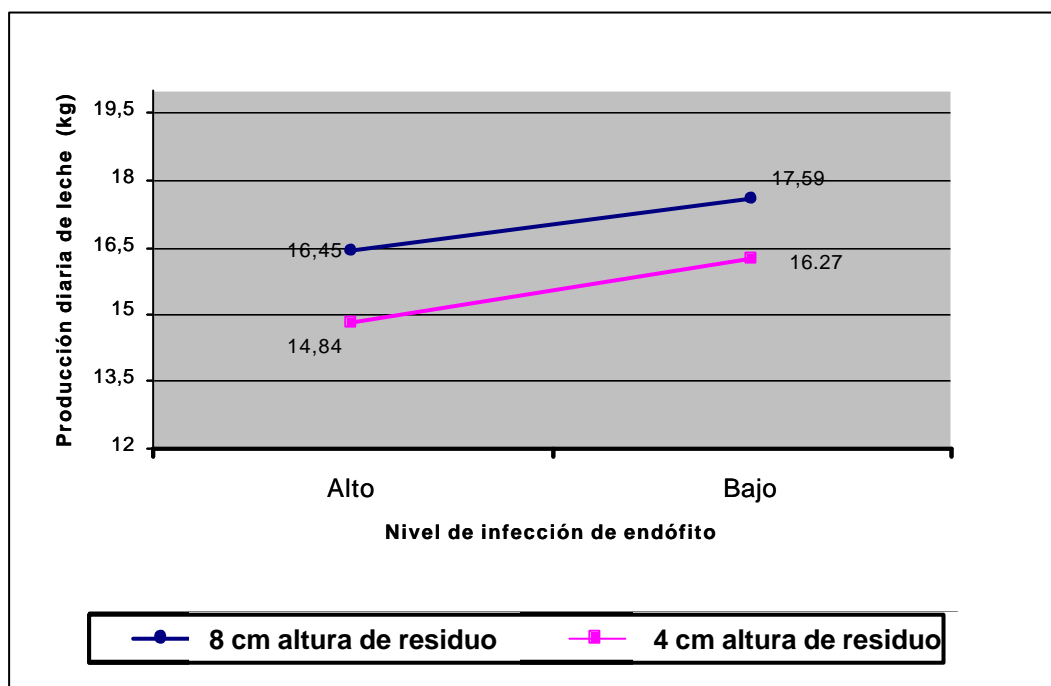


Figura 5.1 Promedios de producción diaria de leche por vaca, según nivel de infección de endófito y residuo postpastoreo.

De esta forma, independiente de la altura de residuo postpastoreo, el factor endófito se traduce en una menor producción diaria de leche, 1,47 kg, lo que representa una disminución promedio del un 9%, en comparación a la producción de los grupos que consumen ballicas con bajo nivel de endófito.

Los resultados son consistentes con lo informado en la literatura, en cuanto a que el consumo de ballicas infectadas con endófitos provoca una disminución en la producción individual de leche (e.g. Valentine *et al.*, 1993), aun cuando en algunos trabajos no se ha demostrado este efecto (Thom *et al.*, 1999).

Pese a la menor producción individual que se encontró en este estudio debido al efecto con de alto nivel de endófito, puede existir también una situación de mayor producción por hectárea, de acuerdo a lo encontrado por Lanuza *et al.*, (1999), donde se observó que las praderas de ballicas con alto nivel de endófito soportaron una mayor carga animal, a lo que en este caso puede sumarse la intensidad de pastoreo.

Además, la reducción en la producción de leche encontrada es similar con la literatura nacional e internacional, donde se informa una disminución relativa, que fluctúa entre un 4 y 34% para las vacas que consumen ballicas infectadas con el hongo endófito (Valentine *et al.*, 1993; Butendieck *et al.*, 1994; Clark *et al.*, 1996; Thom *et al.*, 1997). Al respecto, debe tenerse presente que es difícil comparar los resultados obtenidos en los ensayos, dado que el efecto del endófito sobre la producción individual de leche puede variar entre los estudios o años debido a la influencia de numerosos factores, tales como condiciones climáticas, manejo de pastoreo, niveles de producción de leche de las vacas, cultivares de ballica, especies acompañantes, niveles de infección de endófito y largo de los ensayos.

De lo expuesto se desprende que la menor producción de leche, cuando se presenta, puede deberse en forma primaria al efecto de los tóxicos tremorgénicos sobre los animales afectados más severamente por el cuadro “temblor de las ballicas”, debido a la imposibilidad de ordeñar las vacas postradas, ó secundariamente por la reducción del consumo de alimentos, asociada a la dificultad o imposibilidad de deambulación que exhiben algunas de estas vacas, lo que limita su capacidad de pastoreo.

Por otra parte, en las vacas que no se observaron afectadas por el cuadro y disminuyeron su rendimiento lácteo, es posible que las toxinas del endófito generen un cuadro subclínico, donde éstas afectarían de alguna forma el consumo y/o los procesos de síntesis de leche.

También, la intensidad de pastoreo medido por la altura del residuo afectó en forma significativa la producción diaria de leche de las vacas del ensayo. La utilización de las praderas dejando un residuo postpastoreo bajo (4 cm), provoca en promedio una disminución de 1,29 kg en la producción de leche (8%), respecto a un residuo de mayor altura. Sin embargo, ambos factores ejercen su efecto de manera independiente sobre el rendimiento lácteo, dado que no se encontró una interacción estadísticamente significativa ($P > 0.05$). Esto puede entenderse, debido a que el pastoreo con un residuo de 8 cm, les permitió a los animales efectuar una mayor selección y con ello acceder a las partes más nuevas y nutritivas de las plantas.

En los grupos experimentales de alto nivel de endófito, la mayor intensidad de pastoreo (4 cm de residuo, Fotografía 5.1), generó una reducción en la producción láctea de casi el 10%, en comparación a la reducción de 7,5% observada para el

residuo de 8 cm. Ello concordaría con los resultados de Lanuza *et al.*, (1999), obtenidos en INIA-Remehue, donde se manejó un solo residuo postpastoreo, sin evaluar la intensidad de pastoreo, encontrándose una disminución en la producción láctea de 7,5% debido al alto nivel de endófito de las ballicas.

La composición de leche (grasa, proteína, lactosa), no se afectó por el consumo de ballicas con alto nivel de endófito, ni por la intensidad de pastoreo utilizado. Los valores promedios de grasa fluctuaron entre 3,66 y 4,08%, los de proteína entre 3,16 y 3,23% y los de lactosa entre 4,86 y 4,97%. Resultados similares se observaron en un trabajo realizado por Lanuza *et al.*, (1999).



Fotografía 5.1 Vacas en pastoreo del tratamiento con endófito y 4 cm. de residuo.

Por otra parte, los resultados también son consistentes con lo informado en algunos trabajos extranjeros, en los cuales se describe un comportamiento similar para la producción de leche, grasa y proteína; particularmente en aquellos estudios donde se verifica una disminución el volumen de leche, atribuible al consumo de ballicas con endófito, conjuntamente con una reducción de magnitud similar en la producción (kg) de los sólidos lácteos (Valentine *et al.*, 1993; Thom *et al.*, 1999; Blackwell y Keogh, 1999).

Los valores promedio de recuento de células somáticas por mililitro fluctuaron entre 55 mil y 96 mil, y no hubo diferencias entre tratamientos; también no se presentó ningún caso de mastitis durante el ensayo. Esto permitiría suponer que ninguna de las toxinas del endófito de las ballicas utilizadas en el ensayo afecta los mecanismos de defensa de la glándula mamaria. Autores de Nueva Zelanda (Auld y Thom,

2000) también observaron que las células somáticas no se afectaron por el consumo de ballicas con endófito.

Ganancia de peso

En el Cuadro 5.2, se presentan los resultados de ganancia de peso. El efecto nivel de endófito afectó significativamente esta variable ($P < 0,007$).

Cuadro 5.2 Medias marginales de ganancia diaria de peso vivo (kg), de vacas alimentadas en base a praderas compuestas mayoritariamente por ballicas, según nivel de infección de endófito y residuo postpastoreo.

Nivel de endófito	Altura de residuo post-pastoreo		
	4 cm	8 cm	Total
Bajo	0,167Aa ($\pm 0,07$)	0,335Aa ($\pm 0,06$)	0,251a ($\pm 0,05$)
Alto	0,026Ab ($\pm 0,08$)	0,064Ab ($\pm 0,08$)	0,045b ($\pm 0,06$)
Total	0,096A ($\pm 0,05$)	0,199A ($\pm 0,05$)	

() : Error estándar

A,A : Superíndices iguales indican ausencia de diferencias significativas según altura de residuo postpastoreo ($P > 0,05$)

a,b : Superíndices distintos indican diferencias significativas según nivel de infección de endófito ($P < 0,05$)

Los valores promedios indican que los dos grupos de vacas que pastoreaban las praderas de ballicas con alto nivel de endófito, solamente mantuvieron el peso corporal durante el ensayo. En cambio, aquellos animales que consumieron praderas de ballicas con bajo nivel de endófito tuvieron una ganancia diaria de 0,2 a 0,3 kg. que tendió a ser mayor en el grupo con alto residuo postpastoreo.

Temperatura rectal

El promedio de temperatura rectal determinada semanalmente fue muy similar entre los grupos experimentales y se encuentran dentro del rango de referencia de temperatura corporal del bovino adulto. En un sector del ensayo se determinó el contenido de alcaloides en forrajes en el mes de febrero, encontrándose concentraciones de ergovalina 0,37; 0,43 mg/kg MS.

Ello permite suponer que la ergovalina producida por el endófito de las ballicas consumidas por las vacas no fueron niveles suficientes como para generar alteraciones a la disipación de calor en la época estival ó que también la humedad y temperatura ambiente no fueron suficientemente elevadas.

Frecuencia respiratoria

El promedio de frecuencia respiratoria de las vacas en todos los grupos fluctuó entre 31 y 35 ciclos por minuto, levemente por sobre el límite superior del rango de normalidad en el bovino. La revisión de los promedios en cada semana de evaluación no reveló diferencias ($P>0,05$) entre los grupos experimentales ni incrementos que pudieran asociarse al endófito de las ballicas en algún periodo del ensayo en particular, en que hubiera un aumento de la temperatura y humedad ambiente.

Enzimas séricas

Aspartato aminotransferasa (AST)

El valor promedio de AST tendió a ser mayor en las vacas que consumían ballicas con alto nivel de endófito. Ello fue particularmente evidente en el grupo de vacas del tratamiento 3 (alto nivel de endófito y bajo residuo postpastoreo), donde el promedio de esta enzima supera en aproximadamente un 60% al promedio correspondiente a su control de bajo nivel de infección de endófito.

No obstante, la diferencia entre los promedios de ambos tratamientos se debe a la influencia que ejerce elevado valor de AST (662 U/l), de una vaca del tratamiento 3. Al excluir esta medición, el promedio de AST de dicho tratamiento disminuye a 127 U/l, sin diferenciarse mayormente de los promedios de los demás grupos experimentales. Una sola vaca fue afectada por el “temblor de las ballicas” con grado 3 y 4 que presentó un valor elevado de AST. El resto de los animales de este tratamiento, mostró valores de AST dentro del límite superior del rango de normalidad (< 150 U/l), descrito por Wittwer (2000).

Los niveles de AST de los animales que pastoreaban praderas con alto nivel de endófito y un residuo postpastoreo más alto se ubicaron en todos los casos por debajo del límite superior del rango de referencia de la enzima.

Creatinfosfoquinasa (CK)

El rango de CK alcanzaron valores comprendidos entre 176 y 730 (T_1), 166 y 1071 (T_2), 163 y 9.087 (T_3), y 174, 2.789 (T_4) U/l, respectivamente. De lo que se deduce que en un pastoreo más intensivo de praderas de ballica con alto nivel de endófito alcanzaron un promedio de CK casi 5 veces mayor que el promedio correspondiente a los animales que consumieron ballicas con bajo nivel de endófito, con el mismo manejo de pastoreo. Para la condición de alto residuo postpastoreo, el promedio de CK de las vacas alimentadas en base a praderas con alto nivel de endófito, superó sólo en un 80% al valor correspondiente al de los animales manejados en praderas de ballicas con bajo nivel de endófito. En la Figura 5.2, se representa gráficamente los valores promedio de la enzima.

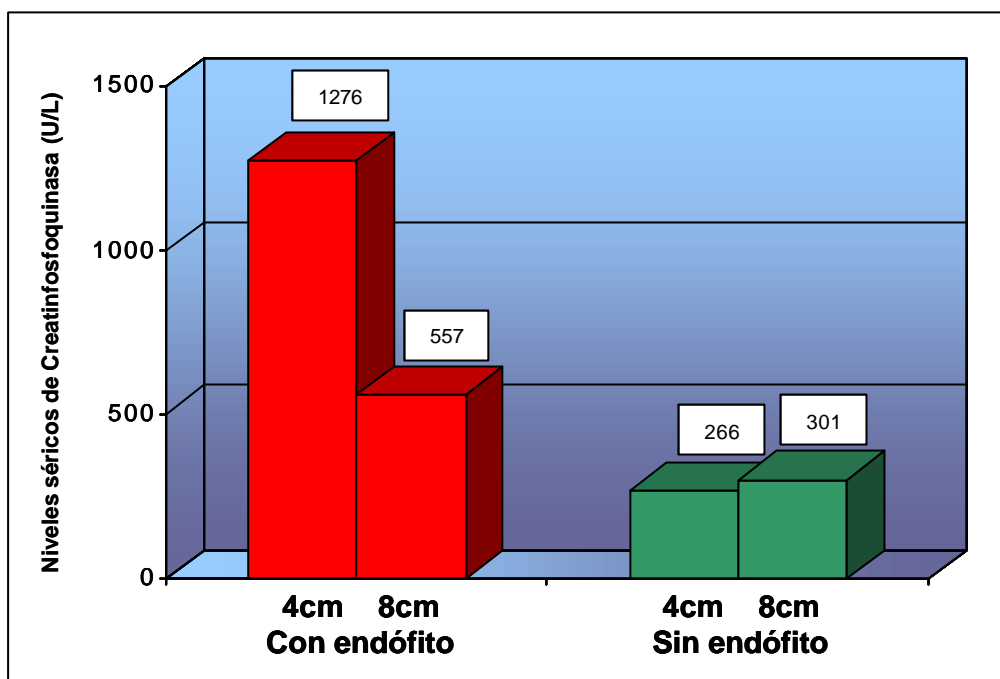


Figura 5.2 Niveles séricos de creatinfosfoquinasa (U/L).

En los mayores valores de CK de las vacas que pastorearon las ballicas con alto nivel de endófito, constituirían un indicador de daño (Kaneko *et.al.*, 1989).

Analizados globalmente, los resultados obtenidos para las determinaciones enzimáticas son consistentes con lo señalado por Wittwer (2002) citado por Vergara (2002) que considera a la enzima CK como un indicador de lesiones musculares en las vacas afectadas por el “temblor de las ballicas”; mientras que la enzima AST refleja fundamentalmente alteraciones hepáticas, lo que explica que sus valores se encontraran dentro del rango de normalidad en la casi totalidad de las vacas que consumieron ballicas con alto nivel de endófito, lo que permitiría suponer que las toxinas del endófito no generan inflamación del tejido hepático.

Presentación del síndrome “temblor de las ballicas”

Durante la estación estival, especialmente en el mes de febrero se presentaron los signos del “temblor de las ballicas”, con una intensidad mediana a grave (grados 2 a 4) (Cuadro 5.1), solamente en vacas pertenecientes al tratamiento 3 (alto nivel de endófito en la ballica y bajo residuo postpastoreo). Los casos afectaron a 7 de las 11 vacas de este grupo, observándose en algunas de ellas reincidencia de los ataques. En su grupo control de mayor residuo, sólo se observó grados leves (1), en una baja proporción de animales (2 de 11 vacas).

Los grupos de bajo nivel de endófito en las ballicas, no presentaron ningún signo del síndrome en las 22 vacas experimentales.

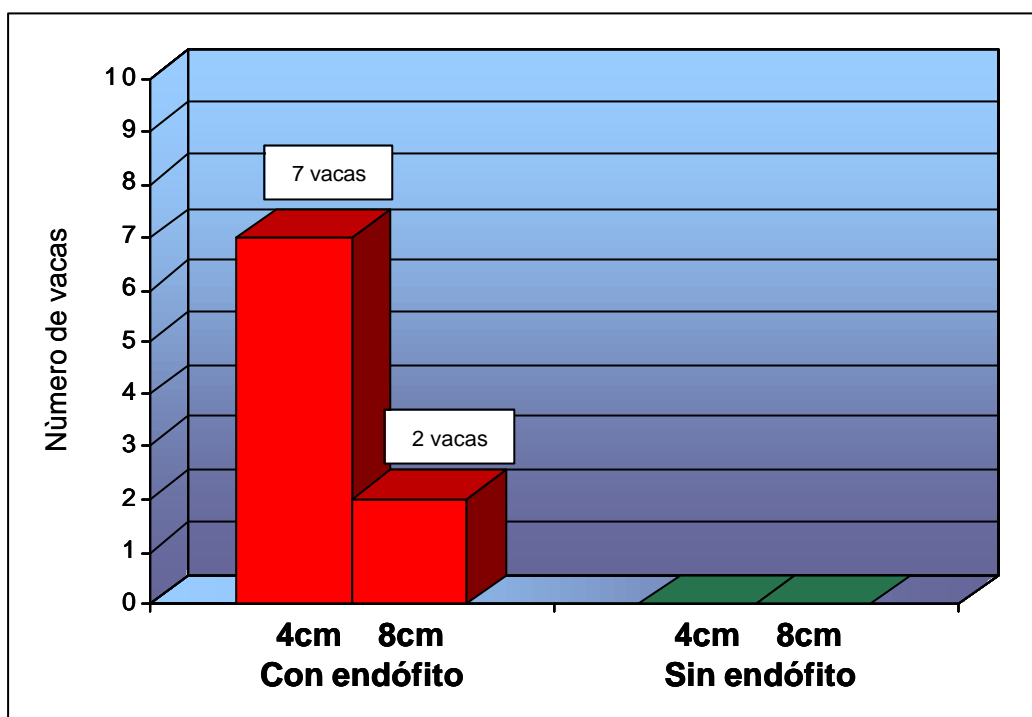


Figura 5.3 Número de vacas afectadas por el “temblor de las ballicas”

De lo expuesto, se desprende que el consumo de ballicas con alto nivel de endófito, especialmente en el sistema con bajo residuo postpastoreo, se asocia a la presentación del “temblor de las ballicas” en una proporción importante de casos durante los meses de verano. Sin embargo, se observó una alta variabilidad en la presentación de casos y en los valores de las transaminasas.

Para graficar el efecto de la intoxicación sobre la producción de leche en la Figura 5.4, se representa la curva de la vaca más afectada versus el promedio de producción de las vacas que no presentaron signología del cuadro temblor de las ballicas. Esta vaca fue retirada del ensayo por presentar el cuadro con intensidad grave y con reincidencia; luego de ser incorporada al rebaño pudo recuperar en parte su nivel productivo en un plazo de 2 semanas, como se observa en la Figura 5.4.

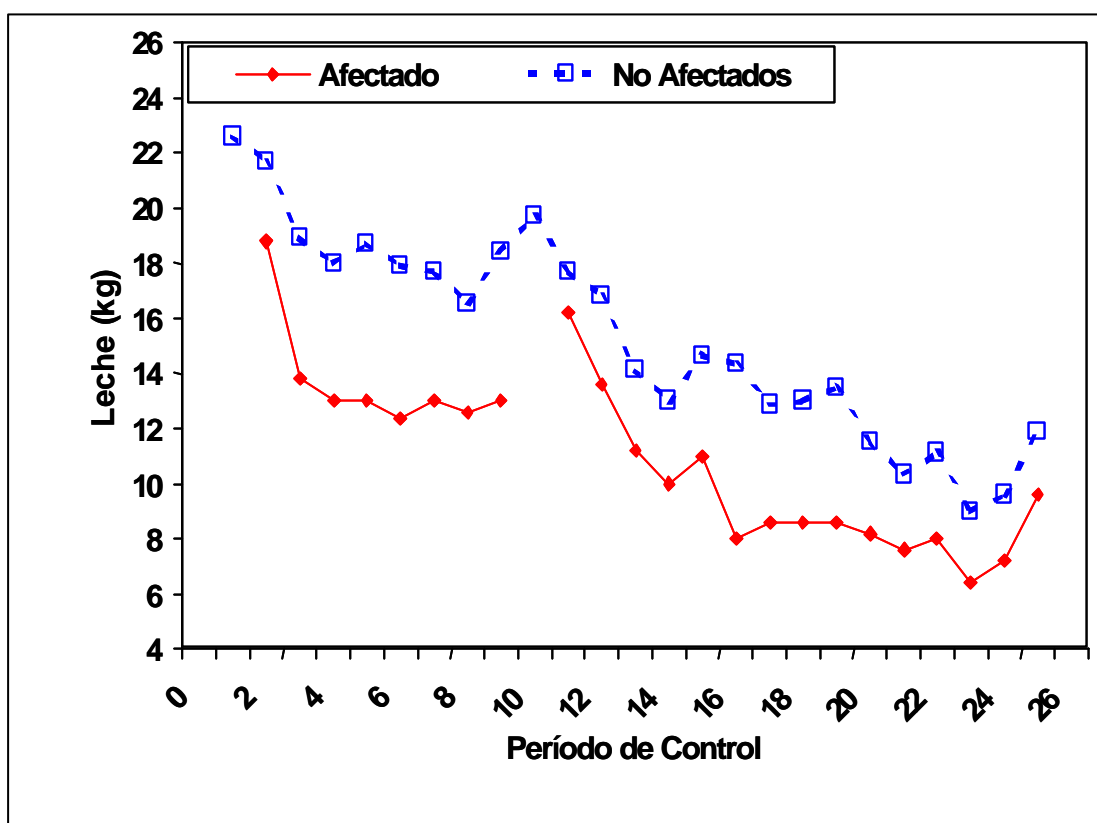


Figura 5.4 Producción de leche del animal más afectado versus el promedio dentro del tratamiento, sin considerar otros tres animales afectados.

Conclusiones

El consumo de praderas mixtas, con un alto nivel de endófitos, provoca una disminución significativa de un 9% en la producción diaria de leche en vacas con partos de primavera durante el período de pastoreo (diciembre a abril); respecto de vacas que pastorean praderas con bajo nivel de endófito.

La menor producción de leche se asocia a vacas que consumen praderas con alto nivel de endófito y bajo residuo.

La composición de la leche (grasa, proteína, lactosa), no se afecta por el consumo de ballicas con un alto nivel de endófito, ni por la intensidad de pastoreo.

La ganancia diaria de peso se afecta negativamente por el consumo de ballicas con un alto nivel de endófitos, pero no se observa un efecto por la altura del residuo postpastoreo.

El endófito de las ballicas no se relaciona con la susceptibilidad a infecciones intramamarias, dado que el recuento de células somáticas de la leche.

En base al análisis de sangre durante el mes de febrero en el que se presentaron los problemas de intoxicación, el endófito de las ballicas no afecta la concentración de la AST, evidenciándose en cambio un incremento en los niveles de la CK, especialmente en las vacas que pastorearon praderas con una baja altura de residuo, alza que indicaría hiperactividad y lesiones del tejido muscular asociada al cuadro del “temblor de las ballicas”.

Los casos clínicos alcanzaron una frecuencia y severidad importante, sólo en las vacas que consumieron las estratas bajas de las ballicas con altos niveles de endófitos.

No se presentaron casos de “heat stress” por consumo de praderas con altos niveles de endófitos, probablemente porque los niveles de ergovalina del endófito de las ballicas no fueron suficientemente altos y/o las características climáticas del verano de la Xª Región no predisponen a enfermar.

5.2.2 Vaquillas de reemplazo

Para establecer una norma de manejo del pastoreo en vaquillas de reemplazo que pastorean ballicas con hongo *N. lolii* en mezclas con trébol blanco durante el verano-otoño, se llevó a cabo un ensayo para evaluar el efecto de la intensidad de pastoreo sobre la salud y ganancia de peso vivo; y así generar una estrategia de utilización de estas praderas para el control del síndrome “temblor de las ballicas”.

Para la ejecución de este ensayo se establecieron praderas de ballica con y sin endófitos. (*N. lolii*) en mezcla con trébol blanco. Estas se utilizaron en pastoreo rotativo ingresando los animales con una disponibilidad inicial de 1.800-2.000 kg MS/ha. El ensayo se realizó con 4 tratamientos de acuerdo a la altura de pastoreo y presencia o ausencia del hongo endófito. Los tratamientos fueron:

- a) E+ 4: pastoreo en ballicas con endófito dejando un residuo de 4 cm, medido con plato.
- b) E+ 7: pastoreo en ballicas con endófito dejando un residuo de 7 cm, medido con plato.
- c) E- 4: pastoreo en ballicas sin endófito dejando un residuo de 4 cm, medido con plato.
- d) E- 7: pastoreo en ballicas sin endófito dejando un residuo de 7 cm, medido con plato.

En cada tratamiento hubo 12 vaquillas, las que fueron bloqueadas por peso vivo inicial. Además de las praderas, los animales recibieron una suplementación alimenticia de 1 kg. de concentrado y 0,1 kg de sales minerales. Los animales se evaluaron desde diciembre de 1999 hasta abril de 2000.

Los animales se observaron a diario para evaluar su condición clínica y determinar la presentación de la signología del cuadro “temblor de las ballicas” y en tres ocasiones se tomaron muestras de sangre para determinación de las enzimas AST y CK.

El diseño estadístico correspondió a bloques completos al azar con peso inicial como covariable. La variable dependiente fue el promedio de ganancia diaria de peso en todo el período de estudio. Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza y los datos fueron editados usando los procedimientos del paquete estadístico SAS (1993). El análisis de varianza fue hecho usando el procedimiento PROC GLM de SAS.

Peso vivo y ganancias de peso

Los promedios de peso inicial, peso final y ganancia diaria total se presentan en el Cuadro 5.3.

Cuadro 5.3 Peso vivo y ganancia de peso.

Tratamiento	Peso inicial (kg)	Peso final (kg)	Ganancia diaria promedio (kg/día)	Promedio de los mínimos cuadrados (kg/día)
E+4	245	318	0,51 ^a	0,52
E+7	248	342	0,74 ^b	0,73
E-4	254	344	0,71 ^b	0,72
E-7	256	362	0,80 ^b	0,78

(letras diferentes a través de columnas indican diferencias estadísticamente significativas $P < 0,01$).

El efecto tratamiento fue estadísticamente significativo ($P < 0,01$) para ganancia diaria de peso. Las vaquillas que pastorearon ballicas con endófito y dejaron un residuo de 4 centímetros ganaron significativamente menos peso que los otros tratamientos. Las ganancias de peso para los tratamientos E+7, E-4 y E-7 no fueron significativamente diferentes ($P > 0,05$).

En la Figura 5.5, se presenta la evolución de peso vivo de los cuatro tratamientos. Se observa que las menores ganancias de peso ocurrieron en los meses de febrero y parte de marzo, esto ocurrió en especial en los animales del tratamientos E+4 en que prácticamente mantuvieron el peso vivo desde el 18 de febrero al 22 de marzo.

Por el contrario la curva del tratamiento E-7 es más sostenida y supera a los otros dos tratamientos E-4 y E+7 que prácticamente coincidieron en gran parte del período de estudio.

La diferencia de ganancia de peso total para el período experimental fue de alrededor de 0,20-0,30 kg/día a favor de los grupos sin endófito (E-7, E-4) y del grupo con endófito con residuo de 7 cm. Cosgrove *et al.*, (1996), señalan que el efecto directo de los alcaloides del endófito sobre el consumo y la ganancia de peso fue pequeño y está influenciado por la estación del año.

También Mc Callum y Thomson (1994), en ensayos con ganado lechero en crecimiento no han encontrado efectos del endófito sobre la performance animal. En un ensayo anterior Lanuza *et al.*, 1998, reportan los resultados de un ensayo en donde no hubo diferencias en la ganancia de peso en vaquillas que consumieron ballicas con endófito versus sin endófito, bajo similar manejo de residuo post-pastoreo.

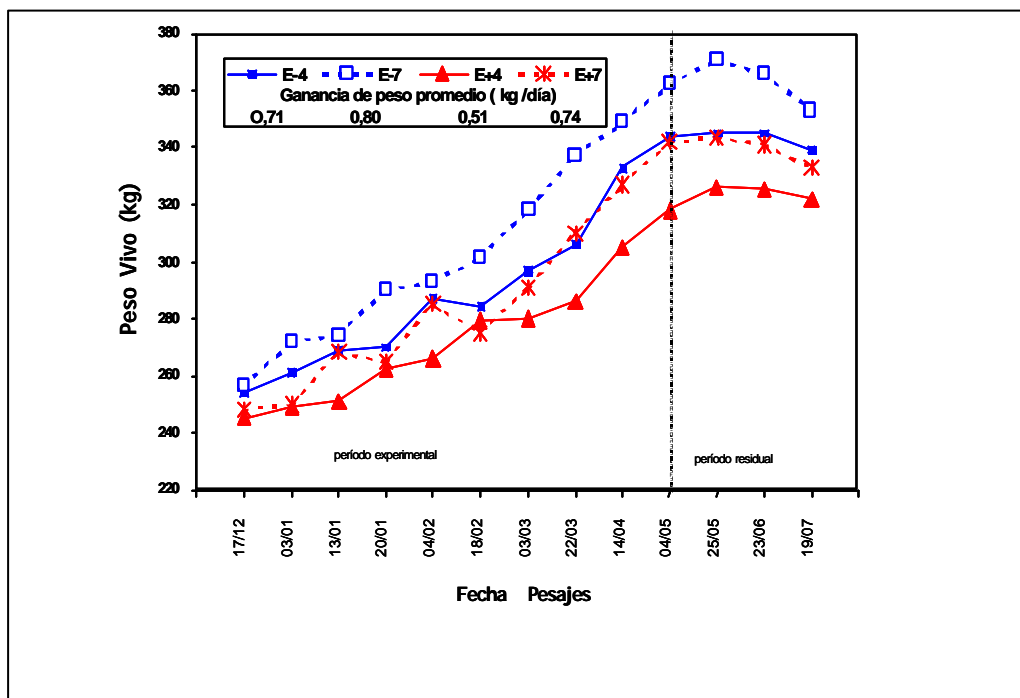


Figura 5.5 Evolución del peso vivo de las vaquillas durante el período experimental y residual

Presentación del síndrome “temblor de las ballicas”

El examen visual de las vaquillas en el campo permitió diagnosticar el síndrome de temblor de las ballicas en algunos de los animales del tratamiento E+4. Estas fueron

principalmente clasificadas de leves a moderados con temblores de cabeza y cuello, caminar incoordinado y con tendencia a rigidez de los miembros, afectando aproximadamente al 30 % de los animales en E+4. Los síntomas fueron más visibles durante el mes de febrero donde se registraron mayores temperaturas.

No se observaron síntomas de “temblor de las ballicas” en los animales que pastorearon ballicas con endófito y dejaron un residuo de 7 centímetros (E+7). Tampoco se observó sintomatología en los animales que pastorearon ballicas sin el hongo endófito.

La Figura 5.6, muestra la evolución de peso vivo comparando las cinco vaquillas del tratamiento E+4 que presentaron el síndrome descrito versus el resto de los animales.

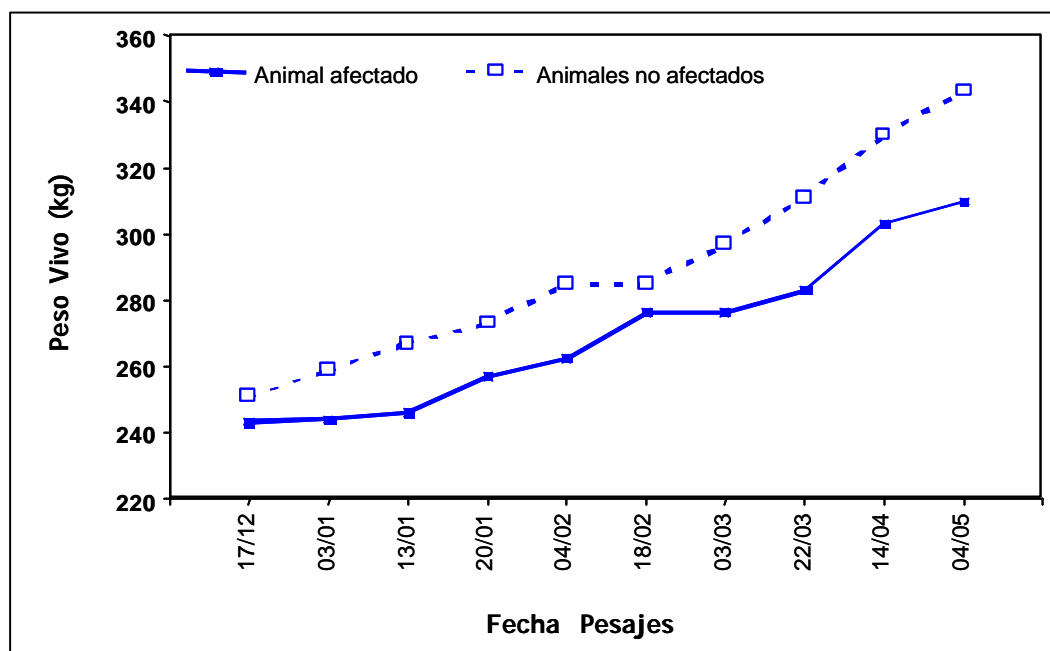


Figura 5.6 Evolución del peso vivo de las vaquillas qafectadas y no afectadas por el síndrome.

En este caso se observa una clara superioridad en el desarrollo corporal de aquellos animales que no sufrieron el síndrome del temblor de las ballicas comparado con vaquillas que si sufrieron el síndrome. Las ganancias diarias fueron de 708 y 484 gramos diarios para las vaquillas sin y con presentación del síndrome, respectivamente.

Enzimas séricas CK y AST

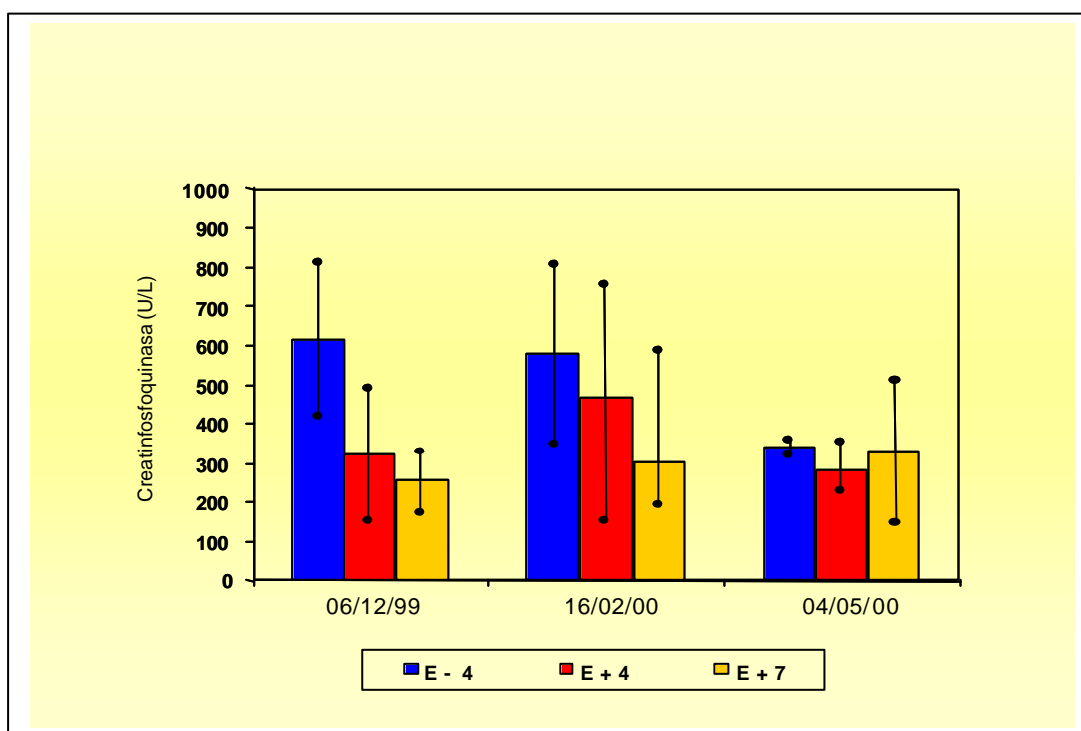
En tres oportunidades durante el ensayo, se analizaron las muestras de sangre de los animales que presentaron sintomatología, o que tenían menor peso en el tratamiento E+4, y en los animales con menor ganancia de peso en los tratamiento E-4 y E+7.

Los promedios totales, por tratamiento y a través del tiempo de medición para la enzima se presentan en el Cuadro 5.2.2.3.

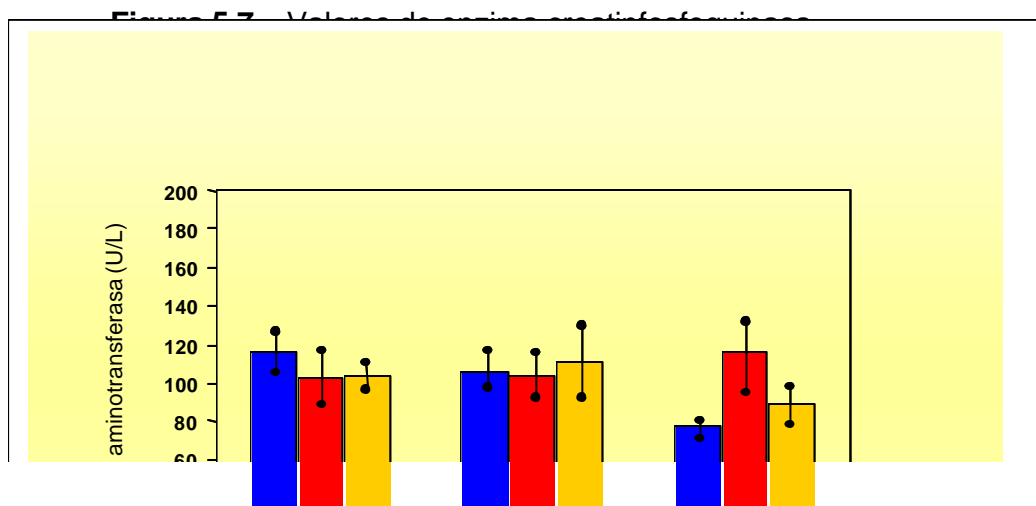
En la Figuras 5.7, se presentan los resultados de concentración de la enzima CK en la sangre. Se observa una alta variabilidad, en las tres muestras. Sin embargo además del posible daño muscular por los temblores, esto también se puede interpretar como respuesta a un estrés de los animales en el arreo y extracción de sangre. Por lo general, aparentemente el efecto de la intoxicación, fue pasajero, y no coincidió el muestreo de sangre con algunos de los episodios del síndrome temblor de las ballicas.

Los resultados de la enzima AST a ésta muestra no permiten concluir que sea indicadora de la presentación del síndrome.

Los resultados de la enzima AST (Figura 5.8) no permiten concluir que ésta sea Indicadora de la presentación del cuadro de intoxicación.



* Línea en centro de barra indica desviación estándar.



* Línea en centro de barra indica desviación estándar.

Figura 5.8 Valores de enzima Aspartato aminotransferasa

Conclusiones

Las vaquillas que pastorean ballicas con endófito y dejan un residuo de 7 cm pueden ser tan productivas como aquellas que pastorean ballicas sin endófitos.

Pastoreos intensos de ballicas con endófito, (residuo de 4 cm. medido con plato) con vaquillas afectan la ganancia de peso vivo en un 30%.

Falta tener claridad sobre la interpretación de los valores de transaminasas en el cuadro clínico, en especial la creatinfosfoquinasa.

5.3 Manejo alimenticio de vacas lecheras a pastoreo en verano-otoño

Se realizó una investigación entre los meses de diciembre del 2001 y marzo del 2002, para establecer una norma de manejo alimenticio en vacas lecheras que pastorean praderas de ballicas Yatsyn 1 con endófito *N.lolii* asociadas a trébol blanco durante el verano - otoño bajo condiciones del secano en la Décima Región,. El objetivo fue evaluar el efecto de la utilización de suplementos alimenticios a vacas lecheras que pastorean praderas mixtas permanentes, compuestas con ballica perenne (*Lolium perenne*), infectada con el hongo endófito *N. lolii*, asociadas con trébol blanco sobre su salud y comportamiento productivo.

Se dispuso de 16,2 ha de praderas mixtas de ballica perenne variedad Yatsyn 1 con endófito *N. lolii* trébol blanco, que fueron sembradas en los años 1996 y 2000. La pradera se utilizó con una disponibilidad inicial de 1.800 a 2.200 kg. de m.s./ha., pastoreándolas hasta dejar entre 6 y 7 cm de residuo de pastoreo, en potreros que fueron parcelados, según un ensayo anterior (Lanuza *et al.*, 2002)

Se utilizaron 39 vacas con parto en primavera, cuyo promedio de producción diario, no fue mayor a 25 kg de leche y que se encontraban en la etapa posterior al pico de lactancia. Las vacas fueron alimentadas con praderas utilizadas en pastoreo rotativo. Los animales se asignaron en un diseño de bloques al azar de medidas repetidas a tres tratamientos que fueron :

T₁: pastoreo + suplementación con 0,15 kg sales minerales.

T₂: pastoreo + suplementación con 30 kg ensilaje de pradera y 0,15 kg de sales minerales.

T₃: pastoreo + suplementación con 5,6 kg concentrado, 0,15 kg sales minerales y 0,2 kg de bicarbonato de sodio.

Además las vacas dispusieron de agua permanentemente.

La decisión de avance en la rotación se realizó, evaluando la altura del residuo en la pradera, de 6-7 cm. (medidos con plato), y se llevó a cabo mediante cerco eléctrico móvil.

La producción de leche se midió semanalmente en 2 días sucesivos, usando medidores volumétricos. También, se evaluó la condición clínica de los animales.

El peso vivo y la condición corporal individual se registró cada 14 días.

La intensidad del síndrome se observó en el potrero y al momento de ser los animales arreados a la sala de ordeña ó en los cambios de potrero, y se le asignó un

puntaje. Basado en la pauta evaluativa (Cuadro 5.1) Se tomaron muestras de sangre para bioquímica clínica de las vacas en cuatro oportunidades, a fin de detectar problemas de tipo neuromuscular y de hígado de los animales durante el estudio, evaluando los niveles plasmáticos de las enzimas séricas CK y AST y gama glutamil transferasa (GGT).

En la pradera, se evaluó la disponibilidad, con cuatro marcos de muestreo de 0,25 m², por franja de tratamiento distribuidos al azar y cortados a ras de suelo, para determinar la materia seca, proteína cruda, digestibilidad *in vitro* y energía metabolizable. Además se estimó la altura al ingreso y salida de la franja (40 observaciones por franja). Se tomaron muestras de forraje de las praderas que pastoreaban las vacas para analizar la concentración de las toxinas

Resultados

De las 16,32 hectáreas de ballicas con endófito para este ensayo se utilizaron para los tratamientos 5,96 ha (T₁); 5,65 ha (T₂) y 4,71 ha (T₃); la carga promedio para el período de 86 días fue de 2,07 ; 2,08 y 2,57 vacas por hectárea en T₁, T₂ y T₃, respectivamente. No se pudo prolongar más el período experimental por la sequía estival del año 2002.

En enero precipitaron 16,6 mm distribuidos en siete ocasiones, con nula efectividad. Al final de febrero cayeron 22,3 mm, pero ya la recuperación de la pradera no era posible.

En el Cuadro 5.4, se observan los resultados de lolitrem-B y de ergovalina. En general los resultados señalan que la concentración de lolitrem B es mayor que la de ergovalina en ballicas en estado vegetativo. Resultados similares se entregan en la literatura (Cosgrove *et al.*, 1996; Thom *et al.*, 1999). Solo una de las muestras de la parte apical de las ballicas, que se tomó a modo de observación de la distribución de los tóxicos arrojó una concentración mayor de ergovalina.

Esto sucedió en un período de déficit de lluvias y concuerda con la evidencia de que el aumento de la concentración de la ergovalina parece ser mayor con el déficit de agua que lo que sucede con el lolitrem-B (Barker *et al.*, 1993, Lane *et al.*, 1997)

Cuadro 5.4 Concentración de lolitrem-B y ergovalina en muestras de praderas.

Fecha muestreo	Potrero	Muestra	Lolitrem B	Ergovalina
----------------	---------	---------	------------	------------

			mg/kg MS	mg/kg MS
21/02	Cacique 2/3 E+	Residuo	0,47	0,16
21/02	41 E+	1/3 basal	0,71	0,50
21/02	41 E+	1/3 apical	0,78	1,28
21/02	41 E+	1/3 medio	0,24	0,18
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 2	1,53	0,37
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 3	1,08	0,40
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 4	1,49	0,41
21/02	Hijuela 3 E+	Franja 8	0,93	0,43

La suplementación en los animales de T₂ y T₃ permite un efecto de dilución de las toxinas. Esto también se logra cuando el trébol blanco que acompaña a la ballica, participa con un porcentaje importante en la mezcla (> 10%). El consumo de los suplementos permitió utilizar menor superficie de pradera, en especial en T₃, donde aumentó la carga animal.

En las observaciones de los animales en la pradera y ordeña no se presentó signología del “temblor de las ballicas”. Esto a pesar de que según los resultados del Cuadro 5.4 existían niveles de hasta 1,49 mg/kg de m.s. de lolitrem B y de tener altas temperaturas en el mes de enero y febrero (máximas entre 27 y 29°C, algunos días), la pluviometría fue escasa durante todo enero y primera mitad de febrero, teniendo así una baja humedad relativa. Esto hizo la diferencia al clima del año anterior, donde se presentó del cuadro clínico. En esta temporada, tal vez hubo síntomas en forma sub-clínica.

Producción y composición de leche

La producción promedio de leche en T₃ fue significativamente mayor (P<0,01) que la producción en T₁ (12,7%) y T₂ (27,6%), respectivamente. Sin embargo entre los tratamientos T₁ y T₂, no hubo diferencias significativas (P >0,05) en la producción de leche. En general hubo una alta variación dentro de los grupos (desviación estándar T₁: 5,05; T₂: 4,80; T₃: 3,88), denotando una respuesta animal variable al efecto de las toxinas y a la suplementación alimenticia. La evolución de la curva de lactancia real promedio para los animales de los distintos tratamientos se observa en la Figura 5.9.

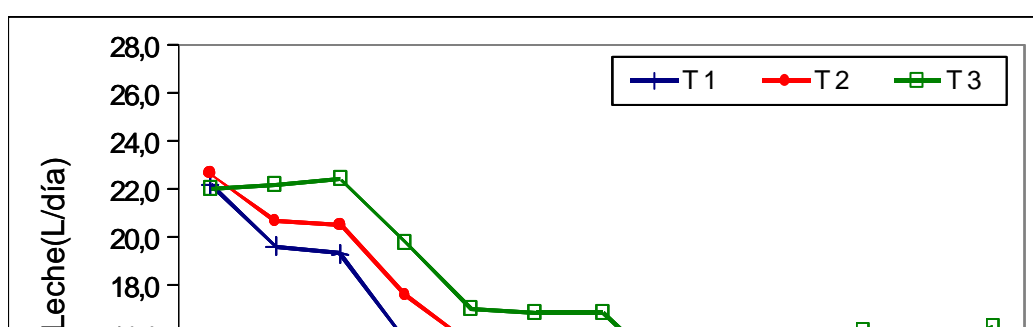


Figura 5.9 Evolución de la curva promedio de leche por tratamiento

La composición láctea fue significativamente diferente ($P < 0,01$), en el contenido de materia grasa y sólidos totales, siendo menor en las vacas del T3 en comparación con T2 y T1.

Peso vivo y condición corporal

Tanto el peso vivo promedio como la condición corporal no fueron diferentes ($P > 0,05$) entre los tratamientos. Durante el ensayo, se mantuvo el peso vivo y una tendencia a mejorar la condición corporal hacia el final del período experimental.

Recuento de células somáticas y urea en leche

El conteo de células somáticas no reveló diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre las vacas de los tratamientos. Hubo una a dos vacas por tratamiento que mostraron elevados conteos de células en alguno de los controles. En general para la etapa de lactancia en que se encontraban las vacas promedios estuvo entre 45.000 y 253.000 células somáticas por mililitro, considerados como muy buenos a buenos.

Enzimas séricas

La actividad sérica de la enzima AST presentó, diferencias significativas ($P < 0,01$) para los tratamientos, siendo T_3 mayor a T_1 y T_2 , y entre estos últimos hubo similares promedios (T_1 : 112,2b ; T_2 :102,06b y T_3 :127,7a) encontrándose todos los valores dentro de los rangos de referencia.

No ocurrió lo mismo con la actividad sérica de la enzima GGT donde no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los promedios de los tratamientos (T_1 : 30,5; T_2 :27,12 ; T_3 :27,20) que se situaron en los rangos de referencia que describe la literatura. (Wittwer, 2000).

Respecto a la CK, en general se acepta que animales en pastoreo, presenten niveles más elevados, pero dentro del rango del promedio poblacional. Los valores promedios para T_1 , T_2 y T_3 fueron 253,2; 326,1 y 396,7, respectivamente, no siendo estadísticamente diferentes ($P > 0,05$) (Figura 5.10).

Hubo 2 a 3 animales en alguno de los muestreos que tuvieron elevados valores de CK. Sin embargo los promedios de todos los tratamientos superaron los niveles considerados de referencia, pero permitidos para muestras post-ejercicio que son hasta 500 U/L.

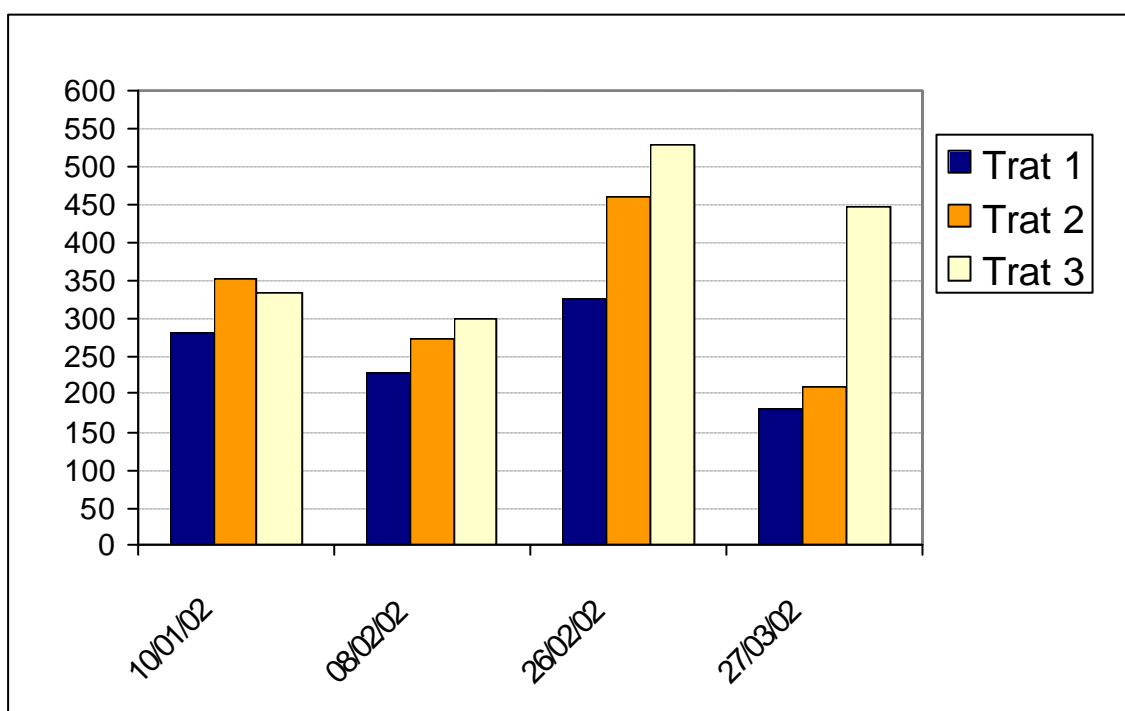


Figura 5.10 Valores de creatinfosfoquinasa (U/L).

Por las condiciones ofrecidas a los animales era esperable que los del tratamiento 1, pastoreo con solo suplementación de sales minerales y agua, consumieran una dieta de forraje conducente a la intoxicación. Sin embargo, a pesar del contenido de tóxicos del forraje no se observó sintomatología clínica; quizás fue por haber dejado un residuo mayor (6 cm) o porque hubo condiciones climáticas distintas.

A su vez la vacas de T₁ presentaron una mayor concentración de grasa láctea, al igual que las de T₂, suplementadas con ensilaje. En éste, el factor nutricional pudo ser determinante.

El respaldo de un monitoreo mas frecuente de la concentración de toxinas en la pradera y conjuntamente con variables climáticas de humedad y temperatura podrían explicar el diferente comportamiento de los animales entre temporadas y dentro de una misma estación del año. En la literatura, se describen tanto efectos detrimentales sobre la salud y producción de las vacas, y también, ausencia de tales efectos.

La suplementación con alimentos sin endófito, sin duda ayuda a mitigar el efecto nocivo de los tóxicos mediante la dilución de los alcaloides en la ración consumida.

Conclusiones

Las praderas de ballicas con endófito *N.lolii*, presentan concentraciones variables de lolitrem-B (0,24 y 1,49 mg/kg de MS) y de ergovalina, (0,16 y 1,28 mg/kg MS), durante el mes de febrero.

La suplementación con concentrado aumentó la producción de leche en vacas que consumen ballicas con *N. lolii*.

La producción de grasa láctea se afectó al suplementar con concentrado, no fue así cuando se suplementó con ensilaje.

No se observó signología clínica del “temblor de las ballicas” durante el verano 2002, en pastoreo rotativo y con residuos de 6 a 7 cm (medido con plato).

Los valores de las enzimas séricas AST y GGT se movieron en los rangos de normalidad. Sin embargo los valores de CK en todos los tratamientos presentaron promedios sobre el límite de referencia, pero en el rango permitido en animales post-ejercicio.

Es necesario profundizar en el estudio de los factores que determinan la presentación de la intoxicación por lolitrem B y/o por ergovalina.

5.4 Vacas lecheras alimentadas con ensilaje de ballicas con endófito

Esta investigación se realizó entre mayo y diciembre del 2001, con el objetivo de determinar el efecto del consumo de ensilaje de pradera de ballica perenne con endófito (*N.lolii*) y su efecto tremorgénico en vacas. Además evaluar el efecto en la producción y composición de leche, el cambio de peso vivo, condición corporal, la actividad sérica de algunas enzimas y el nivel de consumo del ensilaje.

Se ensilaron praderas de ballicas Yatsyn-1 (con y sin endófito), en mezcla con trébol blanco.

Se utilizaron 30 vacas en lactancia Frisón Negro, asignadas aleatoriamente según su producción, número de partos y días en leche, a los siguientes tres tratamientos: T₁. Ensilaje de corte temprano sin endófito. T₂. Ensilaje de corte temprano con endófito. T₃. Ensilaje de corte tardío con endófito. El estado fenológico de las ballicas del corte temprano fue a inicio de espiga y el tardío con espiga completa, en floración.

Los animales fueron estabulados por 15 semanas y alimentados dos veces al día según tratamiento. El ensilaje fue el 80% de la ración total, además de un núcleo proteico, cebada y sales minerales; el rechazo promedio por grupo fue pesado 4 veces a la semana.

Se registró el peso vivo y condición corporal cada 14 días, producción y composición de leche 2 días seguidos por semana mañana y tarde frecuencia respiratoria y examen visual de los animales, semanalmente. Se tomaron muestras de sangre los días 1, 45 y 90. Se utilizaron bloques al azar de medidas repetidas con covarianza.

Presentación del “temblor de las ballicas”

Durante el desarrollo del ensayo no se presentó sintomatología de la intoxicación por micotoxinas tremorgénicas. Los animales permanecieron en estabulación completa y cerca de la sala de ordeña, por lo que no fueron sometidos a arreos. Los análisis de toxinas de muestras de ensilaje no mostraron elevadas concentraciones de lolitrem B, Cuadro 5.5 .

Cuadro 5.5 Determinación de lolitrem-B en muestras de ensilajes de ballica perenne con trébol blanco.

Fecha	Tratamiento	Muestra	Lolitrem -B (mg/kg MS)
27/06/01	T1	Ensilaje s/E (L)	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L)	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L)	0.15
18/07/01	T1	Ensilaje s/E (L)	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L)	Trazas
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L)	0.13
22/08/01	T1	Ensilaje s/E (L)	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L)	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L)	Trazas
22/09/01	T1	Ensilaje s/E (L) c/barreno	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte(L) c/b*	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte(L) c/b*	Trazas
22/08/01	T1	Ensilaje s/E c/b seca a 60°C	ND
	T2	Ensilaje c/E 1er corte c/b -s 60°C	ND
	T3	Ensilaje c/E 2do corte c/b -s 60°C	0.10
Muestra en fresco			
	27/11/00	Hijuela 2 1/3 sup. alt.1m (L)	0.41
	27/11/01	Hijuela 2 1/3 sup. alt.1m -s 60°C	0.33

T : tratamiento / S/E : Sin Endófito / C/E : Con Endófito / C/b : muestra tomada con barreno / L : Liofilizada / S : seca a 60°C / ND : No Detectado / * hijuela 2 1/3 superior mg/kg ms: miligramos de lolitrem-B por kilo de muestra seca. Límite de cuantificación (LC) : 0.1 ppm

Las muestras de ensilaje fueron tomadas en la medida que avanzó el período experimental. Los valores fueron bajos y solo se observaron en el tratamiento 3 con ballicas cosechadas en espiga. La muestra fresca tomada en la fecha de corte y del tercio superior arroja una concentración 3 a 4 veces mayor de lolitrem-B. Esto permite suponer el efecto de dilución existente y/o que el tóxico sufre cambios con las fermentaciones, ó escurre por los efluentes del ensilaje.

Fletcher *et al.*, (1999), han demostrado la presencia de dos toxinas en el ensilaje, la ergovalina y el lolitrem-B, pero su estabilidad en el ensilaje, y la toxicidad en los animales no ha sido demostrada.

La frecuencia respiratoria fue estadísticamente diferente ($P < 0,05$), siendo el tratamiento T_1 menor a los tratamientos T_2 y T_3 , que resultaron con valores similares, Cuadro 5.6.

Sin embargo estos se encuentran dentro de los rangos de referencia para la especie bovina (Radostis *et al.*, 1994).

Cuadro 5.6 Promedios de frecuencia respiratoria de tres grupos de vacas, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Frecuencia Respiratoria (ciclos/min.)	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Promedio	21,3 a	22,6 b	22,4 b

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

No se observó diferencias significativas, ($P > 0,05$) en la actividad sérica de las enzimas AST, GGT y CK. En la literatura consultada no se han reportado casos, de niveles séricos elevados en animales que consumen ensilaje de ballica con endófito. Tampoco se presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en el peso vivo y condición corporal de los animales que consumieron ensilajes de ballicas con hongo endófito.

Producción y composición láctea.

Producción de leche

El efecto de la alimentación de ensilaje de ballica con y sin hongo endófito sobre la producción láctea promedio por semana para los tres tratamientos se presenta en la Figura 5.11, y para el período total en el Cuadro 5.7.

Cuadro 5.7 Producción láctea total (litros) del ensayo, producción promedio de leche semanal, desviación estándar y porcentajes de la producción promedio de leche, de tres grupos de vacas, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

Leche	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Producción total (Litros)	15.960	16.433	13.755
Promedio/vaca/litros	15,20 a ($\pm 2,72$)	15,65 a ($\pm 2,43$)	13,10 b ($\pm 2,90$)

Porcentaje (%)	97,12	100,0	83,70
----------------	-------	-------	-------

Letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

() Cifras desviación estándar

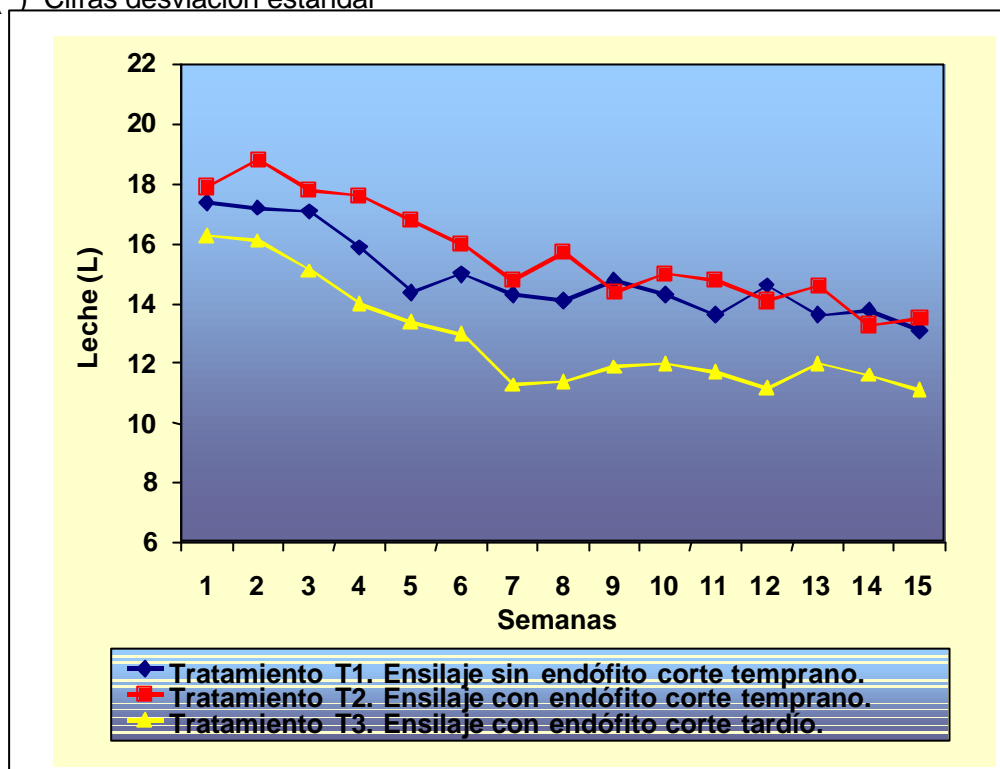


Figura 5.11 Evolución de la producción promedio de leche de tres grupos de vacas, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Las diferencias para la producción de leche resultó significativa ($P < 0,05$). En la figura 5.11, observamos que las curvas de producción difieren levemente, entre los tratamientos T_1 y T_2 , presentando la menor producción el tratamiento T_3 .

En el Cuadro 5.7, se observan los promedios de producción diaria de leche que fueron 15,20, 15,65 y 13,10 L, para los tratamientos T_1 , T_2 y T_3 , respectivamente. La diferencia entre los tratamientos resultó significativa ($P < 0,05$), siendo T_3 diferente a T_1 y T_2 . Este último fue el que alcanzó la mayor producción promedio de leche (100%), teniendo los tratamientos y una menor producción, siendo 2,9% y 16,3% respectivamente, respecto a T_2 .

La menor producción de las vacas del tratamiento 3, se debe principalmente al menor consumo de ensilaje (ver Cuadro 5.9), debido a su menor contenido de energía y mayor fibra; probablemente en menor medida por los tóxicos, debido a la baja concentración de lolitrem-B, encontrado en las muestras (ver Cuadro 5.5)

Estos resultados son comparables con trabajos realizados en alimentación de vacas lecheras con una dieta basada principalmente en ensilaje de pradera, en los que se han tenido resultados similares. En Francia, Dulphy *et al.*, (1981), concluyen, que si los ensilajes de pradera se realizan, en un estado de corte temprano, con una digestibilidad de la materia orgánica superior a 70%, sustentan producciones diarias desde 10 a 17 kg. de leche Castle y Watson (1976), señalan que ensilajes de pradera de alta digestibilidad y ofrecidos como único alimento a vacas en lactancia media, sostienen una producción promedio de 14,6 kg de leche.

Composición láctea

Los resultados de la composición de leche y recuento de células somáticas (RCS), de las vacas del ensayo, se observan en el Cuadro 5.8.

Cuadro 5.8 Composición de la leche y RCS, de tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica en dos estados fenológicos con y sin hongo endófito.

Componentes lácteos	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Materia grasa (%)	3,65 ± 0,52	3,55 ± 0,38	3,36 ± 0,42
Proteína (%)	2,90 ± 0,21	2,89 ± 0,20	2,80 ± 0,19
Lactosa (%)	5,08 ± 0,15 a	5,08 ± 0,15 a	4,88 ± 0,24 b
Sólidos totales (%)	12,81 ± 0,81	12,74 ± 0,66	12,20 ± 0,79
Sólidos no grasos (%)	8,83 ± 0,29 a	8,83 ± 0,26 a	8,53 ± 0,36 b
Urea (mg/L)	330 ± 80	340 ± 90	390 ± 110
RCS (x 1000)	225 ± 322	105 ± 268	177 ± 188

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Dentro de los componentes de la leche que presentaron diferencias significativas, ($P = 0,05$) fueron los sólidos no grasos y la lactosa. Probablemente la falta de energía en la dieta del tratamiento T₃, determinó la menor síntesis de lactosa.

Los tratamientos T₁ y T₂ presentaron valores promedios similares con un porcentaje de 8,83% de sólidos no grasos en la leche, cada uno. En cambio el tratamiento T₃ difiere de los dos anteriores, con un valor promedio, de 8,53%.

La lactosa en la leche presentó diferencias significativas ($P=0,05$). Los tratamientos T_1 y T_2 presentaron igual promedio (5,08%), siendo mayor al tratamiento T_3 , (4,88 % de lactosa).

Peso vivo y condición corporal.

El promedio de peso vivo de los animales durante el periodo experimental, fueron de: 507(T_1); 483(T_2) y 489(T_3)kg. Las diferencias entre los tratamientos no fueron significativas ($P>0,05$).

En cuanto al efecto del hongo endófito en animales que consumen praderas de ballicas con endófito, no se conoce si el efecto dominante de éste en el cambio del peso vivo se debe a un efecto directo de las toxinas en el animal o es un efecto secundario en la reducción del consumo por baja palatabilidad o por una reducción del apetito debido a efectos neuroquímicos (Fletcher, 1993). Tampoco se ha medido el consumo de forraje conservado de praderas de ballicas con y sin endófito, que permitan determinar efectos en el cambio del peso vivo de los animales.

La condición corporal promedio de los animales, durante el período experimental, fueron de 2,43(T_1), 2,38(T_2) y 2,36(T_3) puntos; diferencias no significativas ($P>0,05$). No se ha encontrado información sobre consumo de ensilaje de ballicas con endófito como base de la dieta alimenticia y su efecto sobre la ganancia de peso.

Consumo de alimentos

El consumo de las raciones en base fresco, realizadas por los animales según los tratamientos tuvieron como promedio: 67,58, 67,18 y 53,96 kg. de ensilaje por vaca, para los tratamientos T_1 , T_2 y T_3 , respectivamente. Los resultados del consumo de los animales al análisis estadístico fueron significativos ($P\leq 0,05$) en donde el tratamiento T_3 tuvo un 20,6% menos de consumo en relación a los tratamientos T_1 y T_2 que fueron similares ($P > 0,05$).

Cuadro 5.9 Ración ofrecida y consumida de materia seca a tres grupos de vacas con estabulación invernal, alimentadas con ensilaje de pradera de ballica, en dos estados fenológicos, con y sin hongo endófito.

Item.	Tratamientos		
	T1 Sin hongo corte temprano	T2 Con hongo corte temprano	T3 Con hongo corte tardío
Ensilaje T.C.O.(kg) ¹	71,2	71,6	58,3
Concentrado ofrecido (kg)	3,4	3,5	3,4
Total ofrecido (kg)	74,65	75,15	61,75

Total Consumido (kg)	67,6 ± 5,17 ^a *	67,2 ± 3,98 ^a	54,0 ± 4,31 ^b
Consumo Relativo (%) entre tratamientos del total consumido	100,0	99,4	79,3

* Letras distintas en filas indican diferencias significativas (P<0,05).

1 T.C.O.: alimento tal como ofrecido

El rechazo promedio fue de 8,7; 9,0 y 9,8% del forraje ofrecido lo que revela que el forraje fue administrado *ad-Libitum*. El consumo de materia seca promedio fue de 14,4; 14,2 y 13,5 kg MS/animal/día, para los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente (P>0,05).

El menor consumo de materia seca de ensilaje de las vacas en el tratamiento 3, se debe al menor contenido de energía por el estado fenológico de las plantas a la cosecha. El mayor contenido de paredes celulares disminuye la velocidad de digestión y por ende aumenta el tiempo de retención en el rumen, limitándose el consumo de nuevo alimento.

Conclusiones

La alimentación de vacas lecheras con ensilajes de corte temprano de ballicas con hongo endófito (*N.lolii*), no provocó la presentación clínica del síndrome tremorgénico, debido fundamentalmente al bajo contenido de lolitrem-B que los ensilajes.

La actividad sérica de las enzimas CK, GGT y AST, de los animales que consumieron ensilajes de ballicas con endófitos, estuvieron dentro de los rangos de referencia.

La producción y composición de la leche y el consumo del alimento en el grupo con ensilaje cosechado tardíamente se afectó por la menor calidad nutritiva de éste.

El peso vivo y la condición corporal no se afectó por el consumo de los ensilajes de ballica con endófito.

Respecto a este tema existen interrogantes y sobre el camino de las toxinas durante el proceso de ensilado y fundamentalmente en los ensilajes de segundo corte (período estival), en donde debiera aumentar el contenido de tóxicos.

5.5 Consumo permanente de ballicas con endófito en hembras de reemplazo

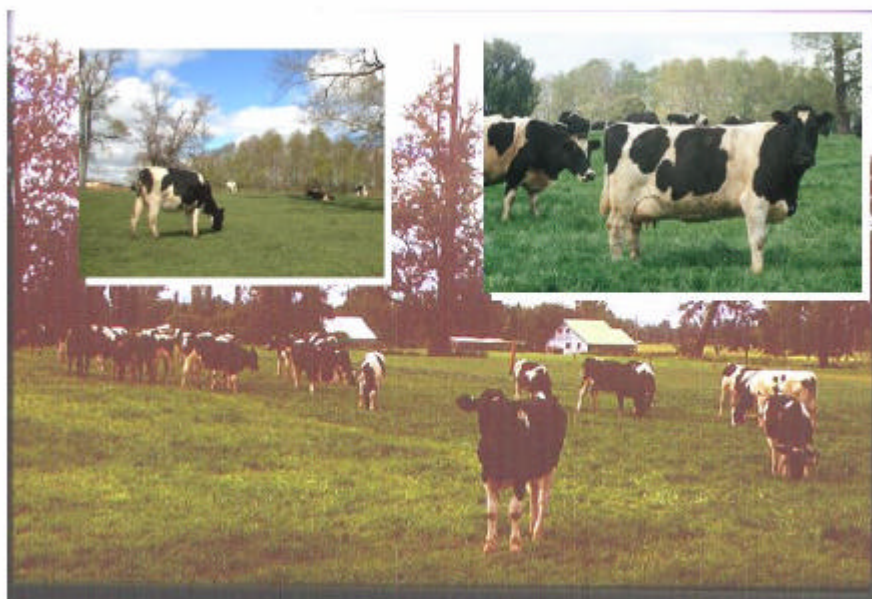
Este estudio se desarrolló para evaluar el efecto del consumo permanente de ballicas con y sin endófito *N. lolii* asociadas con trébol blanco sobre la producción y salud animal. Al respecto la literatura revisada no entrega detalles del efecto en

salud bovina del consumo permanente de ballicas infestadas con el hongo endófito, solo se reportan ensayos de corta duración. El objetivo fue cuantificar productivamente el efecto del consumo permanente de ballicas con endófitos en salud y producción animal.

El ensayo consistió en un seguimiento comparativo durante 30 meses, de hembras bovinas desde 6 meses de edad y aproximadamente hasta los 6 meses de su primera lactancia, consumiendo forrajes en pastoreo y conservados como ensilajes, provenientes de praderas de ballicas con y sin endófito *N. lolii*. El resto del manejo en ambos grupos correspondió al rutinario usado en el Centro Lechero INIA-Remehue.

El ensayo tuvo dos tratamientos: alimentación (pastoreo y suplementación) con forrajes con endófito (E+) y alimentación sin endófito (E-), cada tratamiento tuvo 12 vaquillas. Durante el invierno los animales fueron suplementados con concentrados para balancear la ración de ensilaje. Las terneras entraron con un peso de 173 kilogramos en ambos tratamientos. En la etapa pre-productiva de estas hembras la variable en estudio fue ganancia de peso vivo, realizándose los pesajes cada 14 días. Se llevaron a cabo observaciones diarias en potrero para detectar algún signo de intoxicación. Posteriormente estas vaquillas alcanzaron su edad reproductiva y fueron encastadas artificialmente de acuerdo al manejo normal del predio Remehue. Luego del parto, adicional control de peso vivo, se midieron variables de producción y composición de leche. Hacia el final del periodo de observación se tomaron muestras de sangre para bioquímica clínica de las vaquillas en producción; el objeto de estos análisis fue detectar afecciones de tipo neuromuscular de los animales durante el estudio, evaluando los niveles plasmáticos de las enzimas séricas CK AST y GGT.

Las diferencias entre tratamientos fueron cuantificadas mediante análisis de varianza. El diseño estadístico correspondió a bloques completos al azar con medidas repetidas. Los datos fueron editados usando diferentes procedimientos del paquete estadístico SAS (1993), el análisis de varianza fue hecho usando el procedimiento PROC GLM de SAS.



Fotografía 5.2 Composición de vistas de vaquillas vírgenes, preñadas y vacas Lecheras del ensayo.

Peso Vivo y ganancia de peso

Los promedios de peso inicial, peso final y ganancia diaria, con sus respectivos errores estándares, en etapa pre-productiva de las hembras, se presentan en el cuadro 5.10:

Cuadro 5.10 Peso vivo inicial, final y ganancia diaria de peso

Tratamiento	Peso inicial	Peso final	Ganancia diaria promedio (kg/día)
E+	175 ± 29,84	482 ± 54 ^a	0,53 ± 0,05 ^a
E-	172 ± 29,62	483 ± 46 ^a	0,54 ± 0,05 ^a

Letras diferentes a través de columnas indican diferencias estadísticamente significativas $P>0,05$).

La evolución de peso vivo en el tiempo se presenta en la Figura 5.12.

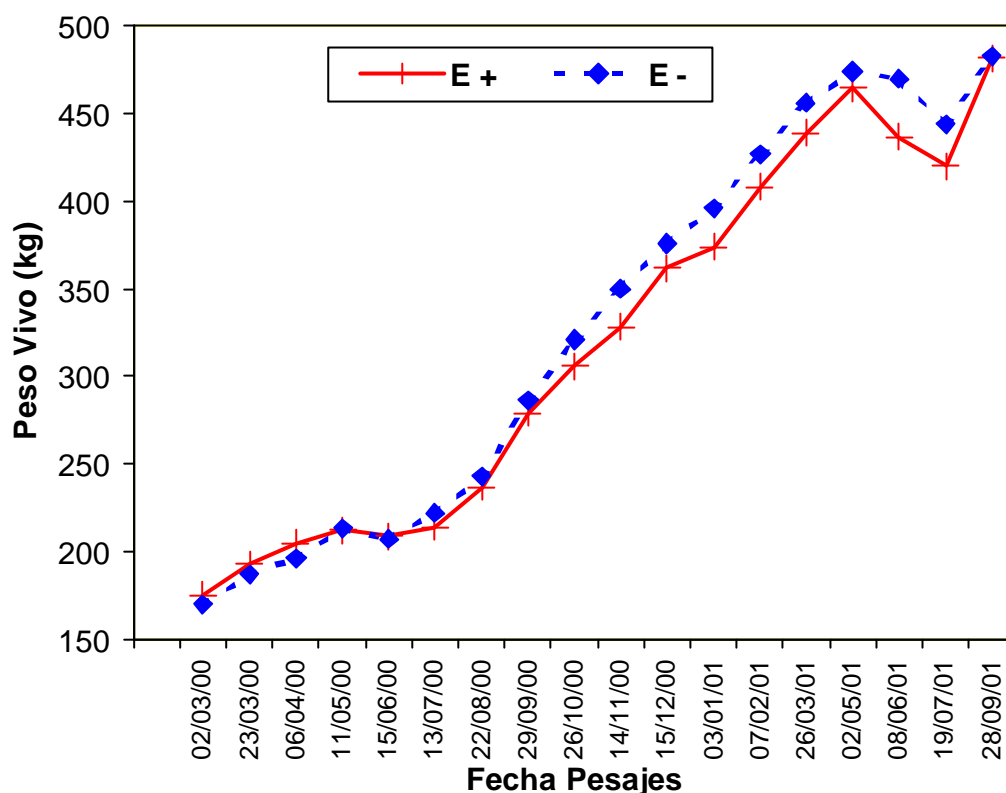


Figura 5.12 Evolución del peso vivo de las terneras-vaquillas durante la fase de crecimiento.

Los pesos de las terneras (vaquillas) en el tratamiento con endófito (E+) se mantuvieron mas bajos durante gran parte del ensayo, pero hacia el final estos fueron iguales, pero las diferencias no fueron significativas ($P>0,05$) por lo que se concluye que el consumo permanente de ballicas con endófitos no afectó el peso vivo ni el promedio de ganancia en las vaquillas.

Los promedios de peso vivo hasta 34 semanas, en el post-parto fueron 498 ± 48 kg y 495 ± 47 kg, para E+ y E-, respectivamente. Los promedios de peso no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P \geq 0,05$). Esto permite concluir, el consumo prolongado de ballicas con endófito no tiene un efecto sobre el

peso vivo de las vacas en su primera lactancia, bajo una norma de pastoreo rotacional y con residuos de alrededor de 7 cm (Fotografía 5.3) y con suplementos alimenticios para balance de ración.



Fotografía 5.3. Sector de pastoreo con vacas lecheras (residuo 6-7 cm)

Producción de Leche

En este ensayo se registraron producciones de leche en las primeras 34 semanas de la primera lactancia. Los resultados promedios y desviación estándar de producción de leche se presentan en el cuadro 5.11

Cuadro 5.11 Promedios sin corregir y desviaciones estándares para producción de leche.

Tratamiento	Promedio (L/vaca)	Desviación estándar
E+	15,49 ^a	2,89
E-	16,04 ^a	3,73

(Letras iguales en columnas no indican diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$)).

Como las vaquillas parieron en diferentes meses, se incluyó en el modelo estadístico el efecto fijo de días en lactancia. Las diferencias entre tratamientos no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$), concluyendo que el consumo de ballicas

con endófitos durante el periodo de crianza no tiene un efecto sobre la producción de leche en la primera lactancia.

Componentes de la leche, grasa, proteína, urea y recuento de células somáticas

Los promedios sin corregir y desviaciones estándares de los distintos componentes en leche se presentan en el Cuadro 5.12.

Cuadro 5.12 Componentes de la leche, grasa, proteína, urea y células somáticas.

	Tratamiento		P<0,05
	E+	E-	
Materia grasa (%)	3,42 ± 0,73	3,55 ± 0,98	N.S. ¹
Proteína (%)	3,04 ± 0,36	3,18 ± 0,44	N.S.
Urea (mg/L)	375,6 ± 81	362,5 ± 72	N.S.
RCS ² (cal/ml)	11,8 ± 1,04	12,23 ± 1,56	N.S.

1 N.S. : No Significativo

2 RCS : Recuento de células somáticas

Los resultados de urea se encuentran dentro de los rangos normales que revela que los animales recibían dietas balanceadas nutricionalmente (energía-proteína)

Aunque la concentración de materia grasa en la leche producida por vacas de primer parto que consumieron ballicas con endófitos fue menor que la concentración de grasa en leche de aquellas alimentadas con ballicas sin endófito. El análisis estadístico indicó que la probabilidad que esta diferencia fuera producto del azar y no del tratamiento es mayor a un 5 %.

Al igual que en el caso de porcentaje de grasa, la proteína de la leche no se vió afectada significativamente por el consumo permanente de ballicas con endófitos.

El recuento de células somáticas promedio fue de 176.000 (E+) y 374.000 (E-). Como esta variable no sigue una distribución normal, ésta debe ser transformada para ser analizada con análisis de varianza que asume una distribución normal. La fórmula para transformar el recuento de células somáticas fue:

Variable Transformada = $\log(\text{variable original}+10)$

Los promedios de recuento de células somáticas transformado en una escala logarítmica se presentan en el Cuadro 5.12.

De acuerdo al análisis de varianza, las diferencias observadas entre tratamientos, para recuento de células somáticas, no fueron estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en las primeras 34 semanas de lactancia. Similares resultados fueron observados en los experimentos ya informados en este documento (puntos 5.2.1 y 5.3) así como lo señalado por Auld y Thom, (2000).

Análisis de Enzimas

Se analizaron 7 muestras del tratamiento con endófito (E+) y 5 muestras del tratamiento sin endófito E-. Las enzimas estudiadas fueron AST, GGT y CK. Debido al bajo número de muestras que se entrega en este boletín solo se presenta información estadística descriptiva de las 3 enzimas estudiadas. (Cuadro 5.13).

Cuadro 5.13 Valores promedios, mínimos y máximos y desviaciones estándares para las enzimas AST, GGT y CK

		AST (U/L)	GGT (U/L)	CK (U/L)
E+	Promedio	112,28	41,00	243,28
	Desv. estándar	21,12	36,96	73,57
	Valor Mínimo	86,00	16,00	162,00
	Valor Máximo	150,00	123,00	378,00
E-	Promedio	135,20	21,40	189,00
	Desv. estándar	26,56	139,70	28,95
	Valor Mínimo	115,00	28,00	150,00
	Valor Máximo	180,00	360,00	229,00

Debido al bajo número de observaciones y a la alta variabilidad del contenido de enzimas en la sangre no se considera pertinente usar estos datos en un análisis de varianza como el descrito anteriormente para las otras variables.

Conclusión

La exposición prolongada a ballicas con endófito en pastoreo dejando un residuo de 6-7 cm. como suplemento de ensilaje, no tiene efecto sobre la ganancia de peso de hembras de reemplazo ni afecta su producción de leche al menos en las 34 primeras semanas de la primera lactancia.

Literatura citada

- AULDIST, M.J. ; THOM, E.R. 2000. Effects of endophyte infection of perennial ryegrass on somatic cell counts, mammary inflammation, and milk protein composition in grazing dairy cattle. *New Zealand f. of Agr. Research* 43:345-349.
- BARKER, D.J.; DAVIES, E. ; LANE, G.A. ; LATCH, C.C.M. ; NOTT, H.M. ; TAPPER, B.A. 1993. Effects of water deficit on alkaloid concentration in perennial ryegrass endophyte associations. In Hume, D.E., Latch, G.C.M., Easton, S. Ed. *Proceedings of second International Symposium on Acremonium/Grass Intersections*. pp 67-71.
- BLACKWELL, M.B., KEOGH, R.G. 1999. Endophyte toxins and performance of spring calving dairy cows in Northland Ryegrass endophyte : an essential New Zealand symbiosis. *Grassland Research and Practice Series N°7*:45-50.
- BUTENDIECK, N. ; ROMERO, O. ; HAZARD, S. ; MARDONES, P y GALDAMES, R. Caída del consumo y producción de leche en vacas alimentadas con *Lolium perenne*, infectada con *Acremonium lolii* (1994) *Agricultura Técnica (Chile)* 54 (1) ; 1-6.
- CASTLE, M. ; WATSON, J. 1976. Silage and milk production. A comparison between barley and groundnut cake as supplements to silage digestibility. *J. Bri. Grass. Soc.* 31:191-195.
- CLARK, A. THOM, E. and milk production. From pasture and pasture silage with different levels of endophyte infection (1996) *Prod. of the N.Z. Soc. of Prod.* 56:292-296.
- COSGROVE, G.P. ; ANDERSON and T.R.N. BERQUIST. 1996. Fungal endophyte effects on intake, health and live weight gain of grazing cattle. *Proceedings of the New Zealand Grassland association* 57: 43-48.
- DULPHY, J. ; DEMARQUILLY, C. ; ANDRIEU, J. 1981. Intake of grass silage by dairy cows and its potential to meet requirements of maintenance and milk production feeding value. *Proceeding of the XVI International Grassland Congress : held at Lexington, Kentucky, USA* ed: Smitd, J. A., Hays, V. W. Boulder Co: Westview Press 702-703.
- EASTON, H.S. 1999. A background to endophytes. *Dairy farming annual*. Ed Massey University, New Zealand. Pág. 17-28.
- FLETCHER, L. 1993. Grazing ryegrass/endophyte associations and their effect on animal health and performance. *Proceedings of the second international symposium on Acremonium/grass interactions*. Ed. Hume, Latch & Easton. Palmerston North, N.Z. pp. 115-120.
- FLETCHER, L. ; SUTHERLAND, B. ; FLETCHER, C. 1999. The impact of endophyte on the health and productivity of sheep grazing ryegrass-based pastures. *Ryegrass Endophyte: an essential New Zealand symbiosis*. *Grassland Research and Practice Series N°7*. Ed : Woodfield, D.R. Matthew, C. Published by New Zealand Grassland Association:11-17.

- KANERO, J.J. ; HARVEY, J.W. ; BRUSS, M.C. 1989. Clínical enzymology, Normal blood analyte values in large animals, In: Clínical biochemistry of domestic animals. 4th Ed. Academic Press, New York U.S.A. pp. 886-889.
- LANE, G. A. ; TAPPER, B. A. ; DAVIES E. ; HUME D. E. ; LATCH G.C.M. ; BARKER D.J.; EASTON H.S. ;ROLSTON, M.P. 1997. Effect of growth condition on alkaloid concentrations in perennial ryegrass naturally infected with endophyte. In: Neotyphodium/Grass Interactions. Eds. Bacon, C.W., Hill N.S. Plenum Press, New York & London pp.179-182.
- LANUZA, F. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. ; ANGULO, L. y VILLAGRA, M. 1998. Efecto del consumo de praderas permanentes con ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *A.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de terneras en crecimiento a pastoreo. Resumen XXIII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán-Chile, INIA -Quilamapu 21-23. Oct. 214.
- LANUZA, F. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. y VILLAGRA, M. Efecto del consumo de praderas permanentes compuestas por ballica Yatsyn 1 con y sin endófito *N.lolii* y trébol blanco sobre el comportamiento productivo de vacas lecheras a pastoreo. Primera temporada (1999) Resumen XXIV Reunión Anual SOCHIPA A.G., Temuco-Chile, Universidad Católica de Temuco 27-29 Oct. 13-14.
- LANUZA, F. ; VERGARA, C. ; URIBE, H. ; AGÜERO, H. ; TORRES, A. ; CISTERNAS, E. ; URIBE, C. 2002. Intensidad de pastoreo de praderas de ballicas infectadas con hongo endófito (*A.lolii*) en vacas lecheras. I Efectos sobre producción de leche y componentes. Resumen XXVII Reunión Anual SOCHIPA A.G. Chillán, Chillán 2-4 Octubre: 81-82.
- Mc CALLUM, D. A. ; THOMSON, N. A. 1994. The effects of different perennial ryegrass cultivars on dairy animal performance. Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production 54:87-90.
- RADOSTITS, O. ; BLOOD, D. ; GAY, C. 1994. Veterinary Medicinae 8º ed. Bailliere Tindall, London. SAS INSTITUTE INC. 1993. SAS User`s guide. Statistics, Version 6.03 Ed. SAS Institute Inc., Cary, N. C. U.S.A.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; PRESTIDGE, A. ; CLARKSON, H. and WAUGH, D. 1994. Ryegrass endophyte cow health and milk solids production for the 1993/94 season. Proc of the N. Z. Grassland Ass 56:259-264.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; WAUGH, D. ; Mc CABE J. ; VAN VUGHT, T. and KOCH, L. 1997. Effects of ryegrass endophyte and different white clover levels in pasture on milk production from dairy cows. Proc of 3rd International Symposium on Neotyphodium/grass Interactions Eds. Bacon and Hill 443-445.
- THOM, E. ; CLARK, A. ; WAUGH, D. 1999. Growth persistence, and alkaloid levels of endophyte-infected and endophyte-free ryegrass pasture grazed by dairy cows in northern New Zealand. N.Z.J. of Agr. Research 42:241-253.

- VALENTINE, C. ; BARTSH, D. and CARROL, D. 1993. Production and composition of milk by dairy cattle grazing high and low endophyte cultivar of perennial ryegrass. Proc. of the 2th. International Symposium of Acremonium/grass Interactions : 138-141.
- VERGARA, C. 2002. Efecto de la utilización de ballicas perenne (*Lolium perenne*) infectada con el hongo endófito (*Acremonium lolii*), sobre la producción y la salud de vacas lecheras. Tesis. Fac. Cs. Veterinarias, U. de Chile.
- WITTWER, F. 2000. Valores referenciales de constituyentes bioquímicos sanguíneos en animales domésticos. Laboratorio Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.