

## PRINCIPALES FACTORES RELACIONADOS CON EL CONTENIDO EN PROTEÍNA DE LA LECHE DE VACA

C. Zaragoza, E. Sanz, A. Seguí

### **Introducción**

Como consecuencia de los excedentes de producción de leche, los aspectos cualitativos pasan a ocupar un primer plano en el mercado lácteo. Considerando que la producción viene determinada por las cuotas, y los precios de compra los marcan los grandes grupos de demanda, al ganadero sólo le queda un estrecho margen para mejorar el precio de venta, que pasa por conseguir un producto de calidad.

Las tendencias alimenticias actuales marcan un descenso en los contenidos de grasas animales y valoran, cada vez más, aspectos de una alimentación equilibrada, como las vitaminas y minerales, sin dejar de lado las cualidades organolépticas. Uno de los productos lácteos que ha experimentado un mayor crecimiento en el consumo ha sido el queso (MAPA, 2000), por ello, las industrias lácteas están cada vez más interesadas en la tasa de proteína de la leche y en la no presencia de antibióticos e inhibidores de los procesos fermentativos, para poder conseguir un mayor rendimiento en su producción

El incremento de producción, dentro de las explotaciones, se ha conseguido aumentando el número de vacas así como su potencial genético, aunque, en algunos casos, la no adecuación de los otros factores de producción (instalaciones, manejo, alimentación, etc.) no ha permitido expresar dicho potencial en su totalidad. Por lo que es necesario una gestión integral de todos los recursos disponibles para conseguir una eficiencia económica y social que los rentabilicen.

La alimentación es considerada la primera causa directa de la producción y calidad nutritiva de la leche (Rodríguez, 1986), además del factor más importante de los gastos variables de la explotación (Cordonnier, 1986; Metge, 1990; López Garrido, 2000). La percepción de que las vacas de alta producción no satisfacen sus necesidades nutritivas de forma correcta, en base a trabajos de investigación desarrollados en la zona, nos ha proporcionado, además de un mejor conocimiento de las explotaciones, una base de datos más objetiva sobre algunos de los factores que afectan a la tasa de proteína de la leche: concentración energética de la ración, estado de reservas corporales, movilización de lípidos, etc.

### **Problemas detectados**

La proteína de la leche se viene determinando, analíticamente, como N total; esto supone no conocer cual es la variabilidad de la tasa de proteína verdadera de la leche, al compensarse las bajadas de ésta con las subidas del N no proteico (NNP). Por lo que sería importante no solo detectar el NNP sino adentrarse en las causas de su incremento en la leche de vaca. La bibliografía consultada y las experiencias propias, en este terreno, nos conducen a que la síntesis de proteína de la leche está condicionada por muchos factores; pero muy poco se conoce de su fundamento. La movilización lipídica, muy importante al comienzo de la lactación, implica un aumento del contenido de urea en orina y leche.

Así, la denominación genérica de proteína de la leche, para designar todas las fracciones nitrogenadas, unido a la variación en su concentración, presenta algunas dudas sobre la verdadera cuantía de la variabilidad del contenido proteico real de la leche. Los factores que afectan a la síntesis de estos compuestos van a servir de base a los planteamientos de esta revisión bibliográfica.

El afán del ganadero por incrementar el contenido en proteína de la leche, le lleva, generalmente, a aumentar el aporte de concentrados proteicos en la ración de las vacas. Esta práctica perjudica el equilibrio nutritivo del animal (como se verá más adelante) y encarece la alimentación. Por lo que se

perjudica el margen de beneficio, además de no contribuir a mejorar la calidad de la leche. Por otro lado, un exceso de proteína en la ración, sobre las necesidades, contribuye a una mayor excreción de nitrógeno en orina, penalizando la disponibilidad energética para la producción de leche. Además de aumentar las emanaciones de amoníaco a la atmósfera y contribuir a la contaminación medioambiental. También supone, desde el punto de vista social, la descapitalización de las explotaciones lecheras medianas y pequeñas, ocasionalmente causa de abandono del medio rural, con las consecuencias derivadas de todo ello.

### **Fracción nitrogenada de la leche:**

Está formada por materias proteicas y no proteicas.

- *Las materias proteicas* representan el 95 por 100 del nitrógeno total. Las características químicas y físicas de estas sustancias se diferencian entre sí, principalmente, en el contenido en fósforo de las mismas, aspecto que sirve para clasificarlas en:

- Caseínas.- Son fosfoproteínas, con grupos monoésteres del ácido fosfórico. Representan el 78 por 100 del nitrógeno total. En estado natural forman complejos coloidales o micelas y tienen la capacidad de coagular a pH ácido y/o bajo la acción de presión. Dentro del grupo se distinguen cuatro subgrupos fundamentales: las caseínas  $\alpha$  (con dos variantes  $\alpha_{s1}$  y  $\alpha_{s2}$ ),  $\beta$ ,  $\kappa$  y  $\gamma$ .
- Proteínas del lactosuero.- No presentan aminoácidos fosforilados. Representan el 17 por 100 del nitrógeno total. Son solubles a pH ácido y por lo tanto permanecen en fase líquida después del proceso de coagulación, formando el lactosuero. Los principales grupos de proteínas que forman el lactosuero son: Las lactoalbúminas  $\alpha$  y  $\beta$ , las inmunoglobulinas, lactoferrina y transferrina.

- *Las materias no proteicas*, que representan el 5 por 100 del nitrógeno total. No tienen ningún valor nutritivo ni tecnológico para la industria láctea. Su composición es muy heterogénea y recoge toda la materia nitrogenada no proteica, agrupada en: Urea, el 50 % de la fracción no proteica, y otras sustancias, el otro 50 %, entre las que se encuentran nitrógeno amoniacal y peptídico, creatina, creatinina, aminas y ácidos úrico, hipourico y orótico.

### **Síntesis de la proteína de la leche**

Los componentes de la leche dependen principalmente de los aportes de la ración, ya sea de forma directa o indirectamente a través de las reservas corporales que la vaca acumula en ciertas épocas del ciclo productivo. La movilización de reservas corporales tiene lugar cuando la alimentación no pueda hacer frente a las necesidades puntuales de producción (p.e. al inicio de la lactación).

Solamente alrededor del 30 por 100 de la energía y proteína contenida en los alimentos que ingiere la vaca lechera, son transformados en sustancias nutritivas de la leche. El resto se pierde en forma de heces (30 por 100), gases (5 por 100), orina (3 por 100) y calor (25 por 100), pérdidas que, además, ocasionan problemas de polución. Esta ineficiencia puede ser mejorada al disminuir las pérdidas mediante una mejora de los procesos digestivos y metabólicos de la vaca. Por ello, no se debe olvidar que la vaca es un rumiante, con microorganismos ruminales, a los que hay que incluir en las necesidades nutritivas además de la de los tejidos del animal.

Los nutrientes producidos durante la digestión y absorbidos a través del epitelio intestinal, condicionan, en parte, la cantidad y la composición de la leche que puede ser producida en la glándula mamaria. En la tabla 1 se resumen los resultados obtenidos por Thomas y Martín (1988), donde se observa que la producción de leche aumenta con la absorción de ácido acético, de glucosa, de aminoácidos y de ácidos grasos de cadena larga. La tasa de proteína en la leche, se incrementa con un mayor aporte a la glándula mamaria de aminoácidos, de ácido propiónico y de glucosa y, por el contrario, disminuye con un mayor aporte de ácidos grasos de cadena larga.

Tabla 1.- Efectos de la infusión de nutrientes en la producción y composición de leche. Thomas y Martin (1988).

Nutrientes	Lugar de absorción	Respuesta (% del control)			
		Leche (kg/día)	Grasa (%)	Proteína (%)	Lactosa (%)
Acetato	Rumen <sup>a</sup>	+8	+9	-1	+2
Propionato	Rumen <sup>a</sup>	-2	-8	+7	+1
Butirato	Rumen <sup>a</sup>	-5	+14	+2	+2
Glucosa	I. delgado <sup>b</sup>	+6	-10	+1	+1
Aminoácidos	I. delgado <sup>b</sup>	+7	-3	+6	+1
Ac. cadena larga	I. delgado <sup>c</sup>	+2	+13	-	-

<sup>a</sup>Infusión intraruminal. <sup>b</sup>Infusión intraabomasal. <sup>c</sup>Infusión intravenosa.

Las proteínas de la leche tienen su origen en:

- La extracción de proteínas del plasma sanguíneo, representan entre el 5 y 10% de las proteínas totales de la leche. Están constituidas, principalmente, por las inmunoglobulinas.
- La síntesis en las células epiteliales de la glándula mamaria, a partir de los aminoácidos libres de la sangre.

La mayor parte de las proteínas son sintetizadas por las células secretoras, mientras que algunas de las inmunoglobulinas son sintetizadas, en los casos de infecciones, por unas células especiales del plasma que se encuentran localizadas en el fluido de los alvéolos de la ubre.

La materia prima de partida son los aminoácidos que llegan, vía sanguínea, a las células donde tendrá lugar la síntesis. Los aminoácidos provienen de la hidrólisis de las proteínas: del organismo, del alimento o de las proteína microbiana, y de los aminoácidos sintetizados por el propio organismo. Las cantidades de aminoácidos extraídos no justifican siempre las cantidades de proteínas que son excretadas en la leche, pues, a parte de los aminoácidos esenciales que llegan y son determinantes, otra parte es sintetizada en la glándula mamaria a partir de: otros aminoácidos no esenciales, de los hidrocarburos procedentes de los ácidos grasos, y de la glucosa.

El punto crítico de la síntesis de proteínas reside en la necesidad de aminoácidos esenciales y, como vía anabólica que es, de energía. De los componentes de la leche, la proteína es la que más energía necesita para su síntesis (Rulquin, 1997).

### **Síntesis de otros compuestos nitrogenados no proteicos**

La urea se forma en el hígado, principalmente, a partir del amoníaco liberado en el proceso de fermentación en el rumen, y de la desaminación de los aminoácidos procedentes del catabolismo de las materias nitrogenadas en los tejidos. La urea llega a la ubre vía sanguínea, y su concentración se mantiene en la leche.

El resto del nitrógeno no proteico incluye aminoácidos libres entre los que se encuentran principalmente el ácido glutámico y la glicina, así como otros compuestos, residuos de la actividad de síntesis en la glándula mamaria, como nucleótidos, bases nitrogenadas y ácido orótico. El nitrógeno no proteico es pues, fundamentalmente de origen alimenticio y/o metabólico.

### **Factores que influyen en la producción y composición de la fracción nitrogenada de la leche**

#### **Factor genético**

La selección genética ha permitido acrecentar la producción de leche, pero muy poco la tasa de proteína, aunque se trata de un carácter con elevada heredabilidad (Remond, 1985).

Por ello, si se desea que la leche no se empobrezca es necesario considerar, en la selección, las producciones de grasa y de proteína.

### **Estación y clima**

La influencia de la estación se debe a los efectos combinados de la alimentación, de los factores climáticos y del estado de lactación de las vacas (DePeters y Cant, 1992). Este efecto global se traduce en una importante variación de la composición de la leche y en particular de la tasa de proteína.

La acción de la temperatura es muy difícil de aislar. Los animales expuestos a un fuerte calor presentan una disminución del peso corporal y de la producción de proteína. Pudiendo dar lugar a un incremento del nitrógeno no proteico, aunque esto no impide una disminución del nitrógeno total. Franke *et al.* (1988) apuntan como posibles causas del descenso de la tasa y de la producción de proteína, en California, a las altas temperaturas estivales y a la poca disponibilidad de pastos frescos y nutritivos. Idénticos resultados se observaron en Asturias, con una disminución de la materia proteica en un verano extremadamente seco (Balch y Argamenteria, 1992).

La exposición de las vacas a temperaturas inferiores a -4 °C tiene un efecto depresivo sobre la lactación, debido a:

- Una mayor necesidad de energía de mantenimiento para aumentar la producción de calor.
- La reducción de nutrientes que llegan a la glándula mamaria.

Por lo que el frío ejerce un efecto directo sobre la síntesis y la secreción de leche.

Como último efecto estacional, la duración del día influye en el control fotoperiódico de las actividades sexuales e hipofisarias. La secreción de leche está bajo el control de la hipófisis, por lo que se puede pensar que la duración del día puede influir sobre la composición de la leche por medio del eje hipotálamo-hipófisis. En condiciones diversas de alimentación y de clima, la evolución estacional se repite, aunque no siempre de la misma forma, siendo únicamente la duración del día el criterio del medio cuya evolución se repite con mayor precisión; la tasa mínima de proteína se da siempre en la misma fecha, es decir, en el solsticio de verano, cuando la duración del día deja de crecer y comienza a disminuir (Mahieu 1991).

### **Factores fisiológicos del individuo.**

- Tamaño de la vaca.- Los animales que presentan un mayor contorno pectoral y capacidad abdominal presentan mayores producciones de proteína, en comparación a las vacas con características opuestas. La altura de cruz esta asociada positivamente con la producción en la primera lactación, pero no es significativa en posteriores lactaciones. Sobre todas las lactaciones, sin embargo, las vacas más altas tienden a producir más proteína que las de estatura menor (Sieber *et al.*, 1988).

- Nivel de producción.- Por cada 10 litros de aumento de la producción de leche, se produce una bajada de aproximadamente 2 g/l en proteína (INRA, 1988).

- Edad y número de lactación.- Las variaciones, se atribuyen a la degradación del estado sanitario de la mama. La influencia del número de lactaciones sobre la tasa de proteína es pequeña, no obstante ésta disminuye con el envejecimiento del animal. Se constata que la proporción de caseína disminuye progresivamente con la edad, en tanto que el nitrógeno no proteico varia poco. El pico, en la tasa de proteína, se alcanza en la tercera lactación y desciende gradualmente a medida que avanza el número de éstas, (DePeters y Cant, 1992).

- Fecha de parto.- En este sentido, Wiggans y Van Vleck (1977), Norman *et al.* (1978) y Schutz *et al.* (1990), observaron que las tasas de proteína son superiores en aquellos animales con partos entre los meses de abril y agosto, mientras que son inferiores para los que lo hacen entre septiembre y marzo.

Esto puede estar relacionado, por un lado, con la calidad y cantidad de recursos disponibles y, por otro, con lo comentado en el apartado *estación y clima*.

- *Fase de la lactación.*- Jenness (1986) y Schutz *et al.* (1990) observaron que el estado de lactación era el factor clave para la producción de proteína. Mahieu (1991), hace referencia a los resultados obtenidos por Waite *et al.* (1956), donde se destaca que:

- La cantidad de materia nitrogenada secretada alcanza un máximo muy pronto, de ahí la importancia de cubrir las necesidades nutritivas al comienzo de la lactación.
- La concentración de caseínas aumenta a lo largo de la lactación, siempre que no exista ningún tipo de lesión de la mama.
- La tasa de nitrógeno no proteico disminuye a lo largo de la lactación.

DePeters y Cant (1992), observaron un descenso de la tasa de proteína después del parto, hasta las 5 ó 10 semanas postparto, mientras que a partir de esa fecha, hasta el final de la lactación, el contenido de nitrógeno se incrementó gradualmente. Hacia el final de la lactación, la leche presenta características idénticas a la secretada por animales viejos.

Los efectos de la fase de la lactación sobre la composición de la leche, en el conjunto de la producción, tienen mayor peso en aquellas explotaciones donde los partos se concentran en una época del año, en contraposición con las que presentan partos distribuidos uniformemente a lo largo del año.

### **Alimentación.**

Las dietas que reciben las vacas están compuestas por una combinación variable de alimentos forrajeros y no forrajeros (granos y derivados, subproductos agroindustriales y mezclas de ambos). Lo ideal para una vaca lechera sería que toda su ración la constituyese una mezcla de forrajes, sin embargo, en raciones para animales de alta producción, los forrajes, por sí solos, no son capaces de aportar todos los nutrientes necesarios para alcanzar los potenciales de producción.

Una alimentación correcta, de las vacas lecheras, pasa por estimular el buen funcionamiento de los microorganismos ruminales, siendo necesario para ello mantener un equilibrio alimenticio entre los aportes de hidratos de carbono fermentescibles y de proteínas degradables. Así se favorece tanto la producción como la calidad de la leche y la salud del animal. Según Ferguson (1991), las principales enfermedades que aparecen en los rebaños lecheros, están relacionadas con factores nutricionales. No obstante, observó que estas enfermedades no desaparecen del todo cuando se corrigen los desequilibrios nutricionales, ya que están asociadas muy a menudo con un mal manejo, y afirma que los componentes nutricionales pueden predisponer pero no son suficientes para causar enfermedades por sí mismos.

DePeters y Cant (1992) recogen resultados por los que afirman que la tasa de proteína de la leche es un parámetro poco sensible a las variables nutricionales, respecto al resto de las variables de la explotación. Mientras que Feagan (1979) clasifica las variables, que caracterizan al animal, por su influencia sobre la tasa de proteína; así: la raza es la principal variable, seguida del estado nutricional de la vaca, la salud mamaria y, el último lugar, el manejo de la explotación. Aunque estos autores afirman que la tasa de proteína, a diferencia de la grasa, no se ve influida, o al menos en menor medida, por los desequilibrios nutricionales y de manejo de la explotación. A continuación se recogen los factores ligados a la dieta, con potencial para modificar el contenido y composición de la proteína de la leche:

- *Nivel energético de la ración. Relación entre forrajes y alimentos no forrajeros.*-

La fibra es un principio nutritivo que trata de caracterizar, principalmente, los hidratos de carbono estructurales de los alimentos forrajeros. La ración debe tener una concentración y una calidad de fibra suficiente para favorecer la salivación y la rumia, y prevenir la aparición de ciertas

enfermedades (acidosis, desplazamiento de cuajar, etc.). Más del 85 % de las paredes celulares son digeridas en el rumen y este porcentaje depende, según Michalet-Doreau *et al.* (1997), de la habilidad, actividad y duración del ataque de los microorganismos sobre la fibra. La variación del crecimiento microbiano puede provocar desviaciones del 44 % en la producción (Nocek y Russell, 1988).

La densidad energética y la fibrosidad de la ración son conceptos que están negativamente relacionados, y tienen una marcada influencia en la cantidad de materia seca ingerida por el animal al cabo del día. Garnsworthy y Huggett (1992) observaron que la ingestión se regula principalmente por mecanismos fisiológicos en dietas con elevada concentración energética, o por la capacidad ruminal en dietas con baja concentración energética.

La relación entre la materia seca forrajera y la no forrajera (F:C) es muy variable según sea el sistema productivo de las explotaciones. Las dietas ricas en alimentos no forrajeros, reducen la ingestión de materia seca forrajera, provocando una caída en la producción de acetato y un incremento del propionato en el rumen. Por ello resulta interesante aportar esos alimentos no forrajeros asociados con una cierta cantidad de fibra digestible que amortigüe este efecto. Petit y Tremblay (1995) observaron que la materia seca ingerida era similar en aquellas raciones en que parte de los alimentos no forrajeros se suministraban en forma de pulpa de remolacha. También hace referencia a los resultados obtenidos por Chamberlain *et al.* (1989) que al complementar con pulpa de remolacha, raciones basadas en ensilados de maíz, el descenso en la ingestión es casi nulo o aumenta si la complementación es baja.

De la revisión realizada por DePeters y Cant (1992) se extraen las siguientes conclusiones:

- Existe una correlación positiva entre la cantidad y la concentración de energía metabolizable con la producción y la tasa de proteína de la leche. Nocek y Tamminga (1991) apuntan que el incremento de la energía ingerida parece ser el principal factor para aumentar la producción.
- Algunas investigaciones sugieren que el incremento de energía ingerida, por el decremento de la relación F:C, aumenta la producción de leche y la tasa de proteína. Sin embargo otros no han notado diferencias.
- La relación F:C tiene efectos menores sobre la cantidad y la composición de la proteína de la leche.

Teniendo en cuenta, además, que a medida que aumenta el nivel energético, en la ración, en el animal aumentan también los gastos, resultando una disminución del valor de la energía metabolizable del alimento (Sanz *et al.*, en fase de publicación), disminuyendo la EN disponible para producción de leche, en relación a la energía ingerida.

Otro aspecto importante, a tener en cuenta, es la forma en que se suplementa la energía en una ración. Suplementar con carbohidratos o con grasa puede influir, por ejemplo, en la proteína de la leche (Mohamed *et al.*, 1988; DePeters y Cant, 1992). Los hidratos de carbono aportan entre el 60 y el 70 % de la energía neta necesaria para la producción de leche, siendo los principales precursores de tres importantes fracciones entre la que se encuentra la proteína. El NRC (1989) sugiere que los hidratos de carbono de la ración oscilen entre el 30 y el 40 por 100 de la materia seca ingerida. Para porcentajes menores se observa la caída de la actividad microbiana en el rumen por falta de substrato energético y, por lo tanto, una menor síntesis de proteína microbiana. El exceso, por contra, provoca un descenso del pH ruminal y la consiguiente acidosis que, a su vez, provoca la disminución de la capacidad de ingestión.

Existen dos factores importantes ligados al almidón: la rapidez de digestión y el lugar de digestión. Sobre el primer aspecto, Sauviant (1997) observó que la rapidez de digestión influye en la composición de la leche y no sobre la producción. Respecto al lugar de digestión, existen evidencias para sugerir que la digestión postruminal es más eficiente para la síntesis de proteína que la del rumen (Nocek y Tamminga, 1991).

La otra vía para suplementar energía es a través de la incorporación de grasa o de aceites en la ración. Estas materias se pueden utilizar para incrementar la densidad energética de la dieta sin aumentar, en exceso, los carbohidratos, ni disminuir la fibra alimentaria. Esta incorporación afecta, a nivel de rumen, a:

- Los microorganismos, que no toleran bien las grasas, sobretodo las insaturadas. En consecuencia, disminuyen la digestibilidad de la fibra de la dieta, el pH ruminal, la proporción de ácidos grasos volátiles en el rumen y la proteína microbiana en duodeno (Garnsworthy y Huggett 1992, Amela *et al.* 1995a,b, Amela *et al.* 1998, Amela *et al.* 1999, Amela *et al.* 2000, Amela y Sanz 2000) . Por lo que el incremento del porcentaje de grasa de la ración, puede tener efectos adversos en la degradación de otros componentes de la dieta en el rumen.
- La digestibilidad de la energía, a consecuencia de la saturación, por parte de los microorganismos, de los ácidos grasos insaturados presentes en ciertas grasas.
- Grasas inertes o protegidas, las que su estructura les protege de la degradación ruminal y, por tanto, tienen un efecto prácticamente nulo en el rumen. Se recomienda su utilización en raciones con baja relación F:C, para evitar la acidosis metabólica. Estas grasas pasan directamente al intestino delgado donde son digeridas y absorbidas. Garnsworthy y Huggett (1992) hacen referencia a estudios en que, cuando se añaden sales de calcio de ácidos grasos de cadena larga, con raciones basadas en forrajes, se reduce la tasa de proteína de la leche.

Según NRC (1989) e INRA (1988) se recomienda un porcentaje máximo de grasa no protegida (alimentos más sebos) del 3 % de la materia seca ingerida; mientras que con grasas inertes, o no degradables en el rumen, este porcentaje puede alcanzar el 7 % de dicha materia.

Se ha observado, en muchos trabajos de investigación, que el incremento de grasa en la ración disminuye la tasa de proteína de la leche (Emery 1978; Garnsworthy y Huggett 1992; DePeters y Cant 1992; Ashes *et al.* 1997; Coppock y Wilks 1991; Ferguson *et al.*, 1989; Wu y Huber 1994; Maiga y Schingoethe 1997; Mohamed *et al.*, 1988). En cambio, Chan *et al.* (1997) no observaron descenso de la tasa de proteína al suplementar con grasa.

La producción de leche se ve favorecida en general por la adición de grasa. El incremento de la producción permite compensar la caída de las tasas de proteína, obteniéndose un incremento de producción total de estos componentes.

Es importante recordar que algunas grasas no tienen buena palatabilidad, aspecto que puede afectar negativamente a la capacidad de ingestión si no se le presta la adecuada atención.

#### - Nivel proteico de la ración.-

Existe una clara relación entre el nivel creciente de proteína bruta en la ración (entre el 14 y el 18 por 100 sobre materia seca) y la producción de leche. No ocurre lo mismo con la tasa de proteína. La tasa de proteína, aunque durante mucho tiempo, se ha asociado su incremento con las materias nitrogenadas de la ración, en realidad, lo que se incrementa es la producción de proteína gracias al incremento de la producción de leche. Sin embargo, DePeters y Cant (1992) y Grings *et al.* (1991) han relacionado positivamente el porcentaje de proteína bruta de la ración con la tasa y la producción de proteína de la leche; mientras que Williams y Oltenacu (1992) afirman que para incrementar la producción de proteína de la leche no se debe incrementar el nivel de ésta en la ración. La posible explicación a esta disparidad de criterios puede residir en la ración inicial, ya que la suplementación de raciones con proteína incrementará la proteína de la leche sí la proteína de la dieta es, en la ración inicial, el limitante a la producción (Hurley, 1996).

Una determinada proporción de la proteína bruta, de la ración, ha de ser degradada en el rumen, para la síntesis de proteína microbiana, y el resto pasar al intestino en forma de proteína no degradada. La cantidad y la calidad de la proteína de la dieta puede influir en el contenido de proteína de la leche,

siempre y cuando el nivel de energía de la ración esté equilibrado con el de proteína (DePeters y Cant, 1992).

Según INRA (1988) y NRC (1989), entre el 60-65 por 100 de la proteína bruta de la dieta ha de ser proteína degradable en rumen y el 35-40 por 100 restante ha de ser cubierta por proteína no degradable en rumen. Cuando se incrementa el porcentaje de proteína degradable en rumen por encima de estos niveles, la producción de amonio supera los límites tolerados por el animal y éste se ve obligado a excretarlo al exterior en forma de urea, proceso que penaliza por un lado a la vaca, que debe aportar parte de energía al proceso y por otro a la leche, ya que aumenta el contenido de nitrógeno no proteico.

Si se aumenta la concentración de proteína no degradable en rumen aumenta la producción de leche, mientras que la tasa de proteína varía en función de la fuente de complementación. Esto provoca una disminución de la proteína degradable en el rumen y su disponibilidad para los microorganismos ruminales, provocando una disminución de la proteína microbiana que pasa a intestino, que si no se ve compensada en cantidad y calidad por la proteína no degradable, ocasiona situaciones carenciales en aminoácidos que limita la síntesis de proteína de la leche.

El tandem proteína-energía de la ración parece ser el punto clave para incrementar la producción y la composición de la leche. Nocek y Russell (1988) afirman que puede afectarlas profundamente, sobre todo en el inicio de la lactación, si el animal no tiene suficientes reservas corporales. Ashes *et al.* (1997) recomiendan suplementar proteína y energía en igual cantidad y calidad, mientras que Maiga y Schingoethe (1997) concluyen que los incrementos en proteína no degradable deben hacerse dentro de raciones equilibradas respecto de la energía, ya que la tasa de proteína descendía cuando se incrementaba de forma exagerada en la ración la proteína no degradable.

Así mismo, es necesario tener en cuenta que para mantener un buen nivel de producción, deben satisfacerse las necesidades en aminoácidos. Los aminoácidos más limitantes en la síntesis de la leche son la lisina y la metionina. Según INRA (1988) las necesidades óptimas son del 7,3 % sobre PDIE para la lisina digestible en el intestino y del 2,5 % sobre PDIE en el caso de la metionina. Las proteínas de origen microbiano son relativamente deficitarias en metionina, motivo por el que conviene utilizar ingredientes ricos en este aminoácido para evitar carencias. A este respecto, Wu *et al.* (1997) observaron que en dietas basadas en ensilado de maíz, la metionina y la lisina eran limitantes de la producción cuando la fuente proteica era harina de soja, mientras que lo era la lisina cuando la fuente proteica era glutenmeal o bagazo de cerveza. Para paliar esta última carencia Chan *et al.* (1997) recomiendan complementar con harinas de pescado y de sangre, y recogen los resultados de estudios donde queda demostrado el efecto de la lisina sobre producción de leche y la calidad de la proteína. Esta recomendación se encuentra, en la actualidad, con la prohibición de utilizar la harina de carne y de sangre para la alimentación animal.

Otra forma de paliar las carencias en aminoácidos es mediante la utilización de metionina y lisina protegidas frente a la fermentación en el rumen. La utilización está justificada por un ahorro económico, ya que permite, por un lado, reducir el porcentaje de proteína bruta de la ración y, por otro, utilizar forrajes con déficit en estos aminoácidos. Su utilización influye positivamente en la producción y en la composición de la proteína de la leche (Rogers *et al.*, 1989; Rulquin y Delaby, 1997; Rogers *et al.*, 1987; Polan *et al.*, 1991; Donkin *et al.*, 1989; Piepenbrink *et al.*, 1996); no obstante, en algunos de estos artículos se observa que existen otros aminoácidos que condicionan la producción y la composición de la leche, además de la metionina y la lisina, aunque la respuesta a su inclusión no es lo suficientemente significativa para detectar las diferencias. No hay que olvidar que la prolina tiene un efecto favorable, a través de la arginina, sobre la síntesis de somatotropina, y en definitiva, sobre la producción de leche.

Actualmente, existe una discusión sobre cual es el nivel adecuado en proteína bruta que debe tener la ración, para evitar su encarecimiento o la aparición de ciertas enfermedades (mamitis, cojeras, etc.).

Sobre este último punto, hay voces que asocian la aparición de estas enfermedades con los altos niveles de proteína, mientras que otras ponen en duda esta relación directa, ya que en raciones con altos niveles en proteína bruta (en torno al 18 por ciento) no se observaron incrementos de dichas enfermedades y sí en raciones con niveles de proteína más bajos (en torno al 15 por ciento). Una posible explicación a este hecho puede encontrarse en la base de la ración, es decir en los alimentos forrajeros que la componen y, en concreto, en la cantidad y la calidad de su fibra. Teniendo en cuenta que el aprovechamiento de la proteína bruta, que se aporta en la ración, pasa por los microorganismos ruminales, parece lógico pensar que una ración con una buena base forrajera, que promueva la rumia y la salivación (con el consiguiente efecto tampón), permita mayores niveles de proteína bruta que otra ración con menor cantidad y calidad de la fibra.

#### *- Niveles minerales de la ración.-*

La alimentación mineral es muy importante para la vaca en periodos de lactación y permite la reconstitución de las reservas minerales de los huesos. Según INRA (1988) y NRC (1989) los aportes de fósforo deben estar entre el 0,45 y el 0,55 % de la materia seca, mientras que los de calcio deben doblarlo.

Del conjunto de los macrominerales, los responsables de mantener el balance electrolítico en el organismo son: calcio, sodio, potasio, cloro, azufre y fósforo. Por su concentración o por la carga electroquímica que confieren a los líquidos corporales, pueden influir en el racionamiento y en la producción. Los componentes de la ración, el nivel de producción, el estado fisiológico y el calor pueden alterar este balance y el estado óptimo del animal, empeorando el consumo de materia seca y la producción. En vacas con alto nivel de producción, se produce una elevada excreción de cationes en la leche, lo que genera un balance de cargas negativas en la sangre, que para compensarlo debe aumentar la concentración de iones hidrogeno, lo que origina una leve acidosis metabólica. Si, además, la vaca está sometida a estrés térmico la situación se agrava por las pérdidas de cationes a través del sudor y de la orina. Para evitar estas situaciones se deben adaptar los aportes de macrominerales a las necesidades del animal, e incluso suministrar sales si fuese necesario.

La alimentación mineral también es relevante en las vacas secas, debido a su estrecha relación con la hipocalcemia postparto y la fiebre vitularia. Para evitar estas enfermedades durante el periodo seco se deben limitar los niveles de calcio, de sodio y de potasio, aunque no es fácil realizarlo en la practica.

Ferguson (1991) estudió los factores de riesgo que predisponen la aparición de problemas sanitarios. Entre los factores de riesgo están el descenso o el incremento de minerales, que se citan en todos los trastornos reproductivos, en problemas de extremidades, en mastitis, en la fiebre de la leche y en retención de membranas fetales. Estas anomalías influyen directa o indirectamente en la producción y en la composición de la leche.

#### *- Nivel vitamínico de la ración.-*

INRA (1988) y NRC (1989) recomiendan 100.000 UI/día de vitamina A, 30.000 UI/día de vitamina D y 700 UI/día de vitamina E.

El elevado contenido de vitaminas hidrosolubles de la leche y el incremento de producción que ha tenido lugar durante los últimos 30 años, ha provocado situaciones carenciales, debido a que los alimentos no son capaces de cubrir las necesidades. Con respecto a las vitaminas liposolubles, los alimentos son muy variables en su contenido según los tipos de procesados. Por todo lo anterior y teniendo en cuenta que las vitaminas son muy lábiles y fáciles de degradar, es conveniente aportar las vitaminas con un cierto margen de seguridad.

Cuando se producen estados carenciales, sobre todo en vitamina A y E, aparecen problemas de salud. Ferguson (1991) observó que estas carencias predisponen la retención de membranas fetales y la

aparición de mastitis y ovarios císticos. Estas enfermedades, y sobretodo las mastitis, influyen en la producción y en la composición de la leche como se verá posteriormente.

*- Suministro de agua.-*

El agua es, tal vez, el nutriente más importante en la alimentación y en la salud del animal. Las vacas, sobretodo las de alta producción, tienen altas necesidades, ya que cerca del 88 por 100 de la leche es agua. Las necesidades de agua del animal son aportadas, por orden de importancia, a través de: el agua de bebida, el agua contenida en la ración y el agua resultante del metabolismo oxidativo de los nutrientes (procedentes de la ración o de los tejidos corporales).

Cuando las vacas no disponen de suficiente cantidad de agua, disminuyen su capacidad de ingestión y en consecuencia, la producción de proteína. Según NRC (1989) e INRA (1988), las necesidades totales son cuatro veces la materia seca total ingerida. Pero no basta con suministrar agua, ésta debe estar limpia, sin contaminaciones fecales, sin parásitos, sin agentes patógenos y a poder ser suministrada en lugares sombreados que permitan mantenerla a una temperatura en torno a los 15 °C. Si se cumplen estos requisitos y los bebederos están bien repartidos, para evitar el estrés por esperas y peleas, las vacas se autorregularán perfectamente.

*- Forma de distribución y tamaño de los alimentos.-*

Cualquiera que sea el sistema elegido de distribución de alimentos, debe adaptarse a las necesidades de la explotación, permitiendo un consumo máximo de alimentos a la vez que resulte cómodo y de fácil acceso para los animales. En la actualidad, se imponen aquellos sistemas que dan a la vaca la mayor disponibilidad de tiempo para aprovisionarse de la totalidad de alimentos que necesita.

La mezcla de todos los componentes de la ración, o *ración integral* (Owen, 1979), se ha impuesto como un buen sistema, ya que reduce la capacidad de selección del animal. La preparación de estas raciones se realiza mediante carros mezcladores que pican los forrajes, para facilitar la mezcla con los alimentos no forrajeros. Este picado puede disminuir el tamaño de partícula, la salivación y la rumia, situación que puede verse agravada cuando los alimentos no forrajeros presentan bajos porcentajes de fibra o el procesado de los forrajes ha sido el molido. Nocek y Tamminga (1991) observaron que el tamaño de partícula influye en el proceso de digestión, por el grado y lugar del tracto digestivo donde se degradan las partículas y por lo tanto en los nutrientes obtenidos a partir de ellos y en su absorción.

*- Alimentos de la ración.-*

La división de los alimentos, en forrajeros y no forrajeros, se ha propagado en los últimos años, ya que muchos de los alimentos no forrajeros que se utilizan para aportar energía y/o proteína llevan asociada una cierta cantidad de fibra, que impropriamente podrían catalogarse de concentrados. De Blas *et al.* (1995) indican que las recomendaciones tradicionales de niveles óptimos de forraje-concentrado han perdido relevancia, a la hora de caracterizar una ración, empleándose para ello conceptos como carbohidratos no fibrosos (CNF) o no estructurales (CNE), carbohidratos estructurales (CE) y fibra neutro detergente (FND). Por su parte, el NRC recomienda un mínimo de FND del 25 por 100 sobre materia seca y de este, el 75 por 100 debe provenir de los forrajes.

No obstante, en recientes estudios (Armentano y Pereira, 1997; Mertens, 1997) se afirma que la FND, si bien proporciona una descripción útil de los forrajes y de otros alimentos, como única medida de la fibra alimenticia, presenta problemas de interpretación en raciones con forrajes picados y alimentos no forrajeros con alto contenido en fibra. Grant (1997) apunta la necesidad de unir al análisis químico de FND, la capacidad de estimular la actividad masticatoria; capacidad que Balch (1971) ya recomendaba utilizar como un índice de valoración de los forrajes y de otros alimentos fibrosos. En definitiva, se tiende hacia la definición de la fibra alimenticia o efectiva, en la cual se engloban las

propiedades físicas y químicas de la fibra, y se define como la habilidad para mantener la síntesis de grasa de la leche y un buen estado de salud de la vaca (Mertens, 1997).

*Ensilados.*- Los ensilados utilizados en la alimentación de vacuno lechero son los de maíz, alfalfa e hierba. De todos ellos el más utilizado es el de maíz, en algunos casos se realiza una mezcla de ensilados en proporciones que dependen, en la mayoría de los casos, de su disponibilidad en las explotaciones. En raciones en las que el ensilado de alfalfa supere el 60 por 100 de la materia seca, se produce una penalización al animal, por la excesiva producción de amonio, a causa de la elevada concentración de proteína degradable en el rumen que contiene este ensilado (Wattiaux *et al.*, 1994). Delaby *et al.* (1997) estudiaron el efecto del tipo de forraje, en concreto el ensilado de maíz frente al ensilado de hierba, sobre la producción y la composición de la leche en el inicio de la lactación. La tasa de proteína fue mejor para el ensilado de maíz, ya que el balance energético fue positivo para este. Los resultados pueden ser muy dispares debido a la calidad y a la conservación del ensilado. Un aspecto importante en el ensilado de maíz, es el porcentaje y el tipo de grano. La proporción de grano en el ensilado, depende de la variedad, de las condiciones de cultivo y del estado de madurez en la recolección. En muchos casos, el ensilado presenta un elevado porcentaje de granos, generalmente en estado pastoso, con elevada humedad. Zinn (1990) afirma que la rapidez en la degradación de los carbohidratos, a través del procesado del maíz, mejora su digestibilidad en el rumen e intestino así como el crecimiento microbiano en el rumen. El proceso de ensilado es una buena práctica para incrementar la digestibilidad de los granos de maíz, que aportan una excelente fuente de energía, ya que el almidón pasa a ser fácilmente fermentescible. Sin embargo, no hay que olvidar que una elevada presencia de almidón en el rumen, puede acidificar el medio ruminal, frenar el crecimiento microbiano y limitar la producción de ácidos grasos volátiles. Dhiman y Satter (1997) observaron que un ensilado de maíz, con un porcentaje de grano entre el 40 y el 50 por 100, es una buena fuente de energía fermentescible y aumenta la proteína microbiana que pasa al intestino. Vagnoni y Broderick (1997), con raciones basadas en ensilado de maíz escaso en granos y complementadas con harina de maíz de alta humedad, incrementaron la proteína de la leche.

*Henos.*- Son principalmente de leguminosas e hierba, siendo el más utilizado el de alfalfa. A diferencia de los ensilados, los henos se obtienen a partir de plantas en estado vegetativo más adelantado. Esto provoca un aumento en el contenido de materia seca y un descenso en el valor nutritivo, agravado por el efecto de las radiaciones solares durante el proceso de secado. Sin embargo, un heno bien recolectado y conservado tiene buena palatabilidad y aporta una excelente fuente de fibra a la ración para evitar alteraciones en el rumen. Al igual que los ensilados, la proteína del heno de alfalfa es fácilmente degradada en el rumen. Webster (1993) lo recomienda en raciones para terneras en crecimiento, con partos en edades tempranas, y en vacas con una baja tasa de grasa. Para evitar los efectos negativos de las radiaciones solares durante el secado, mediante procesos industriales se obtiene alfalfa deshidratada. La proteína de este producto, al contrario que la del secado natural, escapa en un alto porcentaje a la degradación ruminal, por lo que existe un elevado interés en su incorporación en las raciones para vacas de leche, ya que permiten incrementar el nivel proteico sin necesidad de recurrir a otras fuentes que encarecen la ración, y sin afectar a la producción de leche (Pacios, 1990). Su utilización está sujeta a unas limitaciones ya que, por un lado, el procesado que se realiza en la alfalfa puede reducir de forma alarmante la calidad de la fibra, sobretodo si está en forma de gránulo, y predisponer al animal a sufrir trastornos digestivos. Por otro lado, al contener proteína muy poco degradable en rumen, las bacterias no disponen de la fuente de amoníaco que necesitan para favorecer su crecimiento. Estas limitaciones hacen que la alfalfa deshidratada se considere como un suplemento proteico de la ración base, en sustitución parcial del concentrado, por cuestión económica.

*Cereales.*- Son alimentos eminentemente energéticos y pobres en proteína. Una de las cualidades que condiciona su utilización en las raciones para vacas lecheras, es la rapidez con que fermenta su almidón en el rumen, a excepción de los granos de maíz y sorgo que aportan un almidón que es fermentado lentamente y favorece el crecimiento microbiano, en comparación a los granos de cebada y trigo.

Alimentos no forrajeros proteicos.- Se utilizan como fuentes proteicas los turtós de oleaginosas (turtó de soja, de coco), el glutenmeal y, hasta su prohibición en la UE, los alimentos de origen animal (harina de carne y huesos, de pescado y de sangre). Son alimentos que con un elevado contenido en proteína, presentan una gran variabilidad ligada a las materias primas y al procesado al que se las somete. Existen numerosos estudios donde se complementa una misma ración base con ambas fuentes proteicas a fin de comparar los resultados. Polan *et al.* (1997) obtuvieron mayores respuestas en la producción de leche con harina de pescado que con harina de soja, ya que esta última no es tan rica en metionina y en lisina. En la misma línea se expresa Bernard (1997) al comparar la harina de carne y huesos con la de soja, ya que afirma que el incremento de producción de leche está ligado presumiblemente al aporte de aminoácidos postruminales, y estos son mayores en la harina de carne y hueso. Sin embargo, para raciones basadas en ensilado de alfalfa, Wattiaux *et al.* (1994) observaron que al complementar con harina de soja: aumenta la materia seca ingerida, la producción de leche y proteína. Wohlt *et al.* (1991) observaron un pico más tardío y elevado en la producción de leche en vacas complementadas con harina de soja y pescado, mientras que la tasa de proteína no varió, aunque su producción se vio afectada gracias al incremento de la producción de leche. Maiga y Schingoethe (1997) sugieren que para conseguir un buen resultado debe mezclarse proteína animal con proteína vegetal.

Otros alimentos no forrajeros.- Dentro de este apartado se recogen aquellos alimentos no forrajeros que presentan cualidades especiales o una mezcla de ellas. La pulpa de remolacha y los granos de algodón son buenos ejemplos de ello. La pulpa de remolacha es una fuente excelente de energía y de gran palatabilidad, con una fibra de alta digestibilidad. Su fermentación ruminal es muy lenta y favorece el crecimiento microbiano. Tiene un contenido en proteína bruta similar al de los cereales, pero su fibra evita la caída de la ingestión de materia seca, por lo que se utiliza como fuente para incrementar la energía y proteína de la ración sin penalizar la ingestión

Los granos de algodón también tienen un contenido bastante elevado en proteína y energía con una buena fibra alimenticia, siempre y cuando mantengan su envoltura de celulosa. La proteína es degradada rápidamente en el rumen, por lo que resulta interesante realizar un tratamiento térmico para disminuir esta degradabilidad y destruir sustancias tóxicas (gosipol) que limitan su incorporación en la ración.

Ambos alimentos no forrajeros potencian el incremento de la producción de leche y de proteína, aunque no suele aumentar su tasa; no obstante, Mohamed *et al.* (1988) observaron un incremento en la tasa de proteína, respecto a la ración control, al suministrar granos de algodón. El problema de ambos alimentos no forrajeros, es la gran variación de su valor nutritivo entre diferentes partidas y la facilidad de éstas para enmohecerse.

### **Alojamiento de los animales**

El tipo y la higiene de los establos son los puntos críticos en la predisposición a la aparición de enfermedades, que provocarían la alteración en la composición de la leche. La falta de superficie y la deficiente calidad de la cama en estabulaciones libres o un número insuficiente de cubículos pueden provocar:

- Una elevada contaminación de las zonas de descanso y el incremento de la incidencia de enfermedades infecto-contagiosas (mastitis).
- Una circulación defectuosa del ganado, hace que las vacas pasen unas por encima de las otras, lo que aumenta la incidencia de lesiones, por pisoteo, en la glándula mamaria.
- La reducción del tiempo de permanencia de los animales en las zonas de descanso puede contribuir a problemas de aplomo, provocando un incremento de las cojeras.
- Que los animales se tumben en zonas que no han sido diseñadas para ello, como los patios y pasillos, ensuciándose más y facilitando el contacto de los pezones con la humedad y los microorganismos patógenos.

Según Albright (1993) y Baumont (1996), otro factor de riesgo importante es el número de plazas en el comedero. Si éste no es suficiente para permitir que todos los animales coman a la vez, los más débiles deberán esperar al final. Esta situación los inquieta y en muchos casos no les permite comer lo suficiente para poder hacer frente a su producción, provocando desajustes nutricionales que predisponen al animal a sufrir cuadros clínicos más graves.

De ahí que un alojamiento en condiciones, que mantenga las vacas limpias, secas y cómodas durante las 24 horas del día, disminuye el riesgo de alteraciones en el animal y reduce el porcentaje de mastitis y de cojeras, que tienen efectos importantes sobre la composición de la leche como que se detallan a continuación.

### **Estado sanitario.**

La vaca debe estar siempre en buen estado sanitario. Cualquier alteración del estado de salud o situación de estrés influye en la producción y composición de la leche. Las mastitis y las cojeras son los problemas más importantes con los que se enfrentan los ganaderos, tanto por su incidencia como por las pérdidas económicas que provocan.

- *Mastitis*.- *Inflamación de la mama*, se trata de un grupo de enfermedades de tipo contagioso (normalmente por bacterias). Cada una de ellas presenta una forma de contagio y grado de alteración diferente, pero todas afectan a la ubre. Su importancia radica en su elevada incidencia, ya que probablemente sea la enfermedad que más afecta al ganado vacuno, y en las enormes pérdidas económicas que produce en las explotaciones y en las centrales de transformación. Los efectos de la mastitis, sobre la producción, dependen de: la rapidez de detección, la terapia utilizada y la política de secados que realizan los ganaderos (Bartlett *et al.*, 1991).

Existen dos tipos de mastitis:

- Mastitis clínica.- Es aquella que va acompañada de sintomatología aparente y/o alteración de la secreción de la leche.
- Mastitis subclínica.- No hay alteración directamente detectable, lo que le da un carácter permanente e inadvertido por el ganadero. Este carácter hace que la mastitis se perpetúe y haga estragos en la explotación.

La primera consecuencia de las mastitis es la disminución de la cantidad de leche producida y un incremento del recuento de células somáticas, ampliamente utilizado como indicador sanitario de los rebaños lecheros. Así, se asocia un elevado recuento de células somáticas con infecciones subclínicas de causas diversas (Gill *et al.*, 1990). No hay que olvidar que en la leche siempre están presentes células, de 50.000 a 200.000 por mililitro, correspondientes a células descamadas y leucocitos.

A pesar de que se observa un incremento en la tasa de proteína a medida que lo hace el recuento de células somáticas, lo que verdaderamente se incrementa es el nitrógeno no proteico y la proteína del suero, mientras que disminuye la síntesis de caseína. Su justificación podría estar relacionada con el aumento del sistema inmunitario, ya que conlleva una importante demanda de aminoácidos en la síntesis de anticuerpos y disminuye la disponibilidad de aminoácidos para la síntesis de la caseína de la leche. Esta teoría se ve apoyada por Franke *et al.* (1988) y DePeters y Cant (1992), que observaron que la proporción de proteínas solubles (inmunoglobulinas y albúmina sérica) aumentan tanto más cuanto más grave es la mastitis, a la vez que se produce una disminución de la proporción de caseínas ligado a un incremento de leucocitos.

Coulon y Lescourret (1997) estudiaron el impacto de las mastitis clínicas sobre la producción de leche, observando que en las fases inicial y última mitad de la lactación son los periodos críticos donde las mastitis influyen más negativamente en la producción de proteína. Este resultado refleja la influencia negativa de los procesos que alteran el funcionamiento mamario, que tienen como reflejo el

incremento del recuento de células somáticas, en la producción del animal. Agabriel et al. (1995), en explotaciones de la zona central de Francia, observaron en pocos casos que el incremento de proteína de la leche iba acompañado de una mejora en la calidad higiénica de la misma.

- *Cojeras*.- Son un grupo de enfermedades que, por su repercusión en la función locomotora y por el estrés que el dolor provoca, merman la capacidad productiva de las vacas. La interacción de diferentes factores de riesgo, en cada caso, en diferente proporcionalidad, hace que, ante un cúmulo dado de circunstancias, se produzca la lesión y su manifestación en cojera. Los animales cojos son poco competitivos en todos los ambientes, suelen permanecer muchas horas tumbados y no se alimentan adecuadamente. Si a esto se añade que la mayoría de las cojeras ocurren dentro de los 70 días después del parto, es decir en el momento de máxima producción de la vaca, y que las vacas de alta producción son el grupo de mayor riesgo, no cabe duda que la producción y composición de la leche se ven alteradas por falta de nutrientes y por las mastitis originadas por contagio de patógenos del ambiente.

### **Ordeño.**

El objetivo del ordeño es la extracción de la máxima cantidad de leche de la mama sin provocar ningún tipo de daño ni al animal ni a la leche. La limpieza de la maquina después de cada ordeño, base para evitar una contaminación excesiva de la leche, deberá ir acompañada de inspecciones periódicas de las instalaciones. El ordeño está relacionado con la producción y composición de la leche a través de estos cuatro factores:

- *Intervalo entre ordeños*.- Klei et al. (1997) observaron que al pasar de dos a tres ordeños al día, la producción de proteína aumentó entre un 6 y un 28 %, dependiendo del número de lactación, y, por contra, disminuyó la tasa de proteína.

- *Mastitis*.- Las bacterias, durante el ordeño, entran en contacto con la glándula mamaria a través del pezón. Las situaciones que predisponen este contacto suelen ser:

- La caída de las pezoneras durante el ordeño, que permiten el contacto con las bacterias medioambientales.
- El paso de leche de un cuarterón infectado a otro sano, ya sea de la misma vaca o directamente a otras vacas.
- Alteración de la resistencia del canal del pezón después del ordeño.

- *Contenido en gérmenes*.- Desde que la leche sale de la ubre hasta que llega al tanque refrigerante es susceptible de incorporar todos los gérmenes que entran en contacto con ella. Estos se pueden multiplicar en el tanque, dependiendo de la temperatura de conservación. Los gérmenes se nutren de los componentes de la leche, y a ella vierten los residuos de su metabolismo, alterando las cualidades físico-químicas de la misma.

*Lipólisis*.- Es el desdoblamiento de la grasa en ácidos grasos y glicerol. Produce sabores y olores indeseables en la leche, que puede afectar a la calidad de ciertos productos derivados. Este proceso se inicia cuando se daña la membrana que protege a los glóbulos de grasa de la acción de las enzimas lipolíticas. La agitación y aireación de la leche durante su extracción y transporte pueden, en mayor o menor medida, afectar a estas membranas.

### **Las reservas corporales. Condición corporal**

Lo óptimo, desde el punto de vista de la eficacia de la producción, sería conseguir animales con una capacidad de ingestión suficiente, para aportar toda la energía necesaria, evitando tener que almacenar y movilizar reservas corporales. La necesidad de formular raciones con niveles de nutrientes que garanticen el funcionamiento ruminal, dificulta la posibilidad de conseguir producciones superiores a 40 litros sin contar con las reservas corporales. Por ello, en animales de alta

producción, la pérdida de condición corporal (CC) es inevitable y es necesario establecer criterios sobre la cantidad de reservas que deben estar disponibles, como deben mobilizarse y recuperarse.

Coincidiendo con el periodo del periparto es cuando el desequilibrio entre aportes y necesidades es mayor, conduciendo al animal a una situación de balance energético negativo. En el postparto, cuando el nivel de producción empieza a disminuir, los animales alcanzan el pico de ingestión de materia seca, y el balance energético se hace positivo y el animal recupera la CC perdida. Si la vaca no recupera el estado óptimo de reservas corporales se está poniendo en peligro el inicio del siguiente ciclo productivo. Andrew *et al.* (1995) observaron que la CC al parto influye en la cantidad y en la composición del tejido movilizado; Pedron *et al.* (1993) afirman que la adecuada CC al parto aporta la energía requerida para hacer frente a la producción, en el balance energético negativo. Haresing (1988) va un poco más lejos y cita una serie de estudios donde se afirman que la CC antes del parto es más importante que el racionamiento alimenticio seguido durante la lactación.

El estado óptimo de reservas corporales está asociado a una determinada puntuación en CC. Puntuaciones inferiores a ésta, impiden alcanzar el potencial de producción y, según Haresing (1988) y Ferguson (1991), provocan infertilidad y retrasos en la salida del primer celo después del parto. Por contra, puntuaciones superiores permiten una mayor pérdida de peso al inicio de la lactación (que se traduce en más energía para la producción), pero el animal come menos y tarda más en recuperar su máxima capacidad de ingestión (Baille y Faverdin, 1996; Pedron *et al.*, 1993; Garnsworthy y Huggett, 1992; Boisclair *et al.*, 1986). En principio, cabría pensar que existe una compensación entre el incremento de energía movilizable y la disminución de la aportada por la ingesta, pero esto puede provocar carencias en otros nutrientes que la vaca no puede cubrir con sus reservas (aminoácidos, minerales, vitaminas, etc.) y que colocan a la vaca en una situación de desequilibrio nutricional (Holter *et al.*, 1990). Además, Ferguson (1991) asoció el incremento de CC al parto como factor de riesgo en problemas como: cetosis, fiebre de la leche, hígado graso, metritis, problemas de extremidades y dificultades en el parto. Teniendo en cuenta todo esto, es posible establecer una serie de recomendaciones de la CC óptima (Tabla 2), que permita el buen manejo y control del rebaño.

Paralelamente a las puntuaciones óptimas se admiten unos considerables márgenes aceptables, dentro de los cuales, no se observan grandes alteraciones. Holter *et al.* (1990) observaron que un descenso del 80 por 100 en la puntuación de CC al parto no influyó en el resto de la producción, ni en la materia seca ingerida, ni en la utilización de los nutrientes; mientras Boisclair *et al.* (1986) observaron que el sobreconsumo de energía en el parto, y el engrasamiento que provoca, no influía ni en la producción ni en la composición de la leche.

Tabla 2. - Condición corporal óptima en los diferentes estadios productivos para el vacuno lechero.

<b>Estado fisiológico</b>	<b>Puntuación óptima</b>	<b>Extremos aceptables</b>
Novillas de 6 meses de edad	2,5	2,5-3,0
Novillas en cubrición	2,5	2,5-3,0
Parto	3,5	3,5-4,0
Entre 0 y 90 días de lactación	2,5	2,0-3,0
Entre 91 y 150 días de lactación	2,5	2,0-3,0
Entre 151 y 210 días de lactación	3,0	2,5-3,5
Entre 211 y el secado	3,5	3,0-4,0
Secado	3,5	3,5-4,0

Fuente: Estimaciones a partir de los datos bibliográficos.

Existe un estrecha relación entre la condición corporal y la concentración energética de la ración, lo que ya no está tan claro es como influye la CC en la producción y composición de la leche. Aun así, se puede afirmar que los animales delgados producen mayores tasas de proteína, que los animales gordos al parto. Estos resultados y otros en los que se hacen referencia a la influencia directa de la CC

sobre la producción, deben tomarse con cautela, ya que como apuntan Komaragiri y Erdman (1997) los cambios en la producción y composición de la leche se deben no a la condición corporal, sino a la variación de la materia seca ingerida. A este respecto, Nombekela y Murphy (1995) suministraron sacarosa en la ración, durante el inicio de la lactación y observaron que aumentaba la ingesta de alimentos. Esto provocaba un incremento de la producción, no así de la tasa de proteína, un descenso de la pérdida de peso vivo y una disminución en los días transcurridos hasta la aparición del primer celo. Por su parte, Balch y Argenteria (1992), establecieron una relación significativa a nivel de explotación, entre la tasa de proteína y la CC, como consecuencia de la relación entre la ingestión de energía metabolizable y la tasa de proteína de la leche. Para estos autores, la alimentación parece ser el motivo fundamental que origina las diferencias observadas entre explotaciones. Por ello, puede ser interesante la utilización de la CC como herramienta para predecir la ingestión de materia seca del animal, ya que es el punto de partida de la formulación de las raciones.

Masalles (1996), en un estudio localizado en cuatro explotaciones de la provincia de Girona, deduce que la CC de los animales en producción proporciona datos válidos para estimar la secreción de proteína de la leche. La relación entre ambas variables es lineal positiva y estadísticamente significativa. La mejor correlación se establece entre la CC y la producción de proteína (kg. de proteína/día) con coeficiente de determinación  $R^2 = 0,6779$  y  $p < 0,0001$ . La adecuación energética de la alimentación, expresada por la CC, permite maximizar la cantidad y calidad de la leche producida. También afirma que la relación entre el estado de lactación y la CC de los animales presentes en la explotación, permite establecer un sistema de diagnóstico rápido y fiable de la adecuación del racionamiento alimentario a las necesidades de cada momento productivo.

#### Justificación hormonal sobre la ingestión y la condición corporal

La justificación de algunos aspectos, de los resultados encontrados en los trabajos comentados anteriormente, con datos recogidos en otras revisiones de matiz metabólico (Milà 2000, Molina 2001), ayudan a comprender mejor el alcance de los mismos. .

Al inicio de la lactación, especialmente en vacas de alta producción, aumenta la concentración en sangre de la hormona del crecimiento (GH) (Chilliard 1987). Esta hormona podría estar relacionada con el balance nutricional negativo, actuando en la movilización de reservas corporales (Bocquier *et al.* 1990, Chilliard 1987). El hecho de que los animales de mayor CC, en el postparto, tengan más acentuada la disminución del consumo voluntario (CV) podría ser un efecto inhibitorio directo de los AGNE circulantes (Carpentier y Grossman 1983, Vandermeersch-Doize y Paquay 1984), o, un efecto indirecto, por la liberación de estrógenos almacenados en el tejido adiposo, al final de la gestación (Forbes 1986). Como ha sido puesto en evidencia, en varias experiencias realizadas con somatotropina bovina, una GH sintética, (BST), en ensayos a corto plazo, el incremento de producción de las vacas lecheras no se vio acompañado de un incremento de la ingestión de alimentos (Holcombe *et al.* 1988), sino, todo lo contrario, tendió a disminuir (Peel *et al.* 1981). La fuerte demanda de energía obligaría a la movilización de las reservas lipídicas (Bauman y Currie 1980, Cowan *et al.* 1980, Chilliard 1993), y a la disminución de la ingestión por las causas apuntadas anteriormente.

La relación inversa entre la CC y CV, dentro de un mismo estado fisiológico, en especial con dietas de relativa calidad (Bines y Morant 1983), podría tener la siguiente explicación, según estos autores: las vacas delgadas utilizan más rápidamente los substratos potencialmente lipogénicos que las gordas, lo que evita la acumulación en sangre de precursores lipogénicos, al tiempo aumenta la absorción en rumen y estimula la ingestión.

La regulación lipostática de la ingestión, también conocida como teoría lipostática (Kennedy 1953), justificaba el control del CV a largo plazo por la influencia que ejercía el nivel de reservas lipídicas en el hipotálamo. Las reservas enviarían al hipotálamo señales que informarían del estado de su nivel, así controlarían el peso evitando un excesivo engrasamiento. Sin embargo, Kennedy no pudo encontrar

qué factor era la causa y cual el efecto, entre el CV y la CC; como tampoco qué era lo que informaba al SNC del estado de las reservas.

Fueron Campfield *et al* (1995) quienes encontraron una hormona, la *leptina*, en roedores, y, después, en rumiantes (Pomp *et al* 1997), producida en el tejido adiposo (Kline *et al* 1997) que regulaba el apetito, al informar al centro de control del estado de reservas. Teniendo bajo su control la regulación de otras muchas funciones (Houseknecht *et al* 1998): provoca la disminución del consumo (Henry *et al* 1999), regula el PV (Friedman y Halaas 1998), la actividad ovárica (Spicier 1998, Spicier y Francisco, 1998), el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria (Laud *et al* 1999), el reparto de nutrientes entre la madre y el feto durante la gestación (Chien *et al* 1997) y el anabolismo muscular (Ramsay 1998). Cuando la producción de leptina aumenta, por el incremento de las células adiposas y/o por el incremento de los lípidos corporales, la respuesta, generalmente, viene de la mano de la disminución de nutrientes disponibles para el tejido adiposo, de modificaciones hormonales que disminuyen la lipogénesis y aumenta la lipólisis en los tejidos (Houseknecht *et al* 1998). Al mismo tiempo limita su propia producción, evitando así fluctuaciones importantes en el sistema, con un autocontrol de los depósitos lipídicos; el desajuste de su autocontrol provoca diferentes formas de obesidad (Chilliard *et al* 1999).

A corto plazo, la concentración de leptina disminuye rápidamente con la disminución de la ingestión, debido, en parte, al descenso de la insulinemia (Saladin *et al* 1995). La hipoleptinemia daría la señal al organismo de un estado de subnutrición. La leptinemia está, parcialmente y a corto plazo, condicionada por el nivel de alimentación del animal, independientemente de las variaciones del estado de engrasamiento.

### **Trabajos de investigación, en línea con la bibliografía consultada, llevados a cabo en nuestra unidad y la especialidad de vacuno del IRTA**

A principio de la década de los noventa, a raíz de la preocupación por las variaciones de la tasa proteica en la leche, se comienza a estudiar los factores explotacionales que pudieran afectarla. Productos de esta dedicación han sido los Proyectos Finales de Carrera, en investigación, llevados a cabo en nuestra unidad departamental de la ETSEA, junto con los especialistas en vacuno del IRTA:

- *Relación entre la nota de condición corporal y la tasa proteica de la leche de vaca, en la provincia de Girona (Masalles, 1996)*. Del que se sacan, entre otras, las siguientes deducciones:
  - Las tasas de grasa y proteína de las vacas estudiadas, no obstante de ir incrementando, son las más bajas de los países comunitarios. Sus máximos se producen durante el invierno y los mínimos en el verano.
  - La correlación entre la CC y la secreción diaria de proteína ( $R^2=0,6779$ ,  $p<0,0001$ ) aporta un medio para estimar la adecuación del aporte energético de la ración (expresada en la CC) y la posible repercusión en el potencial de síntesis proteica. Al tratar de relacionar la CC con la tasa proteica, el coeficiente de determinación fue muy bajo
  - El efecto explotación sobre la calidad nutritiva de la leche es variable y depende, principalmente, de la genética y del manejo.
  - La relación entre la CC y el estado de lactación permite establecer un método de diagnóstico rápido y fiable de la adecuación del racionamiento a las necesidades de cada momento.
- *Efecto de las raciones integrales únicas, en vacas de leche, sobre algunos parámetros productivos (Martí, 1997)*, del que se deducen que:
  - La composición de la ración no va ligada a las necesidades nutritivas de las vacas
  - Existe un desconocimiento muy importante del valor nutritivo de los subproductos
  - El grado de incertidumbre (mediante la técnica de Buckmaster y Muller, 1994) es elevado en: la valoración nutritiva de los ingredientes, en la variabilidad de las necesidades

nutritivas entre los miembros de un mismo rebaño – lo que dificulta el formular, con una única ración, para satisfacer las necesidades de la mayoría de los animales-.

- En explotaciones en que los concentrados entran en la ración en proporciones muy elevadas, los aportes nutritivos exceden a las necesidades, estando la proteína por encima del aporte energético, lo que repercute negativamente en la tasa proteica de la leche.

- *Relación entre las variables de producción en 34 explotaciones de vacuno lechero, en la provincia de Girona (Zaragoza, 1999).* Destacamos algunas de sus aportaciones:
  - La producción de leche está muy ligada a los días que dura la lactación. El pico de la lactación se encuentra dentro de los primeros 100 días de lactación
  - Las vacas que paren en invierno tiene mayor producción que las que lo hacen en verano
  - La tasa de grasa aumenta con los días en lactación, siendo significativa a partir de los 210 d. No dependiendo del número de lactaciones, pero sí de la estación en que se produce el parto.
  - La tasa de proteína está muy ligada a los días en lactación. El número de lactación no influye, si bien a partir de la 4ª la tasa disminuye.
  - Entre 1 y 3, de condición corporal, no influye en la producción de leche. La tasa de proteína es máxima para CC entre 3,5 y 4. La CC, por si sola, no es una buena herramienta de gestión en la predicción de producción y/o de tasa proteica.

Es obvio que la limitación genética en la capacidad de síntesis de la proteína de la leche es una barrera no franqueable, al menos con la alimentación. Pero sí estamos interesados en potenciar al máximo los recursos para que esta capacidad no decaiga, por bajo de ese potencial.

¿De qué dependen las variaciones, bajo determinadas circunstancias, de la tasa proteica en la leche? Una experiencia previa, con piensos engrasados y dos niveles de alimentación, en animales de cebo, nos dio una pista y nos llevó a emprender otra experiencia, en que se manifestara la implicación de la movilización de grasas, en el organismo animal, con el metabolismo nitrogenado. Para ello se dispusieron de conejas lactantes, a las que se les sometió a dos niveles de alimentación (*ad lib.* vs 80 % de ingestión) y a dos niveles de grasa añadida a la dieta (0 y 4 %) (Milà, 2000). Estas fueron algunas de las síntesis deducidas:

- La grasa añadida contribuyó a una mayor producción de leche y a mayor contenido graso; pero a un menor contenido en nitrógeno, tanto total como proteico
- El nivel de alimentación no influyó en la producción. El nivel más bajo de alimentación no afectó al contenido graso de la leche, pero sí incrementó, respecto al testigo, el N no proteico; y solo mostró una tendencia a menor contenido de N proteico.
- La excreción nitrogenada en orina, N total y de urea (en g/d), fue más elevada en los animales alimentados con grasa añadida, seguidos de los que movilizaron grasa (nivel más bajo de alimentación) y, por último, los testigos.

Como comentario general a este trabajo, resulta evidente que la movilización lipídica, en el organismo animal, conlleva unas implicaciones protídicas que afloran en los resultados productivos. Esto podría justificar algunos resultados tan dispares, encontrados en la bibliografía.

A tenor de todo lo expuesto, con una dispersión importante de resultados sobre los factores que inciden en la proteína de la leche, en los datos bibliográficos, –a veces hasta opuestos-, no podemos limitarnos a obviar simplemente los resultados aportados por nuestras experiencias en conejos. Existen, como se ha podido comprobar en la revisión, muchas experiencias con parecidos resultados en los que, después de un análisis detenido, encontramos como justificación muy probable la movilización lipídica –ya sea de origen alimentario o de las reservas-, que requiere de la ayuda de lipoproteínas -quilomicrones, VLDL, LDL, HDL- para el transporte. La síntesis de estas lipoproteínas necesitan de un aporte importante de aminoácidos que limitaría en parte la síntesis de proteína en la glándula mamaria; por otro lado, la renovación de dichas proteínas daría lugar a una importante desaminación, con lo que se incrementaría el metabolismo de la urea y, consecuentemente, su excreción.

## **Bibliografía consultada**

**Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C., Nafidi C. 1995.** Relations entre la qualite du lait livré et les caractéristiques des exploitations. INRA Prod. Anim. 8 (4), 251-258.

**Albright J.L. 1993.** Feeding behaviour of dairy cattle. J. Dairy Sci 76, 485-498.

**Andrew S.M., Erdman R.A., Waldo D.R. 1995.** Prediction of body composition of dairy cows at three physiological stages from deuterium oxide and urea dilution. J. Dairy Sci. 78, 1083-1095.

**Amela M.I., Sanz E., Surra J., Laborde H., Ciria J., Melines A. 1995a.** Efecto de la ingestión de grasa animal en la alimentación de rumiantes: I. Digestibilidad total aparente de la MS de la ración. XX Jornadas Científicas de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Pp 211-214. Madrid. 1995.

**Amela M.I., Sanz E., Surra J., Laborde H., Ciria J., Utgé M. 1995b.** Efecto de la ingestión de grasa animal en la alimentación de rumiantes: I. Digestibilidad total aparente de la MS de la ración. XX Jornadas Científicas de la Sociedad de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Pp 211-214. Madrid. 1995.

**Amela M.I., Sanz E., Laborde H. 1998.** Efectos de la suplementación lipídica sobre la degradabilidad potencial y efectiva de las paredes celulares de la paja de trigo. 22º Congreso Argentino de Producción Animal. Córdoba (Argentina). Rev. Argentina de Prod. An. Pp 64-65.

**Amela M.I., Sanz E., Surra J. 1999.** Efecto de grasa dietaria sobre el flujo de nitrógeno microbiano a duodeno, en ovejas. XXIV Reunión Anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal. Temuco (Chile). Pp 155-256.

**Amela M.I., Sanz E.,Torrea M. 2000.** Efectos de la suplentación lipídica sobre algunos parámetros de la fermentación ruminal. III Congreso Uruguayo de Producción Animal.. XVI Reunión Latinoamericana de Producción Animal. Montevideo.

**Amela M.I., Sanz E. 2000.** Utilización de grasa insaturada: I. Efecto sobre la concentración de ácidos grasos volátiles y el volumen ruminal. II Congreso Internacional de Microbiología Industrial. Dpto de Microbiología de la Universidad Pontificia Javeriana. Bogotá (Colombia).

**Armentano L., Pereira M. 1997.** Measuring the effectiveness of fiber by animal response trials. J. Dairy Sci. 80, 1416-1425.

**Ashes J.R., Gulati S.K., Scott T.W. 1997.** Potential to alter the content and composition of milk fat thought nutrition. J. Dairy Sci.80, 2204-2212.

**Balch C.C. 1971.** Proposal to use time spent chewing as an index of the extend to wich diets for ruminants posses the physical property of fibrousness characteristic of roughages. Brit. J. Nutr. 26, 383-392.

**Balch C.C., Argamenteria A. 1992.** A note on the potencial conjoint use of body condition score and milk protein concentrations as an index of dietary adequacy in lactating dairy cows. Anim. Prod. 55, 437-439.

**Bareille N., Faverdin P. 1996.** Lipid metabolism and intake behavior of dairy cows: Effects of intravenous lipid and b-adrenergic supplementation. J. Dairy Sci. 79, 1209-1220.

**Bartlett P.C., Van Wijk J., Wilson D.J., Green C.D., Miller G.Y., Majeswski G.A., Heider L.E. 1991.**Temporal patterns of lost milk production following clinical mastitis in a large michigan holstein herd. J. Dairy Sci. 74: 1561-1572.

**Bauman D.E., Currie B. 1980.** Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. J. Dairy Sc. 63: 1514-1529.

**Baumont R. 1996.** Palatabilité et comportement alimentaire chez les ruminants. INRA Prod. Anim. 9 (5): 349-358.

- Bernard J.K. 1997.** Milk production and composition responses to the source of protein supplements in diets containing wheat middlings. *J. Dairy Sci.* 80: 938-942.
- Bines J.A., Morant S.V. 1983.** The effect of body condition on metabolic changes associated with intake of food by the cow. *Br. J. of Nutr.* 50: 81-89.
- Boisclair Y., Grieve D.G., Stone J.B., Allen O.B., Macleod G.K. 1986.** Effect of prepartum energy, body condition and sodium bicarbonate on production of cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 69: 2636-2647.
- Bocquier F., Kann G., Theriez M. 1990.** Relationships between secretory patterns of growth hormone, prolactin, and body reserves on milk yield in dairy ewes under different photoperiod feeding conditions. *An. Prod.* 51: 115-125.
- Campfield L.A., Smith F.J., Guisez Y., Devos R., Burn P. 1995.** Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 269: 546-549.
- Carpentier R.G., Grossman S.P. 1983.** Plasma fat metabolites and hunger. *Physiology Behavior* 30: 57-63.
- Coppock C.E., Wilks D.L. 1991.** Supplemental fat in high energy rations for lactating cows: Effects on intake, digestion, milk yield and composition. *J. Anim. Sci.* 69, 3826.
- Cordonnier P. 1986.** Economie de la production laitière. pp. 218. Technique et Documentation-Lavoisier e INRA. Paris.
- Coulon J.B., Lescouret F. 1997.** Impact of clinical mastitis on milk production by dairy cows. *Renc. Rech. Ruminants* 4, 265-268.
- Cowan R.T., Robinson J.J., McDonald I., Smart R. 1980.** Effects of body fatness at lambing and diet in lactation on body tissue loss, feed intake and milk yield of ewes in early lactation. *J of Agricultural Sc., Cambridge* 95: 497-514.
- Chamberlain D., Martin P.A., Robertson S. 1989.** Optimizing compound feed use in dairy cows with high intakes of silage. Page 175. En: *Recent Advances in Animal Nutrition.* Haresing W. y Cole D.J.A., Ed. Butterworths, London, England.
- Chan S.C., Huber J.T., Theurer C.B., Wu Z., Chen K.H., Simas J.M. 1997.** Effects of supplemental fat and protein source on ruminal fermentation and nutrient flow to the duodenum in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 152-159.
- Chien E.K., Hara M., Rourard N., Yano H., Philippe M., Polonsky K.S., Bell G.I. 1997.** Increase in serum leptin and uterin leptin receptor messenger RNA levels during pregnancy in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2237: 476-480.
- Chilliard Y. 1987.** Variations quantitatives et métabolisme des lipides dans le tissu adipeux et le foie au cours du cycle gestation-lactation. 2e partie: chez la brebis et la vache. *Reprod. Nutr. And Development* 27: 327-398.
- Chilliard Y. 1993.** Adaptations métaboliques et partage des nutriments chez l'animal en lactation. In: *Bilogie de la lactation.* Eds. J. Martinet and L. Hndebine. Pp: 431-475. INRA Editions, Paris.
- Chilliard Y., Bocquier F., Delavaud C., Faulconnier Y., Bonnet M., Guerre-Millo M., Martin P., Ferlay A. 1999.** La leptine chez le ruminant. Facteurs de variation physiologiques et nutritionnels. *INRA Prod. Anim.* 12: 225-237.
- De Blas C., G<sup>a</sup> Rebollar P. y Méndez J. 1995.** Utilización de cereales en dietas de vacuno lechero. En: *Expoaviga 95. XI Curso de Especialización. Avances en nutrición y alimentación animal.* Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal (FEDNA).
- Delaby L., Bouttier A., Peccatte J.R. 1997.** Effect of the type of forage and energy concentrate composition on milk yield and composition in early lactation. *Renc. Rech. Ruminants* 4, 339-342.

- DePeters E.J., Cant J.P. 1992.** Factors influencing the nitrogen composition of bovine milk. *J. Dairy Sci.* 75, 2043-2070.
- Dhiman T.R., Satter L.D. 1997.** Yield response of dairy cows fed different proportions of alfalfa silage and corn silage. *J. Dairy Sci.* 80, 2069-2082.
- Donkin S.S., Varga G.A., Sweeney T.F., Muller L.D. 1989.** Rumen-protected methionine and lysine: Effects on animal performance, milk protein yield and physiological measures. *J. Dairy Sci.* 72, 1484-1491.
- Emery R.S. 1978.** Feeding for increased milk protein. *J. Dairy Sci.* 61, 825.
- European Communities. 1984.** Official Journal of the European Communities, L 15/28. Belgium
- Feagan J.T. 1979.** Factors affecting protein composition of milk and their significance to dairy processing. *Aust. J. Dairy Technol.* 34, 77.
- Ferguson J.D. 1991.** Nutritional problems encoured in dairy practice. Cap. 27. En: Large animal. Clinical nutrition. Naylor J.M., Ralston S.L.. Ed. Mosby Year Book 1991. St. Louis, Missouri. USA.
- Ferguson J.D., Sniffen C.J., Muscato T., Pilbeam T, Sweeney T. 1989.** Effets of protein degradability and protected fat supplementation on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72 (Suppl. 1), 415 (Abstr.).
- Forbes J.M. 1986.** The effets of sex hormones, pregnancy, and lactation on digestion, metabolim, and voluntary food intake. In: Control of digestion and metabolism in ruminants. Eds. L.P. Milligan, W.L. Grovum and A. Dobson. Pp 420-435. Prentice-Hall, New Jersey.
- Franke A.A, Bruhn J.C., Lawrence C.M. 1988.** Distribution of protein in California milk in 1983. *J. Dairy Sci.* 71, 2373-2383.
- Friedman J.M., Halaas J.L. 1998.** Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395: 763-770.
- Garnsworthy P.C., Huggett C.D. 1992.** The influence of the fat concentration of the diet on the response by dairy cows to body condition at calving. *Anim. Prod.* 54,7-13.
- Gill R., Howard W.H., Leslie K., Lissemore K. 1990.** Economics of mastitis control. *J. Dairy Sci.* 73, 3340.
- Grant R.J. 1997.** Interactions among forages and nonforages fiber sources. *J. Dairy Sci.* 80, 1438-1446.
- Grings E.E., Roffler R.E., Deitelhoff D.P. 1991.** Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. *J. Dairy Sci.* 74, 2580-2587.
- Haresing W. 1988.** Condición corporal, producción de leche y reproducción en el ganado vacuno. En: Avances en nutrición de los rumiantes. Ed. Acribia SA, Zaragoza.
- Henry B.A., Goding J.W., Alexander W.S., Tilbrook A.J., Canny B.J., Dunshea F., Rao A., Mansell A., Clarke I.J. 1999.** Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affesting the secretion of hormones from the pituitary gland: evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function. *Endocrinology* 140: 1175-1182.
- Holcombe D.W., Hallford D.M., Hoefler W.C. 1988.** Reproductive and lactational responses and serum growth hormone and insulin in fine-wooded ewes treated with ovine growth hormone. *An. Prod.* 46: 195-202.
- Holter J.B., Slotnick M.J., Bozak C.K., Urban W.E., McGilliard M.L. 1990.** Effect of prepartum dietary energy on condition score, postpartum energy, nitrogen partitions and lactation production responses. *J. Dairy Sci.* 73, 3502-3511.
- Houseknecht K.L., Baile C.A., Matteri R.L., Spurlock M.E. 1998.** The biology of Leptin: A review. *J. of An Sc.* 76: 1405-1420.

- Hurley W.L. 1996.** Lactation Biology. Department of Animal Sciences. University of Illinois. Urbana, Illinois 61801. p. 111.
- INRA 1988.** Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. Ed. Mundi-prensa, Madrid.
- Jenness, R. 1986.** Lactational performance of various mammalian species. En Symposium: Species variation in mammary gland function, J. Dairy Sci. 69, 869-885.
- Kennedy G.C. 1953.** The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. Proc. Of the Royal Society Serie B. 140: 578-592.
- Klei L.R., Lynch J.M., Barbano D.M., Oltenacu P.A., Lednor A.J., Bandler D.K. 1997.** Influence of milking three times a day on milk quality. J. Dairy Sci. 80, 427-436.
- Kline A.D., Becker G.W., Churgay L.M., Landen B.E., Martin D.K., Muth W.L., Rathnachalam R. Richardson J.M., Schoner B., Ulmer M., Hale J.E. 1997.** Leptin is a four-helix bundle: Secondary structure by NMR. FEBS Lett 407: 239-242.
- Komaragiri M.V.S., Erdman R.A. 1997.** Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 1. Effect of dietary protein on mobilization of body fat and protein. J. Dairy Sci. 80, 929-937.
- López Garrido C. 2000.** Estudio Comparativo de los costes de producción de leche en diferentes comunidades autónomas españolas. INIA. Madrid.
- Mahieu H. 1991.** Factores que influyen en la composición de la leche. pp. 117-173. En: Leche y productos lácteos. Vol. 1. La leche. De la mamá a la lechería. Luquet F.M., Bonjean-Linczowski Y., Keilling J., Wilde R. 1991. Ed. Acribia SA, Zaragoza.
- Maiga H.A., Schingoethe D.J. 1997.** Optimizing the utilization of animal fat and ruminal bypass proteins in the diets of lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 80, 343-352.
- M.A.P.A. 2000.** Anuario de Estadística Agraria.
- Martí J. 1997.** Efecte de les racions integrals úniques, en vaquí de llet, sobre alguns paràmetres productius. Proyecto Final de Carrera. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària de Lleida, UdL.
- Martinet J., Houdebine L.M. 1993.** Biologie de la lactation. INRA Editions. París, 1993.
- Masalles M. 1996.** Relació entre la nota de condició corporal i la taxa proteica de la llet a la raça frisona. Estudi localitzat a la província de Girona. PFC. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària de Lleida, UdL.
- Mertens D.R. 1997.** Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. J. Dairy Sci. 80, 1463-1481.
- Metge J. 1990.** La production laitière. Ed. Nathan. París, 1990.
- Michalet-Doreau B., Martin C., Doreau M. 1997.** Optimization of fiber ruminal digestion: interactions of fiber digestion with other dietary components. Renc. Rech. Ruminants 4, 103-112.
- Milà N. 2000.** Efecte del nivell d'alimentació i de greix de la dieta, en conilles lactants, sobre l'excreció nitrogenada a través de l'orina i la llet i sobre les reserves corporals. Proyecto Final de Carrera. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària de Lleida, UdL.
- Mohamed O.E., Satter L.D., Grummer R.R., Ehle F.R. 1988.** Influence of dietary cottonseed and soybean on milk production and composition. J. Dairy Sci. 71, 2677-2688.
- Molina E. 2001.** Ingestión de alimento, digestibilidad y cinética de tránsito en ovino lechero. Estudio comparativo entre ovejas manchega y lacaune. Tesis Doctoral. Univ. Autónoma de Barcelona. Dpto. de Ciencia Animal y de los Alimentos.
- Nocek J.E., Russell J.B. 1988.** Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci. 71, 2070-2107.
- Nocek J.E., Tamminga S. 1991.** Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 74, 3598-3629.

- Nombekela S.W., Murphy M.R. 1995.** Sucrose supplementation and feed intake of dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 78, 880-885.
- Norman H.C., Kuck A.L., Cassell B.G., Dickinson F.N. 1978.** Effect of age and month of calving on solids-not-fat and protein yield for five dairy breeds. *J. Dairy Sci.* 61, 239.
- N.R.C. 1989.** Nutrient requirements of dairy cattle. 6th rev.. National Academy Press, Washington DC.
- Owen J. 1979.** Sistemas de alimentación integral para vacuno y ovino. Ed Mundi-Prensa. Madrid 1981.
- Pacios A. 1990.** Alimentos utilizados en la fabricación de piensos compuestos para vacas lecheras. En: Los Nuevos Sistemas de Alimentación en Vacuno Lechero. (Ed.) E. Sanz. Aedos Editorial SA. Barcelona 1990.
- Pedron O., Cheli F., Senatore E., Baroli D., Rizzi R. 1993.** Effects of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 2528-2535.
- Peel C.J., Bauman D.E., Gorewit R.C., Sniffen C.J. 1981.** Effect of exogenous growth hormone on lactational performance high yielding dairy cows. *J. of Nutr.* 111: 1662-1671.
- Petit H.V., Tremblay G.F. 1995.** Milk production and intake of lactating cows fed grass silage with protein and energy supplements. *J. Dairy Sci.* 78, 353-361.
- Piepenbrink M.S., Overton T.R., Clark J.H. 1996.** Response of cows fed a low crude protein diet to ruminally protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 79, 1638-1646.
- Polan C.E., Cozzi G., Berzaghi P., Andrighetto Y. 1997.** A blend of animal and cereal protein a fish meal as partial replacement for soybean meal in the diets of lactating holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80, 160-166.
- Polan C.E., Cummins K.A., Sniffen C.J., Muscato T.V., Vicini J.L., Crooker B.A., Clark J.H., Johnson D.G., Otterby D.E., Guillaume B., Muller L.D., Varga G.A., Murray R.A., Peirce-Sandner S.B. 1991.** Responses of dairy cows to supplemental rumen-protected forms of methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 74, 2997-3013.
- Pomp D., Zou T., Clutter A.C., Barendse W. 1997.** Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism. *J. of An. Sc.* 75: 1427.
- Ramsay T.G. 1998.** Leaping lords and leptin: a partitioning agent? *J. of Anim. Sc.* 76 (Suppl. 1): 121.
- Rémond B. 1985.** Influence de l'alimentation sur la composition du lait de vache. 2. Taux protéique: Facteurs généraux. *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA* 62, 53-67.
- Rodríguez M.C. 1986.** Influencia del ambiente en la producción. En: Mejora genética I. (Ed) Alenda R. Serie: Tratado de veterinaria práctica. BOVIS. Nov-dic 1986.
- Rogers J.A., Pierce-Sandner S.B., Papas A.M., Polan C.E., Sniffen C.J., Muscato T.V., Staples C.R., Clark J.H. 1989.** Production responses of dairy cows fed various amounts of rumen-protected methionine and lysine. *J. Dairy Sci.* 72, 1800-1817.
- Rulquin H. 1997.** Regulation of the synthesis and the secretion of milk constituents in ruminants. *Renc. Rech. Ruminants* 4, 327-338.
- Rulquin H., Delaby L. 1997.** Effects of the energy balance of dairy cows on lactational responses to rumen-protected methionine. *J. Dairy Sci.* 80, 2513-2522.
- Saladin R., De Vos P., Guerre-Millo M., Leturque A., Girard J., Staels B., Auwerx J. 1995.** Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 377: 527-529.
- Sauvant D. 1997.** Conséquences digestives et zootechniques des variations de la vitesse de digestion de l'amidon chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.* 10 (4), 287-300.
- Schutz M.M., Hansen L.B., Steuernagel G.R. 1990.** Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73, 484-493.

- Sieber M., Freeman A.E., Kelley D.H. 1988.** Relationships between body measurements, body weight and productivity in holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71, 3437-3445.
- Spicier L.J. 1998.** Leptin as a metabolic regulator of reproduction: Effect on the ovary. *J. of Anim. Sc.* 76 (Suppl. 1): 230.
- Spicier L.J., Francisco C.C. 1998.** Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis. *Biology of Reproduction* 58: 207-212.
- Thomas P.C., Martín P.A. 1988.** The influence of nutrient balance on milk yield and composition. pp. 97-114. En: *Nutrition and lactation in the dairy cow.* P.C. Garnsworthy, Ed. Butterworths, London, England.
- Vagnoni D.B., Broderick G.A. 1997.** Effects of supplementation of energy or ruminally undegraded protein to lactating cows fed alfalfa hay o silage. *J. Dairy Sci.* 80, 1703-1712.
- Vandermeerschen-Doizé F., Paquay R. 1984.** Effects of continuous long-term intravenous infusion of long-chain fatty acids on feeding behaviour and blood components of adult sheep. *Appetite* 5: 137-146.
- Waite R., White J.C.D., Robertson A. 1956.** Variation in the chemical composition of milk with particular reference to the solids-not fat. The effect of stage of lactation, season of year and age of cow. *J. Dairy Res.* 23, 65.
- Wattiaux M.A., Combs D.K., Shaver R.D. 1994.** Lactational responses to ruminally undegradable protein by dairy cows fed diets based on alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 77, 1604-1617.
- Webster J. 1993.** *Understanding the dairy cow.* Ed. Blackwell Science.
- Wiggans G.R., Van Vleck L.D. 1977.** Age-season adjustment factors considering herd feeding practices, *J. Dairy Sci.* 60, 1734.
- Williams C.B., Oltenacu P.A. 1992.** Evaluation of criteria used to group lactating cows using a dairy production. *J. Dairy Sci.* 75, 155-160.
- Wohlt J.E., Chmiel S.L., Zajac P.K., Backer L., Blethen D.B., Evans J.L. 1991.** Dry matter intake, milk yield and composition and nitrogen use in holstein cows fed soybean, fish or corn gluten meals. *J. Dairy Sci.* 74, 1609-1622.
- Wu Z., Huber T. 1994.** Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: A review. *Livest. Prod. Sci.* 39, 141.
- Wu Z., Polan C.E., Fisher R.J. 1997.** Adequacy of amino acids in diets fed to lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80,1713-1721.
- Zaragoza C. 1999.** Relación entre las variables de producción en 34 explotaciones de vacuno lechero de la provincia de Gerona. Proyecto Final de Carrera. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària de Lleida, UdL.
- Zinn R. A. 1990.** Influence of steaming time on site of digestion of flaked in steers. *J. Anim. Sci.* 68:776.