

UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA

“FRUCTUOSO RODRIGUEZ PEREZ”

CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA

***CARACTERIZACIÓN, DIAGNÓSTICO Y CORRECCIÓN
DE ALTERACIONES EN LAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LA LECHE***

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias

Autor: Dr. Robier Hernández Rodríguez

Tutor: Ing. Pastor Ponce Ceballo Dr. C.

La Habana

2003

INDICE

Introducción	1
PARTE GENERAL	
Capítulo I	4
Revisión bibliográfica	
I.1 Definición y composición general de la leche	4
I.2 Los componentes lácteos	5
I.2.1 Lactosa	5
I.2.2 Compuestos nitrogenados	6
I.2.3 Grasa	10
I.2.4 Vitaminas	12
I.2.5 Contenido de minerales en la leche	13
I.3 Biosíntesis de la leche	15
I.4 Mecanismo de secreción de los componentes de la leche	15
I.5 Factores que influyen en la composición de la leche	17
I.5.1 Factores no nutricionales	17
I.5.1.1 Raza	17
I.5.1.2 Nivel de producción	18
I.5.1.3 Estado de la lactación	19
I.5.1.4 Salud de la ubre	20
I.5.1.5 La época del año	22
I.5.1.6 Número de lactancias y edad del animal	22
I.5.1.7 Número, tiempo y frecuencia de ordeño	23
I.5.2 Influencias nutricionales	24
I.5.2.1 Nivel de alimentación	24
I.5.2.2 Calidad de la ración	25
I.6 Enfermedades metabólicas	28
I.6.1 Síndrome de la vaca gruesa	29
I.6.2 Cetosis	30
I.6.3 Síndrome de depresión de la grasa en la leche	31
I.6.4 Hipocalcemia	32
I.6.5 Hipomagnesemia	32
I.7 Aditivos alimentarios utilizados en la nutrición de la vaca lechera	33
I.7.1 Sustancias buferantes	33
I.7.2 Sustancias alcalinizantes	34
I.7.3 Cultivo de hongos	35
I.7.4 Aluminosilicatos o zeolitas	35
PARTE EXPERIMENTAL	
Capítulo II	
Materiales y métodos generales	
II. 1 Características generales	36
II. 2 Toma de muestra y su manipulación	37
II. 2.1 Leche	37

II. 2.2 Sangre	38
II. 2.3 Alimentos	38
II. 3 Análisis realizados	39
II. 3.1 Leche	39
II. 3.2 Indicadores hematoquímicos	39
II.3.2 Análisis bromatológico	39
II. 4 Datos productivos	40
II. 5 Análisis estadístico	40
Capítulo III	
III. 1 Experimento I. Caracterización de la composición láctea y factores asociados a su variación.	41
Introducción	41
III. 1.1 Materiales y métodos	42
III. 1.2 Resultados y discusión	43
III. 1.3 Conclusiones	54
III. 2 Experimento II. Propiedades físico – químicas de la leche y su asociación con trastornos metabólicos y alteraciones de la glándula mamaria.	55
Introducción	55
III. 2.1 Materiales y métodos	56
III. 2.2 Resultados y discusión	57
III. 2.3 Conclusiones	68
III. 3 Experimento III. Replicación experimental de un cuadro de Síndrome de Leche Anormal (SILA) en condiciones controladas.	69
Introducción	69
III. 3.1 Materiales y métodos	70
III. 3.2 Resultados y discusión	73
III. 3.3 Conclusiones	88
III. 4 Experimento IV. Utilización de formulaciones para la corrección de alteraciones en las propiedades físico-químicas de la leche	89
Introducción	89
III. 4.1 Materiales y métodos	90
III. 4.2 Resultados y discusión	92
III. 4.3 Conclusiones	105
Capítulo IV	
Discusión General	106
Capítulo V	
Conclusiones Generales y Recomendaciones	113
Conclusiones Generales	113
Recomendaciones	114
Bibliografía	

RESUMEN

La existencia de la disminución de los componentes lácteos en los últimos años en Cuba es un fenómeno que se localiza en las zonas de ganadería especializada . El efecto de la época del año y la raza son los factores con mayor influencia sobre dicho comportamiento, donde un elevado porcentaje de estos valores son anormalmente bajos. La identificación del Síndrome de Leche Anormal, el cual se caracteriza por depresión en los sólidos de la leche, disminución en su estabilidad térmica y capacidad buferante, y alteraciones en la aptitud para el procesamiento industrial, emerge como un concepto más abarcador e integral de alteraciones generalizadas de la composición y las propiedades físico-químicas de la leche, las cuales pueden ser agrupadas y clasificadas de acuerdo a indicadores de alarma, obtenidas a partir de umbrales pre-establecidos en base a los criterios de normalidad de cada región e incluso rebaño.

El empleo de mezclas de sustancias reguladoras del ambiente ruminal y portadoras de los minerales enfocadas a lograr efectos combinados producen una recuperación de este trastorno. Expresión de ello lo es la elevación de los niveles de proteína y Sólidos no grasos en la leche, el restablecimiento de las propiedades físico-químicas de la misma y del equilibrio ácido-básico de los animales afectados por el SILA.

INTRODUCCIÓN

La leche continua siendo uno de los alimentos básicos de la nutrición humana, sustentado por la gran diversidad y asimilación de los compuestos esenciales que la integran. Según datos de la FAO (2001), cubre mas del 20% de las necesidades energéticas, 25% de las proteínas y del 50% del calcio de la población en países desarrollados.

Las propiedades físico-químicas de la leche tienen gran importancia desde el punto de vista de su interpretación: Como atributos de la capacidad nutricional del alimento, parte sustancial de los indicadores de la calidad de la materia prima y elemento decisivo en el proceso de elaboración de productos lácteos de calidad.

Existe sin embargo, un cuarto aspecto no menos importante, referido al uso como indicador de los trastornos metabólicos y de la lactación de la vaca lechera, que solo ha sido enfocado de forma limitada. Es importante destacar que en la misma medida que se desarrolla la ganadería y se obtiene rebaños de mayor potencial genético y especialización productiva, también se incrementan los riesgos de aparición de las enfermedades antes señaladas, pues se aumentan las exigencias ambientales, nutricionales y de manejo (Montero, 2001). Referido a las condiciones de explotación de los rebaños en las condiciones tropicales, estos riesgos pueden ser aun mayores, al incrementarse los factores de estrés asociados a la productividad integral y específicamente a los rendimientos y calidad de la leche. La combinación de factores como la época de seca, baja disponibilidad y calidad de los alimentos y animales de mayor especialización productiva, constituye un factor de riesgo en el equilibrio fisiológico de los sistemas involucrados en la síntesis y secreción de la leche (Ponce *et al.*, 1992).

El problema en cuestión ha suscitado el interés científico en algunos países y regiones del mundo, en parte por la posible relación entre estos trastornos y el uso de los indicadores físico-químicos como fuente potencial de diagnóstico rápido de los mismos (Álvarez, 1999a y González 2000), y como vía para evitar cambios indeseables en los

parámetros de normalidad establecidos para el pago al productor y el cumplimiento de la alta exigencia de calidad de la materia prima en la industria para productos como la leche de larga vida, productos fermentados y quesos madurados.

La mayor parte de los trastornos metabólicos y fisiológicos conocidos, tales como son el síndrome de baja grasa, cetosis, hipocalcemia, fiebre de la leche, inicio y final de la lactación, generan alteraciones muy específicas en las características físico-químicas y pueden ser tratados con el manejo y el uso de sustancias que regulan el ambiente ruminal, el metabolismo en general o ambos. Generalmente se reconoce alteraciones en el contenido de grasa láctea, sólidos totales y menores en proteína bruta y caseína, pero no en lactosa, minerales, peso específico, pH, acidez titulable y en las relaciones entre ellos, excepto cuando se trata de la mastitis, cuyos cambios también se identifican con alteraciones específicas (Contreras, 1998 y 2000).

Algunos reportes aislados indican la ocurrencia de alteraciones que implican cambios en la estabilidad térmica, capacidad buferante y el equilibrio mineral, además de la composición (Fossa *et al.*, 1984; Mariani *et al.*, 1991), que no posibilita la clasificación en el cuadro conocido de alteraciones metabólicas y de la lactancia, excluyendo la presencia de mastitis y adulteración de cualquier naturaleza. En el caso de Cuba, se ha reportado durante varios años la depresión en las concentraciones de los componentes mayores de la leche incluyendo la lactosa, alteraciones en los componentes osmóticos y sus relaciones, así como en el peso específico y la acidez (Ponce, *et al.*, 1996 y Ponce, 1999), asociado a rebaños de la raza Holstein- Friesian y cruces cercanos y a las condiciones de restricción nutricional y de manejo en el período de seca. Similar situación ocurre en otros países, sin que exista un diagnóstico y solución integral a dicho problema científico y práctico.

Por ello *la hipótesis* en que se sustenta el siguiente trabajo es la siguiente:

Existe un complejo de alteraciones en las características físico-químicas de la leche asociado a trastornos metabólicos de la vaca lechera, que puede determinarse

combinando estos indicadores y corregirlo mediante el uso de sustancias estabilizadoras del metabolismo general.

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar los indicadores físico-químicos de la leche en Cuba que posibiliten establecer un marco de referencia para posteriormente identificar y clasificar sus posibles alteraciones y corregir las mismas mediante el empleo de formulaciones basadas en combinación de sustancias con posibles efectos beneficiosos sobre el metabolismo general.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I. 1 Definición y composición general de la leche.

La función de la leche en la naturaleza es nutrir y facilitar protección inmunológica a los mamíferos jóvenes, pero también ha sido una fuente de alimentación esencial para el hombre desde tiempos remotos, quien ha desarrollado la especialización productiva de varias especies (Hoffmeister, 1989).

La composición química de la leche es la que sigue:

- 87.3% agua (rango de 85.5% - 88.7%)
- 3.9 % grasa (rango de 2.4% - 5.5%)
- 8.8% sólidos no grasos (rango de 7.9 - 10.0%):
 - Proteína 3.25% (3/4 partes de caseína)
 - Lactosa 4.6%
 - Minerales 0.75% - Ca, P, citrato, Mg, K, Na, Zn, Cl, Fe, Cu, sulfato, bicarbonato.
 - Acidos 0.18% - citrato, acetato, lactato, oxalato
 - Enzimas - peroxidasa, catalasa, fosfatasa, lipasa y otras proteínas
 - Gases - oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono
 - Vitaminas - A, C, D, tiamina, riboflavina, otras.

La estructura física de dichos componentes, hace que sea uno de los líquidos más complejos que se conocen, pues combina propiedades de emulsión, suspensión y solución acuosa (Hurley, 2000). En el primer caso dada por la dispersión de los glóbulos de grasa, en segundo lugar por la suspensión coloidal de las micelas de caseína, proteínas globulares y partículas lipoproteicas y por último, debido a la disolución en agua de la lactosa, proteínas solubles, minerales, vitaminas y otros componentes. De aquí se deriva la importancia de sus interacciones.

La glándula mamaria es uno de los tejidos más activos y diferenciados del organismo, donde ocurren profundos cambios y procesos metabólicos involucrados en la síntesis y

secreción de los componentes (Tucker, 1990), pero que dependen en primera instancia de la digestión de los alimentos en el rumen y en el intestino y del metabolismo en general, de donde provienen la mayor parte de los metabolitos necesarios para la síntesis de la leche (Amiot, 1994, Fox, 1998, Hurley, 2000).

I.2 Los componentes lácteos.

I.2.1 Lactosa

La lactosa es un azúcar estrictamente específico de la leche, y cuya síntesis y secreción esta íntimamente relacionada con el volumen total de leche que producen los mamíferos. La glándula mamaria retiene 900 gramos de agua por cada 50 gramos de lactosa sintetizada, siendo el principal componente osmótico mediante un proceso activo de extracción de agua hacia las vesículas de Golgi donde se produce la síntesis (Forsyth, 1989 y Jensen, 1995).

Desde el punto de vista energético, la síntesis de lactosa consume hasta un 70 por ciento de toda la glucosa circulante en la vaca lechera, lo que representa una considerable carga metabólica para los rumiantes (Ponce y Bell, 1987, Mohar, 1992). En su síntesis participan varios metabolitos como la propia glucosa o derivados de esta, proceso que esta regulado por un complejo enzimático conocido como lactosa-sintetasa, compuesto por dos proteínas: La proteína A, o galactosil transferasa que se encuentra en diversos tejidos y la proteína B o alfa lactoalbúmina que es una proteína sintetizada por las propias células epiteliales del tejido mamario (Mephram, 1983, Luquet, 1995, Kennelly, 1999).

La síntesis de la lactosa (Figura 1) es posible solamente en presencia de la proteína A, pero la reacción exige entonces concentraciones elevadas de glucosa. La α -lactoalbúmina permite que se realice la reacción con cantidades de glucosa muy inferiores, por ello la tasa de síntesis de la lactosa está regulada por esta última. (Forsyth, 1989 y Jensen, 1995).

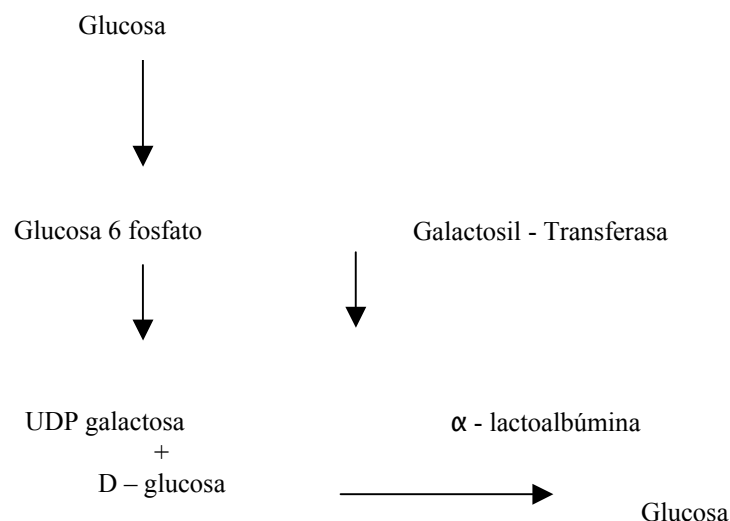


Figura 1. Síntesis de la lactosa

El flujo de alfa lactoalbúmina y su interacción con la proteína A insertada en la estructura de la pared del aparato de Golgi promueve la síntesis continua de lactosa. Se presume que las limitaciones en el precursor glucosa, y en los aminoácidos necesarios para la síntesis de las proteínas del complejo lactosa- sintetasa e incluso en portadores energéticos como el ATP, pudieran condicionar a este nivel la síntesis de lactosa y por tanto la producción láctea (Ponce y Bell, 1984).

1.2.2 Compuestos nitrogenados.

Las proteínas de la leche se originan por síntesis a nivel del retículo endoplasmático rugoso de la célula epitelial mamaria y también por el paso de algunas proteínas de la sangre mediante un proceso de difusión. Las proteínas específicas son sintetizadas a partir de la captación de aminoácidos sanguíneos en un proceso de ensamblaje, similar a otros tejidos. Dichos aminoácidos provienen esencialmente de la digestión de la proteína bacteriana y sobrepasante en el intestino, por lo que en última instancia el papel de síntesis de proteína bacteriana en el rumen es un aspecto de mayor importancia en los rumiantes (Clarck, 1996). Como consecuencia de este fenómeno, las proteínas de la leche son poco sensibles a las variaciones en la calidad de los alimentos dentro de ciertos rangos (Kenelly, 1999). La cantidad de aminoácidos extraídos por la mama no justifica siempre la cantidad de proteínas que son excretadas, observándose una captación excesiva de aminoácidos no esenciales (arginina y valina), mientras que otra parte es

sintetizada en la glándula mamaria a partir de otros aminoácidos comunes (fenómeno de transaminación, por ejemplo arginina u ornitina), de ácidos grasos o de glucosa. (Ikonen y Ojala, 1995 e Ikonen, 1995).

En la síntesis que ocurre en el Retículo Endoplasmático Rugoso (RER), supone que involucra un flujo de vesículas desde este hacia el Aparato de Golgi donde se conforma la miscela de caseína. La manera como ocurre el tránsito del RER al Aparato de Golgi no está bien definida aún. Otros estudios consideran que las cadenas peptídicas pasan a través del lumen, en el RER directamente hacia el interior del aparato de Golgi o que el RER se convierte directamente en el Aparato de Golgi. El proceso de secreción de la micela de caseína ocurre a través de una pinocitosis reversa donde la proteína es vertida dentro del lumen del alvéolo. (Kanno, 1990 y Jensen, 1995).

Esta síntesis exige energía para activar las reacciones, así como una fuente de nitrógeno y depende sobre todo de la concentración energética de la ración. Si faltan aminoácidos, la síntesis de proteínas se detiene y con ella la de lactosa, con lo que la producción de leche disminuye. Inversamente, si existe mucha energía disponible la síntesis de las proteínas estará estimulada, mucho más que la de la lactosa, por ejemplo, con el ensilado de maíz (*Zea mays*), se puede ganar de 1 a 1,5 puntos por ciento de proteína. (Kenelly, 1999).

La síntesis de las proteínas de la leche está regulada sobre todo por mecanismos hormonales y genéticos en especial de las caseínas, α -lactoalbúmina y β lactoglobulina. (Van Eenennam *et al.*, 1991). El contenido de nitrógeno en la leche se distribuye entre las caseínas (76 %), las proteínas del suero (18%) y el nitrógeno no proteico NNP (6 %). (Jonker *et al.*, 1998 y 1999). (Ver Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de nitrógeno de la leche

	gramos/ litro	% del nitrógeno total
Proteína Total	33	100
caseínas Totales	26	76.0

alpha s1	10	28.4
alpha s2	2.6	8.0
beta	9.3	28.4
kappa	3.3	11.2
Proteínas del suero Totales	7.0	18.0
alpha lactoalbúmina	1.2	3.7
beta lactoglobulina	3.2	7.8
BSA	0.4	1.2
Immunoglobulinas	0.7	2.5
Proteosa peptona	0.8	2.8
Nitrógeno no Proteico (NNP)		6.0

Fuente: Ikonen *et al.*, (1995),

El grupo mayoritario de las proteínas de la leche son las caseínas, las cuales existen en la leche como partículas coloidales conocidas como micelas de caseína. Su función biológica está en portar grandes cantidades de Ca y P insolubles para el mamífero lactante en forma líquida, para formar después un coágulo estomacal logrando así mejor eficiencia en la nutrición. Además del calcio y el fósforo de la miscela, la misma contiene también citrato y otros iones, interactuando con su forma soluble. La estabilidad de la miscela de caseína depende de la presencia de la Kapa-caseína (CN) en la superficie de la misma, la cual tiene como función ser una interfase entre las caseínas hidrofóbicas del interior de la micela y el medio acuoso. En resumen, cada micela está constituida por un núcleo o centro hidrofóbico, recubierto por una capa hidrofílica que no es otra cosa que la estructura de la Kapa-caseína. (Mao *et al.*, 1992 y Mercier *et al.*, 1993).

Las proteínas no específicas de la leche (inmunoglobulinas y albúmina sérica) refieren Sawyer *et al.* (1993), provienen de la sangre por difusión. Sin embargo, algunas inmunoglobulinas son sintetizadas y secretadas por la glándula mamaria en los casos de infecciones como por ejemplo, la brucelosis.

El nitrógeno no proteico presente en la leche es de origen alimentario o metabólico. Su componente principal es la urea que representa del 20 al 75 % de esta fracción nitrogenada de la leche, en concentraciones de 50 a 200 mg de nitrógeno por litro de leche. La urea de la leche proviene de la sangre y su concentración es la misma en ambos líquidos. Es importante señalar que la urea constituye un importante indicador del balance energía/proteína en la dieta de la vaca lechera (Hutjen, 1996; Broderick *et.al.*, 1997 y Hoff *et.al.*, 1997).

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 la síntesis de la mama, como nucleótidos, bases nitrogenadas y ácido orótico (Amiot, 1994).

I.2.3 Grasa.

La grasa láctea está compuesta en más del 95 % de su peso en triglicéridos y el resto de ésteres de colesterol, ácidos grasos libres y fosfolípidos. (Walstra *et. al.*, 1984 y Place *et al.*, 1988). Estos se sintetizan directamente en la glándula mamaria, a partir de los precursores básicos (Acetato y β – Hidroxibutirato).

Los ácidos grasos preexistentes en la sangre son el resultado de la síntesis que tienen lugar en los diversos órganos, como por ejemplo el hígado y el tejido adiposo. El hígado sintetiza sobre todo ácidos grasos saturados de 16 y 18 átomos de carbono y monoinsaturados de 16 y 18 átomos de carbono.

El organismo animal no sintetiza los ácidos grasos poliinsaturados linoleico y linolénico (Mohar, 1992).

Para la síntesis de las grasas, la glándula mamaria utiliza el glicerol y los ácidos grasos activados.

La glándula mamaria sintetiza in situ los ácidos grasos saturados de hasta 16 átomos de carbono. Esta síntesis se realiza bajo el control de las enzimas presentes en el citoplasma celular y tiene lugar por intermedio del malonil CoA, activado por la coenzima A. En el caso de la síntesis “de novo”, los ácidos volátiles sirven de precursores y el alargamiento de la cadena se realiza por adiciones sucesivas de grupos de dos átomos de carbono, que provienen del ácido acético circulante y directamente a partir del ácido β -hidroxibutírico, hasta que se combinan 10 átomos de carbono. (Jensen, *et al.*, 1991)

Si el precursor es el ácido acético, se forman ácidos saturados de número par de átomos de carbono, que constituyen la mayoría de los ácidos grasos sintetizados in situ (Dil, 1986; Fox, 1992 y Hurley, 2000).

La glándula mamaria solamente puede sintetizar como máximo ácidos grasos de hasta 16 átomos de carbono (ácido palmítico), por lo que este ácido graso se acumula en la glándula mamaria. Para la elongación de la cadena desde 16 a 18 átomos de carbono es necesario la intervención de otro sistema enzimático (mitocondrial), lo que no se produce en la glándula (Akers, 1990; Jensen, 1995 y Luket, 1995).

En la mama, la síntesis de los ácidos grasos se realiza bajo el control parcial de las proteínas, aunque este control es menos estricto que en el caso de la lactosa (Cant *et al.*, 2002). Existe pues una conexión de síntesis que explica las correlaciones positivas encontradas entre las tasas de materia grasa y de compuestos nitrogenados. Debe indicarse que la liberación de los ácidos grasos por hidrólisis de los triglicéridos de la sangre tiene lugar por la acción de la lipoproteína lipasa sintetizada por la glándula mamaria, que se encuentra en los capilares sanguíneos. La actividad de esta enzima es muy importante al comienzo de la lactancia, lo que podría explicar la elevada tasa de grasa de los primeros días postparto, así como el que la proporción de ácidos grasos de cadena larga de la leche sea mayor al comienzo de la lactancia que después. (Jensen, 1991).

Dentro de la célula secretora mamaria las pequeñas gotas de grasa son más numerosas en la porción apical de la misma que en la membrana basal. El incremento del tamaño de las gotas de grasa se debe a la unión de varias de ellas. Cerca de la membrana apical de la célula grandes fuerzas de atracción (fuerza Landon- Van der Walls) conllevan a que las gotas de grasa sean envueltas por la membrana citoplasmática (Kanno, 1990), hasta que las gotas están completamente rodeadas por dicha membrana y son liberadas dentro del lumen alveolar. Durante este proceso, pequeñas cantidades de citoplasma pueden quedar atrapadas (Wilde *et al.*, 1996).

I.2.4 Vitaminas.

Las vitaminas son sustancias orgánicas esenciales para todos los procesos bioquímicos del organismo animal. La leche contiene las vitaminas liposolubles tales como Vitamina A, D, E y K (Tabla 2). La vitamina A se deriva del retinol y de los β carotenos obtenidos de los pastos y forrajes con la alimentación (Amiot, 1994). La leche también es una importante fuentes de vitaminas hidrosolubles, entre ellas: B1- tiamina, B2- riboflavina, B6- Piridoxina, B12- Cianocobalamina, Niacina, Ácido pantoténico y también pequeñas cantidades de Vitamina C (ácido ascórbico).

Tabla 2. Contenido de vitaminas en la leche cruda (Fox, 1992).

Vitamina	Contenido por litro de leche
A (µg)	400
D (IU)	40
E (µg)	1000
K (µg)	50
B1 (µg)	450
B2 (µg)	1750
Niacina (µg)	900
B6 (µg)	500
Acido pantoténico (µg)	3500
Biotina (µg)	35
Acido fólico (µg)	55
B12 (µg)	4.5
C (mg)	20

I.2.5 Contenido de minerales en la leche.

Los 22 minerales considerados esenciales en la dieta se encuentran presentes en la leche. Según Kenelly (1999), estos se pueden agrupar según su presencia en la leche en tres grupos:

- Sodio (Na), potasio (K) y cloruros (Cl): estos iones libres están correlacionados con la lactosa y junto a esta mantienen el equilibrio osmótico entre la leche y la sangre.
- Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo inorgánico (P-i) y citrato: Este grupo consiste en las 2/3 partes del Ca, 1/3 del Mg, 1/2 del P-i y menos de 1/10 del citrato en forma coloidal presentes en la micela de caseína.
- Sales disueltas de Ca, Mg, citrato y fosfatos: Estos elementos son dependientes del pH y contribuyen al equilibrio ácido-básico de la leche.

El contenido mineral de la leche es muy amplio (Tabla 3), aunque desde el punto de vista nutricional, el calcio y el fósforo tienen la mayor la mayor importancia. (Walstra *et.al.*, 1984; Place, 1988 y Hurley, 2000).

Tabla 3. Contenido mineral de la leche.

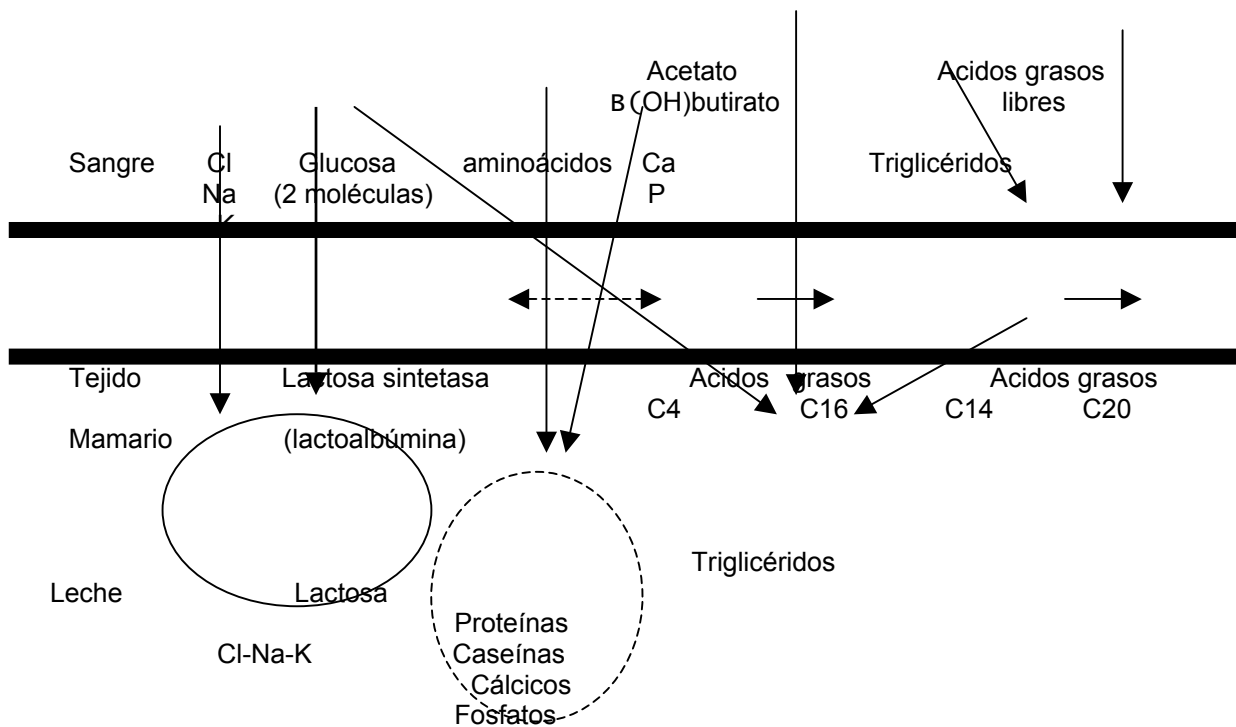
Mineral	Contenido por litro de leche
Sodio (mg)	350 - 900
Potasio (mg)	1100 - 1700
Cloruro (mg)	900 - 1100
Calcio (mg)	1100 - 1300
Magnesio (mg)	90 - 140
Fósforo (mg)	900 -1000
Hierro (µg)	300 - 600
Zinc (µg)	2000 - 3000
Cobre (µg)	100 - 600
Manganeso (µg)	20 - 50
Yodo (µg)	260
Flúor (µg)	30 - 220
Selenio (µg)	5 - 67
Cobalto (µg)	0.5 - 1.3
Cromo (µg)	8 - 13
Molibdeno (µg)	18 - 120
Nickel (µg)	0 - 50
Vanadio (µg)	Trazas - 310
Arsénico (µg)	20 - 60

El contenido mineral de la leche es estable y solo se reportan cambios sustanciales en el caso de los electrolitos, afectados por el estado de la lactancia y por enfermedades como la mastitis o cuando ocurren alteraciones en el tejido mamario (Armenteros, 1998 y Hurley, 2000).

I.3 Biosíntesis de la leche.

La figura 2, refleja el balance general de la biosíntesis de los componentes de la leche.

Figura 2. Biosíntesis de los componentes lácteos.



El esquema expresa claramente el flujo de nutrientes y sustancias desde que aparecen los precursores en la sangre, hasta la composición final de la leche. Adaptado de Jensen (1995).

I.4 Mecanismo de secreción de los componentes de la leche.

El mecanismo de secreción láctea puede resumirse de la siguiente manera (Figura 3)

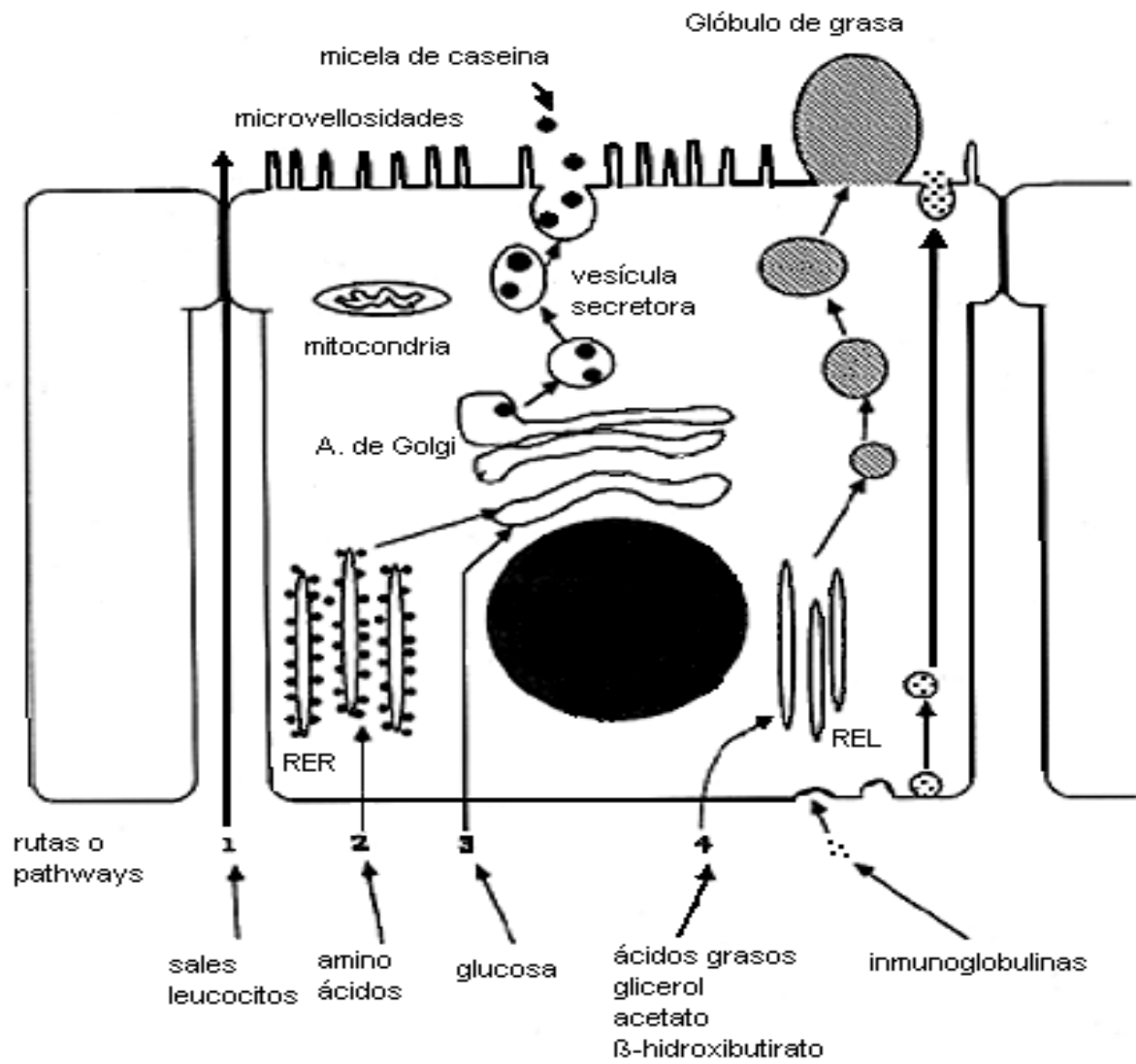


Figura 3. Mecanismo de secreción láctea

Adaptado de Hurley (2000).

I.5 Factores que influyen en la composición de la leche.

Sobre la composición de la leche influyen factores nutricionales y factores no nutricionales. (Strandberg, 1991 y Durr *et al.*, 2000).

I.5.1 Factores no nutricionales.

I.5.1.1 Raza.

Existen notables diferencias entre razas con relación a los componentes mayores de la leche, donde se distingue la raza Holstein con niveles de sólidos más bajos si se compara con otras razas como la Jersey, que registra la mayor composición (Tabla 4).

Tabla 4. Composición media de la leche en las principales razas lecheras.

Razas	Por ciento			
	Grasa (%)	Proteína Total (%)	Proteína Verdadera (%)	Sólidos Totales (%)
Ayrshire	3.88	3.31	3.12	12.69
Brown Swiss	3.98	3.52	3.33	12.64
Guernsey	4.46	3.47	3.28	13.76
Holstein	3.64	3.16	2.97	12.24
Jersey	4.64	3.73	3.54	14.04
Shorthon Lechero	3.59	3.26	3.07	12.46

Adaptado de Amiot, (1994).

La raza constituye hoy uno de los factores más relevantes a considerar en la composición de la leche, puesto que la grasa y proteína lácteas son caracteres genéticos con alta heredabilidad (Imagawa *et.al.*, 1994).

La heredabilidad estimada para la producción de leche es relativamente baja (0.25), según Mercier *et al.*, (1993), sin embargo la heredabilidad estimada para la composición de la leche es bastante alta (0.50). Opuestamente los factores ambientales como la nutrición y el manejo alimentario pueden tener mayor efecto sobre la producción que sobre la composición de la leche (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1984 y Ponce, 1984). En la

práctica, en los últimos 20 años se ha logrado un incremento de los sólidos de la leche, manteniéndose altos niveles productivos, debido al manejo combinado de la genética y la alimentación

Es por ello que la selección genética en ganado lechero deber ser enfocada directamente al incremento de los componentes, aunque por el momento resulta muy difícil lograrlo puesto que existe una asociación genética negativa entre estos y la producción de leche (Blackburn, 1993).

De igual manera, la selección de sementales sobre la base de porcentajes de grasa y proteína láctea resultará en una reducción de los rendimientos en producción de leche y en una mejora mínima en los rendimientos en grasa y proteína en su descendencia. Debido a que el pago de la leche está basado en el nivel de sólidos, se debe enfocar la selección de los sementales basado en el rendimiento de grasa más proteína láctea, lo que resultará no solo en un incremento en producción de leche sino también en mayores porcentajes de grasa y proteína y en sus rendimientos individuales (Velmala *et al.*, 1993).

I.5.1.2 Nivel de producción.

Los rendimientos en grasa, proteína, sólidos no grasos y sólidos totales son altos y positivamente correlacionados con la producción de leche. Sin embargo los valores porcentuales de los mismos en la composición de la leche disminuyen en la misma proporción (Beever *et al.*, 1991 y Coulon *et al.*, 2000).

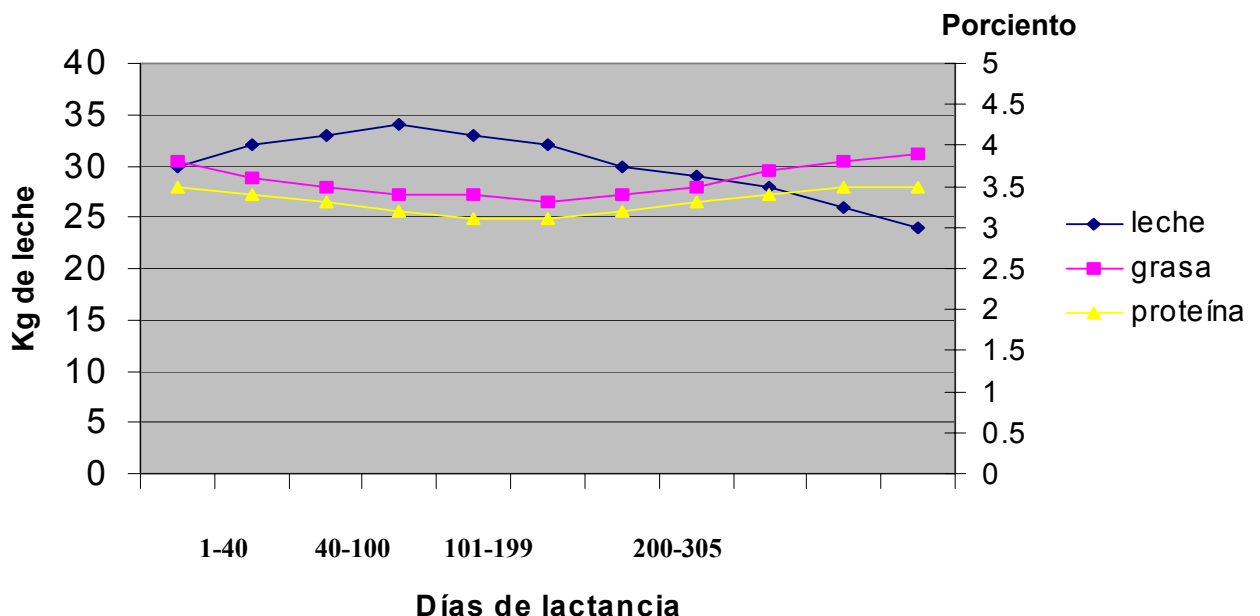
El concepto del rendimiento de los componentes lácteos contra la composición de la leche se puede ilustrar comparando diferentes producciones de leche con una composición en proteína similar (Mao *et al.*, 1992). Si la producción o rendimiento por vaca se incrementa de 29,5 a 31,8 Kg. mientras la composición de la proteína permanece constante en 3.1 por ciento, se alcanzan incrementos de 0.07 Kg. más de proteína por día. Si el porcentaje de la proteína aumenta de 3.1 a 3.2 por ciento mientras que la producción por vaca se mantiene a 29, 5 Kg, los aumentos de la producción o rendimiento de la proteína por sólo 0.03 Kg por vaca por día.

I.5.1.3 Estado de la lactación.

El curso de la lactancia, no solo afecta la producción de leche, sino también la composición. Normalmente, un aumento en el rendimiento de leche es seguido por una disminución en los porcentajes de grasa y proteína en leche mientras los rendimientos de estos componentes permanecen igual o en aumento. (Knight y Wilde, 1987; Akers, 1990 y Pérochon *et al.*, 1996).

Los cambios en los rendimientos productivos durante el ciclo de lactancia, influyen de manera inversa a la composición. Generalmente, en el primer tercio de la lactación y concomitante con el pico de lactancia, se registran las menores concentraciones de grasa, proteína y sólidos de la leche, situación que se invierte al final de la lactancia (Beever *et al.*, 1991, Blackburn 1993, Akers, 1996 y Hurley, 2000). Se exceptúan de este cuadro, las concentraciones de lactosa y potasio que disminuyen al final de la lactancia (Ponce y Bell, 1986). Lo descrito anteriormente puede constarse gráficamente en la figura 4.

Figura 4. Comportamiento de la producción de leche, el por ciento de grasa y proteína durante el ciclo de la lactancia.



Adaptado de Oldaham (1991).

Sin embargo, este comportamiento se ajusta más a rebaños de vacas altas productoras, donde se aseguran todas las condiciones de manejo y alimentación, ya que otros reportes sobre animales de menor producción y en condiciones rústicas de explotación no se observa este comportamiento típico. En estos las curvas de lactancia son menos

pronunciadas y en ocasiones lineales (Ponce, 1985). En tales condiciones, se evidencia una mayor influencia de los factores de manejo y alimentación. El tipo de animal y las condiciones de explotación, también son elementos muy relacionados con estos factores (Pérochon *et al.*, 1996).

I.5.1.4 Salud de la ubre.

La mastitis es la enfermedad que más afecta la producción y la composición de la leche y por ello ha sido ampliamente estudiada (Calvinho, 1995; Smith, 1996 y Rajala-Schultz *et al.*, 1999). La tabla 5 muestra los cambios que ocurren en la composición de la leche con niveles altos de células somáticas, ocurriendo una reducción en el contenido de grasa y caseína y un aumento en el contenido de suero de leche. Estos cambios en las proteínas de leche, en unión con modificaciones en la lactosa, el contenido del mineral y pH de leche, tienen como resultado bajos rendimientos en la producción de queso y alteraciones en las propiedades y en la aptitud industrial de esa leche (Armenteros, 1998). Bajo dichas condiciones se aprecia un tiempo de coagulación más largo y una cuajada más débil que la leche no afectada.

Tabla 5. Cambios en la composición de la leche asociados a elevados conteos de células somáticas (CCS).

Componente	Leche normal	Leche con elevado CCS
SNG (%)	8.9	8.8
Grasa (%)	3.5	3.2
Lactosa (%)	4.9	4.4
Proteína (%)	3.61	3.2
Proteínas del suero (%)	0.8	1.3
Sodio (mg)	570	1050
Cloruro (mg)	911	1470
Potasio (mg)	1500	1750
Calcio (mg)	1200	400

Adaptado de Philpot (2001).

I.5.1.5 Época del año.

Los porcentajes de grasa y de proteína son más altos durante el invierno y más bajos durante el verano (Dahl *et al.*, 1998). Esta variación está relacionada con cambios en la disponibilidad y calidad de los alimentos y las condiciones climáticas. Durante el verano (época lluviosa) los pastos son bajos en fibra y se deprimen los niveles de grasa en la leche. Además las altas temperatura y la alta humedad disminuyen los niveles de consumo. Durante el invierno (época poco lluviosa) disminuye la disponibilidad y la calidad de los alimentos (pastos y forrajes), por lo que aumentan los niveles de grasa en leche, pero disminuye la producción de leche (Coulon y Pérochon, 2000).

Los factores ambientales en la mayoría de los casos afectan directamente el nivel de consumo de los animales dando como resultados variaciones significativas en la producción de leche y en la composición (De Lima *et al.* 2001). Cuando la temperatura se encuentra por encima de los 30 °C se reduce la producción de leche, además de los niveles de grasa y proteína, debido a la reducción del ingreso de energía a través de la dieta. La combinación del estrés calórico, con la pobre suplementación o una dieta basada solamente en forrajes condiciona en la lactancia temprana y media a una disminución de los rendimientos lácteos.

I.5.1.6 Número de lactancias y edad del animal.

Los niveles de producción de leche aumentan con las sucesivas lactancias de la vaca, obteniéndose los mayores volúmenes entre la tercera y la cuarta lactancia, lo que depende en gran medida de la edad de incorporación del animal a la reproducción y el manejo del mismo durante su vida productiva (Ponce 1984, Beever *et al.*, 1991, Imagawa *et al.*, 1994, Aranda *et al.*., 2001).

Mientras el contenido de grasa en la leche permanece relativamente constante, el contenido de la proteína en leche gradualmente disminuye con avance de la edad (Wilde, 1996 y Hurley, 1996). Un estudio del DHIA, 2000 (Dairy Herd Improvement Asociation of Dept. of Agriculture of United States) en rebaños Holstein Friesian indica que el contenido

de la proteína en leche disminuye típicamente de 0.10 a 0.15 unidades sobre un período de cinco o más lactancias o aproximadamente 0.02 a 0.05 unidades por lactancia.

I.5.1. 7 Número, intervalo y tiempo de ordeño.

El incremento de uno a dos y hasta tres ordeños diarios, es un criterio más de tipo práctico y económico, que de otra naturaleza. Cuando se tienen vacas con producciones por debajo de los 10 litros de leche, la realización de dos ordeños diarios no se justifica, pues los incrementos productivos no rebasan por regla general el 10 – 15 porciento (Ponce 1984, Erdman y Varner, 1995). Una situación diferente se presenta en rebaños altos productores y con excelente manejo y alimentación, puesto que el doble ordeño se hace necesario cuando la presión interna debido al rápido llenado de la ubre se convierte en un factor limitante para la producción (Bigner *et al.*, 1997; Bandler, 1997 y Lacy-Hulbert *et al.*, 1999).

El intervalo entre ordeños, es más común de 12 horas o con ajuste de 10/14 horas, tratando de evitar las altas temperaturas durante el verano, potenciando así las horas de máximo pastoreo.

El tiempo de ordeño está relacionado en la práctica con la rutina empleada, aunque debería ajustarse más a las características de ordeñabilidad de los animales. Para ello agrupar vacas de rápido ordeño (menos de 7 minutos) es una práctica aconsejable y dejar para el final las vacas que demoran más durante el ordeño. En todos los casos, la composición láctea está relacionada inversamente con el número e intervalo en que se produce el mayor volumen de producción láctea. Sin embargo un ordeño incompleto aumenta el volumen de leche residual en la ubre, disminuye el porciento de grasa y la producción de leche en el siguiente ordeño, lo cual de suceder de manera continua, logra una depresión irreversible de la producción láctea (Ponce 1984, Knight y Wilde 1987 y Lacy-Hulbert *et.al.*, 1999).

I.5.2 Influencias nutricionales.

Del conjunto de alteraciones en las características físico-químicas de la leche, la concentración de grasa es la que resulta más sensible a cambios nutricionales y puede

variar casi 3.0 unidades porcentuales. Los efectos que tiene la alimentación sobre la concentración de la proteína láctea puede producir cambios hasta de 0.60 unidades porcentuales. Las concentraciones de la lactosa y minerales, no responden previsiblemente a ajustes en la dieta y tampoco se han reportado efectos sensibles sobre el pH, la acidez y el peso específico de la leche. (Fredeen, 1996 y Mackle *et al.*, 1999).

I.5.2.1 Nivel de alimentación.

Las vacas con bajos niveles de alimentación reducen la producción de leche y el porcentaje de lactosa solo dentro de ciertos límites, sin embargo se producen aumentos en el porcentaje de grasa láctea (Palmquist, 1993). Por regla general, cualquier ración que aumenta la producción de leche reduce generalmente el porcentaje de grasa en la leche. La subalimentación es el único régimen nutricional que altera la lactosa donde el porcentaje de la misma solo se reduce levemente (Oldham, 1991).

Diversas investigaciones han demostrado que por cada 30 Kg de incremento de peso vivo al momento del parto se logran incrementos en la producción de leche de 122 Kg, 8 Kg de grasa y 4 Kg de proteína durante las primeras 20 semanas de la lactancia. Sin embargo los efectos de la condición corporal sobre los porcentajes de grasa y proteína son pequeños. Durante la lactación los efectos del nivel de alimentación sobre el porcentaje de grasa y proteína son variables. Durante la lactancia si se incrementa el consumo de alimentos, también se incrementa la producción de leche y los rendimientos en grasa y proteína. Con el incremento del consumo, el porcentaje de grasa en la leche tiende a disminuir, si embargo el porcentaje de proteína manifiesta un ligero incremento. Esta última, en animales adecuadamente alimentados se encuentra raramente por debajo de los 3.2 por ciento, sin embargo en rebaños con malas condiciones alimentarias puede decaer hasta 2.8 por ciento (Coulon y Pérochon, 2000).

Durante el primer tercio de la lactación, las demandas nutricionales de la vaca lechera, son mayores que la capacidad física de cubrir dichas demandas y ocurre un proceso de balance energético negativo. (Fredeen, 1996).

I.5.2.2 La calidad de la ración.

El uso de pastos de buena calidad en la alimentación de la vaca lechera trae como resultados un incremento en la producción de leche y en los rendimientos en grasa y proteína lácteas (Juárez *et al.*, 1999 y Pérez, 2001). La influencia de especies de pastos sobre la producción y composición de la leche se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Efecto de algunas especies de pastos sobre la producción de leche, grasa y proteína.

	Experimento 1		Experimento 2	
	Kikuyu (<i>Pennisetum clandestinum</i>)	Ryegrass (<i>Lolium perenne</i>)	Ryegrass (<i>Lolium perenne</i>)	Trébol (<i>Trifolium repens</i>)
Producción de leche (L/día)	13.4	19.4	16.5	18.9
Grasa (%)	3.7	3.5	3.7	3.5
Grasa kg./día	0.51	0.70	0.59	0.69
Proteína %	2.9	3.2	3.0	3.2
Proteína kg./día	0.40	0.64	0.51	0.62

Adaptado de White *et al.*, (2002).

Aumentos en la producción de leche, así como del porcentaje de proteína, producen un incremento además en los rendimientos en proteína en la leche (White *et al.*, 2002).

Las diferencias que se presentan entre las especies de pastos son inherentes al consumo voluntario de los animales. Sin embargo entre el ryegrass (*Lolium perenne*) y el trébol (*Trifolium repens*), estas se mantienen cuando los niveles de alimentación con ambos son similares.

En el caso del trópico, García López *et al.*, (1988), señala que los pastos constituyen la base alimentaria de la vaca lechera, donde se presentan en la mayoría de ellos un bajo nivel de energía y proteína. Ello constituye la principal causa que afecta la producción de leche y la composición, donde se hace necesario suplementar con granos o cereales y lograr balancear adecuadamente la ración.

En estos casos se emplean los concentrados a base de cereales, los cuales resultan en un incremento en la producción de leche y en los rendimientos en grasa y proteína. La vaca lechera generalmente usa los suplementos proteicos como una fuente de energía, más que como fuente de proteína a la ubre. Si en la dieta se cubren los niveles de proteínas en la ración total de la vaca lechera, un suplemento proteico adicional logrará

los mismos incrementos en el porcentaje de proteína láctea que una ración de cereales con un nivel de energía similar (Kalscheur *et al.*, 1999).

Cuando el contenido de proteína en la dieta es bajo, un suplemento proteico en la misma incrementa el contenido energético de la dieta en su totalidad a través de un incremento de la digestibilidad de la dieta, como resultado el porcentaje de proteína en la dieta también se incrementa. Tanto la producción de leche como la proteína láctea se incrementa cuando la deficiencia de energía en la dieta está corregida si esta se encontrara deficitaria. (Kalscheur *et al.*, 1999).

Sin embargo cuando el uso de concentrados en la dieta de la vaca lechera es elevado y constituye más del 60 por ciento de la misma se produce cierta depresión en el porcentaje de la grasa láctea (Ponce *et al.*, 1990).

Para mantener e incluso incrementar los niveles de grasa láctea, es aconsejable además el empleo de pequeñas cantidades de fibra en la dieta. El aporte diario de 2 a 3 kg./vaca de heno de buena calidad unido a una alimentación a base de pastos de buena calidad logran mantener el porcentaje de grasa en la leche. Además para eliminar el efecto de la depresión de la grasa se necesita de un 15 – 17 por ciento de fibra en la dieta. (Van Soest *et al.*, 1991 y Balbinotti *et al.*, 2001). Sin embargo el mayor contenido de fibra en los pastos maduros hace que disminuya su calidad (menor digestibilidad), se afecte en consecuencia el consumo de materia seca por parte de los animales, y disminuya la producción diaria de leche (Rearte, 1993).

Cuando las vacas consumen pasturas con mayor cantidad de fibra, al avanzar la primavera, se recuperan los porcentajes de grasa en la leche, pero a costa de una menor producción de leche, obteniéndose menores producciones de grasa diaria. El menor consumo de energía de las vacas sobre pasturas maduras se refleja también, en menores porcentajes de proteína de la leche lo que unido a una menor producción, provoca importantes disminuciones en la producción diaria de proteína. El mayor valor nutritivo de los pastos en la época lluviosa, se debe a que en esta época una mayor proporción de la proteína de los pastos y forrajes está como proteína verdadera, mientras que en la época

de seca, parte de dicha proteína está como nitrógeno no proteico (Oldham, 1991; Rearte, 1993; De Lima *et al.*, 2001)

En resumen, los efectos de la alimentación sobre los parámetros físico-químicos son mínimos. Solo pequeños cambios en las concentraciones de lactosa y minerales han sido reportados, aunque sobre este particular no existen evidencias que reflejen alteraciones en el equilibrio mineral o en la estabilidad térmica de la leche por estas causas (Ponce, 1999).

I.1.6 Enfermedades metabólicas.

Los rebaños lecheros de alta producción deben contar con un adecuado balance de nutrientes, especialmente en los períodos de mayores necesidades nutricionales, que se corresponden con el inicio de la lactación. En el período inicial, la vaca llega al nivel máximo de producción y a su vez el consumo de alimentos voluntarios se deprime, además los aportes de la dieta no logran cubrir los elevados requerimientos metabólicos, debiendo movilizar sus reservas corporales para compensar esta situación (Pocknee, 1998 y Barros, 2001).

La ocurrencia entonces de desbalances nutricionales, deficiencias o inadecuado manejo de los programas de alimentación para vacas lecheras pueden conducir a la aparición de varios trastornos en la salud de los animales los cuales se denominan enfermedades o trastornos metabólicos de la vaca lechera (Alvarez, 1999^a).

Los trastornos metabólicos cobran mayor importancia en la misma medida en que la ganadería lechera se desarrolla, pues una vez establecido un control estricto sobre las enfermedades infectocontagiosas, el aumento del potencial genético de los rebaños y se optimizan las condiciones de manejo y alimentación se logra aumentar la productividad lechera y entonces comienzan a aparecer con mayor frecuencia dichos trastornos. Estas alteraciones constituyen después de la mastitis el principal problema en todos los países de ganadería lechera desarrollada, por las grandes pérdidas económicas que implican (González, 2000 y Alvarez, 1999a).

El estrés producido por los trastornos metabólicos reducen la capacidad de resistencia y comprometen el funcionamiento del sistema inmunológico del animal (Contreras, 2000). Si esta situación no se previene a tiempo, se producen consecuencias altamente costosas en la reproducción, y la producción de leche. En los rebaños de los Estados Unidos (National Research Council, 2001), las pérdidas por concepto de los trastornos metabólicos se calculan entre un 20 – 25 por ciento de las pérdidas totales anuales.

A continuación se relacionan las principales enfermedades metabólicas de la vaca lechera:

I.1.6.1 Síndrome de la vaca gruesa.

Esta patología se presenta durante el período seco y la lactancia temprana (Barbano, 1999), y reconoce que el alto nivel energético de la ración produce una alta acumulación de grandes cantidades de grasa de reserva. Ello desencadena en la primera etapa de la lactancia una lipólisis elevada con un aporte excesivo de ácidos grasos al hígado, conduciendo a una lesión hepática, con consecuencias metabólicas y reproductivas, razón por la cual algunos autores la llaman Síndrome del hígado graso. El complejo sintomático descrito está dado por obesidad, problemas reproductivos tales como dificultad al parto, retención placentaria, además trastornos nerviosos como depresión y fatiga, trastornos en la ubre como edemas y mastitis, desplazamiento del abomaso y enfermedades podales. Durante la existencia de esta situación se presentan otras patologías tales como fiebre de la leche, cetosis, desplazamiento del abomaso, retención placentaria y metritis (Álvarez, 1999a y Barros, 2001).

I.1.6.2 Cetosis.

Esta enfermedad ocurre frecuentemente en vacas de alta producción en las primeras semanas después del parto (González, 2000). La cetosis se desarrolla cuando la gluconeogénesis no supe los requerimientos de glucosa del animal, por lo que es necesaria la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo para suplir el déficit energético con el consecuente aumento de la cetogénesis (Khaled y Gajdsek, 1999). La escasez de oxaloacetato en su doble papel, como precursor de la gluconeogénesis e

intermediario del ciclo de Krebs es de suma importancia en la aparición de este trastorno. La carencia de oxaloacetato que alimenta el ciclo de Krebs, proveniente del metabolismo de los carbohidratos, hace que no puede ser metabolizado por esta vía el acetil - CoA ruminal (acetoacetato activado) o el producto de la Beta – oxidación de los ácidos grasos, recurriendo a la vía alternativa de la cetogénesis, generando un exceso de cuerpos cetónicos. La alta concentración de proteínas en la dieta, asociada a la ingestión de bajos niveles energéticos, se consideran como los principales factores predisponentes a la aparición del trastorno (Rajala – Schultz *et al.*, 1999 y González 2000).

Los principales síntomas se consideran la pérdida del apetito, pérdida de peso, disminución de la producción de leche y otros. Los principales signos metabólicos que denotan su presencia están el aumento de los cuerpos cetónicos y de los ácidos grasos libres en sangre, hipoglicemia y disminución del glucógeno hepático. En estos casos la glicemia puede decaer de 50 – 70 mg/dL (2,8 – 3,9 mmol/L) a niveles de 20 – 40 mg/dL (1,1 – 2,2 mmol/L), los cuerpos cetónicos de niveles fisiológicos de 10 mg/dL (0,9 mmol/L), pueden ascender en sangre hasta valores de 100 mg/dL (9,6 mmol/L). (Barros, 2001). En la leche no se reportan cambios significativos de importancia.

I.1.6.3 Síndrome de depresión de la grasa en leche.

Como su nombre lo indica, se caracteriza por una sensible disminución del contenido porcentual de grasa láctea, que no está asociado con el inicio de la lactación, sino a los regímenes alimentarios propios de la producción intensiva de leche a base de dietas altas en concentrados y bajas en alimentos fibrosos, los pastos, forraje y heno. (Oldham, 1991, Palmquist *et al.*, 1993 y Pérez, 2001). La inclusión en la dieta de la vaca lechera de un alto contenido de concentrados o cuando el forraje presente en la dieta posee un tamaño de partícula menor a 3 mm, la concentración de acético (AGV) en el rumen disminuye y se incrementa en la misma proporción el contenido de propiónico. La falta de acético provoca una carencia de precursores para la síntesis de los ácidos grasos en la glándula mamaria.

Debido a que este trastorno provoca la distorsión de la fermentación ruminal y un grupo de desórdenes bioquímicos, la única medida para su corrección es adecuar la relación concentrado:fibra en la dieta, de tal forma, que se cubran los requerimientos energéticos de la vaca y no se produzcan alteraciones en el metabolismo ruminal negativas al metabolismo general, ni alteraciones en la composición de la leche. También dietas altas en proteínas son efectivas para prevenir la severidad de la depresión de la grasa en la leche (Wittwer, 2000). No se observan otras alteraciones en la leche.

I.1.6.4 Hipocalcemia.

Denominada también fiebre de la leche o paresia puerperal, este trastorno metabólico se presenta entre el primer y tercer día después del parto en vacas de alta producción. La vaca presenta debilidad muscular, colapso circulatorio y decúbito. Fredeen (1996) plantea que etiológicamente la enfermedad manifiesta una disminución del calcio plasmático, tanto el calcio total como el ionizado. Ello en gran medida se debe a un aporte inadecuado del mismo en la dieta, justo cuando la demanda del mineral es elevada. Cuantitativamente expresado, una vaca que produzca 30 Kg de leche en un día a razón de 1,2 g de Ca/kg. de leche, necesita 36 g de esta mineral. Por otra parte, el calcio en la leche es diez veces superior al calcio plasmático. También hay que tener en cuenta que la parte metabólicamente activa del calcio plasmático es el calcio iónico, que es aproximadamente, la mitad del calcio circulante (González, 2000). A su vez esta situación se puede presentar conjuntamente con trastornos del equilibrio ácido – básico, aunque existen reportes de predisposición genética, sobre todo que dicho trastorno se presenta con mayor frecuencia en la raza Jersey (Pérez, 2001). Otros cambios bioquímicos concomitantes con la hipocalcemia son la hipofosfatemia, hipermagnesemia, hiperglicemia e hipoinsulinemia. Se considera que a niveles de calcio sanguíneo de 6,5 mg/dL (1,6 mmol/L) comienzan a observarse algunos síntomas. Sin embargo cuando el tenor de calcio sanguíneo llega a ser menor de 4,5 mg/dL (1,1 mmol/L), la sintomatología se hace manifiesta en su totalidad (Rajala – Schultz *et al.*, 1999)

I.1.6.5 Hipomagnesemia.

Este trastorno metabólico es mundialmente conocido como tetania de los pastos. Es típico de los países templados con ganado estabulado durante el invierno. (White *et al.*, 2002). En este caso se presenta un síndrome tetánico que ocurre al inicio de la primavera. Los principales síntomas que se presentan dan como resultado nerviosismo, temblor muscular, ataxia, espasmo, opistótonos, convulsiones. La ocurrencia se asocia con una baja disponibilidad de magnesio en la dieta o la baja capacidad de absorber este mineral (Wittwer, 2000a).

El tenor normal de magnesio en sangre que se encuentra entre 2 – 3 mg/dL (0,8 a 1,2 mmol/L), decae a menos de 1,8 mg/dL (0,7 mmol/L) durante la aparición de esta patología. Los primeros síntomas de irritabilidad aparecen cuando los niveles de este elemento caen sobre 0,7 mg/dL (0,3 mmol/L) y se agravan cuando disminuyen hasta 0,5 mg/dL (0,2 mmol/L) (Barros, 2001).

Los efectos que sobre la composición de la leche y sus propiedades provocan los trastornos metabólicos descritos no son significativos en la mayoría de estos, pudiéndose señalar solo ciertas afectaciones en algunos de los componentes lácteos, en particular la grasa. Las alteraciones generalizadas en las propiedades físico-químicas de la leche no han sido asociadas hasta el momento a estas patologías (Ponce, 1999 y Ponce *et al.*, 2000).

I.1.7 Aditivos alimentarios empleados en la nutrición de la vaca lechera.

La investigación pecuaria todavía no ha encontrado un aditivo capaz de lograr por sí solo los siguientes efectos: Incrementos en la producción de leche, mejoramiento del comportamiento reproductivo, incrementos en la composición de la leche y un efecto beneficioso sobre la salud del animal. Por ello existe un grupo de aditivos alimentarios con efectos beneficiosos sobre problemas metabólicos específicos. (Le Ruyet y Tucker, 1992; Staples y Lough, 1999).

I.1.7.1 Sustancias buferantes.

El empleo de dietas con alto contenido de cereales (concentrados) las cuales poseen un alto contenido de carbohidratos de rápida fermentación, raciones con una alimentos voluminosos finamente molidos las cuales disminuyen la rumiación, cambios bruscos en la alimentación, el uso de ensilajes en la alimentación, así como en presencia de bajos consumos de materia seca, constituyen los principales factores que condicionan el uso de cierto grupos de sales minerales por su capacidad buferante en el rumen y el efecto consecuente sobre la fisiología animal. Sustancias tales como el bicarbonato de sodio y el sesquicarbonato de sodio, han sido ampliamente utilizadas para estos fines. El bicarbonato de sodio ha mostrado efectos directos sobre el consumo de materia seca, producción de leche y rendimientos en grasa láctea (Bigner *et al.*, 1997, Busby, 2001). Similar efecto ha sido reportado para el sesquicarbonato de sodio pero solamente con relación al rendimiento de grasa. El mecanismo de acción general de los mismos no ha sido del todo esclarecido, se refiere su efecto sobre el pH ruminal y como consecuencia sobre el metabolismo, además se refiere un incremento del consumo de agua y el efecto de dilución sobre el contenido ruminal, incrementándose el escape del almidón de la fermentación ruminal. Sus efectos en la leche solo se describen asociados a un incremento del rendimiento de grasa.

I.1.7.2 Sustancias alcalinizantes.

El carbonato de calcio o de magnesio, la bentonita de sodio y el óxido de magnesio son las sustancias que se emplean con mayor frecuencia en las dietas como agentes alcalinizantes. Además del uso como alcalinizante que tienen el óxido de magnesio y el carbonato de magnesio, también se dirigen a prevenir la tetania de los pastos que pueden presentar las vacas en el primer tercio de la gestación (Delaquis y Block, 1995; Staples y Lough, 1999 y Busby, 2001). Resulta importante destacar que el empleo de bicarbonato de sodio en la dieta de la vaca deprime las concentraciones de magnesio en el suero y por esta razón, muchos nutricionistas usan combinados estas sustancias. El enfoque más común para el empleo combinado de estos compuestos, es que ello permite obtener una

respuesta más efectiva y amplia que el logrado con en uso de una de estas sustancias en específico.

I.1.7.3 Cultivos de hongos.

Los cultivos de levaduras (*Sacharomyces. cerevisiae* y *Aspergillus oryzae*) han demostrado su efecto cuando se aplican por vía oral a la vaca lechera. Resulta un hecho el efecto que provocan sobre el incremento del número de bacterias totales en el rumen y sobre todo del grupo de bacterias celulolíticas. Este efecto se traduce en un incremento de la digestibilidad de la fibra, incrementado a su vez una mejor eficiencia de utilización de la dieta por el animal. Existen también reportes sobre el incremento en el consumo de materia seca. La razón del efecto beneficioso de las levaduras sobre la microflora ruminal no está del todo claro, hasta el momento se supone que la actividad respiratoria de las levaduras, proteja al grupo de bacterias anaerobias del rumen, del efecto destructor del oxígeno (Xu, *et al.*, 1994; Dann, *et al.*, 2000 y Arcos – García *et al.*, 2000).

I.1.7.4 Aluminosilicatos o zeolitas.

Estas sustancias se caracterizan por su amplia capacidad de intercambio iónico donde prevalecen cationes como el magnesio, el calcio, el sodio y el potasio, en el efecto que ha mostrado en la eficiencia de utilización de nutrimentos y en la regulación del consumo voluntario de alimentos (Galindo *et al.*, 1990). Se reporta que la misma disminuye la velocidad de pasaje en el rumen y se asocia por su propiedad de captación, que contribuye al efecto negativo que ejercen ciertas micotoxinas del alimento, las cuales son atrapadas por estas sustancias (Busby, 2001).

Capítulo II

Materiales y Métodos Generales

II. 1 Características generales

El estudio se realizó a partir de la base de datos del CENLAC, seleccionando resultados provenientes de muestras de leche de mezclas y animales individuales de gran parte del país. De ellos se seleccionaron los datos válidos de la década de los años 90, excluyéndose todos aquellos resultados con diagnóstico positivo a la adulteración por aguado, presencia de mastitis o cuya procedencia (sistema de explotación, raza y datos zootécnicos) no estuvieran adecuadamente especificados. Se analizó un total de 8714 muestras correspondientes a 2100 vaquerías. En el caso de los experimentos II, III y IV los mismos se realizaron sobre muestras de animales individuales.

A partir de todos ellos se estableció el comportamiento de los componentes mayores de la leche para ambos períodos de tiempo y el rango de variación, la composición de la leche para los principales genotipos lecheros cubanos (Holstein Friesian, Mambí de Cuba y Siboney de Cuba), la influencia de la región o provincia y de la época del año sobre los mismos. El estudio fue enfocado al establecimiento de la composición de la leche para Cuba en los últimos 10 años, abordando además el rango de variación y la identificación de posibles alteraciones de las características físico-químicas de la leche, teniendo en cuenta todos los aspectos tratados con anterioridad.

Una parte del estudio se enfocó al monitoreo de la composición de la leche y su efecto en la industria láctea, sobre todo en la fabricación de quesos, dada las reiteradas situaciones de problemas con la calidad composicional de la leche y de los problemas de fabricación en la industria. La identificación de alteraciones de las características físico-químicas de la leche, teniendo en cuenta todos los aspectos abordados con anterioridad constituyó el aspecto fundamental a evaluar.

Las condiciones de explotación de los rebaños se correspondían con vaquerías típicas de 120 animales totales, con naves de sombra y cría artificial de terneros, bajo

régimen de pastoreo rotacional y suministro de alimentos a la nave de sombra. Los mismos estaban sometidos a dos ordeños diarios por el sistema mecánico Alfa Laval de 4/8 plazas en nave de ordeño tipo espina de pescado o a nivel. El número de vacas utilizadas se expresa en cada experimento así como las principales variables zootécnicas a tener en cuenta en cada situación en particular.

II. 2 Toma de muestra y manipulación.

II. 2.1 Leche.

Las provenientes de animales individuales se correspondían con alícuotas de 200 mL tomadas en cada ordeño, las cuales sirvieron para lograr la muestra final ajustada al volumen de ordeño de cada animal en particular (CENLAC, 2001). Para las mezclas de leche se tomaron de 750 a 1 000 mL del volumen total previa homogenización en todos los casos del tanque colector.

Las muestras para el estudio de la composición de la leche en todos los casos fueron preservadas por medio de dicromato de potasio (solución al 10 por ciento), a razón de 1 mL por cada 100 mL de muestra a preservar o bronopol (0,1 por ciento), aplicándose 1 mL por cada 100 mL de leche.

Para el análisis de la acidez, el pH, la densidad, la prueba del alcohol (68 por ciento) y la crioscopia, las muestras fueron conservadas en refrigeración (nevera con hielo) a una temperatura de entre 4 – 8 ° C, las que fueron analizadas en las primeras 4 horas de obtenidas.

La identificación y el registro de las mismas se correspondían con los procedimientos establecidos por el sistema de calidad del laboratorio. (CENLAC, 2001).

La presencia de aguado, mastitis o inhibidores fueron razones excluyentes a la hora del análisis de los resultados.

II. 2.2 Sangre.

Las muestras de sangre fueron tomadas por medio de agujas californias, de la vena yugular de los animales estudiados, previa depilación con tijera y desinfección de la zona con alcohol al 70 %. Una vez canalizada la vena, se tomaron 15 mL de sangre

en tubo de ensayo con anticoagulante (heparina sódica 5 porciento), a razón de 0,1 mL, para los análisis hematológicos. En el caso del estudio del equilibrio ácido-básico, las muestras de sangre fueron tomadas siguiendo el mismo procedimiento, solo que en esta ocasión se emplearon tubos capilares, los cuales al concluir su llenado fueron sellados por ambos extremos, conservados en hielo y analizado su contenido antes de las siguientes 4 horas de recogidas.

II. 2.3 Alimentos

Todos los alimentos utilizados en los experimentos de evaluación inicial, así como los realizados en condiciones controladas fueron muestreados según el método oficial AOAC 965.16 (Cunniff, 1995).

II.3 Análisis realizados.

II.3.1 Leche.

- Grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos (SNG), sólidos totales (ST) por método infrarrojo (FIL 141 B:1997), según MilkoScan 104 A/S Foss Electric, fósforo por colorimetría, calcio y magnesio por Espectrofotometría de absorción atómica, caseína por método infrarrojo, urea (Método enzimático) y ácido cítrico por colorimetría. (CENLAC, 2001).
- Acidez titulable por titulación con NaOH 0.1N (NC-71:2001), pH por potenciometría (Cunniff,1995), prueba del alcohol utilizando una concentración de alcohol p.a. al 68 % (CENLAC,2001), densidad mediante lactodensímetro de Quevenne (NC-119:2002), crioscopia utilizando el Crioscopio automático Advanced Instruments 4D3 y prueba de ebullición (CENLAC,2001). Fósforo por colorimetría (CENLAC, 2001), calcio y magnesio por medio de Espectrofotometría de absorción atómica (CENLAC, 2001).

II.3.2 Indicadores hematoquímicos.

- Hemoglobina fue analizada empleando un contador electrónico de partículas Sysmex Modelo CC – 130. TOA, hematocrito, se empleó el microhematocrito en capilares según Schalm *et al.*, (1984). pH sanguíneo, bicarbonatos (HCO_3^-) y exceso de bases (EBS) utilizando el gasómetro ABL 30, Radiometer Copenhagen.

II.3.2 Análisis bromatológico.

Los alimentos utilizados en cada uno de los experimentos fueron analizados según (Cunniff, 1995), siguiendo la siguiente metodología:

- Materia seca, secado a 135 °C (Método oficial 930.15, AOAC)
- Proteína bruta (Método oficial 954.01, AOAC)
- Calcio (Método oficial 927.02, AOAC)
- Fósforo (Método oficial 964.06, AOAC)

II.4 Datos productivos.

La condición corporal se determinó sobre la base de una puntuación de 1-5 según Wittwer (2000) para todos los casos.

El balance alimentario aplicado fue el instantáneo para cada uno de los estudios, utilizando para ello, la tabla de composición de los alimentos según National Research Council (1989) y el programa analítico CALRAC (1996).

II.5 Análisis estadístico.

En todos los casos se empleó para el procesamiento estadístico el paquete analítico SAS (1987).

El procesamiento estadístico de los datos de los años 90 fue realizado empleando un diseño completamente al azar, describiendo los estadígrafos simples en cada caso (Media y desviación standard). Con relación al análisis del comportamiento de las razas, las regiones y las épocas del año (Epoca de sequía y época de lluvia) se utilizó un diseño por bloque al azar, resaltándose para cada caso los estadígrafos simples y un análisis de varianza simple para el caso de la raza, las épocas del año y las regiones estudiadas.

Se realizó una Prueba T de Student no pareada, ejecutándose el análisis de varianza simple para destacar la significación o no existente entre los grupos estudiados.

Capítulo III

Parte Experimental

III. 1 Experimento I

Caracterización de la composición láctea y factores asociados a su variación.

Introducción.

Un problema común en la lechería de los países de América Latina y el Caribe, así como de otras regiones del mundo, es que utilizan con frecuencia los datos de los países desarrollados como fuente de referencia, y no se cuenta con estudios regionales o nacionales que sirvan para estos propósitos (Barros, *et al.*, 2000; González, 2001). En el caso de los países situados en la franja subtropical- tropical del mundo, existen considerables variaciones en cuanto raza, sistemas de manejo y alimentación, influencias ambientales (época del año) entre otras (González, 2000). Por ello, no siempre el análisis de las características físico – químicas de la leche son comparables a otras regiones, más aún si consideramos que menos del 20 % de la lechería se asocia a sistemas especializados de explotación (González-Stagnaro *et al.*, 1998). El desarrollo de investigaciones que permitan establecer criterios de estándares nacionales e incluso regionales dentro de un mismo país, es una necesidad técnica que permite el establecimiento de regulaciones y normas nacionales, aplicar correctamente los sistemas de pago, orientar el trabajo genético, mejorar el manejo de los rebaños, organizar y orientar la proyección de la industria láctea entre otros (Hernández, 2000).

Los estudios de las enfermedades de la producción y su relación con las características de la leche se deben sustentar en el conocimiento y evaluación previa del comportamiento de los múltiples indicadores y los factores fundamentales asociados a su variación (Homan y Wattiaux, 2000), lo que también es una necesidad en el caso de Cuba.

El objetivo del presente experimento fue el establecimiento de los valores medios y rangos de variación de los componentes mayores de la leche y evaluar los factores asociados a su comportamiento, que permitan definir posibles alteraciones en el estado de salud de los rebaños lecheros.

III. 1. 1 Materiales y métodos.

El estudio de composición láctea abarcó un período de 10 años comprendido de 1990 – 1999. Para ello se tomaron 8714 muestras de mezclas de leche provenientes de 2100 lecherías que representan aproximadamente unas 100 000 vacas bajo diversas condiciones de explotación. Como mínimo se tomaron 4 muestras de cada tanque colector, dos por cada época del año.

Todas las muestras fueron obtenidas según se especifica en materiales y métodos generales, así como los análisis de grasa, proteína bruta, caseína, lactosa, Sólidos no grasos (SNG) y sólidos totales (ST).

Para el estudio se tuvo en cuenta los efectos de la provincia, raza de los animales y época del año. Los estudios desarrollados por el grupo de trabajo del CENLAC (Ponce *et al.*, 1992), sobre el tema en el período 1970-1990, en animales individuales se utilizan como soporte científico complementario del Capítulo, para facilitar la discusión y comparación de resultados.

Se realizó un estudio reducido para conocer los cambios estacionales de la densidad o peso específico, la acidez titulable y la crioscopía en leche proveniente de cuatro empresas ganaderas de la provincia de La Habana. Para ello, se realizaron muestreos de un total de 254 tanques colectores de leche, de dichas empresas en los meses de febrero – marzo y julio – septiembre al menos dos veces en cada período durante los años 1996 y 1998. En todos los casos se realizó presencia de ordeño para una excluir posible adulteración por aguado y la existencia de mastitis, así como un balance general del estado nutricional de los rebaños. La obtención, manipulación y análisis de la leche se realizó como se describe en materiales y métodos generales.

El procesamiento estadístico de los datos fue realizado empleando un diseño completamente al azar, describiendo los estadígrafos simples en cada caso. Con relación al análisis del comportamiento de las razas, las regiones y las épocas del año (Epoca de sequía y época de lluvia) se utilizó un diseño por bloque al azar, resaltando los

estadígrafos simples y un análisis de varianza simple para todos los casos, aplicando para ello el paquete analítico SAS (1987).

Considerando que el objetivo del experimento fue el establecimiento de parámetros de referencia para las características físico – químicas de la leche, solo se presentan aquellos resultados estadísticos básicos para el análisis en cuestión y no los múltiples resultados que se derivaron del estudio.

III. 1. 2 Resultados y discusión.

Los niveles de grasa y lactosa (Tabla 1), son aún más bajos que lo reportado para Cuba y comúnmente para otros países (Ponce, 1984, Ponce y Bell, 1985; Oldaham, 1991 y Pérez, 2001). Sobre este particular existen múltiples argumentos de que además de la influencia genética sobre los componentes lácteos, las conocidas limitaciones en la alimentación de la vaca lechera ejercen un papel decisivo sobre dicho comportamiento (López y Ponce, 1992). Resulta evidente la franca depresión de la proteína, la caseína y los SNG en este período, si lo comparamos con los resultados que existen de la década precedente. Ponce *et al.*, (1992), desde comienzos de la década de los años 80, señala en su estudio el marcado deterioro de la composición de la leche en Cuba, lo cual ha sido un proceso progresivo, que más adelante este mismo autor refleja con marcadas afectaciones en la industria láctea cubana (Ponce *et al.*, 2000).

Tabla 1. Composición global de la leche de la década 1990 – 1999.

Componente	Media \pm D. S.	Mínimo - máximo
Grasa % (media \pm D.S.)	3.84 \pm 0.37	2.90 – 5.20
Proteína % (media \pm D.S.)	2.99 \pm 0.16	2.85 – 3.30
Caseína % (media \pm D.S.)	2.30 \pm 0.25	2.11 – 2.90
Lactosa % (media \pm D.S.)	4.60 \pm 0.27	4.50 – 4.85
SNG % (media \pm D.S.)	8.28 \pm 0.33	7.90 – 8.83
ST % (media \pm D.S.)	12.13 \pm 0.73	11.00 – 13.05

Los valores absolutos de los sólidos totales son ligeramente menores, que los reportados en períodos precedentes (Ponce y Bell, 1984 y 1985), a pesar que el grueso de las muestras analizadas (60.8 porciento) corresponden a cruces cercanos a Holstein (F1 H/C,

3/4H – 1/4 C y 1/4 H – 3/4 C) y del cruce 5/8 H- 3/8 C, y por cuya rusticidad, deben manifestar un nivel de sólidos en la leche más elevado.

Estos resultados han servido de base para el establecimiento de las especificaciones mínimas de calidad composicional de la leche en Cuba para esta etapa (NC – Proyecto. Leche especificaciones, 2002), y cuyos valores son generalmente inferiores a los establecidos en el ámbito internacional (COPANT, 1997).

Un factor común y que se hace reiterado en los últimos tiempos es la escasez de pastos y forrajes verdes y las limitaciones en las fuentes de alimentación animal, con énfasis en el período de seca, lo cual pudiera estar asociado a dicho comportamiento (Ponce 1990). Los valores mínimos que se expresan sobre la base de resultados de mezclas de leche, están influenciados por muchos factores, lo cual no descarta la existencia de expresiones individuales mucho más extremos.

De los genotipos estudiados, resulta el Holstein Friesian el que manifiesta los más bajos niveles de sólidos, siendo significativas las diferencias de este con relación al Siboney de Cuba (Tabla 2), para el caso del Mambí de Cuba, el mismo muestra un comportamiento intermedio entre los otros dos grupos raciales. En un estudio de composición de la leche en vacas Holstein – Friesian en diferentes condiciones de explotación, Ponce y Bell (1985), demuestran que cuando esta se encuentra en condiciones desfavorables alcanzan valores deprimidos en sus componentes lácteos. García López *et al.*, (1988) refieren que en las áreas tropicales la alimentación constituye uno de los factores fundamentales que limita la producción de leche. El bajo nivel de energía y proteína de los pastos y forrajes como fuente principal de alimentos en esta zona geográfica es la principal causa que afecta la producción de leche y su composición.

Tabla 2. Composición media de la leche de los genotipos estudiados.

Raza	Grasa %	Proteína %	Caseína %	Lactosa %	SNG %	ST %
Holstein F.	3.62 a	2.93 a	2.26 a	4.55 a	8.18 a	11.80 a
Mambí de C.	3.81 ab	3.00 ab	2.31 ab	4.58 a	8.28 ab	12.09 ab
Siboney de C.	4.11 b	3.05 b	2.35 b	4.56 a	8.31b	12.42 b

Letras desiguales por columnas difieren significativamente $p \leq 0.05$.

González (2001), señala niveles de sólidos en la leche de vacas Holstein – Friesian de 3,1 g/% y 4,9 g/% para proteína y lactosa respectivamente, superando ampliamente los valores reportados en nuestro estudio. Hernández y Ponce (2001), en un estudio realizado entre los años 1996 y 1998, reportan depresión en los sólidos de la leche sobre todo en la proteína y los SNG. Estos efectos se relacionan en gran medida con que los rebaños en producción contaban con una base alimentaria deficiente. Sin embargo cuando se estudió un rebaño Holstein – Friesian bajo condiciones de silvopastoreo, el comportamiento de la calidad de la leche fue superior a los reportes sobre dicha raza en Cuba, lo que corrobora que la mejora en los sistemas de alimentación está relacionado con dicho comportamiento (Hernández y Ponce, 2000). Llama la atención, que las concentraciones de lactosa son inferiores a lo esperado para todos los casos, lo cual no tiene una clara explicación fisiológica, si se parte del conocimiento existente con relación a la estabilidad de los componentes osmóticos (Hurley, 2000).

Teniendo en cuenta la constitución genética del cruce Mambí de Cuba (25 porciento de sangre cebú) y su baja producción lechera, debía esperarse un mayor contenido porcentual de la leche, tal y como se ha reportado por Ponce y Bell (1984), quienes reportan valores de grasa y proteína de 3,66 g/% y 3,30 g/%. Ya desde este año, se refleja cierto deterioro en las condiciones de explotación, específicamente en la alimentación, como causa principal de la depresión de los sólidos de la leche. Ponce y Bell (1985) en un experimento entre vacas Holstein Friesian, $3/4$ H – $1/4$ C y $5/8$ H – $3/8$ C, en condiciones extremas señalan que este último cruce, logró mayor superioridad al $3/4$ H – $1/4$ C en cuanto a la composición de la leche, aunque ambos superaron en comportamiento productivo al rebaño Holstein – Friesian, siendo aquel genotipo, el que mejor comportamiento refleja dentro del período analizado, lo cual coincide con algunos autores que refieren una mayor capacidad del mismo para estabilizar los mecanismos de regulación de la lactancia en condiciones adversas (Ponce y Bell, 1984), aunque los componentes lácteos del mismo no logran cifras similares a las reflejadas por Ponce y Bell (1985) para este cruce entre los años 1976 y 1981. Estos investigadores reportan

valores de la composición porcentual de la leche de 3.42 g/% y 4.01 g/% para proteína y grasa, aunque la lactosa expresa niveles inferiores que en nuestro caso.

Los resultados del comportamiento de la composición de la leche durante las épocas del año se muestran en la tabla 3. Este efecto asociado directamente con la alimentación es uno de los factores no genéticos con mayor influencia sobre la composición de la leche en Cuba en los diferentes genotipos estudiados. En todos los casos se presenta una disminución significativa ($p \leq 0.01$) en las concentraciones de los sólidos individuales y totales durante la época de seca. García López et al, (1988), indican que en vacas alimentadas a partir de pastos y forrajes, los sólidos no grasos y la proteína bajan en la seca y se incrementan cuando llega la abundancia de pastos en la época de lluvia, coincidiendo con lo reportado por Villoch *et al.*, (1991). Ponce *et al.*, (1992) consideran que la mala calidad de la dieta, la baja digestibilidad de la fibra y el pobre aporte de energía en la dieta son las causas primarias de alteraciones en los componentes lácteos en la época de seca, lo cual se revierte en la época de lluvia, al incrementarse la disponibilidad de pastos y la calidad de la dieta. En su estudio lograron encontrar un efecto significativo de la época del año ($p \leq 0.01$), con un mejor comportamiento de los componentes de la leche en los meses de julio y agosto.

Tabla 3. Efecto de la época del año sobre la composición de la leche.

Raza	Grasa g/%		Proteína g/%		Lactosa g/%		SNG g/%		ST g/%	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
H. F.	3.51 ^a	3.74 ^b	2.82 ^a	3.04 ^b	4.51 ^a	4.59 ^b	8.12 ^a	8.25 ^b	11.71 ^a	11.90 ^b
M. C	3.69 ^a	3.93 ^b	2.91 ^a	3.09 ^b	4.54 ^a	4.63 ^b	8.24 ^a	8.33 ^b	11.98 ^a	12.19 ^b
S. C	4.07 ^a	4.15 ^b	2.97 ^a	3.13 ^b	4.49 ^a	4.63 ^b	8.23 ^a	8.39 ^b	12.25 ^a	12.58 ^b

Letra desiguales por filas y componentes difieren significativamente $p \leq 0.01$

I – Época de seca II – Época de lluvia

H. F – Holstein Friesian S. C. – Siboney de Cuba M. C – Mambí de Cuba

El comportamiento que tiene la composición de la leche en el período de seca tiene gran vinculación con los problemas de alimentación que existen en el ganado en dicho período. Es de notar que en la región occidental, donde se concentra la mayor parte del ganado racial del tipo Friesian, es donde se presenta la menor composición láctea y las mayores

alteraciones de sus características físico – químicas, presentándose problemas de baja densidad y acidez, sin que ello sea producto a situaciones de aguado, todo ello unido a ciertas alteraciones metabólicas de dichos rebaños (Ponce *et al.*, 1999). Los valores de proteína, lactosa y SNG son extremadamente inferiores a los reportados por varios autores (Ponce y Bell 1984, Villoch y Ponce 1987, Ponce *et al.*, 1992), durante este período del año, con especial atención al Holstein – Friesian, aunque el resto de los genotipos tienen niveles algo similares, por lo cual existe una interrelación del genotipo con el ambiente.

Las cuencas estudiadas (Tabla 4), reflejan una fluctuación en los sólidos de la leche algo similar a estudios realizados en un período más corto de tiempo que el analizado en nuestro experimento (López y Ponce, 1992). En todos los casos es significativa la disminución en los componentes mayores de la leche, pero es en la provincia de La Habana la región donde se encuentra las menores concentraciones, lo que debe estar relacionado con la existencia en esta cuenca lechera de una alto porcentaje de rebaños Holstein – Friesian y sus cruces cercanos (85 porciento), lo que asociado a las desfavorables condiciones de explotación se producen estos resultados Para el resto de las cuencas, compuestas en su mayoría por rebaños mestizos, aunque se muestra cierta reducción, esta no es tan marcada como en la cuenca de La Habana.

Tabla 4. Composición de la leche por provincias.

Región	Grasa g/%	Proteína g/%	Lactosa g/%	SNG g/%	ST g/%
Pinar del Río	3.84 ab	2.96 ab	4.60 a	8.26 ab	12.10 ab
La Habana	3.68 a	2.94 a	4.56 a	8.20 a	11.88 a
Matanzas	3.87 ab	2.98 ab	4.59 a	8.27 ab	12.14 b
Villa Clara	3.99 b	3.03 b	4.56 a	8.29 b	12.28 b
Sancti Spírit.	3.81 ab	3.02 b	4.57 a	8.29 b	12.10 ab

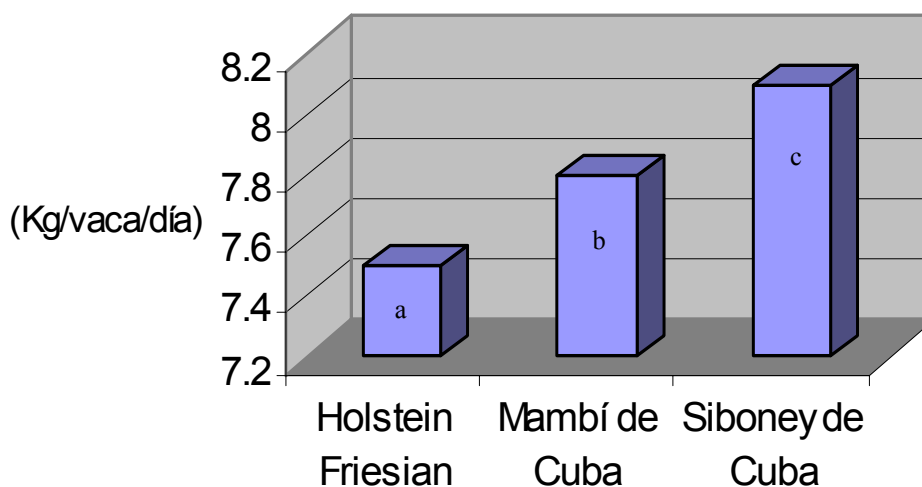
Letras desiguales por columnas difieren significativamente para $p \leq 0.05$.

Villoch y Ponce (1987), señalan, a partir de un estudio de la cuenca lechera de las provincias habaneras, que los niveles de los componentes mayores, grasa y proteínas eran inferiores a los referidos para esta raza en otras regiones del mundo. Dichos autores constataron bajos porcentajes de lactosa, lo que indicaba efectos desfavorables en su síntesis, originados a partir del déficit alimentario. Para el caso de la cuenca de Matanzas y la de Villa Clara, la composición de la leche tiene un comportamiento algo inferior también a lo reportado por López y Ponce (1992) y López y Ponce (1993)a, estando disminuidas las concentraciones de los sólidos de la leche, si la comparamos con los referidos reportes. Los resultados pertenecientes a la región de Sancti Spíritus, tienen una fluctuación semejante a la que López y Ponce (1993)b reportaron para esta zona. Dichos autores manifestaron depresión en las caseínas de la leche y el fósforo, lo cual tiene gran influencia en la calidad de los derivados lácteos, en especial los quesos, Esto también constituyó un problema para las cuencas anteriormente estudiadas por estos autores. Debemos aclarar que en todos los casos se muestra un discreto aumento de los sólidos totales, pero el efecto se debe a un incremento paulatino de los niveles de grasa en los rebaños en los últimos años. Villoch *et al.*, (1991) y Ponce *et al.*, (1992), destaca que la disminución de la productividad de los rebaños lecheros, implica un incremento en el contenido porcentual de grasa láctea.

Las condiciones de explotación y el efecto de la época del año y la raza son razones de peso que influyen en gran medida sobre el comportamiento productivo de los rebaños lecheros en gran parte del país. Sin embargo para el caso de Cuba, García López *et al.*, (1988) consideran que la alimentación es el mayor y principal factor limitante y que una

alimentación a partir de pastos tropicales solo se logran niveles productivos de entre 8 y 9 Kg. de leche/vaca/día.

El comportamiento de la producción de leche de los genotipos estudiados muestra una



disminución de los rendimientos lecheros en todos los casos (Figura 1).

Letras desiguales difieren significativamente para $p < 0.05$.

Figura 1. Volúmenes de Producción de leche correspondientes a los genotipos estudiados.

Ponce, (1984) plantea que el Siboney de Cuba mostró una mayor producción media diaria que el Mambí de Cuba e incluso el Holstein cuando la alimentación se basaba en pastos (56 % de ellos naturales), con un 18 % de contaminación con especies de escaso valor nutritivo y recibiendo un suplemento de un kg de concentrado a partir del quinto kg de leche producido, condiciones que no se diferencian de las existentes hoy en las principales cuencas lecheras del país. Al enfrentarse a condiciones más desfavorables de explotación, el Siboney de Cuba logra mantener niveles productivos más estables que el Mambí o el propio Holstein, la diferencia de 12,5 % de sangre Cebú a favor del Siboney, debe ser el elemento decisivo en el comportamiento descrito y que no le permiten al Mambí de Cuba y en mayor medida al Holstein mantener sus niveles productivos cuando las condiciones de explotación se afectan. Dicho autor considera que para el caso de Cuba las condiciones desfavorables de explotación o aún peores son comunes en la mayor parte del país, lo cual hemos corroborado en el presente.

Además de ello de manera generalizada en Cuba, la alimentación la vaca lechera está asociada a una déficit en el contenido de proteína (Ponce *et al.*, 1990). Por otra parte al existir deficiencias en el aporte de proteína en la dieta, ello se traduce en una profunda carencia de un grupo de aminoácidos esenciales y que han sido reportados como limitantes para la producción de leche (Shirley, 1986). Entre ellos se encuentran la metionina, lisina, valina, isoleucina y triptófano. La carencia de ellos, se asocia a la imposibilidad de superar los 10 Kg/día de leche, siendo la metionina y la valina limitantes para niveles de producción de 15 kg de leche y la isoleucina para más de 20 kg. Esto se corrobora dentro del experimento al no existir producciones para ninguno de los genotipos estudiados de más de 10 kg de leche diarios. Además, en Cuba, el estudio de la distribución anual de la energía aportada por el pasto demuestra la crítica situación alimentaria que se presenta en los meses de enero, febrero y marzo, aún con pastos artificiales, lo cual hace que se logren menores niveles productivos (Martínez, 2000). También se ha considerado que un pH ácido en el rumen, condicionado por el uso de carbohidratos de fácil fermentación, puede influir en la acumulación de ácidos grasos trans en el rumen y disminuye la producción de leche (Mendoza *et al.*, 1998), lo cual se corresponde con la dieta mayoritaria de los rebaños lecheros en Cuba, donde el uso de caña de azúcar y bagacillo y mieles, con un alto contenido de carbohidratos fácilmente fermentables, condiciona una reducción del pH ruminal.

El estudio de los indicadores físico-químicos de la leche muestra la mayor distribución porcentual hacia valores alterados en la época de seca (Tabla 5). Más del 50 por ciento de los valores de densidad aparecen por debajo de 1.029 g/cm^3 , que constituye el índice mínimo exigido en Cuba y la mayor parte del mundo (Hurley, 2000, Durr, 2001 y Hernández, 2000), lo que se corresponde con las tres cuartas partes de los valores del punto crioscópico menor o igual a $520 \text{ m}^\circ\text{C}$. Un aspecto a considerar es que más del 30 por ciento de la acidez titulable tiene valores menores de 0,13 g por ciento de ácido láctico, lo que constituye un comportamiento anormal de dicho indicador. Los resultados en el período de lluvia son ampliamente diferentes a lo descrito anteriormente para la seca.

Tabla 5. Distribución porcentual de la densidad, acidez y crioscopía de la leche en época de seca y lluvia en la década de los años 90.

	Intervalo	Período de sequía	Período lluvioso
Densidad (g/cm ³)	1.027 - 1.0289	59.3	16.6
	1.029 - 1.0299	34.9	71.4
	1.030 o más	5.8	12.0
Acidez titulable (%)	0.10 – 0.129	31.7	2.4
	0.13 – 0.17	65.8	88.9
	0.17 o más	2.5	8.7
Crioscopía m° C	499 – 505	3.5	8.5
	505 – 520	71.3	10.2
	520 o más	25.2	81.3

En múltiples ocasiones se reportan niveles de acidez titulable bajos, así como la densidad por debajo de 1.029 g%, sin que existan evidencias de mastitis, aguado, o estados fisiológicos que expliquen dicho comportamiento. Estas incongruencias conllevan a múltiples confusiones y más aun penalizaciones sin que el productor pueda identificar lo que sucede en el rebaño (Mariani *et al.*, 1991, Mariani *et al.*, 1994 y Mariani *et al.*, 1998b, Ponce *et al.*, 2000 y Ponce y Hernández, 2000). Con relación al estado nutricional de los rebaños en época de seca, se consideró que en más del 85% de estos, solo se cubría entre el 70 – 80 porciento de las necesidades básicas de alimentación y que en general tenían una pobre condición corporal. Se han realizado reportes de alteraciones en las propiedades físico – químicas de dicha leche como baja acidez titulable y alto pH, positividad a la prueba del alcohol, y a la prueba de ebullición, sin que provinieran de vacas con mastitis o larga lactancias, donde se describe una disminución de la proteína, la lactosa y los SNG de la leche (Ponce *et al.*, 2000 y Ponce y Hernández, 2000). En esta última década, no solo en Cuba, sino también en otras partes del mundo se han presentado variaciones de las propiedades de la leche y de su composición, sobre todo en los niveles de acidez titulable y en la velocidad de coagulación de la misma, afectando su aptitud para el procesamiento industrial y la calidad de los derivados lácteos (Mariani *et al.*, 1991, Mariani *et al.*, 1994 y Mariani *et al.*, 1998b). Bouda *et al.*, (1997), consideran que

cambios dramáticos en la alimentación y manejo de los rebaños lecheros especializados pueden traer como consecuencia enfermedades ruminales y metabólicas en el ganado bovino, que con mucha frecuencia se presentan en forma subclínica, sin manifestar signos clínicos evidentes, y la producción de leche puede disminuir del 10 hasta un 25 por ciento, sin que el productor o el servicio veterinario se percaten de ello y en igual medida se producen alteraciones en la composición de la leche.

III. 1. 3 Conclusiones

- La composición de leche en la región occidental – central de Cuba se caracteriza por concentraciones bajas en proteína, lactosa y SNG, estando influenciadas por la raza, época del año y región o cuenca lechera, con mayor efecto de las dos primeras. Las limitaciones nutricionales en animales de la raza Holstein – Friesian, concomitante con la época de seca, son el principal factor a considerar en el cuadro descrito.
- La existencia de concentraciones anormalmente bajas en los componentes individuales y la acidez, densidad y crioscopía, indican la existencia de alteraciones en las características físico – químicas de la leche, que pueden estar relacionadas a su vez con trastornos metabólicos.

III. 2 Experimento II.

Propiedades físico – químicas de la leche y su asociación con trastornos metabólicos y alteraciones de la glándula mamaria.

Introducción.

Desde los años setenta del pasado siglo, existen reportes de alteraciones en las características físico-químicas de la leche por causas no totalmente esclarecidas (Fossa *et al.*, 1984). La aparición de leche que reacciona positivamente a la prueba del alcohol o la prueba de cocción, sin tener una elevada acidez ni provenir de vacas con mastitis es un problema práctico que confrontan con alguna frecuencia ciertos animales y rebaños lecheros (Mariani *et al.*, 1991). Generalmente, este tipo de leche no presenta adecuadas condiciones para la producción de derivados lácteos. Este es un fenómeno mucho más recurrente en la presente década, debido por una parte al incremento de la especialización genética y la productividad de los rebaños lecheros y por otra, a las mayores exigencias en la calidad de la materia prima para lograr óptimos rendimientos industriales y mejor calidad de los productos finales. (Ponce, 1999).

Sin embargo, los trastornos metabólicos como la cetosis, hipomagnesemia, hipocalcemia, síndrome de baja grasa, así como la leche proveniente de vacas con largas lactancias, recentinas o con afectación por mastitis, presentan solo alteraciones en algunos de los componentes lácteos y/o en alguna de las propiedades físico-química u organolépticas (Alvarez, 1999^a). En estos casos se identifican con certeza los cambios ocurridos y las causas que las generan. Sin embargo las alteraciones más generalizadas en las características de la leche, no se asocian solamente a una causa bien identificada, ni se muestran como un solo trastorno. Por ello, las alteraciones múltiples en la composición láctea y en sus características físico-químicas deben tener un tratamiento especial y un enfoque más integral, que abarque los estudios de la leche, raza y alimentación, manejo y época del año, así como los posibles trastornos del metabolismo en general y de la glándula mamaria en particular. En el capítulo precedente se determinó la existencia de valores deprimidos de los componentes lácteos, con umbrales mínimos alterados. Los

estudios realizados en el país por Ponce *et al.*, 1992 y Villoch *et al.*, (1991) relacionan algunos de estos trastornos con el alto consumo de caña de azúcar como forraje, bagacillo y mieles, concomitante con la época de seca, cuando se reduce drásticamente el consumo de materia seca en pastos y forrajes de calidad.

El objetivo del presente estudio estuvo encaminado a:

- Identificar la presencia del complejo de alteraciones en las propiedades físico – químicas de la leche en condiciones de producción y posibles trastornos metabólicos asociados al mismo.

III. 2.1 Materiales y métodos.

El estudio se realizó a partir de la leche proveniente de 37 lecherías, que presentó alteraciones en la calidad y trastornos durante el procesamiento industrial de la misma, al final del período seco e inicio del lluvioso (marzo-mayo/1996), incluyendo un total de 2 000 vacas de la raza Holstein-Friesian. Después de la caracterización inicial de la leche de dicha granja, se seleccionaron las unidades con los más bajos niveles de sólidos en la leche (10 lecherías y 738 vacas) para un estudio de seguimiento, realizándose un muestreo semanal del tanque colector durante 30 días, que incluyó además de la composición láctea, las propiedades físico – químicas. Dentro de ellos se seleccionaron dos lecherías (10 % de la muestra) para la evaluación individual de las vacas y que incluyó la condición corporal, sobre la base de una puntuación de 1-5 según Wittwer (2000), indicadores metabólicos sanguíneos y las características de la alimentación. En todos los casos se realizó presencia de ordeño para excluir posible adulteración por aguado y también se determinó la presencia de mastitis, excluyéndose las muestras provenientes de mezclas que resultaron positivas a la prueba California Mastitis Test en más de una cruz. La metodología analítica empleada fue descrita en materiales y métodos generales. El análisis estadístico incluyó los estadígrafos simples para cada indicador y análisis de varianza simple, a través del paquete estadístico SAS (1987).

Además de los resultados de este estudio y del experimento I, se consideró de manera referencial, la caracterización de la leche realizada por el grupo del CENLAC entre 1970 –

1990, referido por Ponce *et al.*, (1999), y que incluye datos de 2 millones de muestras de leche de vaca de diferentes orígenes.

III. 2.2 Resultados y discusión.

Se clasificaron los valores porcentuales de la composición láctea, tanto de las muestras provenientes de mezclas (37 lecherías), así como de las vacas individuales (Tabla 6). De manera general se aprecia un elevado porciento de las muestras cuyos valores se encuentran deprimidos, referido a los valores mínimos encontrados en el experimento precedente. Una característica común observada en todos los casos es la alteración en el perfil nitrogenado de la leche: Baja proteína bruta, baja concentración de caseína y de la relación caseína/proteína bruta. Las concentraciones de caseína en estas mezclas fueron bajas, oscilando generalmente entre 2,02 y 2,15 gramos porciento, la relación caseína/proteína bruta estuvo por debajo del 75 porciento (71,1-72,3).

Tabla 6. Porcentaje de muestras de mezclas de leche y de vacas individuales con valores deprimidos.

	Proteína g/%	Lactosa g/%	SNG g/%	Ca mg/%	P mg/%	Mg mg/%	P. Alcohol 70 %
Mezclas	53,3	16,7	25	76,5	83,3	100	57.6
Vacas	59,6	31,9	36,2	89,4	68,1	100	61,7

Otro elemento de interés es la muy baja concentración de magnesio, así como de calcio y fósforo. La relación inversa reportada por Ponce y Bell (1984) entre este mineral en leche y los rendimientos productivos están relacionados directamente con el papel del magnesio en la mayor parte de los complejos enzimáticos, que intervienen en la síntesis y secreción de los componentes lácteos a nivel del metabolismo general y de la glándula mamaria en particular (Mephram, 1983; Hurley, 2000). El alto porcentaje de muestras con concentraciones deprimidas de calcio y fósforo, se relaciona con las bajas concentraciones de caseína y con posibles alteraciones en la estabilidad de la leche.

El tratamiento industrial de la leche mostró múltiples alteraciones en el proceso productivo y en el producto final (Tabla 7), que se relaciona con la inestabilidad de las proteínas y el desequilibrio mineral. Estas características se ajustan por una parte a los bajos rendimientos en quesos observados a nivel industrial (6 – 7 Kg/ 100 litros de leche) y por otra a la poca calidad del producto final (Quesos quebradizos, con rajaduras). De utilizarse esta leche para la producción de otros derivados lácteos, como yogurt y leche UHT, es de esperarse que también se presenten alteraciones en su proceso de fabricación y calidad final, pues en ambos casos se requiere de una materia prima de calidad.

Tabla 7. Características industriales de la leche proveniente de las 37 unidades.

Indicador o parámetro en la industria	Comportamiento
Clarificador	Precipitaciones de proteínas.
Pasteurizador	Precipitación de proteínas y minerales
Coagulación enzimática	Alargamiento del tiempo de coagulación enzimática, coagulo débil y poco firme.
Calidad del queso	Quebradizos, cambio del sabor (amargo), bajos rendimientos.

Es significativo el hecho que en las 10 lecherías, en más del 50% las muestras resultaron positivas a la prueba del alcohol, con una acidez por debajo de 0.13 g% de ácido láctico, lo que a su vez coincidió con un peso específico bajo (Tabla 8). A ello se añade que las mismas mostraron valores del punto crioscópico por debajo de 520 m°C y pH superior a 6.70. La positividad tanto a la prueba del alcohol como la depresión de la acidez y la densidad y el incremento del pH ha sido reportada por Ponce (1999) y Ponce *et. al.*, (2000), lo que se asocia al bajo contenido de caseinatos, grupos fosfatos y citratos, los cuales deben mantener la capacidad buferante cuando se encuentran en niveles normales en la leche.

Tabla 8. Algunas propiedades físico – químicas de la leche en unidades afectadas por bajos sólidos.

Lechería	Acidez (%)	P.alcohol 70 %	Densidad (g/cm ³)	Pto. Criosc. (m° C)	pH
3	0.135	Negativa	1.0295	538	6.68
4	0.13	negativa	1.0298	533	6.70
6	0.12	positiva	1.0287	523	6.72
7	0.11	positiva	1.0280	518	6.73
28	0.11	positiva	1.0290	513	6.76
33	0.13	negativa	1.0295	531	6.75
34	0.12	positiva	1.0273	517	6.75
36	0.12	positiva	1.0285	513	6.70
47	0.12	negativa	1.0290	525	6.84
53	0.12	positiva	1.0295	518	6.83

Los resultados del estudio en las 10 lecherías seleccionadas (Tabla 9) muestran una depresión de los componentes de la leche, con ligeras variaciones entre unidades. Se mantienen los bajos valores de proteína bruta y caseínas, su relación se encuentra entre

71 – 73 %, los niveles de lactosa muestran el mismo comportamiento y como consecuencia los SNG expresan ese mismo efecto.

Los minerales investigados se caracterizaron por una evidente disminución, lo cual no se ajusta a la estabilidad reportada comúnmente para dichos componentes (Beever *et al.*, 1991 y Hurley, 2000), lo que unido a los bajos niveles de lactosa, conforman una alteración que debe tener su asiento en la glándula mamaria, con independencia del posible compromiso del metabolismo general, algo que se acentúa en el Holstein, contrariamente a lo expresado por el Mambí de Cuba y el Siboney, siendo esto atribuido a una mayor estabilidad de estos últimos a sus curvas de producción láctea y por tanto a poseer una mayor posibilidad de regular adecuadamente este proceso debido a una mejor respuesta fisiológica de los mismos frente a situaciones adversas.

Tabla 9. Composición de la leche en las 10 lecherías seleccionadas.

Lechería	Proteína g/%	Caseína g/%	Lactosa g/%	SNG g/%	Ca mg	P mg	Mg mg	Prod. leche Kg/vaca/día
3	2.90	2.12	4.65	8.25	90.0	88.2	9.5	8.5
4	2.89	2.10	4.67	8.26	82.0	86.7	9.8	8.8
6	2.81	2.05	4.60	8.11	58.0	74.0	8.5	6.5
7	2.80	2.07	4.57	8.07	71.0	78.0	8.6	5.6
28	2.84	2.07	4.55	8.09	69.0	76.3	8.8	5.8
33	2.86	2.11	4.62	8.18	87.0	85.0	9.0	8.0
34	2.83	2.04	4.54	8.07	54.0	72.0	8.7	5.7
36	2.85	2.06	4.58	8.13	78.0	77.0	8.6	5.6
47	2.84	2.08	4.53	8.07	51.0	79.0	8.8	5.8
53	2.83	2.07	4.56	8.09	56.0	74.0	8.9	5.9

La lactosa es el principal componente osmótico de la leche que se sintetiza al nivel de las vesículas de Golgi, en un proceso endergónico que consume hasta el 70% de toda la glucosa circulante en el rumiante y por tanto es altamente dependiente de la energía. Se debe considerar además que a escala intracelular, esta genera un movimiento de moléculas de agua e iones que establecen la fase acuosa de la leche, es decir el volumen de producción diaria. A su vez, en la región basolateral de la celular epitelial mamaria, existen mecanismos enzimáticos energéticos dependientes, como la ATP-asa sodio-potasio y de cloro que intervienen en la regulación de estos iones (Hurley, 2000). El

comportamiento de la lactosa debe estar relacionado con determinadas limitaciones en la síntesis de la misma a nivel de la glándula mamaria, cuyo origen primario puede ser un suministro limitado de precursores como la glucosa o bien alteraciones en el metabolismo energético de éste órgano, contribuyendo a disminuir dramáticamente la productividad de los animales. Ello concuerda con lo planteado por Ponce (1984), el cual considera que este hecho puede constituir una posible causa de las bajas producciones observadas en la raza Holstein, consideradas como animales de un considerable potencial productivo. El bajo contenido de fósforo en leche parece estar relacionado con alteraciones en la fosforilación de las caseínas y la inestabilidad que estas muestran durante el proceso industrial. Por ello debe esperarse que profundos desequilibrios de tipo nutricional y el estrés que afecten la disponibilidad de precursores energéticos, se expresen a través de alteraciones en la composición y las relaciones entre estos componentes.

Un aspecto a considerar en estos resultados es que los estudios sobre el balance alimentario realizados en este periodo indican que los animales no cubrían sus necesidades en principio de materia seca y de proteínas en la dieta (37 g deficitarios sobre la base de los requerimientos), con un excedente para la energía de la ración, lo que se muestra en la figura 2. Por otra parte, la fuente fundamental de energía, lo constituyó alimentos conteniendo una elevada proporción de carbohidratos fácilmente fermentables (caña de azúcar integral molida como principal forraje, mieles y bagacillo).

Aunque es ampliamente reconocido que los desbalances entre energía y proteína de la dieta producen una depresión en algunos de los componentes lácteos, existe un complejo

entramado de regulaciones fisiológicas, que si bien disminuyen el rendimiento productivo del animal, los niveles de sólidos y la actividad industrial de la leche se logran mantener casi invariables (Jensen, 1995). Los resultados anteriores evidencian que esta afirmación no es totalmente cierta, al menos en los casos que persisten problemas de subalimentación y desbalances en las dietas.

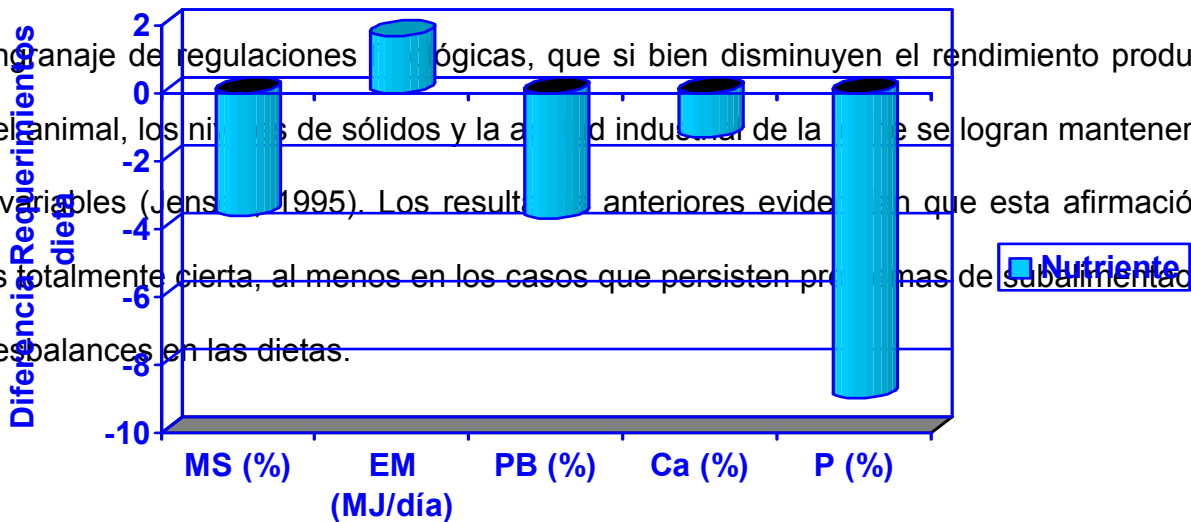


Figura 2. Balance alimentario general de los rebaños lecheros estudiados.

Cuando el contenido proteico en los alimentos voluminosos y pasturas es inferior al 12 % existen limitaciones de compuestos nitrogenados a nivel ruminal, afectándose la actividad bacteriana, la digestibilidad de la dieta y el consumo, con una caída del rendimiento productivo (Rearte, 1993).

Esta situación que referimos en la alimentación se corresponde con una condición corporal inferior a los 3 puntos, la cual expresa un deterioro del estado físico de los animales de los dos rebaños estudiados. Diversos autores (Alvarez, 1999^a, Gonzáles, 2000 y Keown, 2000) han reportado que una situación similar, mantenida durante cierto tiempo puede conducir a problemas metabólicos, lo que se hace más crítico en vacas en el primer tercio de la lactación, cuando las demandas de nutrientes son más elevadas. La producción de leche es un proceso fisiológico que comienza de forma repentina en el momento del parto y se va intensificando diariamente hasta un máximo nivel durante la lactancia. El organismo animal posee reservas corporales, que conjuntamente con el aporte de la dieta, son movilizadas para compensar el repentino aumento de la demanda de nutrientes para la producción de leche. Cuando la dieta no logra aportar nutrientes en calidad y cantidad suficientes, la vaca moviliza hasta sus reservas corporales. Sin embargo si esta situación es mantenida más allá de lo normal, ello puede conducir a problemas metabólicos (Whitaker y Kelly, 1995; Wittwer, 2000; Homan y Wattiaux, 2000).

El estudio de los indicadores hematológicos indican que más de la mitad de los animales presentaban anemia y que el 100 % de ellos presentaban una franca acidosis metabólica, toda vez que los niveles de pH sanguíneo, bicarbonatos y presión de oxígeno y dióxido de carbono se encontraban por debajo del límite mínimo (Tabla 10), lo que se ajusta al empleo de una dieta desbalanceada condicionando la aparición de animales anémicos y un cambio del patrón de fermentación ruminal, con una brusca caída del pH ruminal y una disminución de grandes sectores de la flora y fauna ruminal (Sobre todo la flora celulolíticas y los protozoos), comprometiendo el fisiologismo animal (Contreras, 1998; Álvarez, 1999a y Barros, 2001).

Tabla 10. Estudio hemato – metabólico de los rebaños estudiados.

<i>Indicador</i>	<i>Rango acept</i>	<i>% Vacas afect.</i>
Hemoglobina	80-150 g/L	54
pH sanguíneo	7.35-7.50	100
EBS	-2.5 a 2.5 Mol/L	70
HCO ₃	24 - 30 Mmol/L	92
PCO ₂	45-53 mm Hg	63
PO ₂	29-40 mm Hg	60

En la literatura internacional existen reportes parciales referentes alteraciones en el contenido de algunos componentes de la leche o de algunas de sus propiedades físico – químicas, con implicaciones en su procesamiento industrial (Ikonen y Ojala, 1995; Mariani *et al.*, 1998b). Es probable que este fenómeno sea potenciado por causas genéticas, asociado a las variantes genéticas de la κ - caseína y la β - lactoglobulina. La selección de los rebaños lecheros se enfoca en gran medida a la producción de leche y en cierta medida a los rendimientos en grasa. La presencia de variantes genéticas A de la κ - caseína y la β - lactoglobulina en el ganado bovino logra una mayor expresión productiva de los animales, sin embargo se reportan bajos niveles de sólidos en la leche, alteraciones en algunas propiedades físico – químicas de la misma y problemas con la aptitud industrial de la misma (Mao *et al.*, 1992; Ng-Kwai-Hang, 1998 y Mackle *et al.*, 1999).

La integración de los resultados obtenidos en el experimento I, y la identificación de un cuadro típico de alteraciones descritas anteriormente, permiten establecer un marco referencial en términos de composición láctea y otras características físico-químicas para clasificar este cuadro como **Síndrome de Leche Anormal**, identificado con las siglas **SILA** (Tabla 11). Es interesante notar que en términos de alteraciones en la leche, este problema no se ajusta a ninguno de los cuadros descritos frente a otros trastornos metabólicos como la cetosis, acidosis, hipocalcemia, hipomagnesemia, baja grasa e incluso la mastitis, donde ocurren cambios apreciables, pero en componentes y propiedades específicas.

Tabla 11. Componentes mayores y propiedades físico-químicas de la leche cruda, rango de variación para Cuba y comportamiento de la leche “anormal”.

Indicador	Valor Medio	Rango Variación	Leche “anormal”
Proteína bruta (g%)	3,05	2,85 - 3,30	< 2.90
Caseína (g%)	2,44	2.11 – 2.90	< 2.10
Lactosa (g%)	4,75	4,50 – 4.85	< 4.60
Relación caseína/PB (%)	75	73 – 77	< 75
Acidez titulable (%)	0.15	0.13 – 0.17	< 0.13
pH	6.70	6.60 – 6.75	>6.75
Densidad (g/cm ³)	1.030 ⁵	1.029 – 1.032	< 1.029
Prueba de cocción	negativo	Positivo – negativo	Positivo
Prueba del alcohol 68 %	negativo	Positivo – negativo	Positivo
Calcio mg/%	120.0	80 – 150	< 110.0
Fósforo mg/%	90.0	65 – 105	< 80.0
Magnesio mg/%	10.0	7,9 – 14	< 9.0

Un elemento de interés frente a la leche anormal es la alteración en el perfil nitrogenado de la leche: Baja proteína bruta, baja concentración de caseína y de la relación caseína/proteína bruta, lo que está relacionado con desbalances entre energía/proteína de la dieta. Existe una depresión marcada en los niveles de fósforo y calcio en leche, condicionado por el pobre aporte de la dieta y la demanda que dichos minerales tienen durante el pico de producción de leche. Esta situación es respaldada científicamente cuando vemos la expresión ya reflejada de la caseína, la cual es altamente dependiente de los niveles de calcio y fósforo a nivel de la célula epitelial mamaria y que en este caso hay un efecto directo en su comportamiento. Consideramos agregar que para el caso de nuestro país, donde la selección genética ha estado basada solo para la producción de leche, esta condiciona a que prevalezca la variante genética AA de las proteínas lácteas, las cuales son propensas a mostrar una menor concentración en leche. La relación caseína/proteína bruta se muestra por debajo del 75 porciento. Debemos además tener en cuenta que la lactosa es el mayor componente osmóticamente activo sintetizado por la glándula mamaria y ello permite regular la salida de agua y el volumen de leche segregada. Dicho componente muestra frente a este cuadro una franca depresión, resultando el primer reporte de dicho comportamiento, si tenemos en cuenta que es uno de los invariables en la leche. Ello además está relacionado con una baja concentración

de magnesio, que generalmente se encuentra por debajo de 9 mg por ciento. La relación inversa reportada entre este mineral en leche y los rendimientos productivos están relacionadas directamente con el papel del magnesio en la mayor parte de los complejos enzimáticos de síntesis y secreción de los componentes lácteos a nivel de la glándula mamaria, sobre todo para la lactosa. Sin embargo ya existen reportes para Cuba (Ponce, 1984) que en el caso de la raza Holstein Friesian frente a condiciones desfavorables de explotación, se presenta una depresión acentuada de las concentraciones de magnesio alrededor del pico de lactancia, así como la imposibilidad de esta raza de mantener en los niveles normales sus concentraciones de calcio y magnesio durante esta etapa de la lactancia. El equilibrio ácido-básico de la leche está dado por la presencia de la caseína, los grupos fosfatos y citratos. Al existir una depresión en todos ellos, la leche manifiesta un bajo poder buferante, lo cual se traduce en un bajo nivel de acidez titulable y un elevado pH referido al Síndrome de Leche Anormal (SILA). La interacción que tienen los grupos fosfatos y citratos con la micela de caseína, definen su estabilidad, la cual evidencia su estado a través de la prueba de ebullición y de alcohol, hecho que confirma que al disminuir dichas concentraciones en la leche, condicionan que la misma no posea aptitud para el procesamiento industrial a que pueda ser sometida.

El establecimiento de valores indicativos de leche anormal para cada parámetro permite agrupar estos en función de su significado biológico e industrial (Tabla 12). La asociación entre el tipo de alteración y el indicador de alarma correspondiente se refiere a parámetros que están relacionados de alguna manera con los mecanismos de síntesis y secreción a nivel de la glándula mamaria y con las interrelaciones que se establecen entre las diferentes fases de la leche (emulsión, suspensión y solución).

Tabla 12. Criterios generales para definir un cuadro de Síndrome de Leche Anormal (SILA).

Tipo de alteración en la leche	Indicador de alarma
Depresión en el contenido de sólidos	Bajo contenido de proteína bruta (menor de 2,90 g/%) Relación proteína bruta/caseína menor

de la leche	de 75 % Valores de lactosa y Sólidos no grasos deprimidos (4,60 y 8,15 g/% respectivamente)
Inestabilidad Térmica	Prueba del alcohol positiva pH mayor a 6,75 Acidez titulable menor a 0,13 % Crioscopía menor a 520 m°C
Desequilibrio mineral	Fósforo menor de 80 mg/% Magnesio por debajo de 9 mg/% Calcio mayor de 110 mg/%

La clasificación propuesta permite ordenar y analizar de forma más precisa e integral, los estudios de las características de la leche, interpretando mejor su significado e identificando los posibles problemas en su utilidad como materia prima.

III. 2.3 Conclusiones.

- Existen alteraciones de la leche en condiciones de producción, caracterizadas por bajo contenido de proteína bruta, caseína, lactosa y minerales, así como en los valores de acidez titulable, densidad y punto crioscópico, que se asocian con trastornos en los procesos de industrialización y calidad de los productos lácteos.
- El Síndrome de Leche Anormal (SILA), es un fenómeno de alteraciones generalizadas en las características de la leche, el cual se identifica por disminución de los sólidos, inestabilidad térmica y desequilibrio mineral, que se asocia con ciertas alteraciones metabólicas con base en los estados mantenidos de subalimentación o por modificaciones en la ración, lo cual puede estar potenciado en gran medida por las variantes genéticas presentes y por el pico de lactancia en la raza Holstein Friesian.

III. 3 Experimento III.

Replicación experimental de un cuadro de Síndrome de Leche Anormal (SILA) en condiciones controladas.

Introducción.

Durante varias décadas el análisis de los componentes sanguíneos ha sido la forma mas frecuente de conocer e interpretar el estado de salud de la vaca lechera, básicamente en lo referido a su estado metabólico (Alvarez, 1999^a). Excepto en el caso de la mastitis, que se diagnostica químicamente a través de las alteraciones en la leche, las enfermedades tales como la acidosis metabólica, alcalosis, cetosis, hipocalcemia, hipomagnesemia, trastornos ruminales y otras, se asientan en análisis del perfil metabólico sanguíneo, datos del equilibrio ácido-básico, del liquido ruminal, y biopsias de huesos e hígado.

Aunque son bien conocidos los efectos de diferentes sistemas y tipos de alimentación, raza, época del año, factores fisiológicos y otros, sobre la composición láctea, muy pocos de estos indicadores se utilizan realmente para diagnosticar alteraciones en el estado de salud de la vaca lechera y en la práctica solo la determinación de urea en leche se considera un elemento efectivo para evaluar posibles desbalances de energía/proteína en la ración (Witter, 2001). Indicadores tales como la concentración de lactosa, minerales, y proteína se consideran poco variables dentro de una raza con un determinado estado fisiológico, pero en la práctica, como se demuestra en los experimentos precedentes, no siempre es así.

La alta especialización productiva de los rebaños lecheros alcanzado en los últimos años, genera una mayor demanda de nutrientes por lo cual, cambios relativamente pequeños en las condiciones óptimas de manejo y alimentación, producen alteraciones sensibles en la salud, entendida en su concepto más integral (Villoch *et al.*, 1991, González, 2000). La explotación de vacas lecheras en ambientes que no se ajustan a su potencial genético, como es el caso de la raza Holstein y otras altamente especializadas en el trópico, se asocia en ocasiones con baja respuesta reproductiva y alteraciones en la producción y composición láctea. En el experimento II se determinó la presencia de alteraciones

generalizadas en las características de la leche en condiciones de producción y su relación con trastornos metabólicos, básicamente con un cuadro de acidosis inespecífica, en el sentido de no estar asociada a las causas clásicas de la misma.

El objetivo del estudio estuvo dirigido a establecer de forma experimental la relación causal entre el complejo de alteraciones en las características físico-químicas de la leche y la presencia de trastornos metabólicos utilizando un modelo experimental basado en la caña de azúcar y sus subproductos para provocar dichas alteraciones

III. 3.1 Materiales y métodos.

El estudio se desarrolló en un rebaño integrado por 30 vacas Holstein Friesian de mediano potencial, en ordeño y perteneciente a una lechería comercial en la provincia de La Habana, utilizando como modelo experimental una dieta basada en la caña de azúcar integral molida y bagacillo como principal alimento. Dichos animales fueron ordeñados mecánicamente dos veces al día, en el período comprendido entre los meses de enero y mayo de 1999 (124 días), correspondiéndose con la época de sequía.

Se conformaron tres grupos experimentales, donde los animales se seleccionaron al azar en grupos de 10 cada uno. Los mismos tenían similares días de lactancia y se encontraban entre la segunda y tercera lactancia. Para ello el primer grupo recibió un 50 % del consumo diario sobre la base de materia seca de caña de azúcar integral molida y bagacillo, el resto fue cubierto con forraje verde, pastos y pienso comercial (Grupo 50%), al segundo grupo se le suministró caña de azúcar integral molida y bagacillo cubriendo hasta un 80 % del consumo de materia seca de la dieta, siendo el porcentaje restante ocupado por forraje verde, pastos y pienso comercial (Grupo 80%). El tercer grupo permaneció como control, consumiendo una dieta formada por una adecuada proporción de pastos, forrajes, concentrado y premezcla mineral (Tabla 13).

Tabla 13. Balance alimentario de los grupos experimentales

Grupo Control					
Balance	Ingesta MS, % P.V.	EM (MJ/día)	PB (% de M.S.)	Ca (% de M.S.)	P (% de M.S.)
Requerimientos	3,00	94.32	17.0	0.80	0.46

Aporte de la dieta	3.01	97.5	16.0	0.81	0.51
Diferencia	100.3%	+ 3.18	- 1.0	+0.01	+0.01
Grupo 50 %					
Balance	Ingesta, MS, % P.V..	EM (MJ/día)	PB (% de M.S.)	Ca (% de M.S.)	P (% de M.S.)
Requerimientos	3,00	94.32	17.0	0.80	0.46
Aporte de la dieta	2,40	97.3	13.0	0.77	0.41
Diferencia	-20.0 %	+ 3.1	- 5.0	- 0.03	+0.05
Grupo 80 %					
Balance	Ingesta, MS, % P.V..	EM (MJ/día)	PB (% de M.S.)	Ca (% de M.S.)	P (% de M.S.)
Requerimientos	3.00	94.32	17.0	0.80	0.46
Aporte de la dieta	2.30	95.4	10.0	0.75	0.40
Diferencia	- 23.33%	+ 1.08	- 5.0	- 0.05	+0.06

El criterio utilizado para proponer esta dieta dentro del diseño experimental, tiene relación directa con la situación encontrada con anterioridad en el experimento I y II, relativo a la base alimentaria encontrada frecuentemente en los rebaños implicados.

El balance alimentario se realizó al momento del inicio del experimento y se realizó su monitoreo, una vez por semana, según lo descrito en Materiales y Métodos Generales.

Para lograr uniformidad de los grupos, además del número y estado de la lactancia (Tabla 14), se tuvo en cuenta el estado de salud de los animales, el peso vivo y la condición corporal (Materiales y Métodos Generales).

Tabla 14. Comportamiento de los días de lactancia y el número de lactancias de los grupos experimentales.

Grupo	Días de lactancia Inicio	Días de lactancia Final	Número de lactancias
Control	42,2	166	2,9
50 %	39	163	3
80 %	45,7	169.7	3

Desde el inicio de la aplicación de la dieta y hasta el momento en que se diagnosticó el Síndrome de Leche Anormal, se registró la producción de leche y se tomaron muestras de leche semanalmente en el ordeño de la mañana y la tarde según lo establecido en los materiales y métodos generales. De igual manera se recolectaron muestras de sangre al

inicio y final del experimento para estudiar los principales parámetros hematoquímicos conforme a lo establecido en materiales y métodos generales.

Para la realización de los ensayos planteados en el diseño, se siguió la metodología analítica descrita en los materiales y métodos generales.

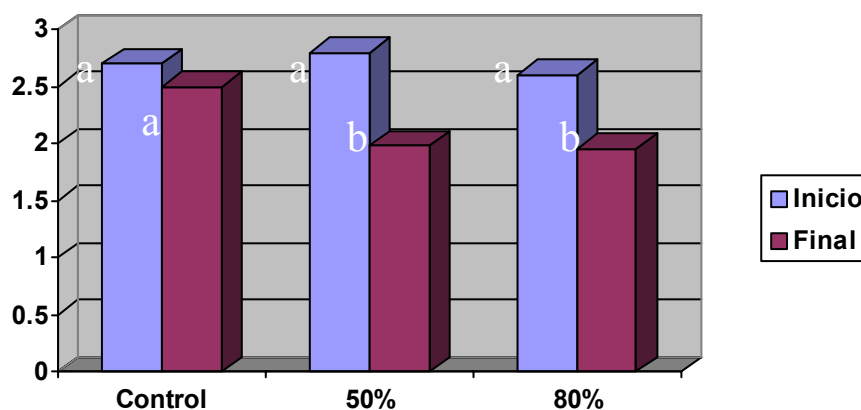
Durante todo este período los animales se mantuvieron bajo las mismas condiciones de manejo.

El estudio incluyó una Prueba T de Student pareada, ejecutándose el análisis de varianza simple para destacar la significación o no existente entre los grupos estudiados. (Paquete estadístico SAS, 1987).

III. 3.2 Resultados y discusión.

Teniendo en cuenta el balance alimentario, es evidente que existe un desbalance en la relación energía/ proteína de la ración en los grupos 50 % y 80 %, que se acentúa en el segundo grupo. Resulta válido aclarar que en el caso del grupo control existe un pequeño déficit en proteínas, NRC (1989) establece una relación proteína bruta – energía metabolizable de 17,4:1 (g:MJ) para la producción de leche, lo que en nuestro caso no cubre todos los requerimientos, aunque se encuentra muy cercano a lograrlo.

La condición corporal que al inicio se comportó muy similar entre los grupos, al final del experimento hubo variaciones significativas entre el grupo control y los tratados (Figura 3). La determinación de la condición corporal de la vaca lechera, permite evaluar de forma cuantitativa, el grado de depósito o pérdida de la grasa corporal, en otros términos de sus reservas energéticas, Wittwer (2000), refiere que durante la lactancia temprana la vaca lechera debe oscilar entre 2,5 y 3,0 puntos de condición corporal. Los resultados indican que en este caso, dicha situación condujo a que los animales al final del experimento en lugar de superar la condición corporal, disminuyeran dramáticamente la misma a niveles que fisiológicamente no le permite lograr una lactación sostenida.



Letras desiguales poseen diferencias significativas en barras de igual color. $p \leq 0.01$

Figura 3. Situación de la condición corporal de los grupos durante la replicación del SILA. En términos productivos (Tabla 15), el grupo control no tuvo variación significativa, aunque es evidente cierta disminución. Wittwer (2000) refiere que desde el inicio de la lactación hasta el momento del pico de máxima producción, la condición corporal disminuye de 3,5 a 2,5 o menos puntos. Sin embargo, los restantes grupos si manifestaron una acentuada variación con relación a la producción de leche. Resulta sorprendente que en todos los casos, los niveles de producción de leche se encuentre tan deprimidos, a pesar de corresponder a un rebaño de mediano potencial. Sobre este particular consideramos que también en rebaños lecheros de estas características, es posible la aparición de estas alteraciones. Dicho parámetro en vacas con déficit de proteínas en la dieta se reduce significativamente, así como el contenido en SNG y específicamente en proteínas lácteas (Kalscheur *et al.*, 1999). En este sentido los animales pierden más peso de lo habitual, que resulta imposible recuperar al final de la lactación. La condición corporal se deprime más aún en vacas con cierto potencial genético. Cuando los aportes de la dieta son deficitarios en nutrientes, los mismos son distribuidos en la economía animal, de forma tal, que los requerimientos para el mantenimiento, reciben la más alta prioridad, deprimiéndose la producción y la reproducción. (González-Stagnaro *et al.*, 1998).

Leng (1989) y Van Soest *et al.*, (1991), refieren que la baja densidad de nutrientes, la pobre digestibilidad, calidad y aporte de los alimentos fibrosos, la inclusión de un alto

contenido de carbohidratos fácilmente fermentables, provoca una disminución del pH ruminal y alteraciones en los patrones de fermentación en dicho órgano.

En este caso, otro de los aspectos que afectan la composición láctea es el tamaño de partícula, el peso específico de la misma y la frecuencia de ingestión de los alimentos (Fredeen, 1996 y Juárez *et al.*, 1999). Cuando el forraje es finamente dividido y la mitad del mismo lo constituyen partículas menores de 2.6 mm, ocurre una disminución de la rumia, menor producción de saliva y consecuentemente un menor aporte de bicarbonato por medio de la saliva, con disminución del pH ruminal. El pequeño tamaño de las partículas y el poco peso específico provocan un efecto de flotación, incrementándose la velocidad de pasaje, una menor digestión del alimento (Durr *et al.*, 2000). Martín (1997) demostró que durante la utilización de caña de azúcar sin la adición de urea u otra suplementación, los animales pierden peso, concluyendo que su principal limitante para que el animal consuma elevadas cantidades y sostener una elevada producción de leche, es el bajo contenido de nitrógeno, por lo que de la suplementación de la misma dependen los resultados que se obtengan. El contenido de proteína en la dieta es otro aspecto fundamental al inicio de la lactación. En comparación con la energía, la cantidad de proteína que se puede movilizar de las reservas corporales es limitada (145 g/día). Es por ello que resulta importante lograr el total aporte de los requerimientos en este nutriente, puesto que la dieta constituye la única vía para lograrlo. Sin embargo, una fracción de la proteína cruda de la dieta, debe ser resistente a su degradación en el rumen. De esta manera se logra suministrar un flujo directo de aminoácidos a la glándula mamaria. (Forsyth, 1989).

Knight and Wilde (1987) y Tucker (1994) exponen que durante el pico de lactancia, la vaca lechera tiene una alta demanda de nutrientes, que no logra suplir la alimentación, por lo que debe recurrir a sus reservas corporales para satisfacer su demanda energética. Si por demás, esta no logra tener la calidad adecuada, el estado metabólico de los animales se afecta considerablemente.

Tabla 15. Efectos de la replicación experimental del SILA sobre la producción de leche (L).

Grupo	Inicio (media \pm E.E.)	Final (media \pm E.E.)
Control	3,4 ^a \pm 0,20	3,3 ^a \pm 0,24
50 %	3,7 ^a \pm 0,23	2,10 ^b \pm 0,26
80 %	3,5 ^a \pm 0,25	2,42 ^b \pm 0,27

Letras desiguales por columnas poseen diferencias significativas $p < 0.05$.

Con relación a la composición de la leche, se muestran los niveles de proteína láctea y caseína en la Tabla 16. En el transcurso del experimento, los valores de proteína en leche descendieron significativamente. Durante el cambio de calostro a la leche, el contenido de proteína láctea decae rápidamente, para continuar de esta manera hasta su expresión más baja alrededor de los 70 días pos – parto o lo que es igual al pico de lactancia (Mephram, 1983). Si consideramos que la raza Holstein Friesian, para el caso de Cuba, presenta su pico de parto durante la época de seca, sobre todo entre los meses de noviembre y diciembre (Álvarez, 1999b), es de esperar que se acentúe la disminución de la producción de leche y su composición, sobre todo en proteína y lactosa, asociado además a una mala calidad y baja disponibilidad de la dieta, alrededor del pico de lactancia, que es el momento en el cual se presenta la mayor demanda de nutrientes por la vaca lechera. Este comportamiento es un reflejo además del déficit de proteína en la alimentación, que compromete tanto la producción de leche, como el contenido en sólidos de la misma. Los valores de caseínas en leche describen la misma situación que las proteínas en la leche y la relación entre ellas cae drásticamente por debajo del 75 % en los casos de los grupos a los cuales se les ajustó la dieta, correspondiendo ambos valores a los establecidos para un cuadro de SILA.

Tabla 16. Contenido de proteína bruta y caseínas.

Grupo	Proteína (%)		Caseína (%)	
	Inicio	Final	Inicio	Final
Control	3,06 ^a	3,01 ^a	2,41 ^a	2,31 ^a
50 %	3,08 ^a	2,82 ^b	2,40 ^a	2,11 ^b
80 %	3,03 ^a	2,80 ^b	2,37 ^a	2,04 ^b

Letras desiguales por columnas difieren significativamente $p \leq 0.05$

Según Ponce *et al.*, (2000) y Ponce y Hernández (2001) la alimentación básica con caña de azúcar en forma de forraje y mieles en más de un 50% del consumo total de materia seca es un factor de consideración en la presentación de tales alteraciones. Dichos autores al analizar una situación presentada años anteriores en rebaños altamente especializados y en la época de seca, donde el consumo de caña y sus derivados fue mayor al 50 % sobre la base de materia seca, reportaron valores normales para el caso de la grasa (3.53), sin embargo la proteína manifestó depresión (2.87) y se presentó una relación proteína bruta - caseína por debajo del 75 % lo cual se corresponde con nuestros resultados. López y Ponce (1992) refieren que el principal factor en Cuba que ha incidido en las bajas concentraciones de sólidos de la leche, es la alimentación de la vaca lechera y dentro de ello, el insuficiente contenido de proteína verdadera que se suministra en la ración. Sobre este particular, se manifiestan concentraciones medias deprimidas para el caso de la proteína láctea, con relación a la que se establece como valor mínimo. Dichos autores plantean que existen evidencias de bajos porcentos de caseína y una depresión entre esta y la proteína láctea total, con afectación en la fabricación de derivados como el queso.

El contenido de lactosa disminuye por debajo de 4,60 %, establecido como criterio de manifestación del SILA para el caso de los grupos tratados, con diferencias significativas frente al control (Tabla 17). La grasa no rebasa el umbral mínimo establecido para la raza, aunque se manifiesta también una baja concentración.

Tabla 17. Concentraciones de grasa y lactosa durante la replicación del SILA.

Grupo	Grasa (%)		Lactosa (%)	
	Inicio	Final	Inicio	Final
Control	3,58 ^a	3,42 ^a	4,67 ^a	4,62 ^a
50 %	3,61 ^a	3,36 ^b	4,64 ^a	4,53 ^b
80 %	3,64 ^a	3,35 ^b	4,69 ^a	4,56 ^b

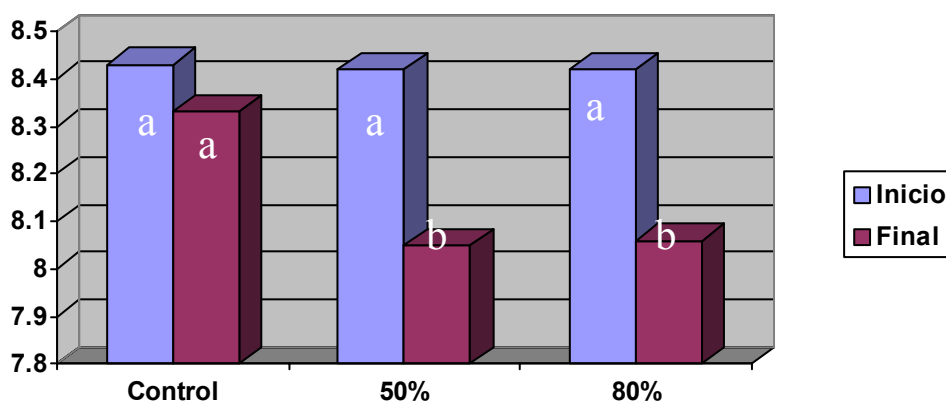
Letras desiguales por columnas poseen diferencias significativas. $p \leq 0.01$

Alonso y Senra (1992) refieren en un estudio que aplicando consumos de forraje de caña de azúcar entre 5 –10 kg/MS/vaca/día (55% de la dieta), se presentó una disminución en

la lactosa y la grasa, así como en los SNG y ST. En este caso existe un comprometimiento de la capacidad de síntesis de la glándula mamaria por alteraciones en el fisiologismo general de los animales. Durr (2001), refiere que el aporte de forraje en la dieta de la vaca lechera con un tamaño de partícula muy pequeño, contribuye a un menor tenor de grasa butírica en la dieta. En este caso, la formación de ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen se afecta considerablemente, disminuyendo la disponibilidad de los mismos por parte del animal, debemos tener en cuenta que los AGV contribuyen con cerca del 70 % de las necesidades energéticas de un rumiante adulto, debido a que la absorción de glucosa en el tracto digestivo del rumiante es baja (Van Soest *et al.*, 1991 y Gonzáles-Stagnaro *et al.*, 1998). El ácido graso formado en más grandes cantidades es el acético. Sobre una base molar representa entre 60 – 65 % de los AGV absorbidos al torrente sanguíneo. Este en forma de acetato o β -hidroxibutirato es el precursor mayoritario para la síntesis de lípidos. Cuando su contenido se ve afectado, se afecta a su vez, en gran medida, la síntesis de la materia grasa en la leche. Consideramos que esta situación de cierta depresión de la materia grasa, se debe a este fenómeno. En el caso de la disminución de la concentración de lactosa en leche, debido a la modificación del patrón de fermentación ruminal, los niveles de ácido propiónico deben también estar disminuidos, estando gravemente deprimida la gluconeogénesis del ácido propiónico. Durr (2000) y Hurley (2000) refieren que la glucosa presente en la sangre del animal, es utilizada en un 79 % para la síntesis de la lactosa y aquella que no es utilizada para ello, se emplea en la síntesis de glicerol o para generar energía en el organismo. Por ello la disponibilidad de glucosa sanguínea es un factor altamente limitante para la síntesis de la lactosa y la productividad de la vaca lechera, que se pone de manifiesto en estos resultados.

En el caso de los grupos tratados, al existir un déficit alimentario y a su vez alteraciones en el tracto digestivo del rumiante, se ven afectadas las concentraciones de proteína y lactosa por debajo de los niveles fisiológicamente reportados y en consecuencia también resultan deprimidos los valores de SNG en los mismos, lo que expresan las diferencias

significativas en el contenido de sólidos no grasos (SNG) en los grupos tratados con relación al control (Figura 4).



Letras desiguales en barras de igual color poseen diferencias significativas. $p \leq 0.05$.

Figura 4. Distribución de los SNG (%) durante el experimento de SILA.

Alonso y Senra (1992) durante la utilización de caña de azúcar en la alimentación de vacas lecheras en secano, concluyeron que resulta imprescindible administrar suplementos nitrogenados, sales minerales y otros alimentos a las misma, para lograr una adecuada relación PB: EM en la dieta y así lograr buenas producciones de leche y niveles de sólidos aceptables. En ello coincide Aranda *et al.*, (2001), los cuales consideran que la caña de azúcar es un buen alimento siempre que se combine con pasto de buena calidad, urea o un suplemento proteico.

Con relación a las propiedades físico-químicas de la leche la tabla 18, refleja el comportamiento de las mismas antes de replicado el Síndrome de Leche Anormal en el rebaño en estudio. Se incluyen además otros componentes lácteos que por primera vez se reportan en un estudio de este tipo (Citrato y Urea).

Tabla 18. Resultados de las propiedades físico-químicas de la leche antes de la instauración del SILA.

Indicador	Control Media	50 % Media	80 % Media
Acidez (g%)	0.14 ⁵ a	0.14 a	0.13 ⁷⁵ a
Densidad (g/cm ³)	1.029 ⁵ a	1.030 a	1.029 ⁵ a
P. Alcohol 68 %	Negativa	Negativa	Negativa
P. Ebullición	Negativa	Negativa	Negativa
Citrato (mg%)	357 a	354 a	355 a
Pto. Crioscópico (m°C)	517 a	519 a	518 a
Urea (%)	3.62 a	3.59 a	3.60 a

Letras desiguales por fila poseen diferencias significativas $p \leq 0.05$

Como se puede apreciar las propiedades físico –químicas al inicio del experimento se encuentran fluctuando por encima de los límites mínimos permisibles para la leche cruda. Sin embargo, al instaurarse el síndrome en los animales pertenecientes a los grupos tratados, se presentan diferencias significativas con relación al grupo control (Tabla 19). Igualmente sucede con los niveles de densidad y el punto crioscópico.

Tabla 19. Resultados de las propiedades físico-químicas de la leche durante la instauración del SILA.

Indicador	Control Media	50 % Media	80 % Media
Acidez (g%)	0.13 ⁵ a	0.12 a	0.11 ⁷⁵ b
Densidad (g/cm ³)	1.029 a	1.028 ⁵ ab	1.028 b
P. Alcohol 68 %	Negativa	Positiva	Positiva
P. Ebullición	Negativa	Negativa	Negativa
Citrato (mg%)	344 a	260 b	243 b
Pto. Crioscópico (m°C)	516 a	510 b	511 b
Urea (%)	3.62 a	3.73 b	3.71 b

Letras desiguales por fila poseen diferencias significativas $p \leq 0.05$

Dicha modificación significativa en los grupos 50 % y 80 %, se ajusta a los rangos de alteración y a los criterios establecidos previamente, confirmando la existencia de un cuadro de cambios generalizados en la leche. A los efectos del SILA estos se relacionan con bajos sólidos y disminución de la capacidad buferante, respectivamente (Ponce *et al.*, 2000). En el caso de la caracterización de la acidez titulable y la densidad, se han reportado un alto porcentaje de valores de densidad por debajo de 1,029 g/cm³ y de acidez

menor de 0,13 g% de ácido láctico. En igual sentido diversos autores refieren diferencias apreciables entre las épocas de seca/lluvia para ambos indicadores, con una mayor frecuencia de valores anormalmente deprimidos durante el período seco (Ponce y Hernández, 2001). En el caso de la prueba de ebullición y la prueba del alcohol, ambas transitan de la negatividad al francamente positivo. La positividad tanto a la prueba del alcohol como a la de ebullición ha sido reportada (Barros, 2000), esto se asocia al bajo contenido de caseinatos y grupos fosfatos, los cuales mantienen una adecuada capacidad buferante cuando se encuentran en niveles normales en la leche.

También Fossa *et al.*, (1984), Mariani *et al.*, (1991, 1994, 1998a y 1998b) y Calamari *et al.*, (1996) han realizado reportes donde encuentran bajos niveles de acidez titulable y alteraciones en el tiempo de coagulación enzimática. Ellos relacionan esta situación con la disminución de nivel de sólidos de la leche, sobre todo en proteína láctea y SNG, lo que contribuye a que no se logren los valores normales de acidez de la leche y el tiempo de coagulación de la leche en la fabricación de quesos sea demasiado largo, una pobre firmeza de la cuajada y siendo altas las pérdidas de proteínas en el suero de la leche. El aumento de los niveles de urea en leche, es una expresión directa de su comportamiento en la sangre y puede ser usada como una forma simple de estimar el balance energía proteína en la ración. Al existir un déficit de proteínas en la dieta, existe a su vez un incremento en la utilización de aminoácidos en el ámbito corporal y en el catabolismo y como consecuencia un aumento de la urea plasmática y en la leche (Hutjens, 1996; Broderick y Clayton, 1997; Hof *et al.*, 1997; Jonker *et al.*, 1998; Jonker y Kohn, 1998 y Jonker *et al.*, 1999). Una expresión de ello resultan las diferencias significativas que se aprecian entre los grupos tratados y el control para este parámetro. Similar comportamiento muestran los valores de citrato en leche, existiendo diferencias significativas entre los grupos tratados con respecto al control al final del experimento. Negri *et al.*, (2001) refieren que encontraron una mayor influencia de problemas de estabilidad térmica de la leche producida en invierno y asociaron este efecto a una menor concentración de ácido cítrico debido a una menor utilización de los pastos. La

permeabilidad de la membrana mitocondrial para algunos aniones (malato, citrato, aspartato, glutamato) en detrimento de otros, puede variar en diversos grados sobre el control del metabolismo celular. Una función de la mitocondria, es la de suministrar átomos de carbono para la síntesis de aminoácidos no esenciales, en forma de citrato por ejemplo (Fox, 1992, Hurley, 2000). Al disminuir la concentración de dicho ión, el mecanismo de síntesis de aminoácidos no esenciales se afecta y como consecuencia la síntesis de lactosa y de proteína láctea. Además el calcio y el citrato normalmente forman un complejo soluble muy estable en la leche cuando el pH de la leche es menor de 6.7 y existe una alta concentración del ión calcio (Mephram, 1983 y Negri *et al.*, 2001). En nuestro caso al existir un pH elevado en la leche y estar disminuidas las concentraciones del calcio, se presenta entonces una disminución en la concentración de citrato en su forma soluble. Situación que queda demostrada en nuestro experimento, pues resulta de esta manera imposible hallar niveles fisiológicos de este ión, cuando las condiciones no son favorables.

En cuanto al estudio de los minerales (Tabla 20), podemos apreciar que en el caso del fósforo y el magnesio, resultan significativamente diferentes en ambos grupos tratados y para el calcio en el grupo 80%, con cierta disminución del grupo 50 %, aunque sin diferencias significativas de este con relación al control. El grupo control se mantiene sin cambios apreciables.

Tabla 20. Concentración de los minerales en leche (mg%) durante la replicación experimental del SILA.

Grupo	Fósforo		Calcio		Magnesio	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
Control	94.5 ^a	90.5 ^a	114.2 ^a	110.7 ^a	9.89 ^a	8.99 ^a
50 %	97.4 ^a	79.4 ^b	117.5 ^a	101.1 ^{ab}	9.72 ^a	8.24 ^b
80 %	96.8 ^a	76.6 ^b	115.3 ^a	95.5 ^b	9.77 ^a	8.26 ^b

Valores desiguales difieren significativamente $p \leq 0.05$.

En los casos donde fue ajustada la dieta, los niveles de este macroelemento (Fósforo) se encuentran por debajo de 80 mg%. Consideramos conveniente resaltar que la dieta a la cual se sometieron los animales era deficitaria en fósforo. Fisiológicamente su

disponibilidad es baja, lo que conduce a que también lo sea a nivel de la glándula mamaria. Ello hace que disminuya la concentración de calcio y fósforo solubles en la misma conllevando a una disminución proporcional del fosfato cálcico miscelar (Negri *et al.*, 2001). Esto se traduce en una disminución de la síntesis de caseína, existiendo evidencias objetivas con el comportamiento mostrado por la misma. También se encuentran deprimidos los niveles de calcio y magnesio. La relación inversa reportada por Ponce (1984) entre el magnesio en leche y los rendimientos productivos está directamente relacionada con el papel que juega este mineral en la mayor parte de los complejos enzimáticos, especialmente en la síntesis y secreción láctea. González (2000), refiere que la vaca lechera depende de adecuadas concentraciones de fósforo en su organismo. En primer lugar resulta necesario en el rumen para la actividad normal de la microflora y por tanto lograr con ello una digestión adecuada. Las deficiencias de fósforo no tienen efectos inmediatos como en el caso del calcio, pero largo plazo puede causar una osteoporosis progresiva, infertilidad y disminución de la producción de leche. Generalmente los rebaños alimentados a base de pastos y forrajes tienen más disponibilidad de calcio, que de fósforo, aconteciendo una deficiencia relativa en fósforo. Las vacas altas productoras que superen los 30 kg/día pierden por esta vía cerca de 36 g de calcio, esto es más de 4 veces las cantidades del calcio sanguíneo. Alvarez (1999) y González (2000), en estudios recientes encontraron que entre los principales factores que afectan la absorción de calcio en el intestino está la deficiencia de proteína en la dieta. En nuestro caso este factor es decisivo en la disminución de los niveles de este elemento en la leche, siendo progresivo este proceso durante el experimento. Spears (1999) define que entre los macroelementos, el magnesio es un co-factor de más de 300 enzimas del organismo animal, además de ser un constituyente fundamental de los huesos y de la actividad neuro-muscular. Sobre este mineral, no existe un control homeostático específico sobre el mismo, por tanto su concentración sanguínea es un reflejo directo de su aporte en la dieta. En nuestro caso existe una disminución progresiva en el estudio realizado, desde el inicio hasta su culminación, ello está muy relacionado

con la disminución de la producción de leche en las vacas. Debemos resaltar el hecho de que estos componentes son muy estables y no existen reportes de su alteración en la leche, por lo que podemos reafirmar el criterio de la existencia de desequilibrio mineral como una expresión del metabolismo animal y con su efecto directo sobre la glándula mamaria.

El estudio de algunos indicadores hematológicos y del equilibrio ácido - básico al inicio del experimento demuestran que los animales se encontraban con una adecuada homeostasis. (Tabla 21).

Tabla 21. Indicadores hematológicos y del equilibrio ácido-básico al inicio del experimento.

Indicador	Rango acept.	Control Media.	50 % Media.	80 % Media
Hemoglobina	80-150 g/L	86,6 a	86,6 a	86,8 a
pH sanguíneo	7.35-7.50	7,36 a	7,39 a	7,35 a
EBS	-2.5 a 2.5 Mmol/L	1,85 a	2,3 a	1,13 a
HCO ₃	24 - 30 Mmol/L	26,7 a	26,9 a	26,1a

Valores con letras desiguales por filas difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Sin embargo en el momento de la aparición del SILA indica que los animales en estudio presentaron anemia y que el 100 % de ellos mostraba una franca acidosis metabólica, puesto que los niveles de pH sanguíneo estaban muy por debajo del límite mínimo y en igual medida se encontraban el resto de los indicadores estudiados (tabla 22). El deterioro físico y de salud observado con frecuencia en rebaños lecheros especializados al finalizar la época de seca en concordancia con las limitaciones en la calidad y cantidad de alimentos disponibles ha sido acompañado por un alto nivel de anemia y alteraciones de la homeostasis de los animales (Ponce *et al.*, 2000). Estudios del metabolismo indicaron la existencia de acidosis vinculadas con alteraciones ruminales en aquellos animales que tuvieron un inadecuado balance alimentario

Tabla No. 22. Indicadores hematológicos y del equilibrio ácido-básico durante la aparición del SILA.

Indicador	Rango acept.	Control Media	50 % Media	80 % Media
Hemoglobina	80-150 g/L	86,6 a	74.6 b	72.4 b
pH sanguíneo	7.35-7.50	7,36 a	7,29 b	7,25 b
EBS	-2.5 a 2.5 Mmol/L	1,85 a	-2,6 b	-2,75 b
HCO ₃	24 - 30 Mmol/L	26,7 a	23.7 b	23.1 b

Valores con letras desiguales por filas difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Dado que el patrón de fermentación ruminal esta en función de los carbohidratos estructurales, los no estructurales, así como su forma física, cantidad y tasa de digestión, los cambios en los carbohidratos pueden modificar la producción y composición de la leche en función de los cambios que tengan en dicha fermentación ruminal.

El uso de carbohidratos fácilmente fermentables se recomienda para promover una fermentación hacia propionato y mejores condiciones de gluconeogénesis de la vaca. Sin embargo, se ignoran los efectos negativos en la acidez ruminal que pueden permitir la acidosis subclínica y la disminución de la digestibilidad de la celulosa y las reducciones en consumo.

La suplementación con alimentos ricos en carbohidratos de fácil digestión, donde los mismos constituyen más del 50 % del consumo diario, determina una marcada proliferación de microorganismos amilolíticos, lo que lleva a una elevada producción de lactato ruminal y cuando esta situación perdura se produce un brusco descenso del pH y la reducción dramática de grandes sectores de la flora ruminal, comprometiendo el fisiologismo animal, lo que hace aparecer un cuadro de acidosis metabólica (Leng, 1989; Nocek, 1997; Ponce, 1999; González, 2000; Ponce *et al.*, 2000; Barros, 2001; Ponce y Hernández, 2001). Sin embargo este comportamiento no se ajusta exactamente a los clásico cuadros de acidosis metabólica producido por exceso en la generación de ácido láctico a nivel ruminal y sí a un desbalance generalizado del control metabólico provocado por la dieta utilizada en el modelo experimental

III. 3.3 Conclusiones.

- El modelo experimental de replicación del Síndrome de Leche Anormal, basado en la caña de azúcar y subproductos como dieta básica, reproduce las alteraciones en la composición y características físico-químicas de la leche y los trastornos metabólicos descritos para el mismo en vacas Holstein Friesian en la primera fase de la lactancia.

III. 4 Experimento IV

Utilización de formulaciones para la corrección de alteraciones en las propiedades físico – químicas de la leche.

Introducción.

La utilización de formulaciones y aditivos para regular el fisiologismo ruminal, aportar minerales o favorecer la utilización de determinadas dietas en vacas lecheras ha sido una practica utilizada en los últimos tiempos, incluyendo en algunos casos microorganismos vivos o parte de ellos (Le Ruyet and Tucker, 1992 y Bigner *et al.*, 1997).

Diversos han sido los estudios enfocados a buscar sustancias que aplicadas por vía oral a la vaca lechera controlen los parámetros de funcionamiento ruminal como el pH, la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), amoníaco que faciliten la utilización de dietas específicas ajustadas por supuesto a la alta demanda de nutrientes, así como otras investigaciones han utilizado sustancias que puedan corregir alteraciones metabólico-ruminales muy específicas, como el síndrome de baja grasa, la acidosis ruminal y metabólica.

La existencia de alteraciones variadas en la composición láctea, y en su aptitud para el tratamiento industrial se ha observado con mayor frecuencia durante la época de seca y en aquellas zonas del país donde se localizan las razas lecheras más especializadas. Los resultados obtenidos en los experimentos precedentes demuestran la asociación entre las alteraciones de la leche, denominadas como Síndrome de Leche Anormal y trastornos metabólicos, sobre todo en el equilibrio ácido – básico y en el estado de salud de los animales. El uso de diferentes proporciones de caña de azúcar, mieles y bagacillo en un modelo experimental que reproduce el cuadro de SILA, indica también la existencia de cambios a nivel del rumen, como asiento de procesos primarios que repercuten más tarde en el metabolismo del rumiante.

Los aditivos alimentarios se utilizan generalmente como parte integral de los concentrados, mieles, bloques multnutricionales, pero en menor medida han sido dirigidos a prevenir o corregir una enfermedad metabólica dada.

Es por ello que enfocamos el objetivo del experimento a evaluar el efecto de varias combinaciones de sustancias o formulaciones correctoras sobre la composición, las propiedades físico – químicas de la leche y el metabolismo general, considerando su uso como un tratamiento frente al Síndrome de Leche Anormal (SILA).

III. 4.1 Materiales y métodos.

El experimento fue llevado a cabo en un rebaño de 30 vacas Holstein Friesian en ordeño, en la provincia de La Habana, afectadas por un cuadro de SILA. Dichos animales fueron ordeñados mecánicamente dos veces al día, en el período comprendido entre los meses de mayo y junio de 1999 (30 días). Sobre este particular es necesario aclarar que a pesar de corresponder al período lluvioso, el acumulado total de precipitaciones en estos meses solo fue de 37 mm, volumen despreciable para tener efectos sobre la disponibilidad de pastos (Instituto de Meteorología. Reporte anual de precipitaciones, 1999).

Se conformaron aleatoriamente 5 grupos experimentales (Grupo I al V), constituidos cada uno por un número de 6 animales. A partir de ese momento a cada grupo se le aplicó una formulación reguladora o correctora del ambiente ruminal, excepto el grupo V que se mantuvo como testigo. Dichas formulaciones se suministraron diariamente y mezcladas con el concentrado, siempre en el ordeño de la tarde, las cuales estaban constituidas por diferentes sustancias, con diversas propiedades para lograr efectos combinados. Se utilizaron de ellos 7 días de adaptación a dichas formulaciones.

Los componentes, cantidades y efectos esperados de la combinación de diferentes sustancias presentes en cada formulación es el que a continuación se describe en la Tabla 23.

Tabla 23. Composición, proporciones y propiedades de las formulaciones

Formulación	Componentes	Efecto esperado
Formulación A	Bicarbonato de Sodio	Buferante.

(Grupo I)	Fosfato Dicálcico	Portador de sales minerales.
Formulación B (Grupo II)	Fosfato Dicálcico Carbonato de Calcio Zeolita	Portador de sales minerales. Alcalinizante. Intercambiador.
Formulación C (Grupo III)	Zeolita Urea	Intercambiador. Aporte de NNP.
Formulación D (Grupo IV)	Spirulina Fosfato Dicálcico Carbonato de Calcio	Activador de la flora ruminal. Portador de sales minerales. Alcalinizante.

Además se tuvo en cuenta el estado de salud de los animales, la condición corporal sobre la base de una puntuación de 1-5 según Wittwer (2000), así como la salud de la ubre. El bicarbonato de sodio utilizado era de calidad alimenticia, con un 98 por ciento de pureza (Importado de la República Popular China), el fosfato dicálcico tenía un contenido de 242 g/Kg de calcio y 204 g/Kg de fósforo, con destino al consumo animal, el carbonato de calcio poseía un 98 por ciento de pureza y particulado grado I (proveniente de la Empresa Geominera de Occidente, Yacimiento Roberto Coco Peredo), con destino al consumo animal; la urea tenía un contenido de 45 por ciento de nitrógeno. En el caso de la Zeolita utilizada, fue la del tipo Heulandita – Clinoptilolita + Modenita tipo I con 70 por ciento de pureza, (yacimiento Tasajera), con una capacidad de intercambio catiónico de más de 125 meq/100g. La Spirulina empleada con grado consumo animal (Empresa Comercializadora de Microalgas y sus Derivados GENIX), poseía un 60 por ciento de proteína bruta y con una digestibilidad que alcanza valores entre un 76 – 89 por ciento.

Desde el inicio de la aplicación de las formulaciones en las vacas afectadas por el SILA y hasta el momento en que concluyó el experimento, se registró la producción de leche y se tomaron muestras de leche según se describe en materiales y métodos generales. El procedimiento de análisis de las mismas se corresponde con la metodología propuesta en materiales y métodos generales

Al inicio del experimento y hasta el momento del restablecimiento de los parámetros productivos y de salud de los animales se determinaron varios indicadores hemato-químicos (Ver materiales y métodos generales).

Durante todo este período los animales se mantuvieron bajo las mismas condiciones de manejo y alimentación. Las dietas de dichos grupos se ajustaron de modo que se mantuviera un balance adecuado y se cubrieran los requerimientos diarios sobre la base de pastos, forraje fresco, caña de azúcar (Esta última por debajo del 50 % del consumo diario), así como concentrado y sales minerales y urea.

A los resultados del estudio se aplicó una Prueba T de Student no pareada, así como un análisis de varianza simple entre los grupos experimentales (Paquete estadístico SAS, 1987).

III. 4.2 Resultados y discusión.

Los resultados de las formulaciones sobre la producción láctea (Tabla 24), donde se evidencia una recuperación en la producción de leche en todos los casos, siendo la B y D donde se expresa en mayor medida dicha recuperación. Con relación a este particular consideramos que además del carbonato de calcio (Alcalinizante) y el fosfato dicálcico (Portador de sales), la inclusión de Spirulina incrementa la disponibilidad de aminoácidos y vitaminas en el rumen, siendo un activador de la microflora y microfauna ruminal, si consideramos el amplio espectro de nutrientes que posee este producto, lo que debe facilitar la presencia de precursores que favorezcan la producción de leche. Mejías *et al.*, (1991), obtuvo efectos beneficiosos con fosfato dicálcico sobre la producción láctea. Sobre este particular la diferencia en producción de leche entre el grupo testigo y los que recibían el fosfato dicálcico superó el kilogramo de leche para estos últimos ($p \leq 0.01$).

Tabla 24. Efecto de las formulaciones sobre la producción diaria de leche (L).

Grupo	Producción de leche (L)		Diferencias producción de leche (L/día)
	Inicio	Final	
Formulación A	3,02	5,35	2,33 a
Formulación B	3,00	5,6	2,60 b
Formulación C	3,01	5,4	2,30 a
Formulación D	2,8	5,7	2,90 d
Control	2,9	3,3	0,40 ns

Letras desiguales poseen diferencias significativas $p \leq 0.01$.

Resulta conveniente destacar que entre las formulaciones B y C no existieron diferencias significativas para este indicador, aunque los volúmenes de leche en valores absolutos se duplican. Ello pudiera estar influido más por el limitado número de animales para un parámetro altamente variable, que a la ausencia real del efecto de dichas formulaciones. Por su parte Galindo *et al.*, (1990) refieren que la población ruminal de bacterias celulolíticas se incrementó con la inclusión de zeolitas en alrededor del 1% de la dieta sobre base húmeda. En este caso dichas bacterias requieren de iones como el K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , para su reproducción y además para la actividad específica del complejo de enzimas celulasas, mejorando el equilibrio bacteriano en el rumen y por ende los indicadores del ambiente ruminal. También estos autores reportan un incremento del pH ruminal con mejoras en el ecosistema de este órgano, debido al empleo de zeolitas. La zeolita, ampliamente estudiada, sobre todo por sus efectos beneficiosos sobre el tracto gastrointestinal de rumiantes y monogástricos debido a su amplia capacidad de intercambio iónico donde prevalecen cationes como el magnesio, el calcio, el sodio y el potasio, ha mostrado efectos en la regulación del consumo voluntario de alimentos (Galindo *et al.*, 1990).

La tabla 25 refleja el comportamiento de los niveles de proteína y SNG en los grupos experimentales, evidenciándose un incremento sustancial de proteína, para todos los grupos con la excepción del control ($p \leq 0.05$). Similar comportamiento tuvieron los SNG, los cuales manifestaron en general una tendencia a superar los niveles establecidos para dicha raza en Cuba. La relación proteína bruta - caseína, que al inicio del experimento fluctuaba por debajo del 75 por ciento, se normalizó y alcanzó entre el 78 y el 80 por ciento. El grupo control o testigo mantuvo deprimidos estos indicadores.

Tabla 25. Contenido de proteína y SNG en los grupos bajo las formulaciones.

Grupo	Proteína g/%		SNG g/%	
	Inicio	Final	Inicio	Final
Formulación A	2,88 a	3,29 b	8,11 a	8,65 b
Formulación B	2,81 a	3,16 b	8,04 a	8,42 b
Formulación C	2,81 a	3,06 b	8,08 a	8,37 b

Formulación D	2,86 a	3,06 b	8,11 a	8,42 b
Control	2,85 a	2.87 a	8,11 a	8,16 a

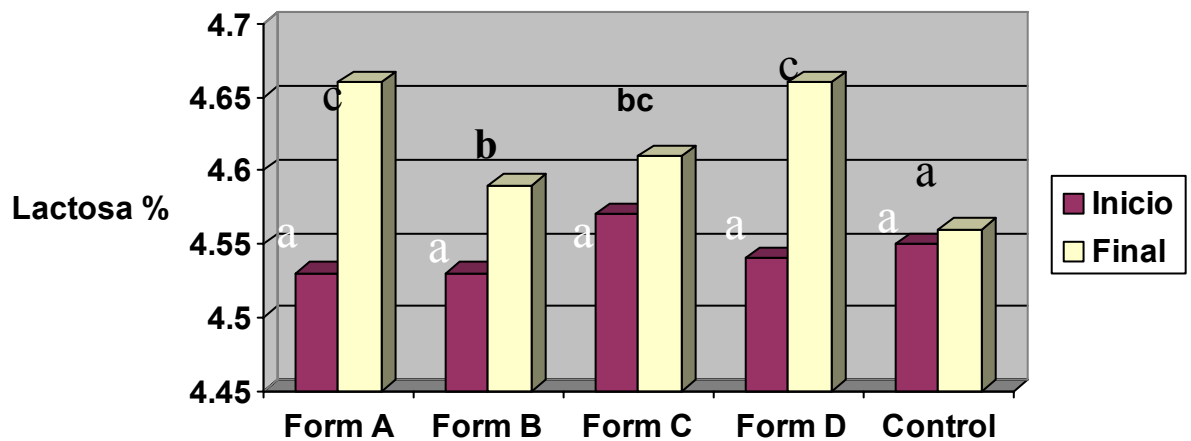
Letras desiguales por filas difieren significativamente $p \leq 0.05$.

Experimentos realizados en vacas en pastoreo con dietas con alto nivel de concentrado incluyeron el uso de bicarbonato de sodio en un caso y zeolita en otro (Delaquis y Block, 1995), reportaron en ambos casos un incremento de la grasa y sólidos de la leche y mejora en sus propiedades generales para la industrialización, lo que se ajusta al efecto beneficioso de estos reguladores sobre pH y del ambiente ruminal en general esperado en este ensayo. Le Ruyet y Tucker (1992) plantean que el uso del bicarbonato en la dieta de vacas lecheras eleva el pH ruminal, cambia la relación de acetato a propionato dentro del rumen e incrementa la digestibilidad de la fibra ácido detergente. Por su parte Staples y Lough (1999) en un experimento utilizando dietas atípicas para la vaca lechera (80 – 90 por ciento de concentrados sobre la base del consumo diario y aplicando una cantidad de bicarbonato de sodio de 2,6 a 4,6 por ciento sobre la materia seca), logró mantener el estatus fisiológico de los animales tratados, además de incrementar el nivel de producción de los mismos y el porcentaje de grasa en la leche.

La utilización de fosfato dicálcico como aditivo alimentario en concentraciones de 20 y 50 gramos diarios tanto en vacas con dietas de pastos/concentrados, produjo un incremento sustancial en la producción de leche (Mejías *et al.*, 1991). Este efecto beneficioso se asocia por una parte con una mayor disponibilidad de fósforo y calcio en rumen que de alguna manera mejora la actividad de los microorganismos y el ambiente ruminal en general, y por otra con una mayor utilización de estos minerales en la síntesis/secreción de los componentes lácteos. La *Spirulina* además de poseer un elevado porcentaje de proteínas, posee además cantidades considerables de vitaminas y microelementos (Prado Aragón *et al.*, 1999), contribuyendo a su vez en el grupo de animales que la recibieron a la activación de la microflora y microfauna ruminal, de ahí sus resultados

Para el caso de la lactosa, se aprecian variaciones en el tiempo, con mayores concentraciones en los grupos I y IV, y variaciones significativas entre el inicio y final ($p \leq$

0.05). Resulta conveniente destacar que este componente tuvo una tendencia al incremento en sus valores, con respecto al control (Figura 5).



Letras desiguales difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Figura 5. Contenido de lactosa (%) durante la aplicación de las formulaciones.

Estudios llevados a cabo por diversos autores (Xu et al, 1994 y Staples y Lough, 1999) señalan que la utilización de bicarbonato de sodio en dietas extremas para vacas lecheras, han logrado el incremento como promedio de 0.8 kg de leche y 0.16 % de grasa láctea más que el control. Sin embargo, no existen reportes sobre el efecto de estos productos sobre los niveles de lactosa.

Como se puede apreciar los niveles de acidez ascendieron al rango establecido, se normalizó el pH e igualmente sucedió con los niveles de densidad y el punto crioscópico (Tabla 26), lo que se ajusta al incremento de la estabilidad de la leche. A los efectos del SILA estos se relacionan con bajos sólidos y disminución de la capacidad buferante, respectivamente. En el caso de la caracterización de ambos indicadores durante el SILA se han reportado un alto porcentaje de valores de densidad por debajo de $1,029 \text{ g/cm}^3$ y de acidez menor de 0,13 g% de ácido láctico. Una observación común a estos resultados, es que los componentes lácteos una vez restablecidos, conducen inevitablemente a la recuperación de los parámetros físico - químicos de la leche. Sustancias como la Spirulina, el bicarbonato de sodio, la zeolita y el carbonato de calcio al tener un efecto

directo sobre el ambiente ruminal y lograr el restablecimiento del pH del mismo y la recuperación de sus procesos fisiológicos, implican la recuperación del equilibrio metabólico, sobre todo ácido-básico a niveles fisiológicamente normales, teniendo ello un efecto decisivo sobre la síntesis y secreción láctea (Bigner *et al.*, 1997). Todos los parámetros manifestaron diferencias entre el inicio y el final para el caso de los grupos del A al D, el control no manifestó esta modificación.

Tabla 26. Efecto de la aplicación de las formulaciones sobre las propiedades físico-químicas de la leche.

Grupo	Densidad (g/cm ³)		Acidez (g%)		Pto. Crioscópico (m°C)		pH	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
A	1.028 a	1.030 b	0.12 a	0.14 ⁵ b	511 a	520 b	6.77 a	6.66 b
B	1.028 ⁵ a	1.029 ⁵ b	0.11 ⁵ a	0.14 b	512 a	519 b	6.76 a	6.65 b
C	1.028 a	1.029 ⁵ b	0.12 a	0.14 b	511 a	518 b	6.77 a	6.64 b
D	1.028 a	1.030 b	0.11 a	0.14 b	510 a	519 b	6.75 a	6.65 b
Control	1.028 ⁵ a	1.029 a	0.12 ⁵ a	0.13 a	511 a	513 a	6.78 a	6.74 a

Letras desiguales poseen diferencias significativas $p \leq 0.01$

En el caso de los minerales se aprecian variaciones de significación, el calcio, el magnesio y el fósforo muestran niveles dentro del rango establecido para los mismos (Tabla 27). García *et al.*, (1992) al usar zeolita en vacas lecheras y evaluar su efecto sobre la producción de leche describen una respuesta productiva favorable en las mismas, así como un efecto positivo sobre la composición de la leche. Por su parte el fosfato dicálcico ha logrado un beneficio en el funcionamiento del rumen y la productividad de las vacas lecheras (Mejías *et al.*, 1991). Los resultados obtenidos se ajustan al establecimiento del equilibrio mineral y a la normalización en el contenido de proteínas y sólidos de la leche.

Tabla 27. Efecto de las formulaciones sobre la concentración de los minerales en leche (mg%).

Grupo	Fósforo		Calcio		Magnesio	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
Formul. A	75.4 ^a	98.3 ^b	95.1 ^a	112.2 ^b	8.24 ^a	9.72 ^b

Formul. B	76.9 ^a	98.5 ^b	95.2 ^a	112.3 ^b	8.26 ^a	9.77 ^b
Formul. C	76.2 ^a	93.6 ^b	95.8 ^a	110.7 ^b	8.26 ^a	9.77 ^b
Formul. D	75.7 ^a	98.8 ^b	95.5 ^a	112.1 ^b	8.26 ^a	9.77 ^b
Control	76.2 ^a	77.1 ^a	95.7 ^a	97.2 ^a	8.89 ^a	8.91 ^a

Letras desiguales difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

El estudio de los indicadores hematológicos indicaba al inicio del experimento que alrededor del 40 % de los animales en estudio presentó anemia y que el 100 % de ellos presentaba una franca acidosis metabólica, puesto que los niveles de pH sanguíneo estaban muy por debajo del límite mínimo y en igual medida se encontraba el resto de los indicadores (Tabla 28). Sin embargo la aplicación de las formulaciones correctoras logró el restablecimiento de todos los parámetros a los niveles normales al cabo de las tres semanas en todos los grupos tratados con relación al grupo control. Xu *et al.*, (1994) plantean que el uso de sustancias buferantes sobre el rumen, logran, además de controlar el pH y el ecosistema de dicho órgano, mejorar las propiedades físico-químicas de la leche como consecuencia del restablecimiento del equilibrio metabólico.

Tabla 28. Comportamiento de los indicadores del equilibrio ácido-básico en vacas bajo el efecto de las formulaciones.

Grupo	Hemoglobina (80-150 g/L)		pH sanguíneo (7.35-7.45)		HCO ₃ (23 - 30 Mmol/L)		EBS (- 2.5 a 2.5 mmol/L)	
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final
A	82.1 a	92.8 b	7.30 a	7.42 b	22.16 a	26.0 b	-3.94 a	1.2 b
B	80.5 a	93.2 b	7.32 a	7.39 b	22.54 a	25.8 b	- 3.97 a	1.23 b
C	81.3 a	94.2 b	7.29 a	7.41 b	22.37 a	26.1 b	-3.85 a	1.29 b
D	81.7 a	94.1 b	7.31 a	7.40 b	21.98 a	26.3 b	-3.91 a	1.24 b
Control	82.2 a	87.3 a	7.29 a	7.35 a	22.05 a	23.1 a	-3.95 a	- 1.02 a

Letras desiguales poseen diferencias significativas $p \leq 0.05$

El deterioro físico y de salud observado con frecuencia en rebaños lecheros especializados al finalizar la época de seca en concordancia con las limitaciones en la calidad y cantidad de alimentos disponibles ha sido acompañado por un alto nivel de anemia y alteraciones de la homeostasis de los animales Ponce et al, 2000. Sin embargo el empleo de dietas adecuadamente balanceadas y de sustancias que regulen el ambiente ruminal logran recuperar el fisiologismo de dicho órgano y la desaparición de trastornos metabólicos concomitantes (Sommer, 1995). En resumen todas las formulaciones evaluadas mostraron efectos beneficiosos en la recuperación de los sólidos de la leche y las propiedades físico-químicas, como consecuencia de la corrección de los trastornos metabólicos de la vaca lechera, con resultados muy positivos en el caso de las formulaciones A y D.

Resulta significativo el hecho que el grupo control, no muestra una recuperación en sus indicadores sanguíneos y de la leche, con independencia de los ajustes de la dieta, realizados al inicio del experimento.

Análisis de factibilidad técnico-económica.

Las alteraciones en el contenido de sólidos en la leche asociados a trastornos metabólico-ruminales en la vaca lechera, según Ponce *et al.*, (2000) constituyen hoy un problema que puede afectar entre un 20 –30 % de los rebaños lecheros nacionales durante el período de seca, lo que implica grandes penalizaciones a los productores debido a la disminución de los sólidos de la leche, la baja densidad de la leche y disminución del rendimiento

productivo de los rebaños, pérdidas a la industria por concepto de restablecimiento de los sólidos bajos, siendo necesaria la utilización por ello de leche en polvo y bajos mala calidad de los derivados lácteos.

El precio promedio de la leche en Cuba es \$0.95 MN ó 0.22 USD/litro; cuando se presenta el SILA en los rebaños, la disminución de los sólidos conlleva a una penalización de \$0.35 o \$0.08 USD/ litro de leche. Ello provoca pérdidas de \$0.60 MN ó \$0.14 USD/litro. El rendimiento promedio de leche de los rebaños afectados es de aproximadamente 4 litros/día, teniendo en cuenta que el potencial productivo de los mismos está alrededor de los 10 litros, se dejan de producir entre 5 y 6 litros/vaca/día. Esto representa una pérdida para cada productor de \$4.75 MN ó \$1.10 USD litro/vaca/día. Para este caso se espera según resultados obtenidos por Ponce *et al.*, (2000) recuperar entre 2,5 y 3 litros/vaca/día, lo que significa ingresar entre \$2.40 - 2,85 MN ó \$ 0.55 - 0.66 USD/día más por esta vía y además recuperar la diferencia de \$0.60 MN ó \$0.14 USD/litro por concepto del restablecimiento de los sólidos de la leche.

En las condiciones actuales en Cuba, existen 180 000 vacas de razas especializadas en ordeño (CENCOP 2001), teniendo en cuenta la prevalencia reportada por Ponce *et al.*, (2000), el potencial de vacas afectadas por el SILA es de 54 000 vacas. Considerando que la producción de leche en rebaños afectados por alteraciones como esta puede disminuir entre 3 y 5.5 kg/día (Rajala-Schultz *et al.*, 1999) se dejan de producir diariamente en el país entre 189 000 y 286 200 kg/día. Esto representa una pérdida diaria de \$226100 MN y \$52360 USD; si tenemos en cuenta que el SILA se presenta generalmente durante la época poco lluviosa (aproximadamente 150 días), las pérdidas ascienden a \$33 915 000 MN y \$7 854 000 USD.

Téngase en cuenta que para restablecer estas pérdidas en la industria el país importa anualmente alrededor de 8000 ton de leche en polvo (2 600 USD/Ton. = 20,08 millones USD).

Contar con un producto de esta naturaleza, que aplicado a la vaca lechera logre corregir estas alteraciones permitiría disminuir las pérdidas por los conceptos anteriormente

expuestos. Este producto no solo provocará el incremento de los sólidos en la leche, sino que tendrá a su vez una influencia directa sobre el rendimiento productivo, además de poseer otros efectos colaterales como es el mejoramiento de la salud y la productividad de la vaca lechera.

En Cuba, al no disponer de un producto similar, ello le permite amplias posibilidades de mercado al no tener competidor. A ello debe sumarse el hecho de que no estamos enfocando nuestro producto como un aditivo, sino como un nutracéutico, pues solo se usaría frente a situaciones como el SILA u otra enfermedad metabólica, cuando la vaca se encuentre en una etapa de transición de dieta o cuando los cambios en la alimentación sean bruscos.

América Latina cuenta con varios países de lechería especializada (Brasil, Uruguay, Argentina, Chile y Costa Rica) los cuales constituyen un mercado amplio y seguro, debido al rápido crecimiento en el número de animales, la especialización y productividad de los mismos, lo que trae como consecuencias la aparición de trastornos metabólicos como el SILA, la cetosis y acidosis entre otros, condicionando la necesidad imperiosa del uso de productos para su corrección. En esta región se emplean algunos productos que tienen su origen solo en Estados Unidos. Entre ellos tenemos Dairy-lyx® de la Empresa norteamericana CRYSTALYX®, este producto es a partir de cultivo de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) con un efecto probado en el incremento de la actividad de la flora ruminal, mejorando la digestibilidad de la fibra y como consecuencia aumento en la producción de leche, y que además contiene buffers que ayudan a prevenir la acidez ruminal y estimulan a su vez el consumo; El precio del mismo está sobre los 0.50 - 0.60 USD/dosis dentro de los Estados Unidos. Este mismo uso tiene el producto llamado Yeast Fortifier® fabricado por Vita Plus Corporation a un precio de venta en los Estados Unidos de 0.70 USD/dosis, sin embargo su contenido es solo basado en levadura y se enfoca solo a mejorar la actividad de la flora ruminal y la digestión, careciendo de sustancias que controlen el pH del rumen, lo que le confiere ciertas desventajas con relación a nuestro producto. En el caso del control del pH ruminal, esta empresa recomienda el Rumi-N-

Rich®, del cual reportan incrementos de 1kg leche/vaca/día contra un precio de venta del producto de 0.50 USD/dosis. La Empresa NuTeam Inc. de factura norteamericana también posee dos productos denominados Proalga Capsules® y Pro-Ficient II®, los cuales tienen como principio activo mayoritario algas verde-azules similares a la *Spirulina*, que se enfocan como suplemento dietético, mejoran el apetito, estimulan el sistema inmune y mejoran la producción de leche, pero carecen de sustancias que regulen el pH ruminal y aporten minerales necesarios para la vaca lechera. El precio de venta de los mismos está entre los 0.50 - 0.60 USD/dosis.

Debido a lo anteriormente expuesto, la composición de la formulación que se propone le confiere novedad al producto, ya que existen antecedentes de productos a base solamente de arcillas naturales como la bentonita sódica, sin embargo existen escasos reportes acerca del uso de la zeolita. Por otra parte existen productos cuyo principio activo único lo constituyen microorganismos (algas verde-azules y levaduras) pero en ningún caso la *Spirulina*. El Carbonato de calcio se ha utilizado solo o combinado con otros buferantes y nunca en productos de esta naturaleza. Teniendo en cuenta que en todos los casos, las sustancias evaluadas mostraron un efecto combinado favorable, estamos proponiendo una formulación solo con componentes de factura nacional, pues ello hace mucho más barato el producto.

En cuanto a los suministradores de las materias primas, todos son nacionales, con producciones estables y de calidad. En el caso de la Zeolita y el Carbonato de Calcio, ambos son producidos por la Unión Geominera del MINBAS, con calidad y pureza reconocidas, la cual es avalada por los certificados de calidad de estas producciones. Para el caso la *Spirulina*, se cuenta con la Empresa GENIX perteneciente al MINAGRI, la cual es productora y comercializadora de Algas y sus derivados, la cual cuenta con una tecnología de producción que permite obtener a bajos precios una materia prima destinada al consumo animal, lo que la hace más barata, sin perder por ello las especificaciones necesarias para que podamos cumplir con los criterios de calidad de un producto como el que nos proponemos.

Una vez realizado el estudio de los suministradores y de todos los gastos que incurriríamos en el proceso de producción, se obtuvo la siguiente propuesta de ficha de costo de producción por unidad de producción o dosis (Tabla 29).

Tabla 29. Ficha de costo de producción de una propuesta de formulación definitiva.

Elementos	MN	USD	MU
Gastos materiales	0.0034	0.350924	0.354324
Spirulina	-	0.35	0.35
Carbonato Calcio	0.0012	-	0.0012
Zeolita	0.0022	0.0009	0.0031
Envase y embalaje	0.00034	0.03509	0.03543
Gastos de salario	0.00175	-	0.00175
S. Básico	0.00144	-	0.00144
S. complementario	0.00013	-	0.00013
S. Social	0.00018	-	0.00018
G. Depreciación	0.002	-	0.002
Otros gastos monet.	0.000652	0.0406014	0.0412834
Aseg. Calidad	0.000252	0.03860014	0.0388834
PHT, Mtto, limp...	0.0004	0.002	0.0024
Total Gastos Direct.	0.007802	0.3915254	0.3993274
Gastos Indirectos	0.0005616	-	-
Gastos Grles Dir.	0.0015552	-	-
Total Gastos indir.	0.0021168	-	-
Gastos totales/dosis	0.0099188	0.3915254	0.4014442
Margen rentabilidad	0.00148782 (15%)	0.03915254 (10%)	
Precio	0.0114	0.4307	0.4421

Leyenda

S. Complementario – Salario Complementario.

S. Social – Seguridad Social.

G. Depreciación – Gastos por depreciación.

Otros gastos monet. - Otros gastos monetarios.

Aseg. Calidad – Aseguramiento de la calidad.

PHT, Mtto, limp – Protección e higiene del trabajo, Mantenimiento, Limpieza, etc.

Total Gastos Direct - Total Gastos Directos.

Gastos Grles Dir. - Gastos Generales Dirección.

Total Gastos indir. - Total Gastos indirectos.

III. 3.3 CONCLUSIONES

- El uso de formulaciones correctoras combinando sustancias buferantes y alcalinizantes, intercambiadoras de iones y activadoras del ambiente ruminal, corrigen

el cuadro denominado Síndrome de Leche Anormal (SILA), en 21 días de aplicación continua, restableciendo los parámetros físico-químicos y de composición láctea.

CAPITULO IV

DISCUSIÓN GENERAL

La identificación en condiciones de campo, replicación experimental y corrección del Síndrome de Leche Anormal (SILA), encierra un conjunto de resultados, por medio de los cuales se establece un enfoque mucho más amplio e integral del estado del conocimiento existente en el campo de las enfermedades metabólicas de la vaca lechera. Su carácter distintivo radica en que se parte de las características físico-químicas de la leche, utilizada en dos sentidos: calidad como materia prima hasta su impacto en la industrialización y material biológico para definir un trastorno metabólico de carácter inespecífico y generalizado en su efecto. Es evidente el interés creciente de productores, industriales y científicos del sector lechero mundial por el tema de los bajos sólidos, por su influencia en el pago, en la estabilidad y en el equilibrio mineral de la materia prima para procesos térmicos elevados como la esterilización o los rendimientos queseros y para el diagnóstico rápido de alteraciones en animales individuales o rebaños lecheros (Pérez, 2001; Ponce y Hernández, 2001). Evidencias prácticas y estudios específicos sobre el tema han sido señaladas por Ponce (1999), en diversos países de América Latina por su grado de extensión en los países del trópico, lo que indica que el problema no debe entenderse como una situación local, pues sus causas no son esencialmente de la misma naturaleza. Un primer aspecto a considerar es que las enfermedades de la producción se asientan fundamentalmente en las diferencias mantenidas entre las múltiples demandas de nutrientes de los procesos biológicos de la vaca en lactación y las posibilidades reales de cubrir tales demandas, ya sea por cantidad, calidad o capacidad de ingestión y aprovechamiento de los nutrientes (Adams *et al.*, 1995; Alvarez, 1999^a; Balbinotti *et al.*, 2001; Blackburn, 1993; García Trujillo y García López, 1990). De ahí que debamos ampliar el concepto, limitado hasta la actualidad, que cualquier condición que no cubre los requerimientos del animal, constituye un problema de salud, incluyendo por supuesto los estados de desnutrición, pues ello se expresa en desequilibrios metabólicos que pueden ser evidenciados a través de múltiples indicadores sanguíneos. El segundo aspecto es

que se hace necesario, al menos en las condiciones del trópico, cambiar la visión clásica sobre la supuesta estabilidad, dentro de ciertos rangos, de varios componentes lácteos y sus propiedades, como la lactosa, minerales, la acidez, densidad y que tienen un importante significado fisiológico, productivo e industrial. Solo basta el ejemplo de interpretar la positividad a la prueba del alcohol de una muestra de leche como ácida, cuando puede ocurrir en una leche alcalina no asociada a la mastitis.

El establecimiento de valores de referencia y umbrales mínimos o máximos, dependiendo del significado de cada indicador, es una práctica común utilizada a través de los parámetros sanguíneos, la orina y otros líquidos biológicos, para establecer perfiles metabólicos (Bouda *et al.*, 1997, Contreras, 1998, González, 2000). Sin embargo el uso de la leche se establece ahora como un criterio integrador para definir el denominado Síndrome de Leche Anormal (SILA). Es un hecho cierto que el cambio de un componente lácteo o de una propiedad físico-química de la leche no tiene por si solo un significado de consideración, en parte por la diversidad de factores que lo afectan expresado en variabilidad del carácter en cuestión y en parte por las particularidades de los mecanismos de síntesis y secreción de la glándula mamaria. Sin embargo, ello se resuelve integrando los indicadores de acuerdo a su significado biológico y también práctico: Bajos sólidos, inestabilidad térmica, desequilibrio mineral son términos que pueden ser entendidos en los dos sentidos.

Desde el punto de vista biológico, la existencia de bajos sólidos en la leche significa en primera instancia que existe un comportamiento alterado de varios componentes (proteína bruta, caseína, lactosa y minerales) y/o de su depresión general como lo es el peso específico o densidad o el punto crioscópico; inestabilidad térmica significa alteraciones en las relaciones entre diversos componentes e incluso en su estructura (caseína/proteína bruta, grupos ácidos/básicos, incremento del citrato), con expresiones concretas en la disminución de la capacidad buferante como la baja acidez titulable, alto pH, incremento de proteínas del suero o de la proporción de nitrógeno no proteico. En el caso particular de la estabilidad térmica de la leche, existen un grupo de factores que deben tenerse en

cuenta con relación a la misma, entre ellos el pH de la leche, la fracción mineral (Calcio, fósforo, cobre), la proporción entre la fracción caseínica de la leche y la no caseínica, la relación entre κ – caseína y β – lactoglobulina y las variantes genética de las mismas. Sobre este particular, la leche con la variante B son más deseables que la A en función de su mayor estabilidad térmica (Ikonen y Ojala, 1995; Ikonen, *et al.*, 1995 y Negri *et al.*, 2001). Desequilibrio mineral significa que más allá de las alteraciones en las concentraciones de calcio, fósforo, magnesio, existen cambios en sus fases iónicas y coloidal. Enfocado entonces desde la leche hacia el metabolismo general. Es posible afirmar la existencia o no de alteraciones en la leche como materia prima, al nivel de la glándula mamaria como expresión de alteraciones en los mecanismos de síntesis y secreción, y al nivel del metabolismo como expresión de un trastorno o enfermedad metabólica o de la producción. Aunque los componentes y las características físico-químicas de la leche no tienen una equivalencia totalmente comparable con los metabolitos sanguíneos, y por ello no fue objetivo de esta investigación, los resultados obtenidos en los experimentos II y III son una clara expresión de la existencia de una base metabólica que se relaciona de forma lógica con lo ocurrido en la leche.

Es claro que el análisis puede realizarse en sentido inverso, pero no se ha hecho así considerando que se utiliza la leche para el diagnóstico de los problemas metabólicos en la vaca en producción. Ello significa una herramienta sencilla y rápida en el diagnóstico de dichos problemas en cualquier rebaño e incluso en animales individuales, que evita la extracción de sangre, manipulación y análisis más complejos y costosos que la leche (Bouda *et al.*, 1997; Khaled, y Gajdšek, 1999 Whitaker *et al.*, 1999 y Pérez, 2001). Visto desde otro ángulo, los análisis independientes de la leche son muy útiles para el pago de la misma por calidad, pero limitados para evaluar el comportamiento de la materia prima en la industria: bajos sólidos significa comúnmente que se debe agregar leche en polvo para restituir funciones o lograr valores standard, prueba del alcohol positiva acidez elevada, punto crioscópico bajo es adulteración por aguado, etc., (Ponce, 1999 y Ponce *et al.*, 2000). La utilización de indicadores integrados ofrece un panorama mucho más real

de los problemas existentes en la materia prima y de las decisiones a tomar en cada caso. Los resultados obtenidos en el segundo experimento, demostró que partiendo de los problemas localizados en el tratamiento industrial, se puede analizar desde ese punto hacia la leche o desde el proceso hasta el producto terminado.

La razón fundamental de aparición del SILA se enfoca a la existencia en condiciones de producción de estados sostenidos de subalimentación y desbalances de energía/proteína de la ración, con todos los múltiples elementos que pueden estar implicados en un cuadro de esta naturaleza. El uso del modelo de alimentación con caña de azúcar y sus derivados tiene un significado teórico y práctico: Por una parte, debido al uso extendido de esta planta forrajera en la alimentación animal y sus conocidas limitaciones cuando constituye la fuente principal de alimentación en los rumiantes con énfasis en la vaca lechera (Ponce *et al.*, 1990; Martín, 1997; Muñoz y González, 1998) y por otro, basado en el hecho que los problemas asociados al SILA, se localizan en rebaños donde no se realiza un adecuado uso de dicho alimento. Sin embargo, ello no significa que otras condiciones de desbalances puedan crear estados similares. Algunos reportes coinciden en identificar el uso indiscriminado de ensilajes de mala calidad, residuos de cervecería, melazas, cambios bruscos de alimentación como factores predisponentes a la aparición de leche alcalina e inestable al calor (Ponce y Hernández, 2001), asociado al alto consumo de carbohidratos fácilmente fermentables y al bajo consumo y digestibilidad de la materia seca.

Aunque son escasos los reportes científicos sobre alteraciones de esta naturaleza, es de destacar la semejanza con los resultados obtenidos por el grupo de investigación de la Universidad de Parma (Fossa *et al.*, 1984; Mariani, *et al.*, 1991; Fossa *et al.*, 1996 y Mariani *et al.*, 1994), en el sentido de la identificación de inestabilidad de la leche y desequilibrio mineral, con las limitaciones en la falta de un estudio integral de la leche, que involucre además la alimentación y el metabolismo. Los hallazgos relativos a la asociación de la variante AA de la κ – caseína (Van Eenennaam y Medrano, 1991, Ojala y Ruottinen, 1999), con problemas en la aptitud industrial de la leche, tiene similitud con

algunos de los trastornos descritos por el SILA, lo cual es un aspecto no abordado en nuestro estudio, que necesita ser asumido, junto con estudios sobre posibles cambios en la estructura física de las caseínas.

Un aspecto de especial interés lo constituye la capacidad demostrada por las formulaciones desarrolladas en corregir los desbalances en el metabolismo y más aún en la leche, en un período relativamente corto de tiempo de 21 días y menor en algunos animales individuales. Sin embargo, no se debe confundir esta respuesta a corto plazo, con la solución definitiva de trastornos con asiento en el rumen y el metabolismo general, que requieren de ajustes en la alimentación y cambios sustanciales en cantidad y calidad e incluso en el comportamiento animal relacionado con el consumo de los mismos. La respuesta positiva a las formulaciones debe entenderse como parte de la disposición del sistema biológico rumen – metabolismo general – glándula mamaria, para responder adecuadamente en el tiempo a las mejoras en manejo y alimentación de los rebaños afectados por el SILA.

Partiendo del principio que el efecto de las sustancias presentes en las formulaciones, excepto la *spirulina*, se conocen en mayor o menor medida, en su utilización en rumiantes (García López *et al.*, 1988; Xu *et al.*, 1994; Staples, y Lough, 1999, Mejías *et al.*, 1991; Le Ruyet y Tucker, 1992), lo más significativo de los resultados radica en haber logrado efectos integrados o multiplicados, que no se expresan de igual forma cuando se utilizan de forma independientes.

Sobre la *Spirulina* en particular, es conveniente resaltar que la misma se caracteriza por su elevado porcentaje de proteína bruta y por poseer todos los aminoácidos esenciales y 10 de los no esenciales, contiene además considerables cantidades de vitamina B₁₂, betacarotenos, incluye en su composición sustancias antioxidantes como la ficocianina y la vitamina E, así como por otras sustancias estimuladoras del sistema inmunológico como es la presencia de selenio y zinc (Prado Aragón *et al.*, 1999). Todos estos constituyentes le imprimen fuerza para ser utilizada por esta vía, pues sin dudas

enriquecerá considerablemente el sustrato ruminal, permitiendo una mejor eficiencia en su capacidad fermentativa y en el aprovechamiento de los nutrientes.

Los incrementos en producción, proteína y sólidos no grasos por solo señalar algunos indicadores con interés productivo, rebasan el 25 % de los valores iniciales. Aunque no fue objeto de estudio, debe esperarse también una mejoría en los indicadores reproductivos, ganancia en peso, salud y en el comportamiento general de la vaca lechera.

Por ello, las alteraciones múltiples en la composición láctea y en sus características físico-químicas deben tener un tratamiento especial y un enfoque más integral que abarque factores como la raza y alimentación, manejo y época del año y sus interacciones, así como los posibles trastornos a nivel ruminal, del metabolismo en general y de la glándula mamaria en particular.

La definición del Síndrome de Leche Anormal, la propuesta de diagnóstico y el desarrollo de formulaciones para su corrección en períodos cortos de tiempo, constituye un enfoque novedoso a un fenómeno del cual aún se tiene una visión limitada en muchos países y regiones del mundo.

CAPITULO V

CONCLUSIONES GENERALES Y RECOMENDACIONES

V.1 Conclusiones generales

1. La composición de la leche en las principales cuencas lecheras de Cuba se caracteriza por bajas concentraciones de sólidos, con mayor influencia de la raza Holstein Friesian, la época de seca y la región occidental. Dicho comportamiento también se expresa en alteraciones en la densidad, acidez titulable, pH y punto crioscópico.
2. El establecimiento de valores de referencia y umbrales de normalidad para la composición y las propiedades físico-químicas de la leche permitió definir el Síndrome de Leche Anormal mediante la agrupación de indicadores de alarma en tres grupos: Depresión de los sólidos, inestabilidad térmica y desequilibrio mineral.
3. Existe una relación estrecha entre el Síndrome de Leche Anormal y la aparición de trastornos metabólicos en la vaca lechera, por lo cual los indicadores en la leche constituyen una forma rápida para su diagnóstico integral.
4. Se comprobó la asociación entre los desbalances nutricionales y los estados de subalimentación de la vaca lechera con la aparición del Síndrome de Leche Anormal y las implicaciones metabólicas, lo cual se considera como expresión en el estado de salud de los animales.
5. El uso combinado de sustancias reguladoras del metabolismo y activadoras del ambiente ruminal, logran una rápida recuperación de los indicadores en sangre y leche.

V. 2 Recomendaciones

- Implementar el sistema de análisis de los componentes lácteos y características físico-químicas de leche, como vía para el diagnóstico del Síndrome de Leche Anormal, y por extensión de los trastornos metabólicos y de la lactación.

- Concluir los estudios para la obtención de un producto sobre la base de las formulaciones estudiadas, para el tratamiento del Síndrome de Leche Anormal y los trastornos metabólicos asociados.
- Obtener un sistema de diagnóstico rápido, que basado en los cambios de las propiedades físico-químicas de la leche (acidez titulable, prueba del alcohol, prueba de ebullición y pH), permitan un análisis presuntivo del SILA a nivel de campo.
- Concluir los estudios del SILA en cuanto a su posible relación con las variantes genéticas de las proteínas lácteas.

Bibliografia

- Adams, A.L.; Harris, B; Van Horns, Jr. And Wilcox C.J. (1995): Effects of varying forrage types on milk production. *J. Dairy Sci.* Vol. 78 No.3 pág 573-580.
- Akers, R.M.(1990). Lactation physiology: A ruminant animal perspective. *Protoplasma* 159:96-111.
- Alonso, J. R. y Senra. A. (1992). Sistema de producción con vacas lecheras en condiciones de secano con forraje de caña de azúcar entera en el período seco. Producción y composición de la leche y comportamiento del peso vivo. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 26:125.
- Alvares, J. L.(1999)a. *Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico*. Ediciones CENSA.
- Alvares, J. L.(1999)b. *Sistema Integral de atención a la Reproducción. Los conflictos entre la reproducción y la producción de leche*. Ediciones CENSA.
- Amiot, J. (1994). *Ciencia y Tecnología de la leche*. Universite Laval Quebec. Edit Acribia, España.
- Aranda, E.; Mendoza, G. D.; García – Bojalil, C. y Castrejón, F. (2001). Growth of heifers grazing stargrass complemented with sugar cane, urea and protein supplement. *Livestock Production Science* 71:201 – 206.
- Arcos – García, J.L., Castrejón, F., Mendoza, G. D. Y Pérez – Gavilán, E. P. (2000). Effect of two yeast cultures with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. *Livestock Production Science* 63: 153 – 157.
- Armenteros, Mabelin (1998). Evaluación de un desinfectante mamario postordeño de origen natural. *Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias*. La Habana, Cuba.
- Balbinotti, M.; Gonzales, H.L.; Fischer, V.; Ribeiro, M.E.R.; Fagundes, C.M.; Schramm, R.; Stumpf, W. e Silva, M.A (2001). Avaliacao dos sistemas de producao de leite de

região sul do Rio Grande do Sul e implicações na produção e qualidade do leite. *Arch. Latinoam. Prod. Animal*. Vol.9, suplemento 1

- Barbano, D.(1999): Trends in milk composition and analysis in New York. In: *Proceedings of the 1999 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Rochester, NY.
- Barros, L.(2001): Trastornos metabólicos que afetam a qualidade do leite. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Barros, L.; Denis. N.; Gonzáles, A.y Nuñez, A. (1998). Ionic calcium related to alcohol test in milk. *10th International Conference on Production Disease in Farm Animals*, Utrech, Holland, p10:144.
- Barros, L.; Denis. N.; Gonzáles, A.y Nuñez, A. (1999). Prueba del alcohol en leche y relación con el calcio iónico. *Prácticas Veterinarias*, 9:135.
- Barros, L.; Denis. N.; Gonzáles, O.; Galain, C.; De Torres, E.; Gonzáles, P. (2000). Variaciones de la leche y prueba del alcohol. *XXI World Buiatrics Congress*, Punta del Este, Uruguay:577.
- Beever D.E.; Rook A. J.; France J.; Dhanoa M.S. and Gill M. (1991). A review of empirical and mechanistic models of lactational performance by the dairy cow. *Livest. Prod. Sci.*, 29, 115-130.
- Bigner, D. R. ; Goff J. P.; Faust, M. A.; Tyler, H. D. and Horst R. L. (1997). Comparison of Oral Sodium Compounds for the Correction of Acidosis. *J. Dairy Sci.* 80:2162-2166.
- Blackburn DG (1993). Lactation: Historical patterns and potential for manipulation. *J Dairy Sci* 76:3195-3212
- Bouda, J., Paasch-Martínez, L., Yabuta. O y Kunio, A. (1997). Desarrollo y empleo de métodos de diagnóstico preventivo de los trastornos ruminales y metabólicos de los bovinos. *Veterinaria México*, Julio-septiembre. 28(3):189-195.

- Broderick, G. A. and Clayton, M. K. (1997). A Statistical Evaluation of Animal and Nutritional Factors Influencing Concentrations of Milk Urea Nitrogen. *J. Dairy Sci.* 80:2964-2971.
- Busby, G. (2001). Managing acidosis. *Dairy Page. www.Dairy Farming Online.* p. 34 – 39.
- Calamari L., Calegari F., Maianti M.G., Abeni F., Cappa V. (1996) - Variazioni dell'attitudine alla coagulazione del latte in bovine Frisone primipare e pluripare nel periodo estivo. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.*, 50, 491-492.
- CALRAC. Software para la alimentación de rumiantes. Versión 1.0, 1996.
- Calsamiglia, S.; Caja, G.; Stern. M. D. and Crooker B.A. (1995): Effects of ruminants versus duodenal dosing of fish meal on ruminal fermentation and milk composition. *J. Dairy Science.* Vol. 78 No.9. pp 1999-2006.
- Calvinho, L. (1995). *La mastitis y su impacto en la calidad de la leche*. Informe Técnico INTA. No. 1:1-14.
- Cant, J. P.; Trout, D. R.; Qiao, F. and Purdie, N. G. (2002). Milk Synthetic Response of the Bovine Mammary Gland to an Increase in the Local Concentration of Arterial Glucose. *J. Dairy Sci.* 85:494-503.
- CENCOP (2001). Informe Anual. Ministerio de la Agricultura. Cuba.
- CENLAC (2001). *Manual de procedimientos técnicos operacionales*. Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos. CENSA, La Habana.
- Clark, A.J. (1996) Genetic modification of milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 63:633S-638S.
- Conrad, J. H.; Florito, M.I., McDowell, L.R. (1990). Producción de 2 000 kg de carne vacuna utilizando una ha de caña de azúcar. In: *Conferencia Internacional sobre Ganadería en los Trópicos*. Centro de Agricultura Tropical, Universidad de la Florida, pp. B93 – B107.

- Contreras, P (2000): Indicadores do metabolismo protéico utilizados nos perfis metabólicos de rebanhos. In: Gonzales, F.H.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.: *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutricao e doencas nuricionais*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- Contreras, P. (1998). Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en la salud y producción de los rebaños. *Arch Med. Vet.* 30(2): 17-27.
- Contreras, P. A. (1998). Enfermedades metabólicas en vacas de alta producción. *Therios*. Suplemento especial, octubre 1998, p 30.
- Contreras, P. A., Phil, M., Valenzuela, L. (1996). Desbalances metabólicos más frecuentes en rebaños de pequeños productores de leche. *Arch. Med. Vet.* 28, 39-50.
- COPANT 125-2. (1997). Leche de vaca, pasteurizada, homogeneizada o no. Especificaciones.
- Coulon J.B., D'Hour P., Garel J.P., Petit M., (1996). Long term effect of level and pattern of winter concentrate allocation in dairy cows. *Ann. Zootech.*, 45, 233-251.
- Coulon, J.B. and Pérochon, L. (2000). Evolution de la production laitière au cours de la lactation : modèle de prédiction chez la vache laitière *INRA Prod. Anim.*, 13, 349-360.
- Creamer, L.; Plowman, J. E. Liddell, M. J. Smith, M. H. and Hill J. P. (1998). Micelle Stability: kappa-Casein Structure and Function. *J. Dairy Sci.* 81:3004-3012.
- Cunniff, Patricia Ed. (1995). AOAC, International Association of Official Agricultural Chemists. *Official Methods of Analysis*. 16th Ed. Arlintong, Virginia.
- Dahl, G. E., Chastain, J. P. and Peters, R. R. (1998). Manipulation of photoperiod to increase milk production in cattle: biological, economic and practical considerations. pp. 259-265 In: *Proceedings of the Fourth International Dairy Housing Conference*, J. P. Chastai, ed., Amer. Soc. Agric. Engin., St. John's, MI
- Dairy Herd Improvement Association. United State Department of Agriculture (2000). *Annual Report*. Washington. D.C.

- Dalgleish, D. G. (1998). Casein Micelles as Colloids: Surface Structures and Stabilities. *J. Dairy Sci.* 81:3013-3018.
- Dann HM, Drackley JK, McCoy GC, Hutjens MF, Garrett JE. (2000). Effects of yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. *J Dairy Sci* 2000 Jan;83(1):123-127.
- De Lima, Helenice; Fischer, Vivian; Ribeiro, Maria; Medina, C.; Schrram, Renata y Stump, W.(2001). Variacao da composicao do leite nos meses do ano sobre qualidade do leite. *Arch. Latinoam. Prod. Animal.* Vol.9, suplemento 1.
- Delaquis M:A:, Block E. (1995). Dietary cation-anion difference, acid-base status, mineral metabolism, renal function and milk production of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 78: 2259-2284.
- Dewhurst, R. J.; Moorby, J. M.; Dhanoa, M. S.; Evans, R. T. and Fisher, W. J. (2000). Effects of Altering Energy and Protein Supply to Dairy Cows During the Dry Period. 1. Intake, Body Condition, and Milk Production. *J. Dairy Sci.* 83:1782-1794.
- Dils, R.R. (1986). Comparative aspects of milk fat synthesis. *J. Dairy Sci.* 69:904-910.
- Durr, J.W.; Fontaneli, R. S. e Burchard, J. F. (2000). Fatores que afetam a composicao do leite. In: *Curso de sistemas de producao para gado de leite baseado em pastagens sob plantio direto*. Passo Fundo. Anais EMBRAPA – Trigo.
- Erdman, R. A. and M. Varner. (1995). Fixed yield responses to increased milking frequency. *J. Dairy Sci.* 1199-1203.
- FIL 141 B (1997). *Whole milk. Determination of milkfat, protein and lactose content. Guide for the operation of mid-infra-red instruments*. Brussels, Belgium.
- Forsyth, I.A. (1989) Growth factors in mammary gland function. *J. Reprod. Fert.* 85:759-770.
- Fossa E., Pecorari M., Mariani P. (1984) - Variazioni stagionali dell'acidità e delle caratteristiche di coagulazione del latte. "*L'Industria del Latte*", 20 (1), 87-97.

- Fossa E., Sandri S., Mariani M.S., Summer A., Mariani P. (1996) - Il comportamento tecnologico-caseario del latte prodotto durante il periodo estivo: osservazioni su latt individuali di vacche di razza Frisona. *"Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma"*, 16, 103-112.
- Fox, PF (1992) *Advanced Dairy Chemistry*, Elsevier Applied Science, London
- Fredeen, A. H.(1996): Considerations in the milk nutritional modification of milk composition. *Animal Feed Science Technology* 59:185-197.
- Galindo, Juana, Elías, A., Michelena, J.B. y Morffi, Niurka (1990). Efecto de la zeolita en algunos grupos fisiológicos de bacterias ruminales en vacas que consumen ensilaje en pastoreo controlado. *Rev. Cubana Ciencias Agríc.* 24(2):179.
- Galindo, Juana; Marrero, Yoandra; Delgado, Denia; Chongo, Bertha y Aldama, Ana I (2001). Efecto del nivel y forma de suministro del jugo de caña en la población microbiana e indicadores fermentativos del rumen de vacas. *Arch. Latinoam. Prod. Animal.* Vol.9, suplemento 1.
- García López, R., Elías, A., Pérez de la Paz, J.y Gonzáles, G (1988). Uso de la zeolita para vacas lecheras. I. Efecto en la composición láctea. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.*22:33.
- García López, R.; García Trujillo, R.; López, Delia; Michelena, J.B.; Muñoz, E.; Senra, A. Margolles, Estrella y Ponce, P. (1988). *Producción de leche a base de pastos tropicales*. EDICA, La Habana.
- García Trujillo, R. y García López, R. (1990): *"Bases para la producción de leche. Tomo I Lactación y reproducción"*. EDICA.
- García, L. R.; Elías, A. y Menchaca, M. (1992): Uso de la Zeolita en vacas lecheras. II. Efectos en la producción de leche. *Rev. Cub. Cienc. Agríc.* 26:133.
- Gonzáles, F.H.D (2000). Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: Gonzales, F.H.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.: *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutricao e doenças nutricionais*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

- Gonzáles, F.H.D (2000).Uso de perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico – ruminais em ruminantes. In: Gonzales, F.H.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.: *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutricao e doenças nutricionais*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- Gonzáles, F.H.D.(2001): *Composicao bioquimica do leite e hormônios da lactacao*. In: *Uso do leite para monitorar a nutricao e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Gonzáles-Stagnaro, C.; Madrid-Bury, N. Y Soto Beloso. E (1998). *Mejora de la ganadería meztiza de doble propósito*. Facultad de Ciencias Veterinarias. Ediciones Universidad del Zulia, Venezuela.
- Griinari, J. M.; Mcguire,M. A.; Dwyer, D. A.; Bauman, D. E.; Barbano, D. M. and House W. A. (1997). The Role of Insulin in the Regulation of Milk Protein Synthesis in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 80:2361-2371.
- Hanigan M D, Crompton L A, Metcalf J A, France J. (2001). Modelling mammary metabolism in the dairy cow to predict milk constituent yield, with emphasis on amino acid metabolism and milk protein production: model construction. *J Theor Biol* Nov 21;213(2):223-39.
- Hayssen, V. (1993) Empirical and theoretical constraints on the evolution of lactation. *J Dairy Sci* 76:3213-3233.
- Hernández, R. (2000). Análisis y pagos de leche en Cuba. *Conferencia Electrónica de FAO sobre Acopio y Procesamiento de Leche en Pequeña Escala en Países en Desarrollo*. 29 de mayo – 28 de julio. <http://www.fao.org/livestock/AGAP/LPS/Dairy>
- Hernández, R y Ponce, P.(2000). Estudio de la calidad de la leche en rebaños Holstein Friesian y sus cruces bajo silvopastoreo. *Conferencia Electrónica de FAO sobre Acopio y Procesamiento de Leche en Pequeña Escala en Países en Desarrollo*. 29 de mayo – 28 de julio. <http://www.fao.org/livestock/AGAP/LPS/Dairy>

- Hernández, R y Ponce, P.(2001). Estudio de la composición de la leche en las condiciones actuales del trópico en Cuba. *Arch. Latinoam. Prod. Animal.* Vol.9, suplemento 1.
- Hernández, R. y Ponce, P. (2002)a. Composición actual de la leche en Cuba. *Rev. Salud Anim.* 24 (3):111-114.
- Hernández, R. y Ponce, P. (2002)b. Replicación del Síndrome de Leche Anormal (SILA) en condiciones experimentales. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, La Habana, Cuba. ISSN - .
- Hof, G. M.; Vervoorn,D. P.; Lenaers, J. and Tamminga S. (1997). Milk Urea Nitrogen as a Tool to Monitor the Protein Nutrition of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 80:3333-3340.
- Hoffmeister D.F. (1989) *Mammals of Illinois*, Univ. Illinois Press.
- Homan, Jane and Wattiaux, M (2000). *Guía Técnica Lechera*. Instituto Babcock. Universidad de Wiscosin.
- Hurley, W. L. (2000): *Lactation biology*. University Press, University of Illinois. Urbana – Champaign.
- Hutjens, M.F.(1996): Milk Urea Nitrogen (MUN) as a management tool. In: *Illinois Dairy Report*, Building on Basics, university of Illinois, Champaign, IL.

- Ikonen, T. and Ojala, M. (1995). Effects of milk protein genotypes on milk renneting properties assuming alternative models. *IDF Seminar ``Implications of Genetic Polymorphism of Milk Proteins on Production and Processing of Milk*, 28. - 29.3.1995 Zürich, Switzerland. Summary 2p.
- Ikonen, T., Syväoja, E-L., Ojala, M. and Kempe, R. (1995). Association of milk protein genotypes with technological properties of bovine milk. *NJF - Seminar no. 252 ``Milk in nutrition - effects of production and processing factors"*. 13. - 15.1.1995, Turku, Finland. Mimeogr. 8p.
- Ikonen, T.; Ruottinen, O.; Erhardt, G. and Ojala, M. (1996). Allele frequencies of the major milk proteins in the Finnish Ayrshire and detection of a new kappa-casein allele. *Animal Genetics* 27(3):179-181.
- Imagawa, W.; Yang, J.; Guzman, R. and Nandi, S. (1994) Control of mammary gland development. Ch. 56 in *The Physiology of Lactation*, 2nd edition, Eds. Knobil, K, Neill, J., et al., Raven Press, NY, p. 1033.
- Ingvarsen, K. L. and Andersen, J. B. (2000). Integration of Metabolism and Intake Regulation: A Review Focusing on Periparturient Animals. *J. Dairy Sci.* 83:1573-1597.
- Instituto de Meteorología (1999). Reporte anual de precipitaciones. Departamento de las Provincias Habanera. La Habana.
- ISO 707 (1997). Leche y productos lácteos. Toma de muestras. Organización Internacional de Normalización, Bruselas, Bélgica.
- Jensen, R.G.(1995): *Handbook of milk composition*. Academic Press, San Diego.
- Jensen, R.G.; Ferris, A.M. and Lammi-Keefe, C.J. (1991) The composition of milk fat. *J. Dairy Sci.* 74:3228-3243.
- Jonker, J. And Kohn, R. (1998). MUN testing: useful but ambiguous. *Hoard's Dairyman*, March 25. p. 252.
- Jonker, J. S.; Kohn, R. A. and Erdman, R. A. (1999). Milk Urea Nitrogen Target Concentrations for Lactating Dairy Cows Fed According to National Research Council Recommendations. *J. Dairy Sci.* 82:1261-1273.

- Jonker, J. S.; Kohn, R. A. and Erdman, R. A. (1998). Using Milk Urea Nitrogen to Predict Nitrogen Excretion and Utilization Efficiency in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 81:2681-2692.
- Juarez, F. I. ; Fox, D. G.; Blake R. W. and Pell, A. N. (1999). Evaluation of Tropical Grasses for Milk Production by Dual-Purpose Cows in Tropical Mexico. *J. Dairy Sci.* 82:2136-2145.
- Khaled, N. F. and Gajdšek, J. S. (1999). Interactions between Nutrition, Blood Metabolic Profile and Milk Composition in Dairy Goats. *Acta Vet. Brno*, 68: 253-258.
- Kalscheur, K. F.; Vandersall, J. H.; Erdman, R. A.; Kohn R. A. and russek-cohen E. (1999). Effects of Dietary Crude Protein Concentration and Degradability on Milk Production Responses of Early, Mid, and Late Lactation Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:545-554.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss, M. L. (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. San Diego, Academic Press.
- Kanno, C. (1990) Secretory membranes of the lactating mammary gland. *Protoplasma* 159:184-208.
- Kenelly, J (1999). Milk composition in the cow. In : *Proceedings of the 1999 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*. Rochester, NY.
- Keown, J. F. (2000). How to Body Condition Score Dairy Animals. *Herd Management*. Cooperative Extensión. University of Nebraska.
- Klei, Linda R.; Lynch, Joanna M.; Barbano, D. M.; Oltenacu, P. A.; Lednor, A. J. and Bandler, D. K. (1997). Influence of Milking Three Times a Day on Milk Quality. *J. Dairy Sci.* 80:427-436.
- Knight, C.H. and Wilde, C.J. (1987) Mammary growth during lactation: implications for increasing milk yield. *J. Dairy Sci.* 70:1991-2000.
- Komaragiri, M.V.; Casper. D.P. and 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(5):929-37.

- Komaragiri, M.V.; Casper, D.P. and Erdman R.A. (1998). Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 2. Effect of dietary fat on mobilization of body fat and protein. *J Dairy Sci.*;81(1):169-75.
- Lacy-Hulbert, S. J.; Woolford, M. W.; Nicholas, G. D.; Prosser, C. G. and Stelwagen, K. (1999). Effect of Milking Frequency and Pasture Intake on Milk Yield and Composition of Late Lactation Cows. *J. Dairy Sci.* 82:1232-1239.
- Le Ruyet, P. And Tucker, W.B. (1992): Ruminant Buffers: Temporal effects on buffering capacity and pH on ruminal fluid from cows fed high concentrate diet. *J. Dairy Sci.* 75: 1069 - 1077.
- Leng, R. A. (1989). Restricciones metabólicas para la utilización de la caña de azúcar y sus subproductos para el crecimiento y producción de leche en rumiantes mayores. *Colección Geplacea*. Serie diversificación. Grupo de países latinoamericanos y del caribe exportadores de azúcar.
- López, María G. y Ponce, P. (1989): *Composición de la leche proveniente de rebaños y rutas de las provincias Habana y Ciudad de la Habana*. Informe Científico-Técnico Final. CENSA.
- López, María G. y Ponce, P. (1992)a: "Caracterización de la composición de la leche de vaca en Cuba". *Encuentro Taller sobre Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos con motivo del 5to. Aniversario de la Fundación del CENLAC*. CENSA 26-29 de mayo. La Habana Cuba.
- López, María G. y Ponce, P. (1992)b: *Composición de la leche proveniente de rebaños y rutas en la provincia de Matanzas*. Informe Científico-Técnico Final. CENSA.
- López, María G. y Ponce, P. (1993)a: *Composición de la leche proveniente de rebaños y rutas en la provincia de Villa Clara*. Informe Científico-Técnico Final. CENSA.
- López, María G. y Ponce, P. (1993)b: *Composición de la leche proveniente de rebaños y rutas en la provincia de Sancti Spíritus*. Informe Científico-Técnico Final. CENSA.
- Luquet, F.M.(1995). *Leche y productos lácteos*. Edit. Acribia, España.

- Lykos, T.; Varga, G.A. and Casper, D. (1997). Varying degradation rates of total nonstructural carbohydrates: effects on ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production and composition in high producing Holstein cows. *J Dairy Sci.*;80(12):3341-55.
- Mackle, T. R.; Bryant, A. M., Petch, S. F., Hill, J. P. and Auldist, M. J. (1999). Nutritional Influences on the Composition of Milk from Cows of Different Protein phenotypes in New Zealand *J. Dairy Sci.* 82:172-180.
- Maiga H.A.; Shingoethe, D.J. and Ludens F.C. (1995): "Evaluation of diets containing supplemental fat with different source of carbohydrates for lactating dairy COWS". *Dupry Science* Vol. 78 No.5. pp1122-1130.
- Mao, I.L.; Buttazzoni, L.G. and Aleandri, R. (1992). Effects of polymorphic milk protein genes on milk yield and composition traits in Holstein cattle. *Acta Agric. Scand.*, Sect. A, Animal Sci. 42:1-7.
- Mariani P., Summer A., Formaggioni P., Beltrami A., Sandri S. (1998)a - Andamento mensile delle principali caratteristiche di coagulazione del latte di singoli allevamenti di vacche di razza Frisone con particolare riguardo alla velocità di formazione del coagulo. *"Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma"*, 18, 75-93.
- Mariani P., Summer A., Martuzzi F., Catalano A.L. (1998)b. Seasonal variations of milk rennetability: summertime worsening of curd firming rate of Friesian herd milks yielded in the Po Valley plain. *Proc. Inter. Symp. "Livestock production and climatic uncertainty in the Mediterranean"*, Agadir (Marocco) 22-24 October - EAAP, publ. no 94.
- Mariani P., Zanzucchi G., Pecorari M., Fossa E. (1991) - Variazioni dell'acidità e del tempo di coagulazione del latte in rapporto all'allevamento ed alla stagione di produzione. *"Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma"*, 9, 277-289.
- Mariani P., Zanzucchi G., Pozzatti A., Summer A., Fossa E., Pecorari M. (1994) - Variazioni mensili dell'acidità e delle caratteristiche di coagulazione del latte nel corso di un triennio. *"Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma"*, 14, 133-148.

- Martín, P.C. (1997). Forraje de caña en la alimentación del ganado vacuno. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 31:237-247.
- Martínez, R. (2000). Estrategias de alimentación en diferentes sistemas de producción lechera. Conferencia Magistral. 7mo Congreso Panamericano de la Leche. La Habana, marzo, 14 – 18.
- Mejías, R, López, R., Recio, Marta y Rodríguez, J. (1992). Niveles de suplementación con calcio y fósforo a novillas en pastoreo. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 26(3).269.
- Mejías, R.; García, L. R.; y Herrera, J. (1991): Niveles de suplementación con calcio y fosforo en vacas de primer parto en pastoreo. *Rev. Cub. Cienc. Agríc.* 25:261.
- Mepham, T.B.(1983): *Biochemistry of lactation*. Elsevier, London.
- Mercier, J-C. and Vilotte, J-L. (1993) Structure and function of milk protein genes. *J. Dairy Sci.* 76:3079-3098.
- Mohar, F. (1992). *Bioquímica Animal*. Ediciones ENPES, La Habana.
- Montero, Vargas, E. (2001). Situación actual y perspectivas del mercado mundial de los productos lácteos. In: *Conferencia Internacional "Aseguramiento de la Calidad en la Industria Láctea"*. 15 – 20 octubre, San José, Costa Rica.
- Moorby, J. M.; Dewhurst, R. J.; Dhanoa, M. S.; Evans, R. T. and Fisher, W. J. (2000). Effects of Altering the Energy and Protein Supply to Dairy Cows During the Dry Period. 2. Metabolic and Hormonal Responses. *J. Dairy Sci.* 83:1795-1805.
- Moraes, S., Tokarnia, C., Dobereiner, J. (1999). Deficiencias de microelementos em bovinos e bovinos e ovinos em algumas regioes do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 19, 19-33.
- Mowrey, A.; Ellersieck, M.R. and Spain, J.N (1999). Effect of fibrous by-products on production and ruminal fermentation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.*;82(12):2709-15.
- Muñoz, E y Gonzales, R. (1998). Caña de azúcar integral para estimular el consumo a voluntad de alimentos voluminosos en vacas. *Rev. cubana Cienc. agríc.* 31:33-40.

- National Research Council (1989). *Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Academy of Sciences, National Research Council. Sixth Revised Edition. Washington DC. USA.
- National Research Council (2001). *Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Academy of Sciences, National Research Council. Sixth Revised Edition. Washington DC. USA.
- NC – Proyecto. Leche, especificaciones (2002). Comité Técnico de Normalización No. 35. Leche y productos lácteos. Oficina Nacional de Normalización, Cuba.
- NC 118 (2002). *Leche. Determinación de la mastitis por el CMT*. Oficina Nacional de Normalización, Cuba.
- NC 119 (2002). *Leche. Determinación de la densidad*. Oficina Nacional de Normalización, Cuba.
- NC 71(2001). *Leche. Determinación de acidez*. Oficina Nacional de Normalización, Cuba.
- Negri, Livia, Taverna, M. y Chávez, Mónica (2001). Factores que afectan la estabilidad térmica de la leche. *Industria Lechera*. 726:8-19.
- Ng-Kwai-Hang, K.F. (1998). *Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with production traits, milk composition and technological properties*. Mc.Guill University. Quebec. Canada.
- Ng-Kwai-Hang, K.F.; Hayes, J.F.; Moxley, J.E. and Monardes, H.G. (1984). Association of genetic variants of casein and milk serum proteins in milk fat and protein production by dairy cattle. *J.Dairy Sci.* 67:835.
- Nocek, J. E. (1997) Bovine Acidosis: Implications on Laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005-1028.
- Novacek MJ (1992). Mammalian phylogeny: shaking the tree. *Nature* 356:121-125
- O'Biren, B.; Dillon, P.; Murphy, J.J.; Mehra, R.K.; Guinee, T.P.; Connolly, J.F.; Kelly, A. and Joyce, P. (1999). Effect of milking frequency and pasture intake on milk yield and composition of late lactation cows. *J Dairy Sci.*;82(6):1232-9.

- O'Brien, B.; Dillon, P.; Murphy, J.J.; Mehra, R.K.; Guinee, T.P.; Connolly, J.F.; Kelly, A. and Joyce, P. (1999). Effects of stocking density and concentrate supplementation of grazing dairy cows on milk production, composition and processing characteristics. *J. Dairy Res.*;66(2):165-76.
- Ojala, M. and Ruottinen, O. (1999). Genetic Parameters for the Milk Coagulation Properties and Prevalence of Noncoagulating Milk in Finnish Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:205-214.
- Oldham, J.D. (1991). Magnitude and implication of changes in milk composition through manipulation of nutrition, management and physiology. *International Dairy Congress*, pág. 714-721.
- Palmquist, D.L.; Beaulieu, A.D. and Barbano, D.M. (1993). Feed and animal factors influencing milk fat composition. *J. Dairy Sci.* 76:1753-1771.
- Perez, J.R. (2001): O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Pérochon, L. ; Coulon, J.B. and Lescourret, F. (1996). Modelling lactation curves of dairy cows with emphasis on individual variability. *Anim. Sci.*, 63, 189-200.
- Philpot, N (1992). *Mastitis, el contrataque*. Edit. Philpot & Assoc. Inc.
- Pinto, M.; Vega, S. y Pérez, Norma (1998). *Métodos de análisis de la leche y derivados. Garantía de Calidad*. Ediciones Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Place, J. and Gibson, P. (1988) Milk Composition. *Holstein Journal*, August.
- Plaut, K. (1993) Role of epidermal growth factor and transforming growth factors in mammary development and lactation. *J. Dairy Sci.* 76:1526-1538.

- Pocknee B. (1998). Quality milk production - meeting the challenge. *Proceedings of the british mastitis conference*. Institute of animal health. P. 97 – 98.
- Ponce, P. (1984). Estudio de la lactancia en vacas de los cruces 5/8 H – 3/8 C y 3/4 H – 1/4 C en condiciones de Cuba. Tesis para la opción de candidato a Doctor en Ciencias. La Habana.
- Ponce, P (1999). Caracterizacao da Síndrome do leite Anormal: Um enfoque das suas possíveis causas e correcao. *Anais do 4º Simposio Internacional sobre Producao Intensiva de Leite*, Caxambu, 22 – 24 de julho. p. 61-76.
- Ponce, P. ; Hernández, R. ; Capdevila, J.; Zaldivar, Victoria y Figueredo, J. (2000): Diagnóstico y corrección de alteraciones en el contenido de sólidos en la leche asociados a trastornos metabólicos – ruminales de la vaca lechera. *Informe Final de Proyecto*. CENSA.
- Ponce, P. y Bell, L (1984). Estudio de la lactancia del cruce 5/8 H – 3/8 C cubano. I Componentes mayores de la leche. Proteína, grasa, lactosa. *Rev. Salud Anim.* 6(1):85-94.
- Ponce, P. y Bell, L (1985). Estudio de la lactancia en vacas Holstein – Friesian, Cebú y sus cruces en Cuba. *Rev. Salud. Anim.* 8(1):73-88.
- Ponce, P. y Hernández, R.(2001). Propiedades físico – químicas do leite e sua associacao com transtornos metabólicos e alteracoes na glandula mamária. In: *Uso do leite para monitorar a nutricao e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Ponce, P.; Rivero, R. y Capdevila, J. (1990). Influencia de varios sistemas de alimentación sobre la composición láctea: Sistema en base a caña como forraje. *Informe Final al programa*. ACC, marzo/1990.
- Ponce, P.; Villoch, Alejandra.; López, Maria; Capdevila, J.; Rivero, R. y García, R. (1992): “Composición de la leche. Una perspectiva desde el trópico. *Encuentro Taller sobre Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos con motivo del 5to. Aniversario de la Fundación del CENLAC*. CENSA 26-29 de mayo. La Habana Cuba.

- Prado Aragón, María; Díaz Pérez, Bárbara; Lobaina Rodríguez, Tamara; Capote Albernaz, Mercedes y Avila Fernández, Norma (1999). Parámetros poblacionales en el cultivo de *Spirulina platensis* en nuestras condiciones climáticas. Tesis de grado. Facultad de Biología, Universidad de la Habana.
- Rajala-Schultz, P. J.; Gröhn, Y. T. ; McCulloch, C. E. and Guard, C. L. (1999). Effects of Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:1213-1220.
- Rajala-Schultz, P. J.; Gröhn, Y. T. and McCulloch, C. E. (1999). Effects of Milk Fever, Ketosis, and Lameness on Milk Yield in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 82:288-294.
- Rearte, D. (1993). Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Gráfica Lambertini, Argentina.
- Rosol, T.J. Chew, D. J. (1995). Pathophysiology of calcium metabolism. *Vet. Clin. Pathol.* 24, 49-63.
- SAS (1985). SAS User's Guide: Statistics, Ver. 5 Edition. SAS Institute INC, Cary, NYC.
- Sawyer, L. and Holt, C. (1993). The secondary structure of milk proteins and their biological function. *J. Dairy Sci.* 76:3062-3078.
- Schalm, O. W., Jain, N. y Carroll, E.J. (1984). *Veterinary Hematology*. Edit. Loa and Febiger. Philadelphia, USA.
- Shirley, R. (1986). *Nitrogen and energy nutrition of ruminants*. Academic Press. Inc. USA.
- Schmilovitch, Z.; Maltz, E. and Austerweill, M. (1992). Determination of milk composition by NIR spectroscopy. ASAE Paper No. 92-7054. *Summer Meeting, American Society of Agricultural Engineers*. Charlotte, North Carolina.
- Schmilovitch, Z.; Maltz, E. and Austerweill, M. (1992). Fresh raw milk composition analysis by NIR spectroscopy. *Proceedings of the International Symposium on Prospects for Automatic Milking*. Wageningen. Netherlands.
- Sienra, R. (1999). Acidosis en bovinos. *Revista Plan Agropecuario*, No. 86. Bimestre junio-julio.

- Smith, K.L. (1996). El consejo Nacional de Mastitis y el futuro del control de mastitis y la producción de leche de calidad. *Memorias del Congreso Regional del Consejo Nacional de Mastitis de Estados Unidos de América*. Orlando, Colorado.
- Soder KJ, Holden LA .(1999). Dry matter intake and milk yield and composition of cows fed yeast prepartum and postpartum. *J Dairy Sci* Mar;82(3):605-610.
- Sommer, H. (1995). The role of the metabolic profile test in the control of cattle feeding. *Magyar Allatorvosok Lapja*. Vol.5(4):234-241.
- Spears, J. W. (1999). Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals. *Review. Asian-Aus. J. Anim. Sci.* 12, 1002-1008.
- Staples, C. R. y Lough, D. S. (1999). Efficacy of supplemental dietary neutralizing agents for lactating dairy cows. A review. *Animal Feed Science and Technology*. 23: 277-303.
- Strandberg E., Lundberg C. (1991). A note on the estimation of environmental effects on lactation curves. *Anim. Prod.*, 53, 399-402.
- Summer, A.; Formaggioni, P.; Tosi, F.; Fossa, E. and Mariani, P. (1998). Effects of the hot-humid climate on rennet-coagulation properties of milk produced during summer months of 1998 and relationships with the housing systems in the rearing of italian friesland cows. *Ann. Fac. Med. Vet., Univ. Parma*", 19, 277-289.
- Tokarnia, C.H., Dobereiner, J., Moraes, S., Peixoto, P (1999). Deficiencias e desequilíbrios minerais em bovinos e ovinos- Revisao dos estudos realizados no Brasil de 1987 a 1998. *Pesq. Vet. Bras.* 19, 47-62.
- Tucker, H.A. (1994) Lactation and its hormonal control. Ch. 57, In: *The Physiology of Reproduction*, 2nd edition, Eds. E. Knobil, J. Neill, et al. Raven Press, Ltd., New York. p. 1065. (on permanent reserve in Biology Library).
- Tucker, H.A. (2000). Hormones, Mammary Growth, and Lactation: a 41-Year Perspective. *J. Dairy Sci.* 83:874-884.

- Van Eenennaam, A.L. and Medrano, J.F. (1991). Differences in allelic protein expression in the milk of heterozygous *kappa*-casein cows. *J.Dairy Sci.* 74:1491-1496.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B. A. (1991). Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 74, 3583 – 3597.
- Velmala, R., Mantysaari, E. and Maki-Tanila, A. (1993). Molecular genetic polymorphism at the *kappa*-casein and *beta*-lactoglobulin loci in Finnish dairy bulls. *Agric.Sci.Finl.* 2:431-435.
- Villoch, Alejandra y Ponce, P (1987). Composición primaria de la leche en vacas Holstein – Friesian en la provincia de la Habana. *Rev. Salud Anim.* 9(3) :223-232.
- Villoch, Alejandra, Martínez, Elsa, Rivero, R., Rios,I., García, Libertad y Ponce, P. (1991). Influencia de diferentes condiciones de alimentación sobre la producción y la composición de la leche. *Rev. Salud Anim.*:48-55.
- Volden, H. (1999). Effects of level of feeding and ruminally undegraded protein on ruminal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestinal amino acid profile, and performance of dairy cows. *J Anim Sci.*;77(7):1905-18.
- Walsh, C.T. and Neville, M.C. (1994). Effects of xenobiotics on milk secretion and composition. *J. Nutr. Biochem.* 5:418-441.
- Walstra, P and Jenness, R (1984) *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley & Sons, New York.
- Whitaker, D. A., Goodger, M., García, O., and Wittwer, F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Vet. Prev. Med.* 38:119-131.
- Whitaker, D. A., Kelly, J. (1995). *Use and interpretation of metabolic profiles in Dairy cows*. Department of Veterinary Clinical Studies, University of Edimburg.
- White SL, Benson GA, Washburn SP, Green JT Jr (2002). Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows. *J Dairy Sci* .85(1):95-104.

- Wilde C.J. and Hurley, W.L. (1996) Animal models for the study of milk secretion. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 1:123-134.
- Wilde, C.J. and Knight, C.H. (1989) Metabolic adaptations in mammary gland during the declining phase of lactation. *J. Dairy Sci.* 72:1679-1692.
- Wittwer, F.(2000). Diagnóstico dos equilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. In: Gonzales, F.H.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.: *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- Wittwer, F.(2000). Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em grão de leite. In: Gonzales, F.H.; Barcellos, J.O.; Ospina, H.; Ribeiro, L.A.: *Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.
- Wu, Z. and Satter, L. D. (2000). Milk Production During the Complete Lactation of Dairy Cows Fed Diets Containing Different Amounts of Protein. *J. Dairy Sci.* 83:1042-1051.
- Xu, S. ; Harrison, J. H. ; Riley, R. E. and Loney, K. A. (1994): Effect of buffer addition to high grain total mixed rations on rumen pH, feed intake, milk production and milk composition. *J. Dairy Sci.* 77(3):782-788.
- Zimmerly, C.A. and Weiss, W.P. (2001). Effects of supplemental biotin on performance of Holstein cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 84: 498-506.