



NUTRICION Y FERTILIDAD EN EL GANADO LECHERO

Dr. Leonardo De Luca – Profesor titular de la Cátedra de Producción de Leche de la U.N.L.Z. Edición Abril de 2004
Director Técnico. Laboratorio Burnet SA.

1.- INTRODUCCIÓN

En Argentina la producción promedio de leche por vaca ha podido ser incrementada desde los años 1966 hasta 2001 en un promedio cercano a los 45-50%. Frente a este aumento de producción se registra un aumento muy manifiesto de pérdidas debidas a diversas enfermedades.

En los distintos grupos de enfermedades, gracias a las excelentes medidas preventivas y terapéuticas veterinarias, solo se ha logrado relegar a segundo término las clásicas enfermedades epidémicas e infecciones causadas por agentes específicos, que, como causa de pérdida, se han hecho casi insignificantes.

En cambio, actualmente nos dan cada vez mas que hacer algunos procesos inflamatorios inespecíficos como las mastitis y las endometritis las cuales han aumentado en 117 y 67% respectivamente en el periodo antes señalado.

Estas afecciones guardan una estrecha relación causal con **defectos metabólicos**, con respecto a los cuales tenemos que señalar asimismo un considerable incremento. Por motivos económicos es preciso que, por parte de los veterinarios se emprendan medidas energéticas en la lucha contra los mismos, ante todo en el campo de la higiene, es decir en el mantenimiento de la salud, y no en el terreno de la clínica.

Los procedimientos preventivos tienen preferencia a los terapéuticos, porque, por motivos técnicos y laborales son más fácilmente aplicables, evitan las pérdidas de producción y sus resultados a este respecto son más seguros.

Al incrementarse la producción de leche pasan a primer término las manifestaciones patológicas principalmente en el campo del metabolismo, así como a nivel del útero, los ovarios y la mama.

Por esta razón, estas afecciones se pueden agrupar bajo la denominación de "enfermedades de la producción", las cuales se pueden limitar a las "enfermedades metabólicas producidas por estados carenciales".

Se considera como causa etiológica de las enfermedades de la producción, una desproporción entre los materiales ingresados con los alimentos, los utilizados y los eliminados.

De acuerdo a nuestra experiencia, el concepto de enfermedades de la producción tiene que ampliarse abarcando, además de las enfermedades del metabolismo, las infecciosas secundarias que afectan al útero, y a la mama, las que dependen también de la cuantía de la producción.

Lo que debemos tener muy en cuenta es que la producción en sí no debe considerarse como un factor patológico, sino la alimentación inadecuada, como así también el momento de la aparición de dichas afecciones, poco antes o

días después del parto.

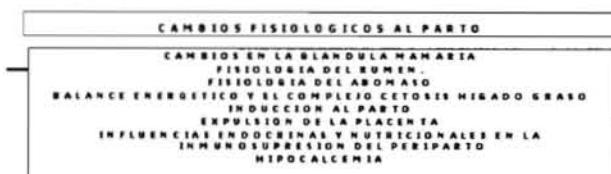
Por tal motivo estamos en condiciones afirmar que sería mejor hablar de un "**síndrome de parto**" de la vaca de alto rendimiento, entendiendo como tal todos los procesos patológicos que están en relación con la tensión a que se ve sometido el animal, debido a la gestación avanzada, el parto y la elevada producción lechera hasta la nueva concepción.

Con esta denominación se abarcan enfermedades con síntomas muy diferentes, que para el veterinario clínico se presentan como cuadros autónomos, como la paresia postparto la endometritis o la mastitis, con sus distintas diferenciaciones y tratamientos correspondientes.

Sin embargo, será muy distinta la concepción del higienista, cuya finalidad es encontrar la causa "clave", si lo consigue será capaz de oponerse con un sistema preventivo a la aparición de un gran número de enfermedades.

Como podemos ver en la Figura N°1, los cambios más importantes que ocurren en el periodo periparto tienen relación estrecha con desequilibrios nutricionales, los cuales influyen negativamente sobre la mayoría los procesos fisiológicos.

FIGURA N° 1



El período de transición desde estado gestacional *no lactante*, al de *lactante* es un gran problema para la vaca, debemos insistir que la mayoría de las enfermedades metabólicas ocurren durante las dos primeras semanas posteriores al parto.

La etiología de varias de estas enfermedades, generalmente se deben a errores nutricionales que han ocurrido durante el inicio de la lactancia (lactancia temprana), y además de las enfermedades metabólicas suelen ocurrir episodios clínicos de algunas enfermedades infecciosas (mastitis, tuberculosis o paratuberculosis) también durante las dos a tres primeras semanas de lactancia.

Por lo tanto es de gran importancia entender todos los factores responsables de la alta incidencia de enfermedades en el periparto de las vacas lecheras.

Como sabemos existe una gran demanda de energía, proteínas y minerales desde el complejo Feto-Placentaria en las vacas la cual se incrementa a medida que transcurre la gestación.

Al final de la etapa gestacional el desarrollo fetal requiere aproximadamente 0,92 Mcal. de Energía, 135 gramos de Proteína, y 11 gramos de Calcio, 6 gramos de Fósforo, 0,4 gramos de Magnesio por día. Pero estos requerimientos metabólicos se elevan significativamente en la producción del calostro, siendo muy superior a los demandados por el feto.



Para producir 15 litros de calostro a partir del día del parto la vaca necesita, 17 Mcal de Energía, 220 gramos de proteínas, 35 gramos de Calcio, 14 gramos de Fósforo, 1,7 gramos de Magnesio, los cuales son suplidos por la dieta, o transportados a la glándula mamaria desde las reservas corporales.

Esta alta y súbita demanda de nutrientes, la cual está determinada por la creciente actividad del tejido mamario no siempre puede ser satisfecha, y el resultado es el desarrollo de enfermedades metabólicas, siendo la Hipocalcemia Puerperal y el complejo Cetosis – Hígado Graso las patologías más comunes.

La eficiencia reproductiva de una explotación es uno de los factores que mayor incidencia tiene sobre los beneficios o rentabilidad que puedan generarse. Por lo general, se recomienda inseminar y preñar a las vacas en un espacio de tiempo reducido, con la finalidad de no alargar demasiado la lactación (con bajas producciones durante los últimos meses).

El reparto de los nutrientes para las distintas funciones fisiológicas tiene distintas prioridades. *Las funciones de mantenimiento o lactación tienen prioridad sobre las funciones reproductivas.*

Por lo tanto, pequeños desajustes nutricionales mostrarán antes sus consecuencias sobre la reproducción que sobre la producción de leche. Las causas más frecuentes del fallo reproductivo en la vaca lechera son la endometritis y la mortalidad embrionaria temprana (cerca del 75% del total de las causas), asociada por los veterinarios y casi nunca por los productores a un error nutricional.

Incluso las metritis, que tienen un claro componente infeccioso, pueden ser consecuencia de una nutrición inadecuada. Por ejemplo, una deficiencia de calcio iónico (que reduce la motilidad uterina), o a un exceso de proteína que induzca un aumento de la concentración de amoníaco en sangre, deprimiendo la actividad de los linfocitos pueden ser causas de metritis.

Un reciente estudio británico (Darwash et al., 1999) ha descrito un descenso del índice de fertilidad desde un 65% en el periodo de 1975 al 1982 a un 44% en el periodo de 1995 al 1999, lo que representa un descenso de aproximadamente un 1% anual.

Como este descenso de la fertilidad ha ido unido a un aumento de la producción lechera, los animales seleccionados genéticamente parecerían ser más eficientes reproductores que los animales no seleccionados. Ante esta observación, varios autores (Ferguson, 1988; Zarate, 1996) han sugerido que la selección genética para obtener vacas de mayor producción ha resultado en una selección concomitante de un ganado con menor capacidad reproductiva (cuadro 1).

Cuadro 1.- Relación entre el nivel de producción y la fertilidad (Ferguson, 1988)

| Nivel de producción, kg | % Fertilidad |
|-------------------------|--------------|
| < 5900 | 48,5 |
| 6000-6800 | 45,1 |
| 6900-7800 | 41,0 |
| 7900-8700 | 38,6 |
| >8800 | 38,5 |

Sin embargo, esta teoría se pone en duda al analizar la capacidad reproductiva de las vaquillonas que se mantiene equiparable entre los animales no seleccionados y los seleccionados genéticamente. También, en vacas con relativamente baja producción lechera y buena fertilidad, la administración de la hormona de crecimiento ha resultado en aumentos de la producción lechera acompañados de un descenso de la fertilidad (Freeman y Lindberg, 1993).

Además, los índices de concepción cercanos al 70% de las vaquillonas Holstein demuestran, a pesar de que las vacas en lactación presenten índices de concepción alrededor del 40%, que la raza Holstein es una raza inherentemente fértil.

Existen varias diferencias entre los parámetros reproductivos de las vaquillonas y las vacas lactantes. Las vacas lactantes suelen tener un celo más corto, un ciclo estral más largo, una mayor incidencia gemelar y menor concentración de estradiol en sangre que las vaquillonas. Muchas de estas diferencias han sido asociadas al estado nutricional del animal. El establecimiento de pautas para evitar o minimizar estos trastornos requiere conocer a través de qué mecanismos el estado nutricional del animal interviene sobre el funcionamiento reproductivo. En el campo de la zootecnia es común encontrar artículos científicos cuyo título incluya la palabra "efecto".

Por ejemplo, no es difícil encontrar artículos con títulos como "Efecto de la proteína no degradable sobre la reproducción...". Este tipo de títulos predisponen al autor y al lector a asociar la mayoría de las respuestas descritas en el artículo con la proteína degradable. Sin embargo, si se aplica un poco de razonamiento crítico, en varias ocasiones se puede concluir que las respuestas obtenidas no son debidas a la proteína degradable sino a otros factores, como un ligero cambio en la ingestión de materia seca, el perfil de aminoácidos a nivel duodenal, la relación energía degradable/ energía ruminal, niveles hormonales, o incluso el propio diseño experimental.

Para aplicar el razonamiento crítico es esencial disponer de una fuerte base fisiológica. Por este motivo, se pretende con esta monografía hacer una asociación con la nutrición y su relación con el funcionamiento o fisiología de la reproducción.

Los parámetros nutricionales que más influencia ejercen sobre la reproducción son la energía, la proteína, las grasas, los minerales y las vitaminas.

Centraremos el estudio en la relación de estos nutrientes con los mecanismos hormonales que modulan la reproducción.



2.- ENERGÍA

La energía es el nutriente que más influencia tiene sobre el costo de la ración, no debido a su costo unitario sino por la cantidad total de energía que la vaca necesita. Por otro lado, la energía es un nutriente con una gran influencia sobre la reproducción. Tanto un déficit de energía (balance energético negativo) como un consumo elevado de energía y materia seca pueden afectar negativamente la reproducción.

2.1.- Balance Energético Negativo (BEN)

La maximización del rendimiento económico de la producción del vacuno lechero obliga, en la mayoría de las situaciones, a inseminar a las vacas al principio de la lactación, lo que suele coincidir con un balance energético negativo. El balance energético de un animal está influenciado por su producción de leche, sin embargo esto no implica que las vacas más productoras estén en un balance negativo superior, pues uno de los factores más determinantes del balance energético es la ingestión de energía.

No es infrecuente, encontrar animales poco productores con graves problemas reproductivos.

En muchos de estos casos, son animales poco dominantes que tienen dificultades para acceder al alimento, y muestran un balance energético negativo.

Medir el balance energético a nivel de campo es prácticamente imposible (pues requiere determinar el peso del animal -y su evolución en el tiempo-, la ingestión diaria, y la cantidad y composición de la leche producida diariamente). Por ello se usa comúnmente la condición corporal como indicador del balance energético (si pierde condición el balance es negativo). La condición corporal es una herramienta sencilla, rápida y económica basada en la observación o palpación de diferentes partes de la anatomía del animal que tiene como objetivo cuantificar el estado de gordura.

La técnica más utilizada, en el vacuno lechero, es la de Edmonson et al. (1989), basada en la observación del animal sin necesidad de recurrir a la palpación.

Ferguson et al. (1994) demostraron que la técnica permite diferenciar con precisión puntuaciones de condición corporal de un cuarto de punto y que los resultados no dependen del grado de experiencia del evaluador.

Smith (1984) determinó que cuando la pérdida de condición corporal en el periodo post parto era severa (pérdida de más de 1 punto de condición corporal), aumentaban los días a la primera ovulación, los días al primer estro, el número de servicios por concepción y por lo tanto los días abiertos.

Sin embargo, pérdidas moderadas (inferiores a 1 punto de condición corporal) no parecen afectar significativamente a los parámetros reproductivos.

Britt (1995) indicó, que no es la condición corporal del momento, sino la magnitud de su pérdida lo que afecta a la función reproductiva. En consecuencia, se recomienda que el animal no pierda más de 1 punto de condición corporal en el periodo post parto.

Una alternativa al uso de la condición corporal es evaluar la composición láctea para estimar el balance energético del

animal. Por ejemplo: el cociente entre grasa y proteína en leche está negativamente correlacionado con el balance energético, es decir que animales con un déficit energético tenderán a presentar bajos niveles de proteína en leche (o altos contenidos en grasa) (De Luca L. 1998). Además, este cociente ha sido negativamente correlacionado con el índice de concepción a la primera inseminación (Loeffler et al., 1998) (De Luca L 1998)

Otra alternativa para estimar el balance energético de las vacas es medir el porcentaje de grasa en la leche durante los primeros días de producción. Este contenido en grasa está negativamente correlacionado con el balance energético del animal durante el principio de lactación, como mínimo en vacas de primer parto (de Vries y Veerkamp, 2000). Es decir, que aquellos animales que inicien la lactación con altos niveles de grasa en leche serán los más propensos a padecer un balance energético negativo más acusado.

Los animales en balance energético negativo se caracterizan por niveles sanguíneos elevados de hormona de crecimiento y ácidos grasos no esterificados, (AGNE) y niveles sanguíneos bajos del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I), insulina, y glucosa (Canfield y Butler, 1991; Whitaker et al., 1993). En estas condiciones, los mecanismos de regulación homeorrética (acción de distribuir la energía disponible hacia las distintas funciones metabólicas) establecen la prioridad de utilización de nutrientes hacia la producción por encima de la función reproductiva (Bauman y Currie, 1980).

En un reciente estudio, Kirkland y Gordon (2001) secaron dos de las cuatro glándulas mamarias para estudiar los efectos del nivel de producción sobre la partición energética. Cuando la ingestión de energía se limitó por debajo de los requerimientos, las vacas con sólo dos glándulas activas dirigieron el 20% de la energía ingerida a la producción de leche, mientras que las vacas con las cuatro glándulas activas dirigieron el 43%. Esto sugiere la existencia de algún mecanismo endocrino que asegure que la producción de leche se mantenga.

Por lo tanto, es de esperar que las vacas de mayor producción tengan un menor porcentaje de la energía disponible para funciones reproductivas en situaciones de balance energético negativo o próximo a la neutralidad, pues una mayor proporción de energía se dirigirá a la producción de leche. Eso implica que, con rodeos muy productores, un mínimo desajuste energético tendrá considerables repercusiones sobre la reproducción, pues una reducida proporción de la escasa energía disponible podrá ser usada para mantener dichas funciones.

El balance energético negativo durante el principio de la lactación puede afectar negativamente el desarrollo folicular. En un estudio reciente (de Vries y Veerkamp, 2000) se determinó que por cada 1,8 Mcal ENL de déficit energético en el día de mayor balance energético negativo, la primera actividad luteal se retrasa 1 día, por lo tanto, es fisiológicamente normal, que las vacas con un mayor balance energético negativo sean inseminadas más tarde durante su lactancia (mayor cantidad de días abiertos)

El crecimiento de folículos dominantes (aquellos folículos



que superan en más de 2 mm el resto de los folículos del ovario) que terminen en ovulación ocurre durante un mismo ciclo estral, en el vacuno lechero, en dos o tres olas foliculares. El desarrollo folicular se inicia entre 80 y 100 días antes de la ovulación (Lussier et al., 1987). Por lo tanto, los dos primeros folículos ovulatorios post-parto se desarrollan durante la fase final del secado.

Muchos de los terceros y cuartos folículos ovulatorios son disfuncionales, (estrógenos NO activos), producen oocitos inmaduros y se transforman en cuerpos lúteos con baja síntesis progesterónica. Uno de los motivos de esta disfuncionalidad de los folículos durante el post-parto es el estrés derivado del balance energético negativo.

Después del parto el ovario contiene folículos en el estadio preantral dependientes de la concentración y la secreción pulsátil de LH (Stevenson y Britt, 1980). (De Luca,L., Carou, N. 1987). Si el balance energético es negativo, la secreción de LH disminuye y estos folículos en desarrollo no evolucionan y terminan en atresia.

La disminución de LH es consecuencia directa de una disminución en la secreción de GnRH, pues la administración pulsátil de GnRH en ovejas en balance energético negativo resultó en un restablecimiento de la secreción pulsátil de LH y en una recuperación de su concentración en sangre (Kile et al., 1991).

La disminución de la secreción de GnRH durante estadios de balance energético negativos está, en parte, inducida por la leptina. La leptina es una hormona secretada por el tejido adiposo que regula numerosas funciones metabólicas, entre las que destacan la ingestión y la reproducción. Una de las funciones de la leptina es mantener un adecuado balance energético, y por ello si su secreción aumenta (debido a un exceso de energía o excesivo contenido graso en el animal) la leptina disminuye la ingestión mediante la inhibición de la secreción de **neuropeptido Y** (potente estimulador de la ingestión) por parte del hipotálamo (Friedman y Halaas, 1998).

La leptina participa en la regulación de la reproducción modulando cantidad de los aportes energéticos presentes en las reservas corporales que se dirigen hacia las funciones reproductivas, como la Somatotrofina, influye extremadamente en la partición de los nutrientes energéticos (Hoggard et al., 1998) y a través de la estimulación de la secreción de GnRH a nivel hipotalámico, influye positivamente sobre el reinicio de la etapa foliculogénica puerperal

En rumiantes, la secreción de leptina está correlacionada positivamente con los niveles de IGF-I (Houseknecht et al., 1998), siendo esta hormona uno de los indicadores más claros del balance energético del animal. Al ser una hormona secretada por el tejido adiposo, la concentración de leptina en sangre es mayor cuanto mayor sea la proporción de grasa corporal, tanto en vacas (Ji et al., 1997; Chilliard et al., 1998) como en ovejas (Kumar et al., 1998). En un reciente estudio, Cassady (2000) demostró que cuando el contenido de grasa corporal del vacuno desciende por debajo del 12,1% la actividad reproductiva cesa. Esta observación corrobora la importancia de la leptina en la

regulación de la reproducción. Se demostró además que la leptina participa en el establecimiento de la pubertad.

Por lo tanto, es muy importante que se apliquen programas nutricionales que aseguren que los niveles de grasa corporal durante el preparto no sean elevados (pues depimirán la ingestión) ni demasiado bajos puesto que de esta manera no se secretará suficiente leptina para permitir una buena función reproductiva).

Se puede facilitar la obtención de niveles óptimos de progesterona asegurando que las concentraciones de insulina en sangre sean lo suficientemente elevadas para estimular la actividad del cuerpo lúteo. La estrategia para aumentar la insulina en el vacuno lechero es la misma que para evitar o combatir la cetosis.

Consiste en suministrar fuentes de carbohidratos que, o bien fermenten a propionato en el rúmen vigilando el riesgo de inducir acidosis por excesiva acumulación de ácidos grasos, (almidones de alta degradabilidad ruminal) o bien almidones que se degraden poco a nivel ruminal y aporten glucosa directamente a nivel duodenal.

Ejemplos del primer tipo son los carbohidratos no fibrosos, mientras que ejemplos de los segundos son almidones tratados térmicamente (copos de maíz o cebada) en combinación con proteína o fibra.

En una experiencia realizada sobre vacas en transición (De Luca L.J., 1999) se demostró la importancia que tiene la ingesta de almidones de alta degradabilidad intestinal (Copos de Maíz), durante 30 días pre-parto, sobre la concentración de Glucosa, Ácidos Grasos No Esterificados, Urea, e Insulina durante la etapa de recuperación del Balance Energético Negativo. Las vacas que recibieron los granos tratados con calor-presión y gelatinizados presentaron celos ovulatorios a los $30 \pm 3,4$ días del parto, con un intervalo Parto-Preñez de 99 ± 12 días en promedio

Otra alternativa es la suplementación con propilenglicol, un alcohol inerte a nivel ruminal que es metabolizado a nivel hepático a piruvato y luego a glucosa. La glucosa es la principal fuente de energía para los ovarios (Rabiee et al., 1999), y por lo tanto estas estrategias para aumentar la glucosa en sangre, además de aumentar la concentración de insulina, mejoraran el crecimiento de los folículos.

Un adecuado aporte de glucosa mejora el reclutamiento de folículos (Oldick et al., 1997), por lo tanto, en caso de que no se produzca gestación el siguiente ciclo estral debería aportar folículos mejor desarrollados.

Una deficiencia en la secreción de IGF-I, o de sus receptores, resulta en graves consecuencias reproductivas, que incluyen, un desarrollo lento y anormal de los folículos, los cuales nunca llegan a ovular. Sólo cuando se administran dosis muy elevadas de hormonas gonadotrópicas (PMSG- GCH) se puede lograr con éxito una ovulación, aunque sus óvulos no llegan nunca a ser fertilizados con éxito.

Por otro lado, la hipótesis de que la selección genética empeora la reproducción, puede tener su origen en que las vacas de mayor producción lechera presentan niveles de



bST en sangre superiores. La bST (Somatotropina bovina) participa, a través de la estimulación de la IGF-I, en el reclutamiento de folículos. Con niveles elevados de bST la emergencia de la segunda (y si la hay, tercera) ola folicular ocurre antes en el ciclo estral (lo normal es que la segunda ola folicular se inicie a los 10 días del ciclo), por lo que el folículo ovulatorio tiene una edad superior a lo normal. Se demostró, Roche et al. (1999) que los folículos ovulatorios de mayor edad resultaban en índices de concepción inferiores a la media. Debido a una desincronización entre la maduración folicular y la oocítica.

El descenso de la producción de IGF-I por parte del hígado durante el postparto es debida, en parte, al descenso del número de receptores hepáticos para la bST, de modo que aunque su concentración aumente en plasma no puede inducir un aumento de la producción de IGF-I (Lucy, 2000). La cantidad de IGF-I en el líquido folicular está directamente relacionada con la concentración plasmática de IGF-I (pues la mayoría de IGF-I del líquido folicular procede del plasma).

Beam y Butler (1999) describieron correlaciones positivas entre la pulsosidad de la LH y el desarrollo folicular, y entre la concentración de Estradiol con la de IGF-I sérica. Sin embargo, como durante el postparto, tanto la LH como la IGF-I aumentan cuando el estado nutritivo de los animales mejora, es difícil llegar a la conclusión que la IGF-I o la LH, por si solas ejercen un efecto directo sobre la mejora de la reproducción.

De cualquier forma, a nivel nutricional, es imprescindible minimizar el descenso de insulina después del parto, para estimular así el crecimiento folicular y la concentración de progesterona, bST e IGF-I.

2.2.- Elevados consumos de materia seca y de energía

La elevada producción de leche y los límites impuestos en la formulación de raciones (máximos de grasa o almidones y mínimos de fibra) hacen que la densidad energética (ENL / kg) sea insuficiente para cubrir las necesidades del animal. En estas condiciones la única alternativa para reducir el balance energético negativo durante el pico de producción **es incrementar la capacidad de ingestión de alimentos para aumentar así el aporte energético diario (ENL / d)**.

Las prácticas de manejo como la distribución de alimentos varias veces al día, la colocación de sombras en los comederos, el acceso voluntario a la comida durante todo el día, la disponibilidad de espacios adecuados para comer, beber, descansar y rumiar, el mantenimiento de un ambiente limpio y seco, y la utilización de ingredientes de calidad, pueden ayudar a estimular la ingestión de alimentos, y en último término, reducir el déficit energético. Sin embargo, conseguir ingestiones elevadas puede también afectar de manera negativa la reproducción, a pesar de mejorar notoriamente el balance energético y la producción de leche. En el vacuno de alta producción, hay períodos claros de balance energético negativo que coexisten con consumos de materia seca y energía muy elevados. Varios autores (Bach, 1999; Huntington, 1990) han demostrado que existe una relación entre el consumo energético y el flujo sanguíneo a través del hígado. El flujo sanguíneo

hepático en un animal no lactante suele estar alrededor de los 800-1000 l / h, mientras que en un animal lactante el flujo puede alcanzar los 1800-2200 l / h (Bach et al., 2000a). El flujo sanguíneo a través del hígado, no sólo depende del nivel de energía ingerido sino también del momento respecto a la ingestión de alimento. El hígado es el principal órgano responsable del metabolismo de las hormonas esteroides. Por lo tanto, es de esperar que cuando el flujo sanguíneo hepático aumente, con consumos de materia seca y energía elevados el metabolismo y la consecuente desaparición de las hormonas esteroides, como la progesterona y los estrógenos también aumenten.

Por lo tanto, cuando aumenta la ingestión y aunque con ella mejore la producción de leche y el balance energético del animal, la eficiencia reproductiva puede disminuir por causas puramente fisiológicas consecuencia del catabolismo hepático exacerbado de las hormonas esteroides.

Entre las consecuencias de este metabolismo hepático se encuentran, una mayor incidencia de ovulaciones múltiples (y consecuente aumento de la tasa gemelar), una menor concentración de estradiol y progesterona con alteración de la calidad embrionaria.

Una muestra del efecto del aumento del flujo sanguíneo hepático es que, en general, los cuerpos lúteos de las vacas lactantes suelen ser de mayor tamaño que los de las vaquillonas. Sin embargo, la concentración de progesterona en sangre suele ser inferior en las vacas lactantes que en las vaquillonas.

La teoría radica en la acción del hígado como principal tejido metabolizador de las hormonas esteroides. A mayor producción de leche y mayor consumo energético más veces la progesterona sanguínea pasará por el hígado y por tanto una mayor cantidad de progesterona será metabolizada por los hepatocitos.

Esta teoría, ha sido recientemente confirmada por Wiltbank et al. (2001), que demostraron que un aumento del flujo hepático de 746 l / h a 1587 l / h resultaba en un aumento del ritmo de desaparición metabólica de progesterona (litros de sangre de los que la progesterona es totalmente eliminada cada hora) de 792 l / h a 1.781 l / h lo que resultaba en concentraciones sanguíneas de progesterona de 4,1 respecto a 2,6 ng/ ml.

Estas bajas concentraciones de progesterona en sangre pueden explicar el aumento en el porcentaje de embriones atrasados y degenerados en vacas lactantes con respecto a las vaquillonas consecuencia, en parte, de un mayor consumo de materia seca y energía.

De Luca, L. J. y col (1988) demuestra que la ingesta elevada en energía durante el preparto o cualquier condición nutricional que conduzca al Síndrome de la Vaca Gordita, con hepatolipidosis distrófica influye negativamente sobre la fertilidad debido a que el sistema microsomal del hepatocito se encuentra inhabilitado para catabolizar el 17 Beta Estradiol (déficit de Estrinasa hepática), por lo tanto se desencadenan los típicos síndromes hiperestrogénicos (celos largos, celos anovulatorios, endometritis crónica hipertrófica, ciclos anormales, muertes embrionarias y abortos tempranos).



Por lo tanto, la estrategia nutricional para mejorar la reproducción del vacuno de alta producción lechera consiste en encontrar el punto de equilibrio entre un balance energético no muy acentuado y una ingestión energética excesivamente alta. Para ello, es necesario que los animales lleguen en buena condición corporal al parto y tengan un consumo regular de materia seca.

3.- PROTEÍNA

Una buena producción de leche requiere un aporte adecuado de proteína, *no tanto cuantitativa, sino cualitativamente (perfil de aminoácidos)*, puesto que las vacas no necesitan proteína sino aminoácidos.

Sin embargo, debido a la limitada información disponible sobre los aportes y necesidades de aminoácidos, es frecuente formular raciones con un exceso de proteína para intentar evitar sus posibles limitaciones.

Este exceso de proteína se ha asociado con una disminución de la eficacia reproductiva (Ferguson y Chalupa, 1989). A pesar de la, aparentemente, importancia de la proteína sobre la reproducción un reciente estudio finlandés (Shingfield et al., 1999) examinó la posible relación entre los niveles de proteína en la ración y la eficiencia reproductiva (las raciones finlandesas suelen contener entre 15 y 18% de proteína bruta) en más de 16,000 explotaciones sin encontrar ningún efecto evidente del nivel de proteína sobre los días abiertos, días a la primera inseminación, intervalo entre partos, o número de inseminaciones por parto.

Un correcto desarrollo folicular precisa de niveles adecuados de proteína. Sasser et al. (1988) observaron una disminución del 29% en la manifestación de celos así como un retraso en la aparición de los mismos de 11 días cuando compararon una ración con un 7,7% de proteína con otra del 22,5%.

Además, los mismos autores describieron una reducción del índice de concepción al primer servicio (25 vs 71%) con raciones del 7% y 20% de proteínas respectivamente.

Raciones con niveles insuficientes de proteína también se han asociado con la muerte embrionaria temprana (Kaur y Arora, 1995).

Por otro lado, existen varios estudios que demuestran que excesos de proteína también son nocivos para la reproducción. Por ejemplo, Bruckental et al. (1989) demostraron que el suministro de raciones con un 21% de proteína en comparación con raciones de un 17% de proteína reducía el índice de concepción y aumentaba el intervalo entre el parto y la primera ovulación en las vacas de cuarto o mayor número de lactación.

Estos estudios, en contra de las conclusiones de los autores antes citados, han conducido a investigar mas exhaustivamente el nivel proteico en las dietas en relación a la fertilidad de los rodeos de alta producción, ya que las raciones que *aportan cantidades excesivas de proteína suelen ocasionar problemas reproductivos debido a aumentos en las concentraciones de amoniaco y urea o bien al incremento de un balance energético negativo.*

Para poder evaluar los efectos de la proteína sobre la ración, se necesita primero disponer de un indicador del estado nutricional proteico del animal. Un buen indicador del estado proteico de los rodeos es el nivel de urea en sangre. Cualquier exceso proteico generará amoniaco, ya sea por excesiva producción ruminal o por excesiva desaminación a nivel hepático. Independientemente del origen del amoniaco, el hígado lo convertirá a urea, pues el amoniaco es un agente tóxico (sobre todo para el sistema nervioso).

Varios autores han propuesto usar la concentración de urea en leche como un indicador de la eficiencia reproductiva. Dicha concentración se estabiliza con la concentración de urea en sangre en menos de una hora (Elrod et al., 1993), por lo tanto la urea en leche representa un perfecto indicador de la uremia en las vacas en plena lactancia. Si se usa la urea en leche o en suero, como indicador de la calidad de la nutrición proteica del rodeo debe tenerse en cuenta que las vaquillonas suelen presentar concentraciones inferiores a los animales adultos. Además, existe una estacionalidad en las concentraciones de urea en leche o suero, siendo superiores en los meses de primavera y otoño.

Debe tenerse en cuenta que existe una relación positiva entre la producción de leche y la concentración de urea en leche. Figura N°1.

Otro factor a considerar es la metodología usada para la determinación de la urea en leche. Muchos laboratorios usan NIR para medir la urea en leche. La precisión del NIR es inferior a la precisión de los métodos químicos. Por ejemplo, una muestra de leche evaluada por métodos químicos de 14 mg /dl puede significar que el valor real de urea está entre 12,5 y 15,5, si el mismo valor se obtuviese con NIR podría significar que la concentración real de urea esté entre 9 y 19 mg /dl, una variación demasiado elevada para poder ser de utilidad práctica.

Los niveles de urea o amoniaco en sangre han sido asociados directamente con los aportes de proteína degradable en la raciones (Butler, 1998). Sin embargo, Wallace et al. (1996) aumentaron la cantidad de proteína degradable me-

Figura 1- Relación entre la concentración de urea en leche de tanque y la producción media del rodeo

| Producción Anual Kg /vaca | 5000 | 5500 | 6000 | 6500 | 7000 | 7500 | 8000 |
|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Urea mg /l | 100 | 150 | 200 | 250 | 300 | 350 | 400 |



diente la adición de urea durante la pre, peri y post ovulación y no encontraron ningún efecto negativo sobre los índices de concepción ni la urea en leche.

Una posible explicación de la falta de cambio en la concentración de urea en leche en el estudio de Wallace et al. (1996) es que la producción de urea no sólo depende de la concentración de proteína degradable en el rúmen, sino que también depende de la cantidad de proteína no degradable, de la proteína endógena y de la proteína microbiana.

Un exceso de estas fuentes, o más frecuentemente, un desbalance de los aminoácidos que éstas aporten, resultará en un aumento directo de la producción de amoníaco y por lo tanto de urea por parte del hígado (como principal órgano responsable de eliminar los desbalances de aminoácidos).

En cualquier caso, el factor más importante en la determinación de la producción de urea y su concentración en leche y en suero es la relación entre la proteína y energía ingerida, ya que un aporte adecuado de proteína acompañada de niveles limitantes de energía obligará al animal a metabolizar los excesos de proteína (puesto que la producción de leche estará limitada por la energía).

Para evaluar la posible relación entre los niveles de urea en leche /suero y el índice de fertilidad se recopilaron los resultados de 10 estudios publicados entre 1981 y 1996. La mayoría de los trabajos han mostrado una falta de relación entre la concentración de urea en plasma y leche con los índices de concepción.

La concentración de urea en plasma sufre variaciones bastante marcadas a lo largo del día, por lo que parte de la falta de relación podría explicarse por los distintos protocolos de muestreo usados en los distintos estudios.

La medición de la urea en leche puede mejorar este problema, sin embargo las conclusiones obtenidas por distintos autores también discrepan en los niveles óptimos para una buena eficiencia reproductiva.

Por ejemplo, Wenninger y Distl (1994) recomiendan niveles de urea en leche de 15-25 mg /dl, Pherson et al. (1992) 24-41 mg /dl, Gustafsson y Carlsson (1993) 27-30 mg /dl, Ferguson et al. (1988) 20mg/dl, Folman et al. (1981) 16mg/dl, y Bruckental (1989) 32 mg/dl.

Además la desviación estándar de la media de una población es de 4 mg /dl por lo que resulta difícil usar el valor de la concentración de urea en leche para evaluar con suficiente precisión la eficiencia reproductiva y su relación con la nutrición proteica. Esto no significa que la urea en leche no sea un perfecto indicador para evaluar la nutrición proteica de los animales y sus costos.

Recientemente, García et al., (1997) demostraron que la relación entre los valores individuales de urea en leche y la media del tanque en 17 explotaciones durante 5 controles (11.500 análisis) era muy baja ($r= 0,36$), por lo que recomendaban obtener valores individuales de un grupo representativo de animales (un mínimo de un 10%).

Los valores normales de nitrógeno ureico en leche oscilan entre 7 y 24 mg /dl en vacas individuales (Enlson, 1995), mientras que los niveles máximos por encima de los cuales se considera un riesgo para la función reproductiva varían, según autores, entre 16 mg /dl (Folman et al., 1981) y

32 mg /dl (Bruckental, 1989).

En los últimos tres años, de Luca L, J., Prieto, S., (2003), sobre 12.000 perfiles metabólicos realizados en rodeos de alta producción lechera determinaron que los niveles ureicos en sangre no deben exceder de 25 mg /dl con una media de 18 mg/ dl para que los índices productivos y reproductivos sea normales. Los rodeos que exceden de 28 mg /dl presentaron graves alteraciones en las funciones productivas y reproductivas. La patología de mayor frecuencia relacionada al estado hiperureico-hiperamoniacal fueron; muertes embrionaria tardías y abortos tempranos entre los 3 a 4 meses de gestación, presencia de quistes ováricos, anovulaciones, repetición de servicio, inmunodepresión, hipomagnesemias crónicas estacionales y agudas (muertes súbitas)

Los posibles efectos negativos de los excesivos niveles de proteína en las raciones sobre la reproducción han sido asociados a cambios en el ambiente uterino, pues niveles altos proteicos no afectan los días hasta la primera ovulación, ni consecuentemente, los niveles de la hormona luteinizante (LH). Varios autores han demostrado que el espermatozoide de rata es sensible a la presencia de urea /amoníaco. Dasgupta et al. (1971) observaron que la motilidad de espermatozoide de rata disminuía conforme la concentración de urea del medio aumentaba.

Sin embargo, Williams et al. (1987) no encontraron ninguna correlación entre la motilidad de espermatozoides extraídos del cuerpo uterino durante los días 1, 5 y 10 del ciclo estral de vacas que ingerían raciones con niveles bajos (12%) y altos (23%) de proteína. En este estudio no se midieron las concentraciones de urea a nivel uterino, aunque Carroll et al. (1988) reportaron cambios en la concentración de urea en el moco vaginal de 2,0 a 7,5 mmol/l cuando se aumentaba el contenido proteico de la ración en 7 %

Ese aumento de proteína es inferior al del estudio de Williams et al. (1987) por lo que es de esperar que la concentración de urea hubiese seguido la misma tendencia. El efecto de la urea o amoníaco a nivel uterino sobre la reproducción parece estar más ligado a la función hormonal que a el efecto tóxico directo de estos componentes sobre el embrión.

Gilbert et al. (1996) demostraron *in vitro* que la presencia de urea a nivel uterino impedía el mantenimiento del gradiente de pH que existe entre las células apicales y basales de la pared uterina. Este gradiente de pH está directamente inducido por la progesterona. En presencia de urea, la progesterona no es capaz de mantener el gradiente de pH lo que resulta en un aumento de la secreción de PGF

La PGF2 tiene un efecto reconocido de afectar negativamente tanto el desarrollo embrionario (Mauer y Beier, 1976) como su supervivencia (Schrick et al., 1993). Además, Jordan y Swanson (1979) y Jordan et al. (1983) indicaron que altas concentraciones de urea podían inhibir la unión de la LH a los receptores luteales, lo que induciría una disminución de la producción de progesterona.

Las secreciones uterinas cambian a lo largo del ciclo estral. El pH uterino suele aumentar de un 6,8 en el momento del estro a un 7,1 en el día 7 del ciclo. Sin embargo, este



aumento del pH no ocurre ni en novillas ni vacas lactantes que ingieren excesivas cantidades de proteína (Elrod y Buttler, 1993; Elrod et al., 1993).

El pH uterino en el momento del estro fue el mismo en vacas que recibían una ración con un 15,5% de proteína que en otras que recibían una ración con un 21% de proteína, sin embargo el pH uterino en el día 7 del ciclo estral fue significativamente inferior en las vaquillonas que ingerían la ración del 21,8% de proteína (Elrod y Butler, 1993).

Collins et al. (1997) demostraron una perfecta correlación entre la concentración de urea en sangre y la concentración de urea en el líquido folicular en equinos.

Recientemente, Wit et al. (2001) han aportado evidencia de que la concentración de urea en el líquido folicular es un factor muy importante en la desestabilización de la meiosis oocítica y de su consecuente fertilidad.

Por lo tanto, aquellas estrategias nutricionales que sirvan para disminuir las concentraciones de urea en sangre durante unos días antes y durante la etapa de inseminación artificial, deberían mejorar la fertilidad.

Estas estrategias nutricionales incluyen minimizar la cantidad de proteína ingerida y maximizar el balance de aminoácidos aportado. Por supuesto es imprescindible mejorar tanto la relación Energía / Proteína, como la de PS/HCNE (Proteína soluble/ Hidratos de Carbono No estructurales)

De Luca, L. J., Prieto, S., (2003) trabajando sobre 10 rodeos lecheros de alta producción, totalizando 5000 vacas en lactancia, consumiendo una dieta compuesta por: pradera de alfalfa en prefloración y/o verdeos de Ray Grass perenne (*Iolium perenne*) 80%, suplementadas con Silo de Maíz 10%, Granos de Sorgo/ Maíz 10%, comprueban que los parámetros metabólicos más afectados, fueron los siguientes; Magnesio (Hipomagnesemia crónica estacional) < 1,5mg/dl, Calcio iónico < 2,3 mg /dl, GGT > 45 UI /L, CPK > 82 UI /L, Uremia > 46 mg/%, Amoniemia > 62 μ mol/L, Albúmina < 2,2g / dl, alcalosis ruminal y metabólica. Estos rodeos padecían diferentes patologías entre los cuales se destacaron las siguientes; **Infertilidad**: celos irregulares, quistes ováricos, celos anovulatorios, muertes embrionarias, abortos medianos, entre los 3 a 4,5 meses de gestación (rodeos libres de Brucellosis), repeticiones de servicio (RB), **Infecciosas**: IBR reproductiva, vulvovaginitis pustular contagiosa, (rodeos vacunados contra IBR-DVB-PI3), mastitis gangrenosas colibacilares sobreagudas, y estafilococcica de tipo crónico. Se concluye la influencia que tiene el desbalance Proteína de alta solubilidad/Almidones degradables en; la elevación de la urea, amoníaco sérico, y estado hepatolipídico sobre la fertilidad, salud e inmunidad de las vacas lecheras de alto mérito genético.

Disminuciones del contenido proteico de la ración muy abruptas justo antes de la inseminación no son aconsejables, pues el animal usará sus reservas corporales para cubrir las necesidades de aminoácidos esenciales con una consecuente producción de urea (Bach et al., 2000b).

La relación más clara entre la nutrición proteica y la función reproductiva es el costo energético asociado con un

exceso de nitrógeno. La transformación de 1 g de N2 amoniocal a urea requiere 8,2 Kcal., lo que supone 1,5 Mcal (equivalente a 1,5 litros de leche o pérdida de 200 g de grasa corporal al día).

Con un exceso de 1000g de Proteína Cruda, el costo energético para conversión del amonio es de 2 Mcal /día (7% del requerimiento energético para 30 litros de leche)

Con un BEN de -11 Mcal/ dia el costo será de 18%, es decir el aumento de la Proteína Cruda con un índice de degradabilidad superior a 0.88 agrava el BEN, atrasa la primera ovulación y baja la fertilidad

La ureogénesis compite con la gluconeogénesis por el Oxalacetato, sustrato para el ciclo de Krebs). Además la gluconeogénesis eleva el nivel de nitrógeno amoniacial por la desaminación oxidativa, aumentando el estrés metabólico en los animales de alta producción.

La sobrecarga metabólica y energética puede contribuir a incrementar el balance energético negativo y alterar la función reproductiva. Con raciones bajas en energía, el catabolismo del exceso de nitrógeno puede representar un factor importante sobre la reproducción.

Existe una reducción del índice de concepción del 85 a 56% al comparar raciones que aportaban el 65% de los requerimientos energéticos y contenían un 15 o un 21% de proteína bruta. Este costo energético debe contrastarse con los beneficios que puede aportar un exceso de nitrógeno, como puede ser un incremento de la ingestión a través de un aumento de la digestibilidad de la ración.

El aporte de niveles de proteína adecuados, especialmente en conjunción con un buen perfil de aminoácidos, (proteínas pasantes, grano de soja termoprocесado) no sólo puede mejorar el balance energético del animal (reduciendo la síntesis de urea), sino que además puede aumentar la síntesis de lipoproteínas. Las lipoproteínas, especialmente la LDL y mas la HDL son ricas en metionina y lisina.

Aportar niveles suficientes de estos aminoácidos es esencial para asegurar que la síntesis de estas lipoproteínas sea adecuada.

Las lipoproteínas son agentes esenciales para el transporte de colesterol, molécula necesaria para la esteroidogénesis (estrógenos y progestágenos).

Carroll et al. (1992) demostraron que niveles elevados de LDL y fundamentalmente HDL aumentaban la secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo en el vacuno lechero.

Además de participar en los aportes de colesterol, las lipoproteínas participan en la estimulación directa de la secreción de IGF-I por parte de las células luteales (Bao et al., 1997).

4.- GRASAS

Suplementar las raciones del vacuno lechero con fuentes lipídicas (grasas o aceites) es una práctica común para aumentar la concentración energética de la ración con el fin de minimizar el periodo de balance energético negativo. En el vacuno lechero, la suplementación de las raciones con lípidos suele afectar positivamente el desarrollo folicular (Wherman et al., 1991), la longevidad del cuerpo lúteo (Ryan



et al., 1995) y la duración del intervalo interovulatorio del post-parto (Beam y Butler, 1997).

Existen tres posibilidades más por las cuales los lípidos pueden mejorar la reproducción:

- 1) representan un sustrato directo para la producción de colesterol (precursor de la progesterona),
- 2) modulan el metabolismo del ácido araquidónico (precursor de las prostaglandinas),
- 3) la suplementación lipídica aumenta los niveles en sangre de IGF-I y ello repercutiendo en la producción de progesterona.

La IGF-I contribuye a aumentar la síntesis de progesterona, debido, en parte, a una mejor utilización del colesterol exógeno.

De Luca L, J. (1997) demuestra que se obtienen mayores niveles de colesterol total y de HDL utilizando en las dietas de vacas de alta producción semillas de oleaginosas en forma integral (Ej. SOJA TERMOPROCESADA), consiguiendo niveles de progesterona en sangre superiores a 4 ?g /ml en la fase de metaestro tardío (7 a 10 días post inseminación) elevando la tasa de concepción hasta en un 15%.

La hipótesis que avala con mas fuerza la mejoría de la calidad y la duración del cuerpo lúteo es la sostiene que las grasas pueden modular la síntesis de progesterona. Los ácidos grasos polinsaturados (ricos en la semilla de soja integral) disminuyen la actividad de la ciclocoxigenasa, un enzima de la pared uterina responsable de la síntesis de PGF2alfa (Smith and Marnett, 1991). El endometrio es el principal órgano productor de prostaglandinas. La producción depende de la actividad enzimática ciclocoxigenasa, que convierte el ácido araquidónico en PGH2, el precursor de la PGF2 alfa

Una reducción en la síntesis de PGF2 alfa puede mejorar los índices de fertilidad pues permite una mayor vida del cuerpo lúteo y con ella una mayor síntesis de progesterona. *Uno de los ácidos grasos que más inhibe la actividad de la ciclocoxigenasa es el ácido linoleico (elevado en semilla de soja) (Thatcher et al., 1994).*

5.- MINERALES Y VITAMINAS

5.1 VITAMINAS

Todos los minerales y vitaminas que son necesarios para el crecimiento y la producción, lo son también para la reproducción.

Sin embargo, las vitaminas A, D y E, y el calcio, el fósforo, el selenio, el cobre y el zinc tienen una relevancia especial en la función reproductiva.

Las recomendaciones actuales de vitamina A son de 75.000 UI /d durante la lactación y 80.000 UI /d durante el secado (NRC 2001). La suplementación con vitamina A tiene poco riesgo de toxicidad, mientras que su deficiencia puede retrasar la aparición del primer celo, inducir celos silentes, aumentar el número de quistes ováricos, reducir los índices de concepción, ocasionar abortos, muertes embrionarias y terneros débiles al nacimiento.

Aunque los mecanismos de acción no están claros,

Gawienowski et al. (1974) describieron mayor secreción de esteroides ováricos cuando las concentraciones de beta carotenos en el fluido folicular fueron elevadas.

Así mismo, Schweigert y Zucker (1988) describieron concentraciones más elevadas de Beta-estradiol y vitamina A en los folículos que terminaban en ovulación que en aquellos que terminaban en atresia.

Las recomendaciones de vitamina D son de 21.500 UI /d (NRC 2001), lo que supone una concentración (considerando una ingestión de 22 kg de materia seca) de unas 1000 UI /kg.

La deficiencia de vitamina D puede resultar en una involución uterina lenta, abortos y nacimiento de terneros muertos o débiles. Además, la vitamina D participa en el metabolismo y utilización del calcio y el fósforo, por lo tanto muchos de los efectos de la vitamina D sobre la reproducción son mediados por estos dos minerales.

Las necesidades de vitamina E son de 545 UI /d durante la lactación y 1200 UI /d durante el secado (NRC 2001). La deficiencia de vitamina E puede causar el nacimiento de terneros débiles o muertos y un incremento de retenciones placentarias. Sin embargo, sólo un estudio (Segerson et al., 1977) ha descrito mejoras significativas en vacuno lechero al comparar los índices de concepción de vacas deficientes respecto a las que satisfacían sus necesidades de vitamina E.

La función de la vitamina E va muy ligada con el selenio. Varios estudios (Segerson y Ganapathy, 1981; Segerson et al., 1980) han descrito una mejora en el transporte del espermatozoide a través del tracto reproductivo cuando los niveles de vitamina E y selenio son adecuados.

Cuando la incidencia de retenciones placentarias es elevada, se recomienda la revisión de los niveles de selenio y vitamina E en la ración y en casos extremos la inyección intramuscular de ambos antes del parto (entre 20 y 40 días preparto). En este sentido, es necesario destacar que los niveles de selenio de la ración deben alcanzar los 0,3 ppm.

Por otro lado, existe una clara relación entre los niveles adecuados de vitamina E y selenio y la reducción de la patología reproductiva postparto, como por ejemplo, metritis y retención de placetas. Esta reducción en la patología posparto es debida a una mejora del sistema inmune estimulada por un aumento en la actividad de la Glutatión Peroxidasa (Arthur y Boyne, 1985).

La Vitamina E es un poderoso antioxidante a nivel embrionario protegiéndolo de los radicales libres, impidiendo de esta forma muertes embrionarias muy tempranas. La deficiencia de Vitamina E incrementa la susceptibilidad a las infecciones por disminuir la capacidad tanto fagocítica

5.2 MINERALES MACRO Y MICRO

Las necesidades de calcio están alrededor del 0,65% de la materia seca (NRC 2001).

Un exceso de calcio puede interferir con la utilización del fósforo, magnesio, zinc, cobre y otros minerales que son importantes para la función reproductiva. Los niveles de calcio de la ración no deberían superar el 1,5% (la toxicidad puede alcanzarse con un 2%).



Un déficit de calcio puede alterar la ovulación, puesto que el calcio es un agente necesario para la liberación de LH (exocitosis en el gonadotropo tras la estimulación de GnRH (Naor y Catt, 1981).

Además, un déficit de calcio puede resultar en paresia muscular terminando en prolapsio vaginal o retención de placenta (Risco et al., 1984; Morrow, 1980), (De Luca, Capaul, 1980)

Además es fundamental el Calcio como integrante de diversos sistema enzimáticos, entre los cuales el Citocromo P450 es el de mayor importancia por participar éste en la síntesis estrogénica folicular a partir del Colesterol. La Hipocalcemia subclínica conduce a estado de infertilidad debido a la presencia de celos débiles o subestros, ovulaciones atrasadas y desincronización entre maduración folicular y oocítica. (De Luca, L ,J., 1980) .

El Calcio en estado iónico interviene en la síntesis Prostaglandínica y es fundamental en la actividad de la LH sobre el Cuerpo Lúteo. El Ca++ es puente entre la fracción Receptora y Catalítica de la membrana celular. (De Luca, L, J., Capaul, E. 1985)

Las necesidades actuales de fósforo están alrededor de 0,35% de la materia seca (NRC 2001). Esta cantidad es bastante inferior a la propuesta por el anterior NRC (1989). Conforme los animales envejecen es preciso aumentar la cantidad de calcio y P en la ración, pues la absorción de estos dos minerales disminuye con la edad. Además, excesos de calcio afectan negativamente la asimilación del fósforo, por lo que en casos en los que niveles de calcio de la ración sean elevados será necesario aumentar también los aportes de fósforo.

Hasta ahora se ha creído que el fósforo juega un papel fundamental en la fertilidad, la manifestación de celos y la actividad ovárica, y por ello en el campo se recomienda con frecuencia suplementar el vacuno con fósforo para mejorar la reproducción.

Sin embargo, Wu y Satter (2000) compilaron datos de ocho estudios con un total de 785 vacas y concluyeron que no había ningún efecto sobre la reproducción al usar raciones con un 0,4-0,6% de P respecto a raciones con niveles del 0,32-0,40%.

Más recientemente, Valk y Ebek (1999) compararon la eficiencia reproductiva de rodeos que consumían niveles de fósforo de 0,24, 0,28 y 0,33% y no encontraron ninguna diferencia entre los tratamientos.

Por lo tanto, se puede concluir, que las recomendaciones actuales (0,35%) de la NRC (2001) son suficientes para asegurar una buena reproducción y no hay necesidad de aportar más fósforo.

Es necesario tener en cuenta que aunque la Fosfatemia es un indicador de la ingesta diaria de Fosfatos, puede confundirnos un diagnóstico de Hiperfosfatemia absoluta, y subestimar la incorporación de este anión en el rodeo. A veces esta alteración es debida a un aumento del "contenido" sérico debido a una pérdida de la "capacidad" celular. Como el Anión es fundamentalmente intracelular un estado Miodistrófico o Degenerativo muscular (elevación de GOT y CPK) puede conducir a pérdidas endógenas deprivando el pool metabólico a pesar de un aumento en

suero (De Luca L, J, Prieto, S., 2004)

Las deficiencias en cobre también han sido asociadas con infertilidad (Allcroft y Parker, 1949; Annenkov, 1981). El fallo reproductivo debido a la falta de cobre pueden atribuirse a la importancia del cobre en el mantenimiento de la secreción de gonadotropinas desde la hipófisis (Georgievskii, 1981) y a la reducción del estrés oxidativo a nivel ovárico (Harris, 1992).

El zinc es otro micromineral importante para la reproducción. Además, el zinc, al igual que el cobre y el selenio, participa en la reducción del estrés oxidativo a nivel ovárico (Campbell y Miller, 1996). Los niveles recomendados de cobre y zinc en vacas lactantes son de 11 y 50 ppm, respectivamente.

El hierro puede también ser una causa del fallo reproductivo. El hierro es un mineral muy oxidante y puede alterar la función reproductiva dañando el oocito por estrés oxidativo (Campbell y Miller, 1996). En caso de usar correctores con niveles elevados de hierro es importante asegurarse de que el agua que consumen los animales contiene sólo trazas de hierro. Los niveles de hierro en la ración deberían estar alrededor de los 15 mg/kg.

Como todos los nutrientes, un exceso de microminerales puede ser nocivo para el animal. Olson et al. (1999) describieron efectos negativos sobre la reproducción del vacuno de engorde cuando ofrecieron niveles por encima de las necesidades de cobre (125 mg /d), manganeso (200 mg / d), cobalto (25 mg /d) y zinc (360mg/d). Concentraciones elevadas de zinc disminuyen la unión de progesterona a sus receptores uterinos en humanos (Habib et al., 1980) por lo que compromete el mantenimiento de una posible gestación. Por lo tanto, es aconsejable no dejarse llevar por la regla de "cuanto más mejor" al seleccionar el corrector de una ración de vacuno lechero.

6.- CONCLUSIONES

La nutrición juega un papel muy importante en la modulación de la reproducción del vacuno lechero, siendo, tal vez, uno de los factores más limitantes de la expresión del potencial genético de los animales e incluso de su progreso. Los animales en balance energético negativo presentan un perfil hormonal que se caracterizan por niveles sanguíneos elevados de la hormona de crecimiento y ácidos grasos no esterificados, y bajas concentraciones de IGF-I, insulina y glucosa.

Estos cambios hormonales son los principales responsables de la alteración reproductiva. Las deficiencias nutricionales son más evidentes en los animales más productores, pues una reducida proporción de la escasa energía disponible podrá ser usada para mantener las funciones reproductivas. Asegurar un buen manejo nutricional durante el secado para obtener una buena condición corporal, buen desarrollo fetal, buen desarrollo mamario, y asegurar un buen desarrollo del tracto digestivo durante la transición y principio de la lactación.

El mantenimiento de una correcta condición corporal es



crucial para la reproducción, pues la leptina (secretada por el tejido adiposo) modula la ingestión del animal y regula la reproducción.

Además, nutricionalmente, resulta interesante minimizar el descenso de insulina después del parto, para estimular así el crecimiento de los folículos y la concentración de progesterona, bST y IGF-I. Los aminoácidos son necesarios para un correcto desarrollo folicular. Sin embargo, en algunas ocasiones excesos de proteína también son nocivos para la reproducción. El mecanismo de acción del exceso de proteína sobre la reproducción es el consumo de energía que este exceso de proteína requiere para su transformación en urea. Por otro lado, la urea puede alterar el ambiente uterino y aumentar la secreción de PGF. El uso de los niveles de urea en leche parece tener poca utilidad para solucionar evaluar problemas reproductivos, a pesar de ser un buen indicador de la nutrición proteica del animal. Los ácidos grasos poliinsaturados pueden inhibir la acción de la cicloxygenasa, disminuyendo así la producción de PGF y por lo tanto aumentar las concentraciones de progesterona en sangre.

El hígado también juega un papel muy importante en la reproducción, ya que es el principal órgano del metabolismo de los esteroides.

El flujo sanguíneo hepático aumenta con el nivel de ingestión de energía, y por consiguiente también aumenta el metabolismo de la progesterona y los estrógenos. La acción del hígado no puede ser modificada nutricionalmente de una manera sencilla sin evitar una reducción de la producción de leche, sin embargo, la estrategia a seguir debe incluir la utilización de raciones muy bien balanceadas en aminoácidos y con niveles de energía moderados.

7.- BIBLIOGRAFIA

ADASHI, E.Y., HSUEH, A.J.W. y YEN, S.S.C. (1981) *Endocrinology*. 108: 1441-1449.

AUBOIRON, S., DURAN, D., ROBERT, J.C., CHAPMAN, M.J. y BAUCHART, D. (1995) *Repro. Nutr. Dev.* 35: 167-178.

BAKER, J., HARDY, M.P., ZHOU, J., BONDY, C., LUPU, F., BELLVE, A.R. y EFSTRA.

DIADIS, A. (1996) *Mol. Endocrinol.* 10: 603-918.

BAO, B., THOMAS, M.G. y WILLIAMS, G.L. (1997) *J. Anim. Sci.* 75: 3235-3245.

BAUMAN, D.E. y CURRIE, W.B. (1980) *J. Dairy Sci.* 63: 1514-1529.

BEAM, S.W. y BUTLER, W.R. (1997) *Biol. Reprod.* 56: 133-142.

BLANCHARD, T., FERGUSON, J.D., LOVE, L., TAKEDA, T., HENDERSON, B., HASLER, J. y CHALUPA, W. (1998) *Am. J. Vet. Res.* 51: 905-908.

BRITT, J.H. (1995) *Follicular development and fertility: Potential impacts of negative energy balance*. Proc. III Congr. Int. Med. Bov. ANEMBE. Santander.

BRUCKENTHAL, I., DRORI, D., KAIM, M., LEHRER, H. y FOLMAN, Y. (1989) *Anim. Prod.* 48: 319-329.

BUTLER, W.R. (1998) *J. Dairy Sci.* 80: 2533-2539.

BUTLER, W.R. y ELROD, C.C. (1991) *Nutrition and reproduction relationships in dairy cattle*. Nutr. Conf. Feed Manuf. Ithaca, NY. pp: 73-82.

CAMPBELL, M.H. y MILLER, J.K. (1996) *J. Dairy Sci.* 81: 2693-2699.

CARROLL, D.J., GRUMMER, R.R. y MAO, F.C. (1992) *J. Anim. Sci.* 70: 2516-2526.

CASSADY, J.M. (2000) *Initial body composition modulates reproductive response of heifers to nutritional manipulation*. M.Sc. Thesis, University of Minnesota.

CHAMBERLAIN, D.G., MARTIN, P.A. y ROBERSTON, S. (1989) En: *Recent Advances in Animal Nutrition*. pp: 175-193.

CHILLIARD, Y., FERLAY, A., DELAVAUD, C. y BOCQUIER, F. (1998) *Int. J. Obesity*. 22 (Suppl. 3): S171 (Abstract).

COLLINS, A., PALMER, E., BÉZARD, J., BURKE, J., DUCHAMP, G. y BUCKLEY, T. (1997) *Equine Vet. J. Suppl.* 25: 12-16.

DARWASH, A.O., LAMMING, G.E. y WOOLLIAMS, J.A. (1999) *Anim. Sci.* 68: 527-532.

DARWASH, A.O. y LAMMING, G.E. (1999) *Cattle Practice*. 7: 397-399.

DASGUPTA, P.R., KAR, A.B. y DAHR, M.L. (1971) *Indian J. Exp. Biol.* 9: 414-415.

DE LUCA, L.J., CASAGRANDE, J. (1988) Revista Brasileira de Reproducción. Recife Pernambuco UNP. Recife Brasil. N° 10:121-144.

DE LUCA, L.J., CAROU, N. (1987). Desarrollo foliculogénico, síntesis estrogénica, y capacidad ovulatoria en vacas sometidas a régimen de Balance Energético Negativo. *Veterinary Practice* 12:333-337

DE LUCA, L.J., (1997). Usos de cereales termoprocessados en las dietas de las vacas en transición. Estudios de los parámetros relacionados al BEN del puerperio inmediato. Revista de nutrición zootécnica. 3-123-130- Bologna. Italia. Gianni Guidolin Termofichi

DE LUCA, L.; CAPAUL, E; GRIMOLDI, R; SILVA, J. 1973. "Método de grafificación en perfiles metabólicos" Congreso de Bioquímica Huerta Grande Córdoba. Actas del Congreso. Vol. II.

DE LUCA, L; CAPAUL E; GRIMOLDI, R; SILVA J. - 1973 "Perfiles metabólicos: herramienta fundamental para una mejor explotación del tambo". Premio de la Academia Nacional de Medicina Veterinaria. Boletín oficial.

DE LUCA, L, 1976. II Jornadas Latinoamericanas y IV Uruguayas de Buiatría, organizada por el Centro de Médicos Veterinarios de Paysandú. Uruguay Trabajo presentado. Perfiles Metabólicos en el Bovino de Leche

DE LUCA, L, 1976 Primeras Jornadas del Círculo de Médicos Veterinarios de San Luis. Tema. Nutrición y Fertilidad. Miembro disertante

DE LUCA, L, 1976 VI Jornadas Internacionales de Veterinaria. II 1º Jornadas Veterinarias de Maldonado Uruguay Tema Metabolismo y Fertilidad en la Vaca Lechera



Miembro disertante

DE LUCA, L 1976."Trastornos metabólicos en la vaca lechera" Sociedad Rural de Trenque Lauquen Pcia de Bs. As. Conferencia para productores y profesionales. En los Anales de la Soc. Rural de Trenque Lauquen.

DE LUCA, L 1976 "Perfiles Metabólicos ."Sincronización de celo".Actualización. Instituto de Ciencias Agronómicas. Universidad Nacional de Córdoba. Conferencia para profesionales y alumnos.

DE LUCA, L 1976."Perfiles metabólicos. Su aplicación a campo". Sociedad Rural de San Francisco. Córdoba. Conferencia para profesionales y productores. Trabajo depositado en el Anuario de la Soc. Rural de San Francisco.

DE LUCA, L 1977."Perfiles metabólicos. Su aplicación práctica".Facultad de Ciencias Veterinarias. Esperanza Santa Fe . Conferencia para Profesionales y alumnos. Trabajo en el Centro de Estudiantes de la FCV. Esperanza.

DE LUCA, L 1977. Panelista en mesa redonda sobre el tema"Nutrición, Metabolismo, y Fertilidad en la vaca lechera" Primera Jornada Veterinaria de Azul. Conferencia para Profesionales.

DE LUCA, L ,1978 VI Jornadas de Buiatría Uruguayas Tema Eficiencia Reproductiva. Factores limitantes no específicos.

Miembro invitado especial Disertante y panelista. Ver en Jornada de Buiatría

DE LUCA, L ,1980 Primeras Jornadas de Fisiología de la Reproducción en la Vaca Lechera e Inseminación Artificial. Organizado por la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay. Atlántida Uruguay
Tema Importancia de los minerales en la reproducción
Miembro disertante

DE LUCA, L,1981 V Jornadas Sobre Reproducción Animal Organizadas por CIAVIT Venado Tuerto. Santa Fe.
Tema Aplicación y Valor Práctico de los Perfiles Metabólicos
Miembro disertante

DE LUCA, I,1982 IV Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias Organizado por Sociedad de Medicina Veterinaria
Tema. Carencias Minerales en los Animales Domésticos
Panelista. Disertante

DE LUCA, L 1986. XIV Jornadas Uruguayas de Buiatría . Paysandú Uruguay
Tema Perfiles Metabólicos. Algunas Consideraciones.
Inducción del Celo , su aplicación Práctica
Miembro disertante

DE LUCA, L; Capaul, E.;-1975" Fertilidad en el bovino; aplicación práctica de algunos parámetros hemáticos"
Actas del Congreso Mundial de Veterinaria Grecia .Tomo II pag.389.

DE LUCA, L ;Capaul, E.-1980 "Retención placentaria no específica ;una aproximación profiláctica"
Actas del IX Congreso Internacional de Reproducción e Inseminación Animal, Madrid
España Vol. I pág. 657

DE LUCA, L 1980. "Enfermedades metabólicas del bovino"
Sede Facultad de Ciencias Veterinarias.UBA.
Director Dr. De Luca L. Capaul E.
Colaboradores. Dr. González, G, Carcagno ,A. Duración tres días.

DE LUCA ,L; CAPAUL, E.-1984."Retención placentaria un método de prevención"
Veterinaria Argentina. Vol. II pág. 220 a 226

DE LUCA ,L; CAPAUL, E.-1986. "Perfiles metabólicos , algunas consideraciones"Conferencia realizada en las XIV Jornadas Uruguayas de Buiatría Paysandú..
Profesionales.

DE LUCA, L 1998. Alimentación y nutrición de la vaca lechera. Curso de actualización . 2 al 30 de Octubre Universidad Nacional de Lomas de Zamora Facultad de Ciencias Agrarias.

DE LUCA, L. J., PRIETO, S. (2003) Perfiles metabólicos en rodeos lecheros con alto mérito genético. Parte II. Influencia sobre la fertilidad, sanidad e inmunidad de una dieta hiperproteica con alta degradabilidad. Parámetros afectados. Comunicación personal. A publicar en Engormix. www.engormix.com

DE VRIES, M.J. y VEERKAMP, R.F. (2000) *J. Dairy Sci.* 83: 62-69.

DIRKSEN, G.U., LIEBICH, H.G. y MAYER, E. (1985) *Bov. Pract.* 20: 116-120.

EDMONSON, A.J., LEAN, I.J., WEAVER, L.D., FARVE, T. y WEBSTER, G. (1989) *J. Dairy Sci.* 72: 68-78.

ELROD, C.C. y BUTLER, W.R. (1993) *J. Anim. Sci.* 71: 694-701.

ELROD, C.C., VAN AMBURGH, M. y BUTLER, W.R. (1993) *J. Anim. Sci.* 71: 702-706.

FERGUSON, J.D. (1994) *J. Dairy Sci.* 77: 113-120.
FERGUSON, J.D. y CHALUPA, W. (1989) *J. Dairy Sci.* 72: 746-766.

FERGUSON, J.D., GALLIGAN, D.T., BALNCHARD, T. y REEVES, M. (1988) *JAVMA.* 192: 659- 662.

FREEMAN, A.E. y LINDBERG, G.L. (1993) *J. Dairy Sci.* 76: 3143-3152.

FRICKE, P.M. y WILTBANK, M.C. (1999) *Theriogenology.* 52: 1133-1143.
FRIEDMAN, J.M. y HALAAS, J.L. (1998) *Nature.* 395: 763-770.

GARCIA-BOJALIL, C.M., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. y DROST, M. (1994) *J. Dairy Sci.* 77: 2537-2548.

GILBERT, R.O., SHIN, S.T., RABUFFO, T.S. y CHANDLER, S.K. (1996) *J. Dairy Sci.* 79: 2377-2381.

GLUCKMAN, P.D., BREIER, B.H. y DAVIS, S.R. (1987) *J. Dairy Sci.* 70: 442-466.

GRIEVE, D.A., KOVER, S., RIJPKEEMA, Y.S. y HOF, G. (1986) *Livest. Prod. Sci.* 14: 239-254.
GRUMMER, R.R. (1995) *J. Anim. Sci.* 73: 2820-2833.

GUSTAFSSON, A.H. y CARLSSON, J. (1993) *Livestock Prod. Sci.* 37: 91-105.

HARRISON, R.O., FORD, S.P., YOUNG, J.W., CONLEY, A.J. y FREEMAN, A.E. (1990) *J. Dairy Sci.* 73: 2749-2758.

HOGGARD, N., HUNTER, L., TRAYHUN, P., WILLIAMS, L.M. y MERCER, J.G. (1998) *Proc. Nutr. Soc.* 57: 421-427.



- HOUSEKNECHT, K.L., BAILE, C.A., MATTERI, R.L. y SPURLOCK, M.E. (1998) *J. Anim. Sci.* 76: 1405-1420.
- HUHTANEN, P. (1998) *Agric. Food Sci.* 7: 219-250.
- HUNTINGTON, G.B. (1990) *Rep. Nutr. Dev.* 30: 35-47.
- JI, S.Q., WILLIS, G.M., SCOTT, R.R. y SPURLOCK, M.E. (1997) *J. Anim. Sci. (Supl. 1)*:167(Abstract).
- JORDAN, E.R. y SWASON, L.V. (1979) *J. Anim. Sci.* 48: 1154-1158.
- JORDAN, E.R., CHAPMAN, T.E., HOLTAN, D.W. y SWASON, L.V. (1983) *J. Dairy Sci.* 66: 1854- 1862.
- KAUR, H. y ARORA, S.P. (1995) *Nutr. Res. Rev.* 8: 121-136.
- KIRKLAND, R.M. y GORDON, F.J. (2001) *J. Dairy Sci.* 84: 233-240.
- KLUCINSKI, W. y TARGOSWKI, S.P. (1984) *Immunopharmacology*. 8: 47.
- KUMAR, B., FRANCIS, S.M., SUTTIE, J.M. y THOMPSON, M.P. (1998) *Comp. Biochem. Physiol.* 120: 543-548.
- LADENHEIM, R.G., TESONE, M. y CHARREU, E.H. (1984) *Endocrinology*. 115: 752-756.
- LOEFFLER, S.H., DE VRIES, M.J. y SCHUKKEN, Y.H. (1998) *J. Dairy Sci.* 81: 14-22.
- LUCY, M.C. (2000) *J. Dairy Sci.* 83: 1635-1647.
- LUSSIER, J.G., MATTON, P. y DUFOUR, J.J. (1987) *J. Reprod. Fert.* 81: 301-307.
- MANN, G.E., MANN, S.J. y LAMMING, G.E. (1996) *J. Reprod. Fert. Abs.* 17: Abstract 55.
- MAUER, R.R. y BEIER, H.M. (1976) *J. Reprod. Fert.* 48: 33-41.
- MAYER, E. (1986) *Bull. Acad. Vet. France.* 59: 159-173.
- MIHM, M., GOOD, T.E., IRELAND, J.L., KNIGHT, P.G. y ROCHE, J.F. (1997) *Biol. Reprod.* 57: 1328-1337.
- NRC (1989) *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 6thEd. Washington, D. C., Natl. Acad. Press.
- NRC (2001) *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Ed. Washington, D. C., Natl. Acad. Press.
- OLDICK, B.S., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. y GYAWU, P. (1997) *J. Dairy Sci.* 80: 1315- 1328.
- OLSON, P.A., BRINK, D.R., HICKOK, D.T., CARLSON, M.P., SCHNEIDER, N.R., DEUTSCHER, G.H., ADAMS, D.C., COLBURN, D.J. y JOHNSON, A.B. (1999) *J. Anim. Sci.* 77: 522-532
- PHERSON, B., PLYM, K. y CARLSSON, J. (1992) *J. Vet. Med.* 39: 187-192.
- RABIEE, A.R., LEAN, I.J., GOODEN, J.M. y MILLER, B.G. (1999) *J. Dairy Sci.* 82: 39-44.
- ROCHE, J.F., AUSTIN, E.J., RYAN, M., O'ROURKE, M., MIHM, M. y DISKIN, M.G. (1999) *J. Reprod. Fertil.* 54: 61-71.
- RYAN, D.P., BAO, B., GRIFFITH, M.K. y WILLIAMS, G.L. (1995) *J. Anim. Sci.* 73: 2086-2093.
- SASSER, R.G., WILLIAMS, R.J., BULL, R.C., RUDER, C.A. y FALK, D.G. (1988) *J. Anim. Sci.* 66: 58-63.
- SCHRICK, F.N., INSKEEP, E.K. y BUTTLER, R.L. (1993) *Biol. Reprod.* 49: 617-621.
- SHINGFIELD, K.J., JOKELA, M., KUASTELL, K., HUHTANEN, P. y NOUSIANINEN, J. (1999) *Agric. Food Sci.* 8: 365-392.
- SMITH, W.L. y MARNETT, L.J. (1991) *Biochim. Biophys. Acta* 1083: 1.
- SPICER, L.J., ALPIZAR, E. y ECHTEERNKAMP, S.E. (1993) *J. Anim. Sci.* 71: 1232-1241.
- SPICER, L.J., TUCKER, W. y ADAMS, G.D. (1990) *J. Dairy Sci.* 72: 2179-2183.
- THACTCHER, W.W., STAPLES, C.R., DANET-DESNOYERS, G., OLDICK, B. y SCHMITT, E.P. (1994) *J. Anim. Sci.* 72(Suppl. 3): 16.
- VALK, H. y EBEBEK, L.B.J. (1999) *J. Dairy Sci.* 82: 2157-2163.
- WENNINGER, A. y DISTL, O. (1994) *Deutschsche Tierärztliche Wochenschrift.* 101: 152-157.
- WHERMAN, M.E., WELSH, T.H. y WILLIAMS, G.L. (1991) *Biol. Reprod.* 45: 514-523.
- WILLIAMS, J.S., GARDINER, C.S., SCHULLER, L.S. y MENINO, A.R. (1987) *J. Anim. Sci.* 65 (Suppl. 1): 415 (Abstract).
- WILTBANK, M.C., FRICKE, P.M., SANGSRITAVONG, S., SARTORI, R. y GINTHER, O.J. (2000) *J. Dairy Sci.* 83: 2998-3007.
- WILTBANK, M.C., SARTORI, R., SANGSRITAVONG, S., LOPEZ, H., HAUGHIAN, J.M.,
- WIT, A.A.C., CESAR, M.L.F. y KRUIP, T.A.M. (2001) *J. Dairy Sci.* 84: 1800-1804.
- WU, Z. y SATTER, L.D. (2000) *J. Dairy Sci.* 83: 1052-1063.
- ZHOU, Y., XU, B.C., BAUMAN, G. y KOPCHICK, J.J. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 13215-13220.