

**Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A. C.**

**"EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO
LINOLEICO CONJUGADO (CLA) EN LECHE DE
VACAS HOLSTEIN ESTABULADAS DEL MUNICIPIO
DE HERMOSILLO, DURANTE VERANO E
INVIERNO"**

POR:

ALFONSO MARTÍNEZ BORRAZ

TESIS APROBADA POR LA
COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

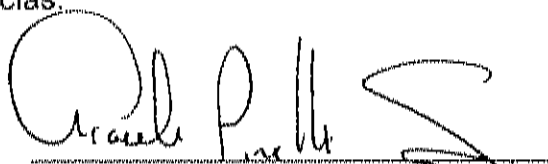
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRIA EN CIENCIAS

Heramosillo, Sonora. Septiembre de 2007

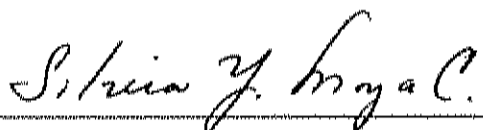
APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis del Ingeniero Agrónomo Zootecnista Alfonso Martínez Borraz, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



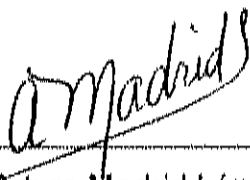
Dra. Araceli Pinelli Saavedra

Directora



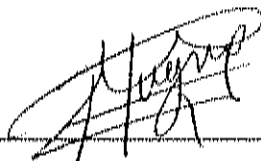
Dra. Silvia Y. Moya Camarena

Asesora



Dr. Arturo Madrid López

Asesor



M. C. Humberto González Ríos

Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten citas breves del material contenido en este trabajo sin el permiso del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de las tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del director del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD).

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar créditos al CIAD, previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Alfonso A. Gardea Béjar
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al **Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo**, por la formación científica y técnica proporcionada por sus profesores.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología**, por brindarme el apoyo económico para la realización de mi maestría.

Al **M.V.Z. Roy Swanson**, por facilitarme la entrada al establo para la realización del presente trabajo. Así como el apoyo de los ordeñadores en la toma de muestras de leche.

Al **Dr. Arturo Madrid** por servir de enlace con las personas necesarias para llevar a buen término nuestro estudio.

A la **Dra. Araceli Pinelli**, por todo su apoyo moral y académico, así como durante la fase de campo de este estudio.

A la **Dra. Silvia Moya**, por darme la oportunidad de trabajar en algo de interés común "El CLA".

Al **M.C. Humberto González**, por ser una gran persona. Académicamente muy bueno y que le dio sustento a la parte estadística de nuestro trabajo.

A la **Dra. Ana María**, que sin ser parte de mi comité, me ayudo a valorar muchas cosas y que en su momento supo hacerme ver que necesitaba redireccionar mis ideas para obtener un mejor resultado. Gracias.

A la **Q. B. Amparo Nieblas Ahumada**, por sus apoyo en la técnica de extracción de ácidos grasos y manejo del cromatógrafo.

A la **Q. B. Erika Javier Saiz**, por su apoyo en el laboratorio de análisis Proximal.

A la **Q. B. Diana J. Mendoza B.** por apoyarme con material y equipo de laboratorio.

A la **M.C. Tania Carvalho Ruiz** y la **Q. B. Elsa Bringas**, por facilitarme el uso de equipo de laboratorio para la extracción de grasa.

A la **M.C. Maria del Carmen Estrada Montoya**, por prestarme la centrifuga para cuantificación de grasa.

Al **Ing. Héctor Sotomayor** y a **Verónica Valdez** de la empresa **Ilis**, por su apoyo en la medición de parámetros de calidad en leche.

A todos los que participaron de manera directa o indirecta en este proyecto que se concibió hace 2 años y que hoy ha culminado de manera satisfactoria. Sin embargo, deja la posibilidad de seguir trabajando en las profundidades del conocimiento.

A **mis compañeros de maestría (generación 2005 – 2007)**, por haberme brindado su amistad, además de compartir momentos de estudio y de eliminación del estrés.

DEDICATORIA

A mi madre

Por apoyar mis decisiones en pro de mis sueños, espero que esta tesis sea una pequeña retribución a todo su apoyo y cariño.

A mis hermanas

Que a pesar de la distancia siempre me han apoyado, espero que con el tiempo podamos estar juntos y disfrutar de la familia que sigue creciendo.

A mis sobrinos

Que teniendo un tío de carácter tan especial, siempre preguntan por él y que a pesar de la distancia son una fuente de alegría en mis momentos de tristeza.

A toda mi familia

Que siempre han estado apoyándome y siempre han estado en contacto conmigo, desde lo que viven en el sur del país hasta los que están en la frontera norte.

A mi novia

Por ser parte importante de mi vida, sin tu apoyo no habría sido posible terminar a tiempo. Gracias por todos los momentos felices que hemos pasado.

A todos mis nuevos amigos

Margarito, Ivan, Denisse, Noemí, Ceci, Orlando, Fito, Aurora, Johana, Moises Sandra, Terelu, Cipa, Maritza, Laura, Daniel, Lazaro, Elena, Luisa y Jorge, Mari, Saribel.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES	4
Sistema de Producción y Tipo de Alimentación	4
Estabulado	5
Dietas integrales, adicionadas con grasas y aceites.....	5
Grasas libres (origen animal y vegetal).....	6
Grasas de sobrepaso	7
Semillas de oleaginosas.....	9
Modificadores del ambiente ruminal (Ionóforos)	11
Relación forraje:concentrado	12
Pastoreo	13
Raza.....	14
Nivel de producción de leche	14
Etapa de la lactancia.....	15
Época del año	17
HIPÓTESIS	20
OBJETIVO	20
General.....	20
Específicos.....	20
METODOLOGÍA.....	21
Descripción del área de estudio.....	21
Indicadores Climáticos.....	22

Alimentación de las Vacas	22
Diseño de Muestreo	24
Recolección de Muestras de Leche y Alimento	25
Análisis de Muestras	26
Alimento	26
Materia seca	26
Proteína cruda	26
Fibra detergente neutra.	26
Fibra detergente ácida.	26
Determinación de contenido de ácidos grasos en el alimento	27
Leche (Calidad)	28
Análisis proximal	28
Ácidos grasos (CLA y C4-C20)	28
Extracción	28
Metilación	29
Identificación y Cuantificación de ácidos grasos	30
Análisis estadístico	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
Indicadores Climáticos	32
Invierno.....	32
Verano.....	34
Estrés calórico en vacas lecheras	36
Análisis Químico de la Ración	40
Producción y composición de la leche de vaca.....	41
Nivel de producción	41
Porcentaje de grasa en leche.....	45
Porcentaje de proteína en leche.....	46
Porcentaje de lactosa en leche	47
Porcentaje de sólidos totales en leche	47

Factores que afectan la concentración de ácidos grasos en base al modelo propuesto	48
Composición de Ácidos Grasos de la Leche de Vaca.	52
Ácidos grasos de cadena corta	52
Ácidos grasos de cadena media y larga	55
Ácido linoleico conjugado (CLA).....	56
Índice de desaturación	61
Correlaciones entre CLA y variables de producción.....	63
CONCLUSIÓN.....	67
BIBLIOGRAFÍA.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Porcentaje de grasa en leche después de la infusión de una mezcla de isómeros de CLA por 48 horas (Loor y Herbein, 2003).	8
Figura 2.	Patrón temporal del contenido de grasa láctea en vacas con una dieta control y otra adicionada con 90 g de CLA/día (Perfield et al., 2002).	9
Figura 3.	Curva típica de lactancia en vacas ajustada a 305 días (Bormann et al., 2002).	16
Figura 4.	Efecto de los días en leche (DIM) sobre la concentración del isómero cis-9, trans-11 del CLA en grasa láctea (Lock et al., 2005).	17
Figura 5.	Efecto de la temperatura ambiental sobre la producción de leche y el consumo de alimento (NRC, 1981).....	19
Figura 6.	Temperaturas promedio (TP), máxima (Tmax), mínima (Tmin), humedad relativa (HRprom) y lluvia acumulada en invierno	32
Figura 7.	Comportamiento típico de la temperatura promedio (TP) y la humedad relativa (HR) en invierno en un periodo de 24 horas	33
Figura 8.	Temperaturas promedio (TP), máxima (Tmax), mínima (Tmin), humedad relativa (HRprom) y lluvia acumulada en verano	35
Figura 9.	Comportamiento típico de la temperatura ambiental promedio (TP) y humedad relativa (HR) en verano en un periodo de 24 horas	35
Figura10.	Comportamiento de los índices THI (máximos y mínimos) en invierno y su relación con el grado de estrés calórico en vacas.....	38

Figura 11.	Comportamiento de los índices THI (máximos y mínimos) en verano y su relación con el grado de estrés calórico en vacas lecheras	39
Figura 12.	Comportamiento del índice temperatura humedad relativa (THI) en un periodo de 24 horas.....	39
Figura 13.	Distribución de frecuencias para el isómero cis-9, trans-11 CLA en invierno y verano.....	59
Figura 14.	Relación entre los días en leche y la concentración de CLA.....	64
Figura 15.	Relación entre la producción de leche y la concentración de CLA.....	65
Figura 16.	Relación entre el porcentaje de grasa en leche y la concentración de CLA.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Ingredientes y composición química de las raciones	23
Tabla 2.	Distribución del tamaño de muestra por mes, ajustado por número de vacas por parto	25
Tabla 3.	Composición química de las raciones.....	40
Tabla 4.	Composición de ácidos grasos de las dietas integrales.....	41
Tabla 5.	Producción y composición de leche de vaca en los meses de invierno y verano.....	44
Tabla 6.	Nivel de significancia para los ácidos grasos de la leche acorde a el modelo ajustado	49
Tabla 7.	Composición de grasa láctea de vaca en mg de ácido graso por gramo de grasa.....	54
Tabla 8.	Concentración de ácido linoleico conjugado en leche de vaca por número de parto y mes de muestreo	60
Tabla 9	Índices de desaturación en invierno y verano.....	62

RESUMEN

Estudios en animales experimentales señalan que el ácido linoleico conjugado (CLA), posee propiedades benéficas en la salud. Los productos derivados de rumiantes como carne y leche son la mayor fuente natural de CLA. A la fecha los factores más estudiados, que pueden influir en el contenido del CLA en leche son la alimentación y los sistemas de producción. Sin embargo, número de parto, etapa de lactancia, raza y estación del año son factores que han sido poco estudiados. De ahí que, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de las estaciones del año (verano e invierno), número de parto, producción de leche y etapa de lactancia, sobre la concentración de CLA en leche de vacas Holstein estabuladas del municipio de Hermosillo Sonora.

Se colectaron muestras de leche de 240 vacas a las cuales se les determinaron calidad en leche (grasa, lactosa, proteína, sólidos totales) por los métodos AOAC. El perfil de ácidos grasos y CLA en leche fueron determinados por cromatografía de gases. Los resultados mostraron que la producción de leche, así como los parámetros generales de calidad fueron menores ($P < 0.05$) en verano, comparados con invierno. El contenido de ácidos grasos insaturados fue mayor ($P < 0.05$) en verano respecto a invierno. Por el contrario, los ácidos grasos saturados fueron mayores ($P < 0.05$) en invierno. La concentración de CLA en verano fue significativamente mayor (9.36 mg/g de grasa) que en invierno (7.03 mg de CLA/g de grasa). La concentración de CLA fue afectada ($P < 0.05$) por la estación del año, mes dentro de estación y número de parto, mientras que días en leche fue significativo a un nivel de probabilidad de 0.051 y 0.07 en forma lineal y cuadrática, respectivamente. La producción de leche no tuvo efectos sobre la concentración de CLA. La concentración de CLA fue significativamente mayor en la estación de verano, favorecida por una mayor actividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa, así como un incremento en la producción de CLA y ácido vaccénico en el rumen, producto de la dieta de verano.

INTRODUCCIÓN

La leche de vaca es muy nutritiva por su contenido de aminoácidos cercano al ideal requerido por humanos. Es también fuente primaria de vitaminas incluyendo las B₁₂, B₆, riboflavina, niacina, y minerales como zinc, fósforo y calcio (NRC, 1988; Bauman *et al.*, 1999). Además la leche de vaca contiene del 2 al 5% de lípidos con 70% de ácidos grasos saturados y 30% de insaturados (Jensen, 2002). Dentro de los ácidos grasos se encuentra el ácido linoleico conjugado (CLA por sus siglas en inglés), el cual ha despertado la atención de investigadores por sus propiedades potencialmente benéficas para una buena salud humana, como prevenir la aterosclerosis, reducir la hipertensión, mejorar la mineralización de huesos, la sensibilidad a insulina y la respuesta inmune. (Bauman *et al.*, 1999; Khanal y Dhiman, 2004; Belury, 2002; Ip *et al.*, 1999; Parodi, 1997 y 1999; Nagao *et al.*, 2003; Pariza, 2004).

El acrónimo CLA es usado para referirse a una mezcla de isómeros geométricos y posicionales de ácido linoleico. Los isómeros del CLA presentan dobles ligaduras conjugadas en diferentes posiciones como: 5-7, 9-11 y 10-12, y pueden tener configuración *cis* o *trans*. (Parodi, 1977; Whale *et al.*, 2004; Chin *et al.*, 1992; Lock *et al.*, 2003). De estos isómeros resaltan dos por su importancia biológica, el *cis*-9, *trans*-11, que típicamente representa del 80 % al 90 % del total de CLA y el *trans*-10, *cis*-12 que está en concentraciones del 3 % a 5 % en la leche de vaca (Chin *et al.*, 1992; Lock *et al.*, 2003). Kramer *et al.* (1998), propusieron usar el nombre "ácido ruménico" para diferenciar al isómero *cis*-9, *trans*-11 de los otros isómeros.

Hasta hace pocos años se pensaba que el CLA solo se producía por la biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen bovino, por la enzima linoleato isomerasa de la bacteria *Butirivibrio fibrisolvens*. Actualmente se sabe que el

CLA presente en la grasa láctea tiene dos orígenes. Una fracción procede de la biohidrogenación de ácido linoleico a nivel ruminal y la otra se sintetiza de manera endógena en la glándula mamaria por acción de la enzima $\Delta 9$ desaturasa. Ésta, forma el CLA a partir de ácido vaccénico, el cual es otro intermediario de la biohidrogenación ruminal de ácidos grasos insaturados como linoleico y linolenico en su ruta hacia ácido esteárico (Bauman et al., 1999; Khanal y Dhiman, 2004).

La síntesis endógena determina la concentración de CLA en la leche, debido a que en la glándula mamaria se sintetizan del 80 % al 90% del total de estos ácidos grasos (Khanal y Dhiman, 2004; Kay *et al.*, 2005). Bajo ciertas condiciones, se incrementa la porción de escape de ácido vaccénico del rumen y repercute en la concentración final de CLA en la grasa láctea. Existen varios factores que son capaces de alterar la porción de ácido vaccénico que se forma en el rumen, entre éstos se pueden mencionar: el sistema de producción, el tipo de alimentación de las vacas, la raza y el uso de aditivos en la dieta (Lock *et al.*, 2003; Bauman *et al.*, 1999), nivel de producción de leche, etapa de lactancia y época del año. Así, se han llevado a cabo estudios y puesto en práctica técnicas para incrementar la concentración de isómeros de CLA en leche y carne bovina, ya que son la principal fuente dietaria de este ácido graso, para humanos (Chin *et al.*, 1992).

La mayoría de los trabajos publicados hasta el momento, fueron realizados en países como Inglaterra, Alemania, Holanda y en Estados Unidos. En los países mencionados, los niveles de producción de leche, los sistemas producción, la alimentación y el clima son muy diferentes a los que se encuentran en México. La alimentación ha sido el factor más estudiado, haciendo modificaciones en las proporciones de los ingredientes que componen las dietas. Sin embargo, hay escasa información respecto al efecto de las

épocas del año en el contenido del CLA en leche. Además es importante mencionar, que en la mayoría de estos sistemas de producción se encuentran en climas templados a diferencia de esta localidad en donde las temperaturas en la época de verano son extremas alcanzando los 45 °C durante las horas de mayor temperatura y teniendo variaciones de 20 °C a 25 °C entre la temperatura mínima y máxima en un periodo de 24 horas. ¿Cual será la respuesta en la concentración de CLA en leche de vacas expuestas al estrés calórico que se produce durante la estación de verano, respecto a la ausencia de estrés en invierno en vacas estabuladas de Hermosillo, Sonora?

En el presente estudio se evaluó el efecto de las estaciones de verano e invierno en el contenido de CLA en leche de vacas Holstein estabuladas, tomando en consideración los factores ambientales y de producción presentes en un establo comercial del municipio de Hermosillo, Sonora.

ANTECEDENTES

Sistema de Producción y Tipo de Alimentación

En el ganado lechero se tienen definidos tres sistemas de producción, que se pueden clasificar de acuerdo al grado de especialización y tipo de alimentación en estabulado, pastoreo y mixto. El sistema de producción estabulado, se caracteriza por tener a las vacas encerradas en corrales, a lo que también se conoce como "confinamiento". En los corrales se les proporciona alimentación, la cual se basa generalmente en dietas integrales. Las vacas estabuladas generalmente producen 50% más leche que las vacas en pastoreo.

En los sistemas de pastoreo, las vacas cosechan su alimento en praderas de gramíneas solas o asociadas con leguminosas. En los Estados Unidos las vacas en pastoreo pueden producir entre 25 y 30 L de leche/día, mientras que en México el promedio va de los 6 a 20 L/día (SAGARPA, 2000). El sistema mixto es la combinación de los sistemas anteriores. Las vacas pastan durante el día y se les proporciona concentrado a la hora de la ordeña en los corrales. En este sistema, la producción de leche es menor que en estabulado y puede ser mayor que en pastoreo (NRC, 2001; Kolver y Muller, 1998).

Los sistemas de producción y tipo de alimentación influyen significativamente en la concentración de CLA en la grasa láctea. De acuerdo a Kelly *et al.* (1998a), las concentraciones de CLA fueron de 5.4, 7.1 y 10.9 mg/g de grasa para los sistemas estabulado, mixto y pastoreo respectivamente. Jahreis *et al.* (1997) cuantificaron 3.4, 6.1 y 8 mg de CLA/g de grasa para los sistemas mencionados anteriormente. Existen muchas variaciones en las

concentraciones de CLA entre sistemas y dentro de éstos, por lo que se ampliará su estudio y discusión en los puntos siguientes.

Estabulado

En los últimos años, se ha incrementado el número de vacas que se encuentran en sistemas de producción estabulados en México y también ha aumentado su potencial productivo (SAGARPA, 2000). Esto ha estimulado el uso de dietas integrales con el objetivo de que las vacas expresen todo su potencial genético para producción de leche. A pesar de que las dietas integrales aportan una mayor cantidad de energía y proteína por kilo de materia seca, comparado con lo que aportan cada uno de los ingredientes por separado, en muchas ocasiones no se logra cubrir la demanda energética de la vaca. Por esta razón se ha recurrido al uso de una mayor proporción de granos y fuentes de lípidos en las dietas (Palmquist, 1996). Los lípidos son un componente energético importante (Bauman *et al.*, 2003).

Dietas integrales, adicionadas con grasas y aceites. Las dietas integrales cubren todos los requerimientos (mantenimiento y producción) de las vacas lecheras en cuanto a vitaminas, minerales y fibras necesarias para su buen desempeño. Este tipo de dietas se usa comúnmente en los sistemas estabulados, mejorando la eficiencia en el uso de los ingredientes y aumentando la producción de leche.

Cuando las vacas producen más de 20 ó 25 L/día, la demanda energética para producción de leche no es cubierta con la energía que aportan los granos (maíz o sorgo). Para complementarla, se recurre a la adición de grasas o aceites en las dietas integrales. Estas grasas se pueden proporcionar en forma libre como aceites, como grasas de sobrepaso (no sufren modificaciones en el rumen) o a través de semillas de oleaginosas (NRC, 2001).

La dieta de las vacas lecheras típicamente contiene de 4 a 5% de grasa, niveles mayores al 7% pueden afectar adversamente la fermentación microbiana en el rumen, por lo que la recomendación general es que la adición de grasas y aceites a la dieta debe ser tal que no exceda al 6 ó 7% grasa total la dieta en base seca (Jenkins, 1993; NRC, 2001).

Grasas libres (origen animal y vegetal). En producción animal, la palabra "grasa" engloba a todas aquellas fuentes de ácidos grasos de origen animal o vegetal. Éstas pueden ser sebos de res o borrego, aceites de girasol, canola o pescado. Su uso depende de la disponibilidad de éstos en el mercado, así como el contar con instalaciones y equipo adecuado para su manejo (NRC, 2001).

De acuerdo a Donovan *et al.* (2000), el tipo de grasa en la dieta influye sobre la producción de CLA, incrementándose con la adición de aceite de pescado. Para probar su hipótesis, ensayaron dietas integrales con 0, 1, 2 y 3% de aceite de pescado, encontrando que se producían 6, 15.8, 22.8 y 19 mg de CLA/g de grasa, respectivamente. Sin embargo, el incremento de aceite de pescado, redujo el consumo del alimento y por ende la producción de leche y sus componentes.

Por su parte Ward *et al.* (2003), encontraron que la producción de CLA no solo depende del tipo de grasa añadida a una dieta integral, sino de los demás componentes. Así, añadiendo 1.1% de sebo de res a dos dietas, una con 57% de pasto henificado y otra con 59% de forraje fresco, la producción de CLA fue de 9.3 y 10.7 mg de CLA/g de grasa, respectivamente.

Las vacas en pastoreo producen mayor concentración de CLA que las vacas estabuladas. Esta situación es atractiva para estudiar lo que sucede en los sistemas mixtos. Así Rego *et al.* (2005), usaron aceite de pescado en dos niveles: alto (320 g) y bajo (160 g) en el suplemento (4 kg/vaca/día). Las vacas así alimentadas produjeron 22.5, 32.3 y 36.4 mg de CLA/g de grasa, para los

tratamientos sin aceite y con aceite de pescado en nivel bajo y alto, respectivamente. Sin embargo, se observó el mismo efecto de reducción en la producción de leche y el porcentaje de grasa, que cuando se usó en las dietas integrales ya mencionadas (Donovan *et al.*, 2000).

Kelly *et al.* (1998b), utilizaron tres fuentes de aceite (cacahuete, girasol y linaza) al 5.3% de la dieta integral para evaluar el efecto de éstas en la concentración de CLA en leche. El aceite de girasol fue el más efectivo en aumentar la concentración de CLA a 24.4 mg/g de grasa, comparado con 13.3 y 16.7 mg/g de grasa producidos por la adición de aceite de cacahuete y linaza, respectivamente.

La combinación de los ácidos linoleico y linolenico a través del aceite de soya y linaza con el fin de aumentar el ácido vaccénico y así aumentar la concentración de el isómero *cis*-9, *trans*-11 fue estudiada y se observó que aunque la combinación de estos dos aceite incrementaron al ácido vaccénico y el isómero este no fue mayor al que pueden inducir por separado ambos aceites (Bu *et al.*, 2007).

Grasas de sobrepaso. Las grasas de sobrepaso, son otra alternativa para incrementar la densidad energética de las dietas integrales de vacas lecheras, por lo que se ha evaluado su uso potencial para aumentar los niveles de CLA. Estas grasas se forman utilizando procesos de saponificación a través de la adición de sulfato de calcio. Una vez terminada la reacción, se forman jabones los cuales son insolubles a nivel ruminal, pero solubles a nivel intestinal, permitiendo la liberación y posterior absorción de ácidos grasos.

Algunos estudios han evaluado el uso de grasas de sobrepaso, haciendo énfasis en el efecto que éstas provocan sobre el contenido de CLA en leche. Secchiari *et al.* (2003) experimentaron con la adición de aceite de oliva al 1% de la dieta, en forma de grasa de sobrepaso. La cantidad de aceite utilizada no produjo aumento en la concentración CLA, siendo de 4.5 mg de CLA/g de

grasa. Además no hubo diferencia con la concentración de CLA (5 mg/g de grasa) producidos por las vacas control (sin aceite de oliva).

El CLA producido de manera sintética, ha sido usado en forma de grasa de sobrepaso con el fin de aumentar las concentraciones del mismo en la leche. Este método no es el más adecuado para mejorar las concentraciones de CLA en leche según los siguientes estudios. Loor y Herbein (2003), adicionaron 30 g de una mezcla de los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 de CLA (50 % de *c/u*) a la dieta de vacas lecheras, la concentración de CLA en leche fue de 5.1 y 4.4 mg/g de grasa para los tratamientos con grasa de sobrepaso y control (sin grasa de sobrepaso), respectivamente (Figura 1). Sin embargo, el uso de CLA en forma de grasa de sobrepaso, reduce la síntesis endógena de grasa láctea a 2.9%, comparado con la dieta control que fue de 3.8%. Esta reducción en la síntesis de grasa láctea, también conocida como "syndrome milk fat depresión" (MFD por sus siglas en inglés), es atribuida al isómero *trans*-10, *cis*-12 (Perfield *et al.*, 2002) (Figura 2).

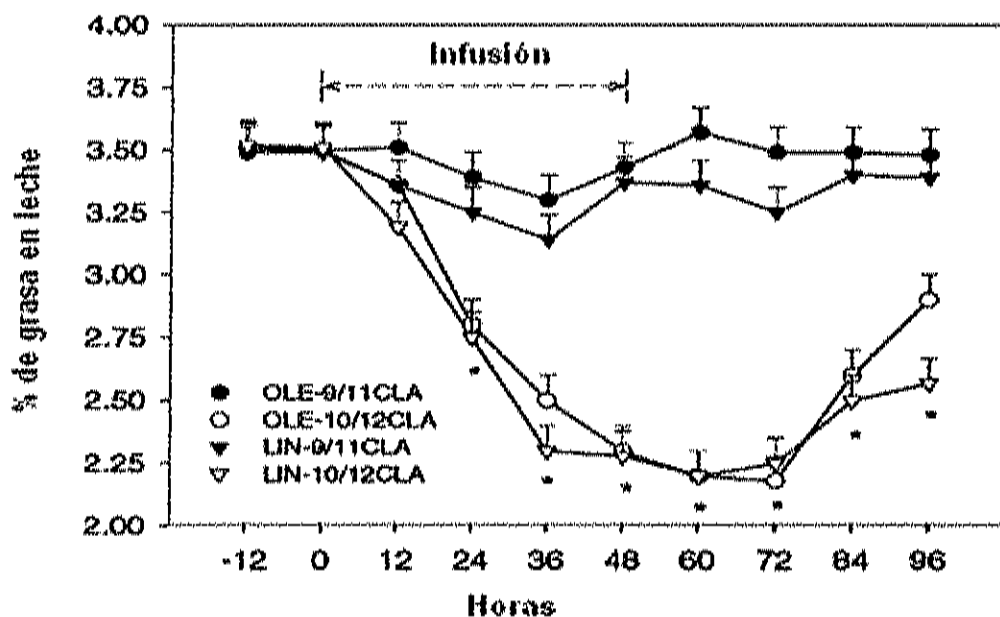


Figura 1. Porcentaje de grasa en leche después de la infusión de una mezcla de isómeros de CLA por 48 horas (Loor y Herbein, 2003).

Semillas de oleaginosas. Las semillas de oleaginosas (algodón, girasol, canola) son ampliamente utilizadas en las dietas integrales de vacas lecheras, por ser fuentes energéticas concentradas (NRC, 2001). Se han realizado estudios que evalúan la adición de estas semillas en la producción y calidad de la leche, comparando con su ausencia en el tratamiento control. Recientemente, la mayoría de las investigaciones pretende ver el efecto de la adición de semillas de oleaginosas tratadas mecánicamente (molienda, picado, peletizado, rolado) y en otros casos se involucra la adición de calor (micronizado y extruido), como una estrategia para aumentar la concentración de CLA en leche de vacas (Ward *et al.*, 2003; Chichlowski *et al.*, 2005; Reveneau *et al.*, 2005).

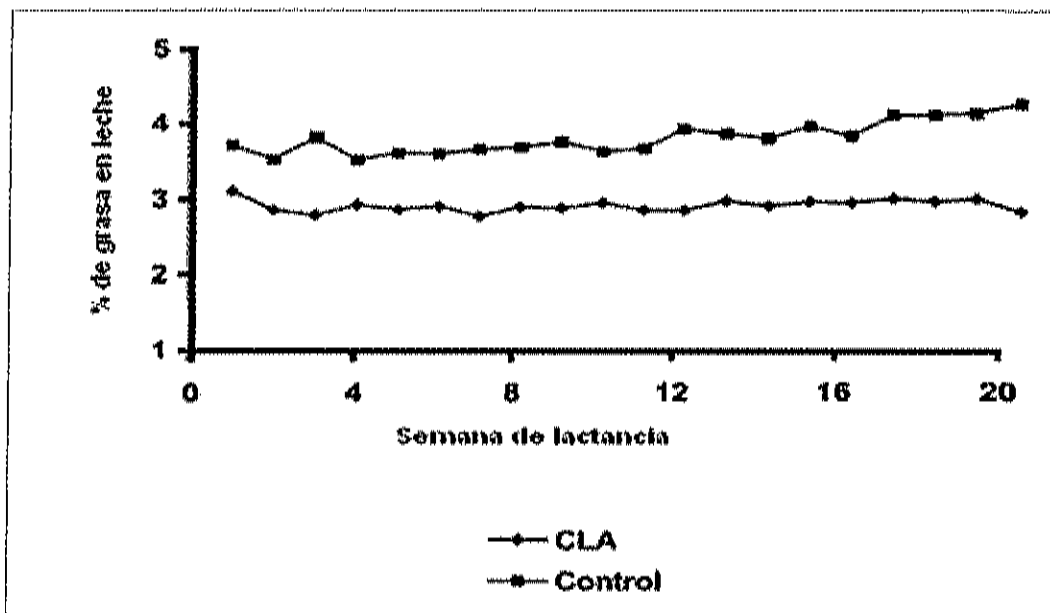


Figura 2. Patrón temporal del contenido de grasa láctea en vacas con una dieta control y otra adicionada con 90 g de CLA/día (Perfield *et al.*, 2002).

El uso de semillas enteras es una opción en la alimentación animal, debido a que éstas son fáciles de almacenar y manejar en las dietas integrales. Sullivan *et al.* (2004), evaluaron el efecto de la adición de semilla de algodón al 12.5% de la dieta, con variaciones en el porcentaje de ácidos grasos libres (3, 6, 9 y 12) aportados por las semillas. Los autores reportan que no hubo

variación en la concentración de CLA, siendo ésta de 3.6, 3.7, 3.8, y 3.9 mg/g de grasa para los tratamientos con 3, 6, 9 y 12% de ácidos grasos libres, respectivamente. En un estudio posterior, se evaluó la adición de semilla de girasol al 7%. La concentración de CLA fue de 7.9 y 3.9 mg/g de grasa para el tratamiento con semilla y control, respectivamente (He *et al.*, 2005).

La molienda es uno de los tratamientos mecánicos más utilizados en la alimentación animal y tiene como objetivo ampliar la superficie de contacto del material procesado con las bacterias ruminales. Collomb *et al.* (2004) suplementaron semillas molidas de canola, girasol y linaza a razón de 1 ó 1.4 Kg a una dieta basal de heno y remolacha. La concentración de CLA para la dieta control fue de 5.1 mg/g de grasa, mientras que para las dietas adicionadas con semillas de oleaginosas varió desde 5.3 mg para la dieta con 1 Kg de linaza, hasta 17.1 mg de CLA/g de grasa para la que contenía 1.4 Kg de semilla de girasol mostrando que a mayor cantidad de semilla molida adicionada aumenta el contenido de CLA en leche. Anterior a este estudio, Ward *et al.* (2003) evaluaron la adición de semilla de linola (solin) molida al 10.2% a una dieta a base de forraje fresco. Las concentraciones de CLA fueron de 13 y 9.3 mg/g de grasa para la dieta con semilla y control, respectivamente.

La adición de un 14% de semilla de canola molida a la dieta de vacas lecheras, no aumentó la concentración de CLA en leche (3.9 vs 3.5 mg/g de grasa) comparado con la dieta control (sin semilla de canola). Sin embargo, la semilla de canola mejora el perfil de ácidos grasos en leche, aumentando el porcentaje de los de cadena larga (>C18:0), comparado con la dieta control (57.12 vs 44.41 g/100g grasa respectivamente), (Chichlowski *et al.*, 2005). Un efecto similar en el perfil de ácidos grasos fue observado por Bayourthe *et al.* (2000), cuando utilizaron un 8% de semilla de canola con independientemente de los tratamientos mecánicos usados en este estudio (extruida, molida y en harina).

Gonthier *et al.* (2005), reportan que la adición de 12.6% de semilla de linaza, tuvo un efecto significativo sobre la concentración de CLA en leche, siendo estas de 9, 14, 14 y 19 mg/g de grasa para los tratamientos: control, y con semilla de linaza entera, micronizada y extruida, respectivamente. En una mezcla de extruido de soya al 10.6% mas harina de pescado al 5%, la concentración de CLA fue de 11.6 y 3.3 mg/g de grasa para las dietas con extruido y control respectivamente (AbuGhazaleh *et al.*, 2004).

En otro estudio se probó el efecto del tamaño del pellet de semilla de algodón. Este ingrediente se adicionó en un 14%, variando el tamaño pellet en: pequeño (0.44 cm diámetro), grande (0.52 cm de diámetro) y la mezcla del pellet pequeño con semilla parcialmente desfribada, y se encontró que el pellet pequeño aumentó el contenido de CLA en leche en 52% respecto a los otros tratamientos (Reveneau *et al.*, 2005)

Modificadores del ambiente ruminal (Ionóforos). Los ionóforos son antibióticos producidos por actinomicetos (*Streptomyces spp*), los cuales son adicionados a la dieta de vacas lecheras. Los ionóforos modifican la permeabilidad de la membrana celular de bacterias Gram positivas del rumen. El cambio en la población microbiana del rumen, reduce la producción de metano y modifica la producción de ácidos grasos volátiles (NRC, 2001).

La monensina es un ionóforo, el cual fue usado a razón de 24 ppm/kg de alimento, solo o en combinación con aceite de girasol (60 g/kg de alimento) y evaluado en la producción de CLA en vacas lecheras. Los tratamientos con monensina y control produjeron 5.2 y 4.5 mg de CLA/g de grasa respectivamente, no habiendo diferencia entre estos valores. Una dieta con 6% de aceite de girasol y otra con la misma cantidad de aceite mas 24 ppm de monensina, produjeron 33.6 y 51.5 mg de CLA/g de grasa. Es evidente que la monensina por si sola no induce un aumento en la concentración de CLA en la grasa láctea. Sin embargo, su efecto es muy notorio cuando está acompañada

de aceite de girasol, al aumentar de 5.2 a 51.5 mg de CLA/g de grasa (Bell *et al.*, 2006).

Relación forraje:concentrado. En sistemas de producción de vacas lecheras en confinamiento, la relación forraje:concentrado puede ser un indicador importante del nivel de producción. El forraje se refiere al o los ingredientes con altos contenidos de fibra como gramíneas o leguminosas, que pueden ser frescos o conservados como en el caso de los ensilados. El concentrado se refiere a todos los ingredientes que aportan uno o más nutrimentos (energía, proteína, vitaminas) en altas concentraciones. En este grupo son considerados los granos, las pastas de oleaginosas y grasas principalmente. Las vacas que producen más leche, reciben dietas con mayor cantidad de concentrado. Sin embargo, esta proporción está íntimamente relacionada con la disponibilidad de forrajes y el costo de la dieta al incrementar el nivel de concentrado (NRC, 2001).

Las vacas que consumieron dietas con un 65% de forraje (ensilado de maíz o trigo) y 35% de concentrado, produjeron 34.4 y 31.5 mg de CLA/g de grasa respectivamente. Cuando estas dietas fueron invertidas en la relación forraje:concentrado (35:65), las vacas que consumieron esta dieta produjeron menores concentraciones de CLA, 19.1 y 24.3 mg/g de grasa para ensilado de maíz y trigo, respectivamente (Shingfield *et al.*, 2005).

De acuerdo a Ward *et al.*, (2003), la cantidad de forraje en la dieta de vacas influye de manera significativa sobre la concentración del CLA en leche. Estos investigadores, realizaron ensayos utilizando tres proporciones de forraje:concentrado (50:50, 65:35 y 80:20) en la alimentación de vacas lecheras. La cantidad de forraje en la dieta afectó significativamente la concentración de CLA en leche, ésta fue de 15.7, 16.1 y 19 mg/g de grasa para las dietas con 50, 65 y 80 % de forraje respectivamente.

Pastoreo

El pastoreo es un sistema de producción, en el que la vaca cosecha su propio alimento. Éste es obtenido en praderas de gramíneas solas o asociadas con leguminosas. El contenido de CLA en leche se ve aumentado cuando las vacas son alimentadas bajo este sistema de producción (White *et al.*, 2001; Kelly *et al.*, 1998a; Kay *et al.*, 2004).

La abundancia de forrajes (kg materia seca (MS)/Ha) es el principal problema que afecta la producción y calidad de la leche de vacas en pastoreo. Stockdale *et al.* (2003) evaluaron la concentración de CLA producida, asignando 25 y 50 kg de forraje (MS/vaca/día) a vacas en pastoreo. La abundancia de forraje no afectó la concentración de CLA. Ésta fue de 14 mg/g de grasa para ambos tratamientos. Sin embargo, las vacas que tuvieron solo 25 Kg. de forraje disponible produjeron menos cantidad de leche, comparado con las vacas que disponían de 50 Kg. de forrajes (23.3 vs 28.4 L.)

Las vacas Holstein y Jersey en pastoreo que consumieron zacate pata de gallina (*Digitaria sanguinalis*), produjeron 83% más concentración de CLA (*cis*-9, *trans*-11) en la grasa láctea, en comparación con vacas que consumieron una dieta integral (6.6 vs 3.6 mg de CLA/g de grasa), respectivamente (White *et al.*, 2001). Las vacas Holstein que pastaron en una pradera compuesta de ryegrass y trébol, produjeron 140% más CLA que aquellas alimentadas con una dieta integral (4.5 vs 10.9 mg/g de grasa) respectivamente. Además, cuando las vacas consumieron solo forrajes, el rango de concentraciones de CLA fue de 6.3 a 18.1 mg/g de grasa (Kelly *et al.*, 1998a)

Kay *et al.* (2004) reportan que vacas Holstein neozelandesas en pastoreo, en una pradera mixta con 65% de ryegrass, produjeron 12.1 mg de CLA/g de grasa. Estas mismas vacas fueron suplementadas posteriormente con 250 g de aceite de girasol. La suplementación no incrementó la concentración

de CLA en la leche de vacas en pastoreo, las cuales produjeron 11.6 mg de CLA/g de grasa.

Raza

En ganado lechero existen varias razas como: Holstein, Jersey, Pardo suizo, entre otras. Estas razas presentan diferencias en producción y composición de leche. Algunos investigadores afirman que existe efecto de la raza en la concentración de CLA en leche (White *et al.*, 2001; Lawless *et al.*, 1999; Kay *et al.*, 2004). White *et al.* (2001), reportan que la raza Holstein produjo mas CLA que la Jersey. El rango de concentración de CLA fue de 4.1 a 7.2 mg/g de grasa para Holstein y de 3.2 a 5.9 mg/g de grasa para Jersey, respectivamente.

Además, en un estudio previo en donde se evaluó el efecto de la producción de CLA en 4 razas, las Holstein Irlandés, Holstein Holandés, Montbeliard y Normandés, con dieta a base de pastoreo. Las vacas de la raza Montbeliard produjeron 19.9 mg de CLA/g de grasa, esto fue diferente estadísticamente de lo producido por las vacas Holstein Irlandés, Holstein Holandés y Normandés (18.4, 17.6 y 16.7 mg de CLA/g de grasa, respectivamente). Además, la variación individual dentro de las cuatro razas estuvo en un rango de 4.8 a 36.5 mg de CLA/g de grasa (Lawless *et al.*, 1999).

Nivel de producción de leche

La selección genética de ganado lechero se enfocó, durante la última mitad del siglo pasado, a incrementar los niveles de producción. Por esto, actualmente en Estados Unidos se tienen vacas con promedios de producción que oscilan entre 31.2 y 44.4 L/día. La selección para incrementar la producción

de leche también tiene potencial para afectar su contenido de ácidos grasos. Esto es debido a la alteración de la dinámica ruminal y al incremento en la magnitud y duración de la movilización de tejidos después del parto (Kay *et al.*, 2005).

Kay *et al.* (2005), demostraron que la prolongada selección genética en vacas lecheras ha tenido un efecto positivo en el incremento del nivel de producción de leche y sus componentes. La composición de sólidos de la leche como grasa, proteína y lactosa, no se ha visto afectada por el mayor volumen de leche producido por vacas seleccionadas para este fin. De tal forma que la composición de sólidos de la leche es similar en cada litro a la leche producida por vacas de bajo mérito genético (>20 L). Así mismo, tampoco altera el contenido de *cis*-9, *trans*-11 CLA o de la mayoría de los ácidos grasos en forma individual.

Etapa de la lactancia

En el ganado lechero, la duración de la lactancia es fundamental y se asocia directamente con la rentabilidad del establo e indirectamente con el consumo de alimento y reproducción. Es por ello que una lactancia "normal", es aquella que tiene una duración de 305 días en leche o DIM (days in milk por sus siglas en inglés). Sin embargo, la duración de la lactancia varía entre países de 209 a 358 días (Togashi y Lin, 2004) Además, para efectos prácticos, la duración del periodo de lactancia fue dividida en tres etapas: <100, 100 a 199, y >199 días DIM, las cuales están muy relacionadas con el nivel de producción y tipo de alimentación de la vaca (Figura 3) (Bormann *et al.*, 2002).

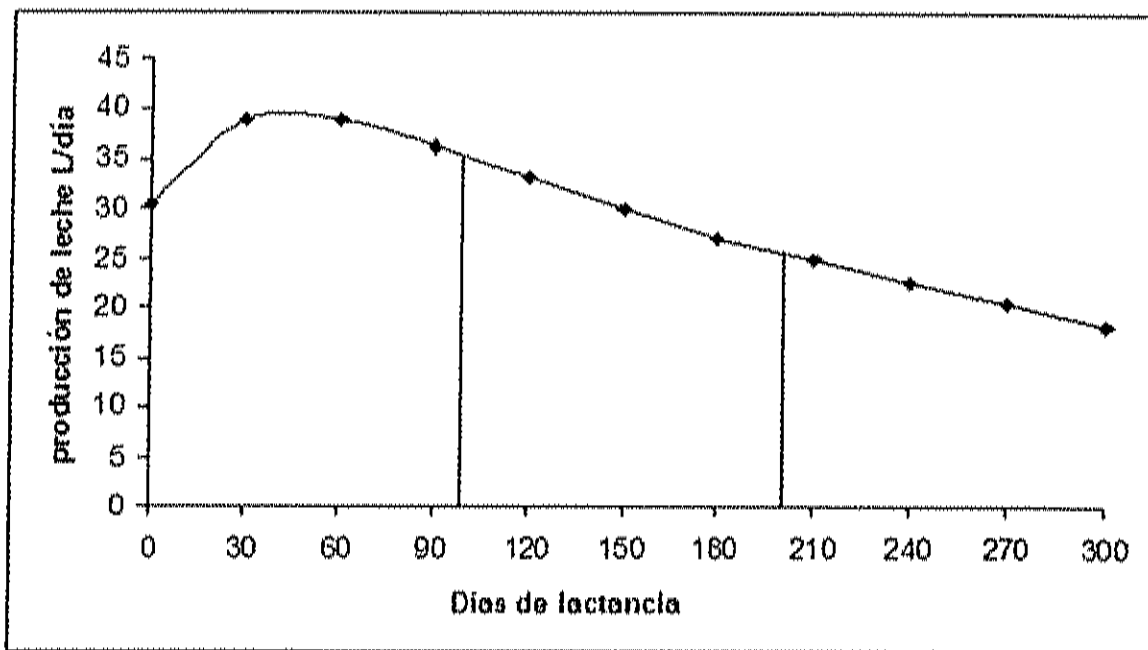


Figura 3. Curva típica de lactancia en vacas ajustada a 305 días (Bormann *et al.*, 2002).

Lock *et al.* (2005) obtuvieron un total de 430 muestras de leche, para determinar el efecto de los días DIM sobre la concentración de CLA. Las muestras procedían de vacas que se encontraban entre el día 3 y 400 de la lactancia. La etapa de la lactancia no tuvo efecto sobre la concentración de CLA, esta fue de 10 mg/g de grasa en promedio a lo largo de la lactancia. Sin embargo, hubo una alta variabilidad en las concentraciones de CLA, abarcando un rango de 1 a 32 mg/g de grasa (Figura 4). Esto es contrario a lo reportado por Kay *et al.* (2005), los cuales encontraron diferencias significativas por los días en lactancia. En la primera semana de lactancia, la concentración de *cis*-9, *trans*-11 fue de 3.1 mg/g de grasa y para la semana 16 este se incrementó en un 76%, para ubicarse en 5.4 mg/g de grasa.

En un estudio en el cual incluyó además de la etapa de lactancia, el número de partos (primerizas vs multíparas) como factores que pueden afectar el contenido del CLA en la grasa de la leche, y en el cual se encontró que no había diferencias en el contenido del isómero *cis*-9, *trans*-11 de CLA entre las

primerizas y multíparas así como en la etapa de lactancia (Kelsey *et al.*, 2003). Anterior a este estudio, se reportó que la etapa de lactancia en el rango de 12 a 93 días no tuvo efecto en que el contenido de CLA así como en el rango 99 a 193 días (Stanton *et al.*, 1997). En contraste a estos resultados se encontró que cuando se evaluó contenido del CLA en los tres tercios de lactancia en vacas de pastoreo (n=80) raza Freisian, en Nueva Zelanda éste aumentó en el tercer y segundo tercio de lactancia con una producción promedio 9.7 y 9.2 mg/g grasa respectivamente, comparado con el primer tercio 7.9 mg/g grasa (Alduist 1998).

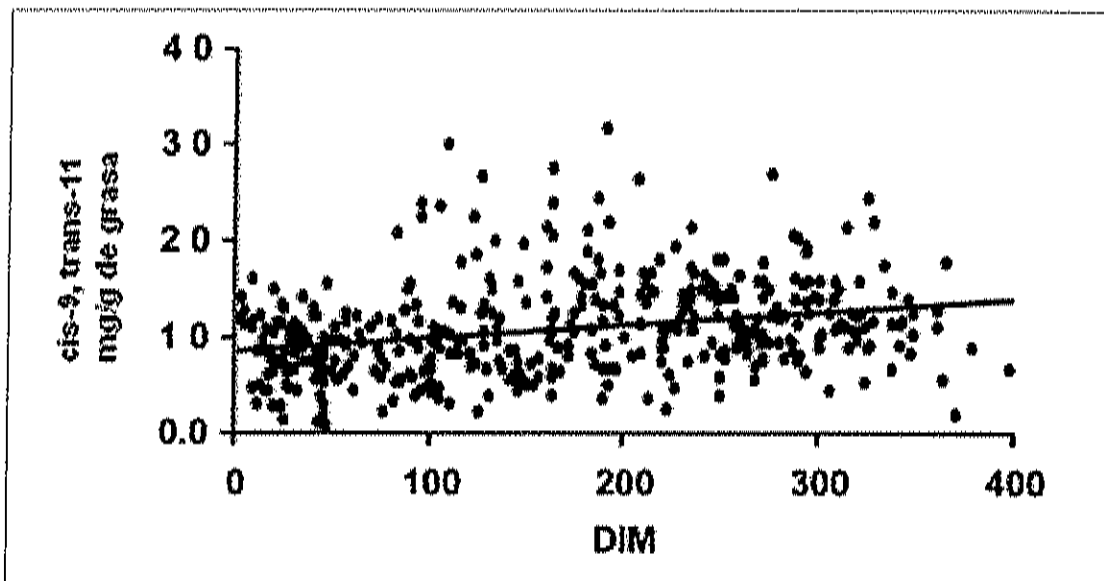


Figura 4. Efecto de los días en leche (DIM) sobre la concentración del isómero *cis-9, trans-11* del CLA en grasa láctea (Lock *et al.*, 2005).

Época del año

La temperatura ambiental es fluctuante a lo largo del año y tiene una fuerte influencia en el comportamiento y producción de los animales de granja. La temperatura del aire ejerce un efecto primario, pero puede ser alterado por el viento, la precipitación, la humedad y la radiación solar. Las vacas son animales homeotermos, expresan mejor eficiencia productiva cuando se encuentran

dentro de cierto rango de temperaturas conocidas como zona termoneutral (10-24 °C). En ambientes extremos donde se exceden los límites de la zona termoneutral, las vacas regulan su temperatura corporal a través de la alteración de su consumo de alimento, metabolismo y disipación de calor. Esta serie de procesos obliga al animal a hacer una redistribución en el uso de la energía consumida a través del alimento (NRC, 1981).

Las altas temperaturas ambientales tienen efectos adversos en las funciones fisiológicas de las vacas. El estrés por calor tiene un efecto agudo y prolongado en la producción de leche y la reproducción, generando pérdidas millonarias en el sector lechero. Se han registrado disminuciones en la producción de leche cuando la temperatura ambiental excede los 21 °C. Sin embargo, el frío también puede ser causante de estrés, causando aumento en el consumo de alimento y disminución en la producción de leche cuando la temperatura ambiental es de -5 °C o menor. Los efectos de estrés por frío y calor se pueden apreciar en la Figura 5 (NRC, 1981; Moore *et al.*, 1992; Ray *et al.*, 1992).

En un estudio se mostró que la estación del año y la temperatura tuvieron efectos significativos sobre la concentración de CLA en la grasa láctea. Las temperaturas promedio fueron 7.9, 14.4, 13.7 y 6.4 °C, para primavera, verano, otoño e invierno respectivamente. La concentración de CLA fue mayor en el verano (15 mg/g de grasa), seguido por la primavera de 12 mg/g de grasa y por último otoño e invierno los cuales no fueron diferentes entre sí con 9 y 9.5 mg de CLA/g de grasa. El aumento de CLA es atribuido a un cambio en la dieta de las vacas, debido a que en verano consumieron mayor cantidad de forrajes frescos. Éste puede contener factores no identificados que inhiban la completa biohidrogenación de ácidos grasos insaturados en el rumen, favoreciendo la formación de ácido vaccénico, el cual es un precursor de CLA (Lock y Garnsworthy, 2003). En otro estudio reportado, se evaluó el contenido del isómero *cis*-9, *trans*-11-CLA en la grasa láctea bovina, respecto a la variación

estacional (verano vs invierno) en los países nórdicos (Dinamarca, Finlandia, Islandia, Noruega y Suecia). Los resultados mostraron que el contenido del CLA fue en promedio 41.6% mas alto en verano respecto a invierno en los cinco países estudiados (Thorsdottir *et al.*,2004).

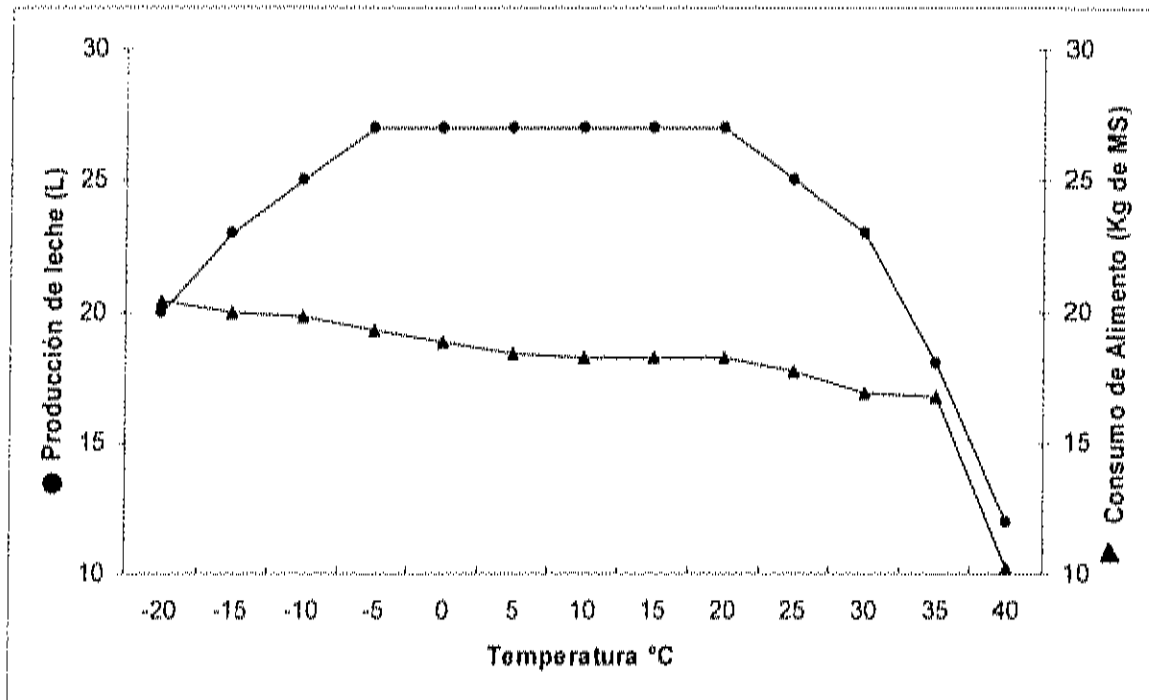


Figura 5. Efecto de la temperatura ambiental sobre la producción de leche y el consumo de alimento (NRC, 1981)

HIPÓTESIS

Los factores ambientales y de producción a que son expuestas las vacas lecheras Holstein estabuladas, influyen en la concentración de ácido linoleico conjugado de la leche.

OBJETIVO

General

Evaluar el efecto de las estaciones del año, número de parto, nivel de producción y etapa de lactancia, sobre la concentración de CLA en leche de vacas Holstein estabuladas del municipio de Hermosillo Sonora.

Específicos

- Cuantificar el contenido de ácidos grasos en leche de vacas Holstein durante verano e invierno, incluyendo los isómeros *cis-9*, *trans-11* y *trans-10*, *cis-12* de CLA.
- Medir los parámetros generales de calidad de leche (producción de leche, porcentajes de grasa, proteína y lactosa) en ambas estaciones del año.
- Cuantificar el contenido de los ácidos grasos linoleico y linolenico en el alimento de las vacas (concentrado y forraje).

METODOLOGÍA

Descripción del área de estudio

El estudio se realizó en un establo comercial ubicado en la Costa de Hermosillo, localizado a 28° 52' 57.75" de latitud norte y 111° 18' 46.32" de longitud oeste. Las temperaturas son superiores a los 40 °C en verano, mientras que en invierno llegan a 0 °C durante las horas más frías del día. El promedio de humedad relativa es de 50% a lo largo del año y la precipitación promedio fue de 180 mm entre los años 2000 y 2006. El establo cuenta con aproximadamente 570 vacas en producción de la raza Holstein, de entre 1 y 10 partos, las cuales se encuentran confinadas en 10 corrales divididos de la siguiente manera: 4 de alta producción (>18 L/día), 5 de baja producción(<18 L/día) y uno de vacas enfermas y próximas al secado. En este estudio se consideraron las vacas de primero al sexto parto (501), siendo criterios de exclusión vacas enfermas con mastitis, con dos pezones y vacas con más de 350 días de lactancia.

En el establo se realizan 2 ordeñas por día, cada 12 horas (4 de la mañana y 4 de la tarde), la cual se lleva a cabo en una sala de ordeña tipo espina de pescado. Se ordeñan 22 vacas en cada turno, 11 de cada lado. Las muestras de leche fueron colectadas durante el verano (junio-agosto de 2006) e invierno (diciembre 2006-febrero de 2007). Las mediciones de producción de leche se realizan de manera habitual en el establo el día último de cada mes, utilizando lactómetros (Waikato MKV, Milking Systems, NZ).

Indicadores Climáticos

Los valores de temperatura, humedad relativa y lluvia en invierno y verano fueron proporcionados por la estación meteorológica "El Perico 2" ubicada en la Costa de Hermosillo a 5 Km del establo donde se realizó el estudio. La estación meteorológica cuenta con equipo automatizado que hace la medición y registro de temperaturas, humedad relativa, dirección y velocidad del viento, lluvia, radiación solar entre otras. Debido a las características de la estación meteorológica, se obtuvieron los reportes de los indicadores climáticos por hora y día.

Alimentación de las Vacas

La alimentación de las vacas es a base de forraje (alfalfa y ensilado de maíz) y concentrado, los cuales son distribuidos por medio de un carro repartidor. Los ingredientes de la alimentación son los mismos para todas las vacas, pero éstos pueden variar en proporción dependiendo la estación del año (Tabla 1). Aunque se busca que sea la misma alimentación a lo largo del año y que se conserve una relación forraje-concentrado 60:40 independientemente de los componentes de la dieta.

Las raciones proporcionadas a las vacas fueron formuladas con el programa CPM (Cornell Penn Miner) Dairy Ration para cubrir los requerimientos de una vaca de 505 Kg de peso y 120 días en leche, que produce 30 litros por día. En la Tabla 1 se presenta la composición de las raciones y su análisis químico. En lo que respecta a la composición química de las raciones, ésta es capaz de cubrir todos los requerimientos nutricionales de manteniendo y producción de una vaca que tenga las características mencionadas anteriormente.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de las raciones¹

Ingredientes	Invierno		Verano	
	kg/día	% en BS	kg/día	% en BS
Concentrado	8.81	42.21	8.8	41.13
- Maíz molido	4.40	21.09	5.46	25.49
- Semilla de Algodón	1.35	6.48	0	0
- Soya 47% Proteína	0.74	3.53	1.20	5.59
- Soya 70	0.89	4.27	0.62	2.91
- Vitaminas y minerales	0.48	2.28	0.48	2.08
- Mezcla grasas ²	0.30	1.42	0.40	1.85
- Melaza de caña	0.66	3.15	0.66	3.07
Alfalfa	6.30	30.19	12.6	58.87
Ensilado de maíz	5.76	27.60	0	0
F:C ³		58:42		59:41
Composición química				
Proteína cruda		15.51		18.12
Fibra detergente neutra		35.21		27.76
Fibra detergente ácida		24.64		21.22
Extracto etéreo		5.64		5.10
Calcio		0.92		0.85
Fósforo		0.44		0.46
ENI ⁴ (Mcal/kg de MS)		1.69		1.72

¹ Los valores son calculados en base seca (BS).

² Grasas de origen animal y vegetal

³ Relación forraje:concentrado.

⁴ Energía neta de lactancia en mega calorías por kilogramo de materia seca.

Diseño de Muestreo

El muestreo realizado fue de tipo aleatorio simple, para estimación de una media poblacional. Los cálculos del tamaño de muestra fueron realizados, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n_t = \left[\frac{1}{\frac{(\beta)^2}{Z^2 S_y^2} + \frac{1}{N}} \right]$$

n_t = Tamaño de muestra a utilizar

β = Sesgo de la estimación permitido

Z = Valor Z para una confiabilidad del 95% en la estimación

S²_y = Varianza de la variable de interés

N = Tamaño de la población

Al estimar el tamaño de muestra corregido por finitud, el tamaño de muestra calculado fue de 213 vacas. Se considero muestrear a un total de 240 vacas, para reducir el sesgo en la estimación de la media y la varianza poblacional del CLA. Además, se utilizó una ponderación (*w_i*) para cada estrato o subpoblación (número de parto), donde $w_i = n_i / N$.

De acuerdo a los cálculos previos para el tamaño de muestra se procedió a la recolección de 240 muestras de leche, correspondientes al mismo número de vacas. El total de muestras fueron colectadas en dos periodos de tres meses cada uno, por lo que se obtuvo una submuestra de 40 por mes, comprendiendo los meses de junio, julio, agosto y diciembre de 2006, así como enero y febrero de 2007. Las vacas fueron estratificadas de acuerdo a su paridad. El primer estrato correspondió a vacas primerizas, el segundo estrato considera a vacas

multiparas tempranas (segundo y tercer parto) y el tercer estrato engloba a vacas multiparas mayores (cuarto a sexto parto) y que fueron muestreadas en base a su proporción dentro del hato, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución del tamaño de muestra por mes, ajustado por número de vacas por parto

Grupo	Parto	Vacas/parto	Proporción/parto	Subtotal/grupo
Primíparas	1	175	14	14
Multíparas tempranas	2	107	8	16
	3	95	8	
Multíparas mayores	4	56	4	10
	5	35	3	
	6	33	3	
Total		501	40	40

Recolección de Muestras de Leche y Alimento

La cantidad de muestra recolectada fue de 100 mL de leche por vaca. Todas las muestras fueron tomadas directamente en la sala de ordeña del establo, 50 mL durante la ordeña de la mañana (4:00 h) y los 50 mL restantes en la segunda ordeña (16:00 h). Las muestras fueron colectadas en recipientes plásticos de 120 mL, rotuladas y almacenadas en frío para su transporte hasta el laboratorio. Las muestras obtenidas en ambas ordeñas fueron mezcladas y homogenizadas, de cada muestra se obtuvieron dos alícuotas de 50 mL y fueron congeladas a una temperatura de -20 °C hasta su análisis. Una de las fracciones fue utilizada para medir los parámetros generales de calidad de la leche como son los porcentajes de grasa, proteína y lactosa. La otra fracción se utilizó en el proceso de identificación y cuantificación de ácidos grasos.

En los días correspondientes a la toma de muestras de leche, también se recolectaron muestras de alimento empacadas en bolsas de plástico, rotuladas y almacenadas a -20 °C hasta su análisis. El alimento fue recolectado de varios puntos a lo largo del comedero hasta completar aproximadamente 1000 g en el caso de concentrado y 500 g para forraje.

Análisis de Muestras

Alimento

En el alimento se analizaron indicadores de calidad, por medio de análisis proximal, considerando las siguientes determinaciones:

Materia seca. Para realizar la determinación de materia seca, la muestra fue colocada en una estufa de aire forzado a una temperatura máxima de 60 °C durante 48 horas, para evitar daño por calor (AOAC, 1990).

Proteína cruda La determinación de proteína cruda se realizó por el método Kjeldahl (954.01) que consiste en la digestión de la muestra en ácido sulfúrico, hasta convertir el nitrógeno a la forma amoniacal. La cuantificación del amoníaco se hizo usando solución de ácido clorhídrico con una normalidad de 0.1037 (AOAC, 2000).

Fibra detergente neutra. La determinación del contenido de fibra detergente neutra se realizó de acuerdo al método propuesto por Van Soest *et al.*, (1991). Éste consiste en el uso de una solución detergente neutra que disuelve las pectinas de las paredes celulares y componentes solubles (proteínas, azúcares y lípidos).

Fibra detergente ácida. La cuantificación de fibra detergente ácida se realizó por el método propuesto por Van Soest *et al.*, (1991). Éste consiste en la

digestión con el uso de una solución ácida de un detergente cuaternario, para formar un residuo formado de celulosa, lignina, cenizas insolubles y proteína ligada a la pared celular, que reciben el nombre de fibra ácido detergente.

Determinación de contenido de ácidos grasos en el alimento. La determinación y cuantificación de ácidos grasos del alimento, se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Folch *et al.* (1957). Se utilizaron 3 g de alimento, que fueron triturados para homogenizar la muestra, posteriormente se usaron 10 mL de metanol, seguido de 20 mL de cloroformo. Se filtró y lavó la muestra con cloroformo metanol (2:1). Posteriormente se adicionó cloruro de potasio al 0.88% y se enjuagó con una mezcla de agua metanol (1:1). Después se evaporó el cloroformo con nitrógeno y se hizo la metilación de los ácidos grasos con trifloruro de boro (AOAC 969.33).

Los ácidos grasos metilados y resuspendidos en heptano fueron inyectados en un cromatógrafo de gases de la marca Varian modelo star 3400 CX. Se utilizó una columna capilar DB-23 (J & W Scientific) de 30 metros de longitud por 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μ m de espesor y Helio como gas de acarreo.

La separación de los ácidos grasos se realizó con una serie de rampas de temperatura. La temperatura inicial fue de 50 °C y se mantuvo un minuto, después se incrementó la temperatura a razón de 10 °C/minuto hasta llegar a 166 °C. Posteriormente un nuevo incremento de 1 °C/minuto hasta los 174 °C. El siguiente incremento fue de 2 °C/minuto hasta los 194 °C. La última rampa fue con incrementos de 3.5 °C/minuto hasta llegar a los 215, una vez alcanzada esta temperatura se mantuvo durante 6 minutos. El tiempo total de corrida fue de 43 minutos. La identificación del perfil de ácidos grasos se realizó mediante el uso de estándares externos (FAME Mix C4-C24, Supelco)

Leche (Calidad)

Análisis proximal.

La leche se descongeló en baño maría a temperatura ambiente, aumentando la temperatura del baño hasta los 35 °C, utilizando el procedimiento marcado por la AOAC referido a la preparación de muestras de leche para su análisis. Esto con la finalidad de disolver los grumos de grasa y evitar que ésta se quedara pegada en las paredes del recipiente (AOAC método 925.21). Una vez que se tuvo la leche fluida y homogenizada se procedió a la cuantificación de los porcentajes de grasa por el método Babcock: 989.04, proteína por el método microkjeldahl: 960.52. La lactosa y sólidos totales fueron medidos utilizando el espectrofotómetro de infrarrojo Milkoscan (método 972.16).

Ácidos grasos (CLA y C4-C20)

Extracción. La extracción de la grasa láctea se realizó por el método de Luna et al. (2005), que consistió en centrifugar 30 mL de leche a 17,800 g x 30 min a 8 °C, en una centrifuga refrigerada (Beckman Coulter, modelo Allegra 64R). La grasa fue removida con una espátula y fue colocada en tubos de vidrio de 30 mL con tapa rosca, previamente rotulados y pesados. Los tubos con la muestra fueron pesados nuevamente para conocer la cantidad exacta de grasa láctea colocada. La extracción de lípidos se realizó siguiendo el método propuesto por Hara y Radin, (1978), que consistió en usar una solución de hexano:isopropanol (3:2 v/v) a razón de 18 mL/g de grasa, seguido por una solución de sulfato de sodio (67 g/L) a una proporción de 12 mL/g de grasa. Después de agregar la

mezcla de solventes en la proporción correspondiente al peso de la muestra, se dejó reposar unos minutos para que se disolviera completamente la grasa.

Los ácidos grasos disueltos en hexano (capa superior) fueron removidos con una pipeta Pasteur y colocados en un tubo nuevo previamente pesado y rotulado. Los ácidos grasos se recuperaron evaporando el hexano con una corriente de nitrógeno. Para mejorar el proceso de evaporación, los tubos fueron colocados en baño maría a 35 °C. Una vez evaporado el hexano se volvieron a pesar los tubos en una balanza analítica y por diferencia de peso se obtuvieron los miligramos de ácidos grasos recuperados. Posteriormente se resuspendieron en 3 mL de hexano grado HPLC y se adicionaron los reactivos de metilación (1 µL por µg de ácidos grasos extraídos).

Metilación. La metilación de los ácidos grasos se llevó a cabo por el método propuesto por Christie, (1982), tomando en cuenta las modificaciones realizadas por Chouinard *et al.* (1999). Por cada 40 mg de lípidos se agregaron 40 µL de acetato de metilo. La mezcla se agitó usando un agitador mecánico (vortex). Después se adicionó 40 µL de reactivo de metilación (1.75 mL de metanol:0.4 mL de una solución de metóxido de sodio 5.4 M). Se agitó nuevamente y se dejó reposar la solución durante 10 minutos. Por último se adicionaron 60 µL de reactivo de terminación (1 g de ácido oxálico en 30 mL de éter dietílico).

Los ácidos grasos metilados y disueltos en hexano (capa superior) fueron removidos con una pipeta Pasteur de vidrio y colocados en tubos de centrifuga (Beckman Coulter). Posteriormente, se centrifugaron a 2400 g por 5 minutos a 5 °C, los ácidos grasos disueltos en hexano son extraídos y colocados en un nuevo tubo de vidrio. El hexano se evaporó con una corriente de nitrógeno dentro de una campana de extracción. Los ácidos grasos metilados quedan en

el fondo del tubo, de los cuales se transfirieron aproximadamente 50 mg a un vial ámbar de 2 mL con tapa rosca. Posteriormente los ácidos grasos metilados fueron disueltos en 200 μ L de hexano para su inyección al cromatógrafo de gases.

Identificación y Cuantificación de ácidos grasos. La cuantificación de los ácidos grasos e isómeros de CLA se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases de la marca Varian modelo star 3400 CX. Se utilizó una columna capilar DB-23 (J & W Scientific) de 30 metros de longitud por 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μ m de espesor y Helio como gas de acarreo. La identificación del perfil de ácidos grasos se realizó mediante el uso de estándares externos (FAME Mix C4-C24, Supelco) mientras que para los isómeros de CLA *cis*-9, *trans*-11 y *trans*- 10, *cis*-12 se utilizaron estándares individuales de la marca Matreya con 98% de pureza (Matreya, Inc., PA).

La separación de los ácidos grasos de la leche, se realizó con una serie de rampas de temperatura. La temperatura inicial fue de 50 °C y se mantuvo un minuto, después se incrementó a razón de 10 °C/minuto hasta llegar a 166 °C. Posteriormente un nuevo incremento de 1 °C/minuto hasta los 174 °C. El siguiente incremento fue de 2 °C/minuto hasta los 194 °C. La ultima rampa fue con incrementos de 3.5 °C/minuto hasta llegar a los 215, una vez alcanzada esta temperatura se mantuvo durante 6 minutos. El tiempo total de la corrida fue de 43 minutos.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de las variables respuesta, para conocer el efecto de los factores sobre el contenido de los isómeros de CLA y demás ácidos grasos. Se ajustó un análisis de varianza por medio de un modelo mixto (PROC MIXED) en el programa estadístico SAS (SAS, 2001), el cual incluyó como efectos fijos a época del año, mes dentro de época, además de número de parto y como aleatorios a producción de leche, días en leche con efecto lineal y cuadrático, e individuo por parto como error experimental.

El modelo ajustado es el siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + A_i + B_j(A_i) + C_k + D_l + E_m + F_n + \varepsilon_{ijklmn}$$

Donde:

- Y = Concentración de ácido linoleico conjugado (mg/g de grasa)
- A_i = i-esimo efecto de Época (Fijo)
- B_j = j- esimo mes dentro de (época) (Fijo)
- C_k = k-esimo número de parto (Fijo)
- D_l = l-esimo día en leche (Aleatorio)
- E_m = m- esimo día en leche² (Aleatorio)
- F_n = n-esimo nivel de producción de leche (Aleatorio)
- E = error experimental (individuo por parto)

Las significancias fueron estimadas a un nivel de probabilidad en el error de 0.05. Las comparaciones de medias para el caso del CLA se hicieron por el método de medias de mínimos cuadrados (lsmeans). Las comparaciones de medias para la producción de leche y parámetros generales de calidad fueron realizadas con la prueba de rango múltiple de Tukey (P = 0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Indicadores Climáticos

Invierno

La costa de Hermosillo ocupa el tercer lugar en volumen de producción (agrícola-ganadera) después de los valles del yaqui y del mayo en el Estado de Sonora. Esta región se caracteriza por tener un clima desértico semi-cálido con inviernos frescos y temperaturas menores a 0 °C en las horas más frías. La temperatura promedio mínima fue menor a 5 °C durante los meses de diciembre de 2006 y enero de 2007, mientras que en febrero fue de 6.8 °C (Figura 6).

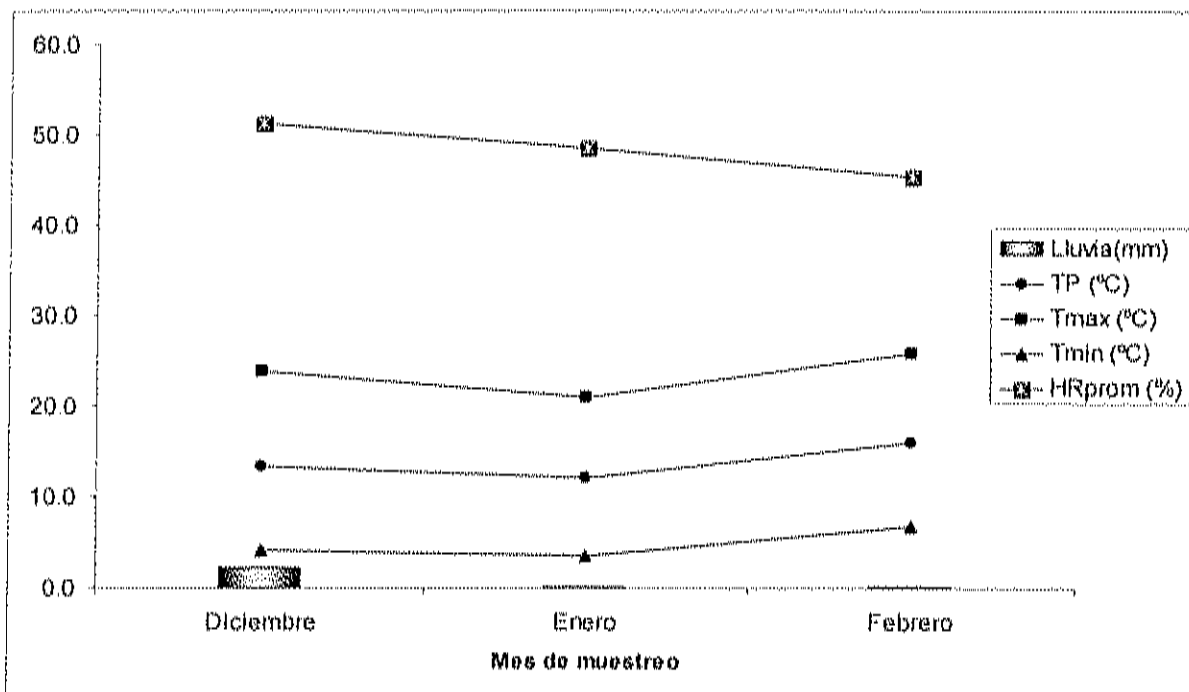


Figura 6. Temperaturas promedio (TP), máxima (Tmax), mínima (Tmin), humedad relativa (HRprom) y lluvia acumulada en invierno

La temperatura promedio durante el invierno (diciembre de 2006 a febrero de 2007) fue de 14 °C, mientras que la temperatura promedio máxima fue alrededor de los 24 °C. En climas desérticos como en el caso del Municipio de Hermosillo, la temperatura ambiental varía ampliamente entre una estación y otra. Sin embargo, existe una variación importante durante el día, que puede oscilar entre 20 y 25 °C entre la temperatura promedio máxima y mínima. En lo que respecta a la humedad relativa se registró un promedio de 50% durante el invierno, con máximas de 80% durante las noches y mínimas de 20% en las horas de mayor temperatura (Figura 7). En invierno, la precipitación pluvial fue casi nula con 2.3 milímetros en diciembre de 2006 (Figura 6).

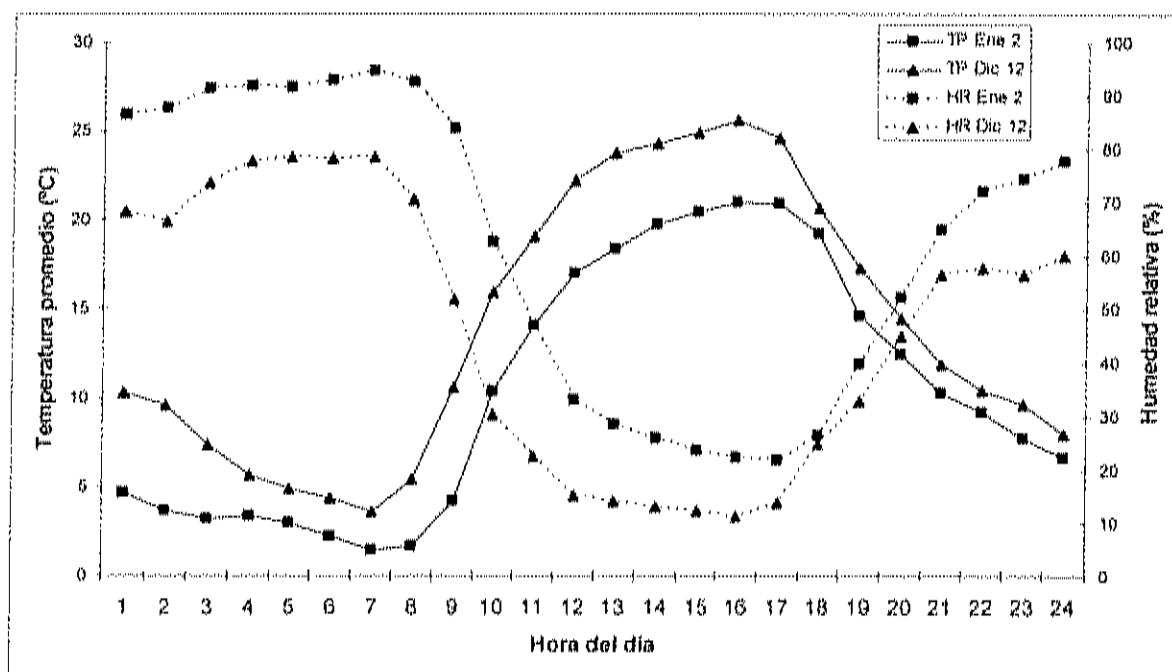


Figura 7. Comportamiento típico de la temperatura promedio (TP) y la humedad relativa (HR) en invierno en un periodo de 24 horas

Un ejemplo de las variaciones cotidianas en temperatura y humedad relativa en invierno se presenta en la Figura 7. En enero 2 de 2007 la temperatura ambiente estuvo por de bajo de 5 °C durante las primeras 8 horas del día, después subió gradualmente hasta llegar a los 21 °C alrededor de las

17 horas. Durante la época de invierno es común observar que la temperatura promedio fluctúa entre 5 °C y 25 °C (Figura 7).

Verano

En verano de 2006 (junio-agosto) la temperatura promedio mínima en la costa de Hermosillo fue de 25 °C, con temperaturas máximas superiores a 40 °C durante varias horas del día. La humedad relativa promedio fue de 40, 55 y 60% para los meses de junio, julio y agosto, respectivamente. Las variaciones en la humedad relativa se debieron a la presencia de lluvia principalmente en los meses de julio y agosto con 92 y 68 milímetros respectivamente (Figura 8). El verano de 2006 fue particularmente lluvioso con 166.2 milímetros, debido a que la precipitación pluvial histórica promedio para verano fue de 68 milímetros entre los años 2000 y 2005 registrados en la misma estación meteorológica.

Al igual que en invierno, en verano existe una amplia variación de la temperatura ambiental y la humedad relativa a lo largo del día, un ejemplo de ello se presenta en la Figura 9. Es importante señalar que en nuestro estudio las vacas estuvieron expuestas a todos los elementos meteorológicos como son: la radiación solar, lluvia y viento. Los cuales pueden tener efectos negativos o positivos en la conducta y nivel de producción de las vacas, dependiendo de su intensidad y duración.

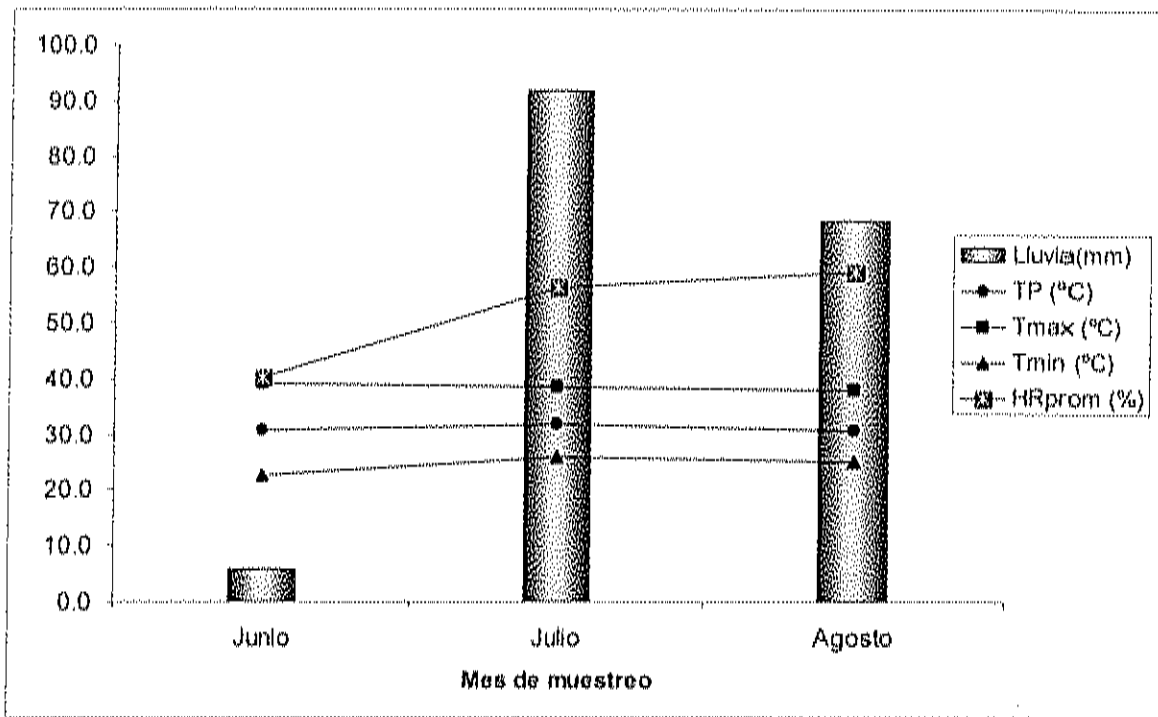


Figura 8. Temperaturas promedio (TP), máxima (Tmax), mínima (Tmin), humedad relativa (HRprom) y lluvia acumulada en verano

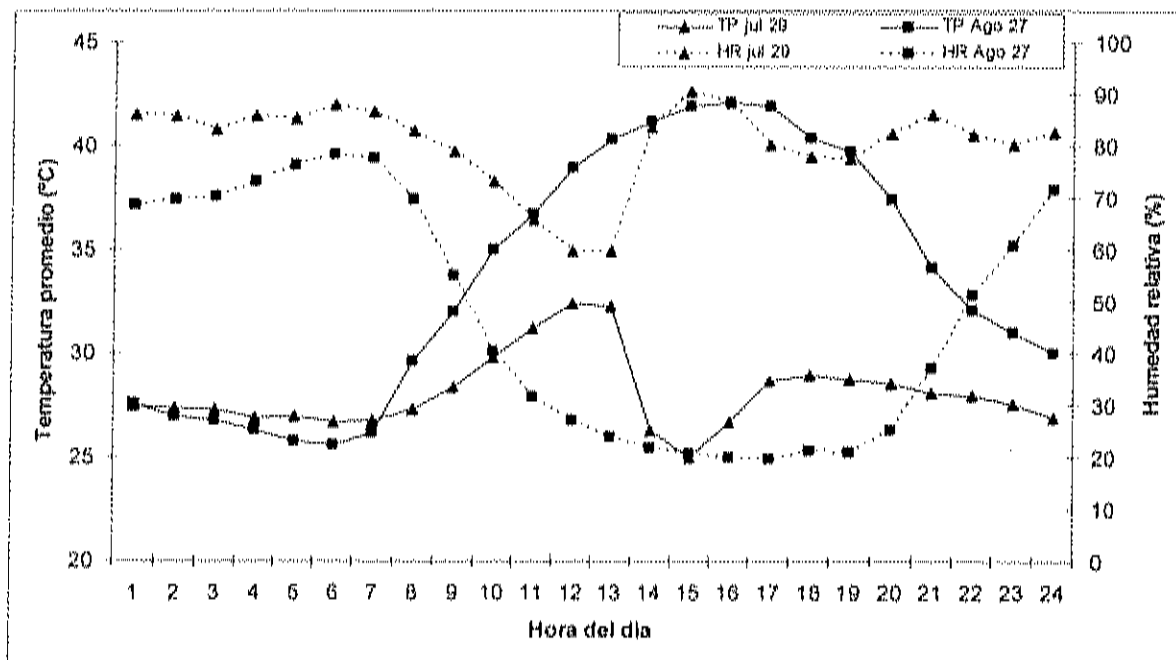


Figura 9. Comportamiento típico de la temperatura ambiental promedio (TP) y humedad relativa (HR) en verano en un periodo de 24 horas

Una de las características de nuestro estudio, es la alta variabilidad en la temperatura ambiental entre los meses de invierno y verano. Durante el invierno, podría considerarse a las vacas dentro de un rango de temperaturas conocido como "zona termo neutral" o de confort. Cuando la temperatura ambiental sobrepasa de los 24 °C la vaca empieza a sufrir un estrés por calor, el cual sucede de manera frecuente durante el verano. La mayoría de los trabajos relacionados con la variación estacional sobre la concentración de CLA en leche de vaca se han desarrollado en países como Inglaterra (Lock y Garnsworthy, 2003), Nueva Zelanda (Auld *et al.*, 1998) y países nórdicos (Thorsdottir *et al.*, 2004). En ninguno de los casos anteriores llegan a tener temperaturas superiores a los 35 °C en verano, como en el caso de la costa de Hermosillo (Figura 10 y 11).

Estrés calórico en vacas lecheras

En lugares desérticos y tropicales las vacas son candidatas a sufrir estrés calórico, el cual está ligado a problemas de disipación de calor adquirido del medio por radiación solar y el que se produce por procesos metabólicos normales. El estrés calórico es frecuente durante la estación de verano en donde se conjugan altas temperaturas y humedad relativa. Algunos de los signos de estrés calórico en las vacas lecheras son la reducción del volumen de producción de leche, disminución del consumo de alimento, de la reproducción y el comportamiento de las vacas. Las vacas dejan de consumir alimento en las horas de mayor temperatura, aunque existe un aumento en el consumo de agua con el fin de disipar el calor. (Collier *et al.*, 2006). Una forma indirecta de medir el estrés calórico en vacas es mediante el cálculo del índice de temperatura humedad relativa (THI por sus siglas en ingles) (NOAA, 1976; West *et al.*, 2003).

La fórmula para calcular la THI es la siguiente: $THI = td - (0.55 - 0.55RH)(td - 58)$; donde td = temperatura del termómetro de bulbo seco en °F y RH = humedad relativa expresada en decimal.

Los valores de temperatura y humedad relativa (máximas y mínimas) en las estaciones de verano e invierno, sirvieron de base para estimar THI en las vacas lecheras de nuestro estudio. El valor de THI menor de 72 significa ausencia de estrés calórico. Valores de THI entre 72 y 79, se considera que la vaca sufre de estrés ligero. Valores de THI entre 79 y 88 son considerados como estrés medio. Valores de THI mayores de 89 se consideran como un estrés severo y existe riesgo de muerte de los animales (Armstrong, 1994).

Los cálculos de los valores THI para los meses de invierno, se pueden observar en la Figura 12. La combinación de temperaturas promedio de 14 °C con humedad relativa del 50% dio como resultado que los valores mínimos de THI fueran menores de 55 durante todo el invierno considerándose que los animales no estuvieron bajo estrés. En lo que respecta a los valores máximos de THI, estos se ubicaron por debajo de 72 casi durante todo el invierno, a excepción de algunos días entre el 4 y 10 de febrero donde su valor fue de 73, que representa estrés ligero.

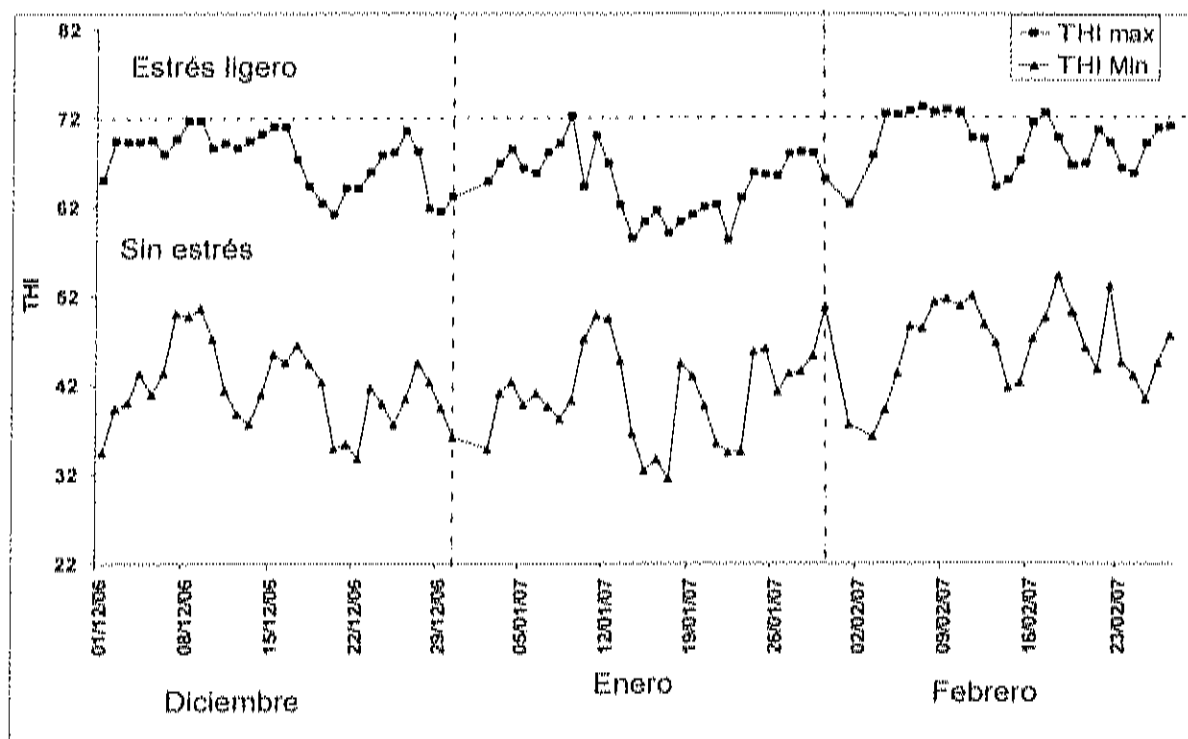


Figura 10. Comportamiento de los índices THI (máximos y mínimos) en invierno y su relación con el grado de estrés calórico en vacas

La combinación de temperaturas mayores a 30 °C y humedad relativa variable (20 a 80%) provocada por la presencia de lluvia, promovieron altos valores de THI. Los valores máximos de THI fueron mayores de 80 durante todo el verano (Figura 11), eso implica que las vacas se encontraban bajo un estrés medio durante las horas más cálidas del día (Figura 12). Sin embargo, las noches no estuvieron completamente libres de estrés. El mes de junio fue el único mes que presentó valores de THI por debajo de 72, durante las primeras 3 semanas. En la última semana de junio, así como en el mes de julio y agosto los valores mínimos de THI fueron superiores a 72, colocando a las vacas en un grado de estrés ligero (Figura 11).

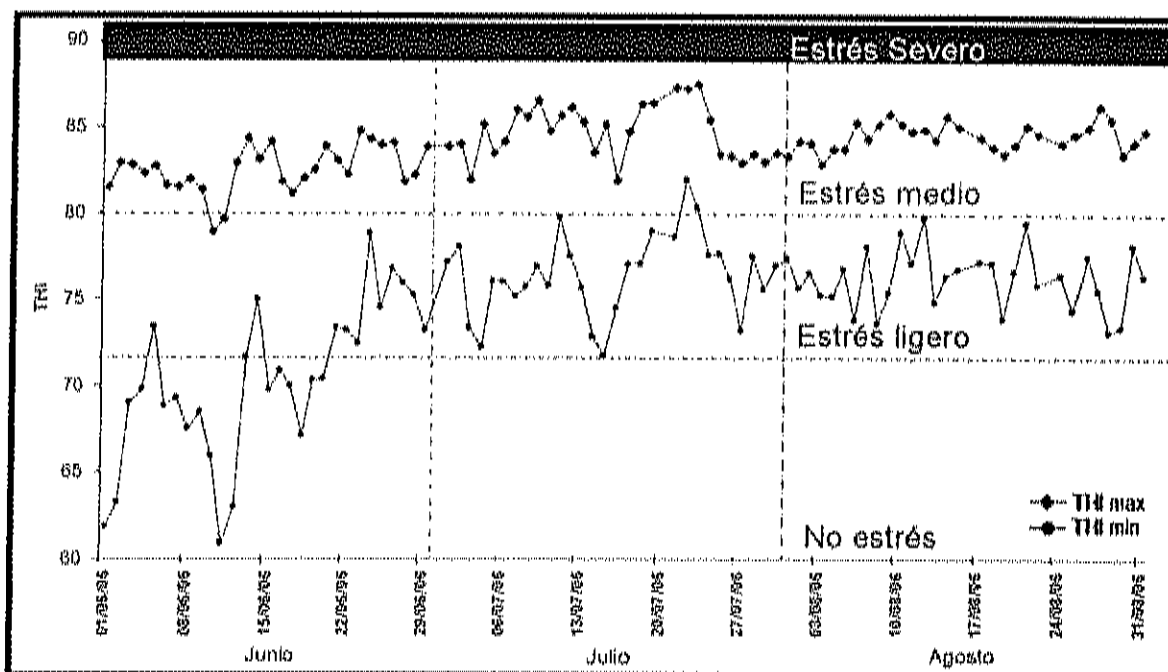


Figura 11. Comportamiento de los índices THI (máximos y mínimos) en verano y su relación con el grado de estrés calórico en vacas lecheras

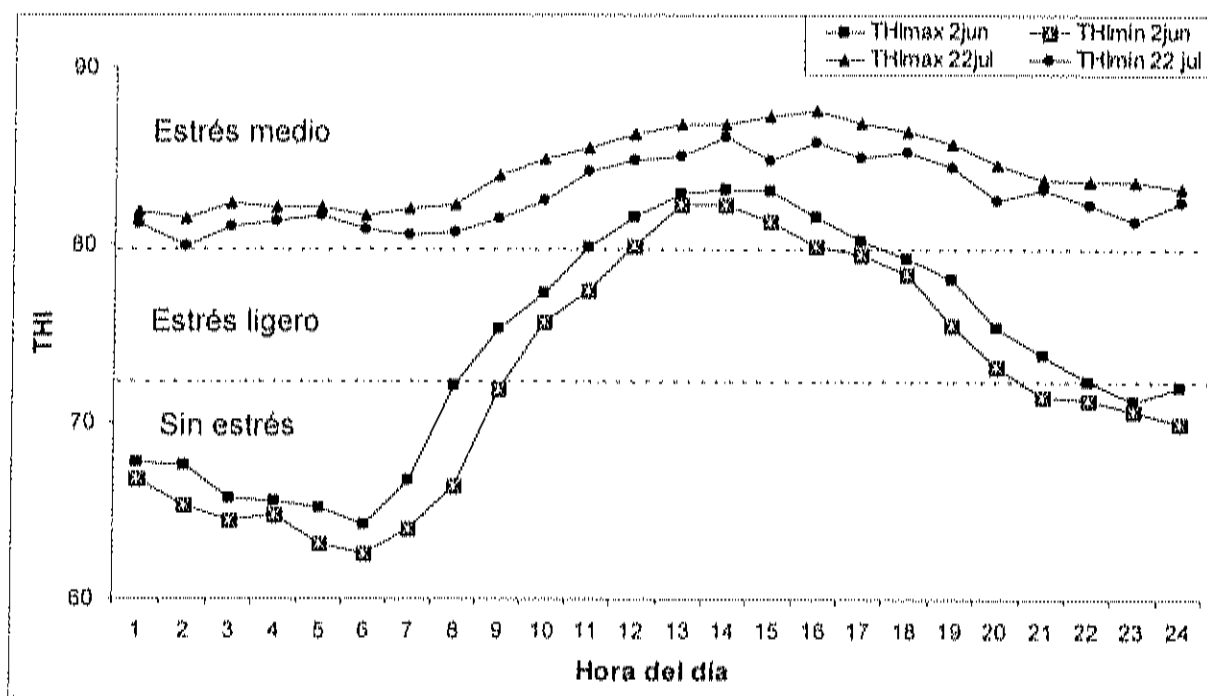


Figura 12. Comportamiento del índice temperatura humedad relativa (THI) en un periodo de 24 horas.

Análisis Químico de la Ración

Las raciones proporcionadas a las vacas fueron formuladas para cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción de una vaca de 505 kg de peso y 120 días en leche, que produce 30 litros de leche por día. La composición química de las raciones de verano e invierno son detalladas en la Tabla 3. A pesar de las diferencias en las concentraciones de algunos de los ingredientes entre las dietas de invierno y verano (Tabla 1).

Los diferentes análisis realizados en las raciones mostraron que ambas, tenían características similares en cuanto a los aportes de proteína, fibras y energía. Sin embargo, la dieta de invierno contenía mayor cantidad de extracto etéreo (grasa) que la de verano, probablemente por la inclusión de semilla de algodón. Al extracto etéreo de las dietas, se le determinó el perfil de ácidos grasos. La dieta de verano, contenía mayor cantidad de ácidos grasos láurico, mirístico, oleico y linolenico, que la dieta de invierno (Tabla 4). Sin embargo, la dieta de invierno tuvo un porcentaje mayor de ácido linoleico comparado con la dieta de verano. El ácido linoleico es precursor del CLA en el rumen, así como del ácido vaccénico lo es en la glándula mamaria y que se forma de ácido linoleico y linolénico en el rumen.

Tabla 3. Composición química de las raciones.

Fracción	Invierno	Verano
	% en base seca	
Proteína cruda	15.7	15.4
Fibra detergente acida	24.2	25.2
Fibra detergente neutra	33.6	34.4
Extracto etéreo	5.56	4.86
ENI ¹ (Mcal/kg de MS)	1.55	1.54

1.- Energía neta de lactancia en megacalorías por kilo de materia seca

Tabla 4. Composición de ácidos grasos de las dietas integrales

Ácido graso		Invierno	Verano
		Porcentaje ¹	
Láurico	C12:0	0 ^b	0.78 ^a
Mirístico	C14:0	0 ^b	0.77 ^a
Palmitico	C16:0	20.54 ^a	20.04 ^a
Esteárico	C18:0	6.71 ^a	5.70 ^a
Oleico	C18:1 c9	21.56 ^b	26.15 ^a
Linoleico	C18:2	45.45 ^a	37.21 ^b
Linolenico	C18:3	5.74 ^b	9.35 ^a

¹ Calculados como porcentajes de ácidos grasos metilados

Letras diferentes entre columnas indican diferencia significativa P<0.05

Producción y composición de la leche de vaca

Nivel de producción

El promedio de producción de leche en verano fue de 15.8 L, significativamente menor ($P<0.05$), respecto a la producción de leche en invierno 18.9 L (Tabla 5). Durante el verano la producción de leche fue variable (de 13.4 a 18.7 L). En contraste con la producción de leche en los meses de invierno, donde no se observan variaciones significativas, con una producción promedio de 18.9 L por vaca/día.

El comportamiento de la producción de leche en nuestro estudio, coincide con otros trabajos realizados en el sur de Estados Unidos, donde reportan que la producción de leche en verano es menor que en invierno (Moore *et al.*, 1992). Esta disminución en la producción de leche en verano la han asociado con las altas temperaturas ambientales, las cuales normalmente rebasan los 40 °C en algunas horas del día, provocando estrés calórico (West *et al.*, 2003). Collier *et al.* (2006) reportan que las pérdidas económicas en la industria lechera de los Estados Unidos debido al estrés calórico asciende a los

900 millones de dólares y puede ser superior a los 1500 millones de dólares anuales (St-Pierre *et al.*, 2003). Es por ello que se han generado e implementado tecnologías (sombras ó corrales con refrigeración) encaminadas a reducir el estrés calórico en vacas y disminuir las pérdidas económicas del verano.

Lock y Garnsworthy. (2003) realizaron un trabajo en Inglaterra evaluando la variación estacional en la producción y composición de la leche. Reportan que la producción en verano fue de 27 L, significativamente menor ($P < 0.05$) que la producción de leche en invierno (32 L). Sin embargo, en Inglaterra la temperatura promedio del verano fue de 15 °C. Es así, que la diferencia en producción de leche entre verano e invierno no se debe a estrés calórico, pero se puede relacionar con la reducción natural de la producción de leche a medida que avanza la lactancia, ya que las vacas en invierno se encontraban alrededor de los 85 días en leche, mientras que en verano el promedio fue de 200 días en leche.

En otro estudio realizado por Auldist *et al.* (1998) en Nueva Zelanda evaluaron la influencia de la variación estacional en la producción de leche. Las muestras de leche fueron tomadas de cada vaca en tres ocasiones a lo largo de su lactancia (temprana, media y tardía, que corresponden a 30, 120 y 210 días DIM, respectivamente). La producción de leche promedio fue de 17.1 kg/día en verano, significativamente mayor ($P < 0.05$) que los 13.4 Kg/día producidos en invierno. Además la producción de leche fue significativamente diferente ($P < 0.05$) por etapas de lactancia, siendo mayor para las vacas con lactancias tempranas, seguido de vacas en lactancias medias y tardías, independientemente de la estación del año.

La producción de leche depende en gran medida de la calidad y composición de la dieta, así como de la cantidad de alimento consumida. Sin embargo, el consumo de alimento se ve afectado por la temperatura ambiental.

Temperaturas superiores a los 25 °C causan disminución del consumo de alimento e indirectamente de la producción de leche (NRC, 1981; Cummins, 1992). El aumento en la temperatura ambiental en combinación con dietas altas en fibra detergente neutra (>35%) reducen el consumo de alimento y la producción de leche (West *et al.*, 1999). En el presente trabajo la temperatura promedio mínima durante la estación de verano fue de aproximadamente 25 °C, por lo que es posible asociarla con la baja producción de leche principalmente en los meses de julio y agosto.

En la Figura 11 se aprecia el comportamiento de los índices THI durante el verano, en los cuales es evidente que las vacas sufren de estrés calórico en grado medio durante el día y un estrés calórico ligero durante la noche. También es posible apreciar que durante el mes de agosto se obtuvieron los mayores índices de temperatura-humedad y coincide con el menor promedio de producción de leche. En un estudio reportan que la producción de leche disminuye 0.2 Kg por cada unidad de incremento en THI, cuando THI excede 72 (West, 2003). Sin embargo, otros autores mencionan que la producción de leche disminuye 0.38 Kg por cada grado Celsius que aumente la temperatura ambiente después de los 18 °C (Barash *et al.*, 2001).

Tabla 5. Producción y composición de leche de vaca en los meses de invierno y verano.

Componente	INVIERNO					VERANO			
	Diciembre	Enero	Febrero	Promedio de época	Junio	Julio	Agosto	Promedio de época	
PL ¹ Kg/día	18.0 ^{ab} ±0.6	18.7 ^a ±0.7	20.0 ^a ±0.7	18.9 ^{ab} ±0.4	18.7 ^a ±0.8	15.3 ^{bc} ± 0.8	13.4 ^c ± 0.7	15.8 ^b ± 0.5	
% grasa	2.87 ^a ±0.18	2.87 ^a ±0.18	2.35 ^{bc} ±0.15	2.69 ^{ab} ±0.10	1.95 ^b ±0.12	1.95 ^b ±0.12	1.85 ^b ±0.11	1.91 ^b ±0.06	
%Proteína	3.50 ^a ±0.05	3.52 ^a ±0.05	3.35 ^{ab} ±0.04	3.45 ^{ab} ±0.03	3.13 ^b ±0.06	3.36 ^{ab} ±0.06	3.53 ^a ±0.06	3.34 ^b ±0.03	
%Lactosa	4.54 ^a ±0.02	4.41 ^{ab} ±0.03	4.28 ^b ±0.04	4.41 ^{ab} ±0.02	4.35 ^b ±0.03	4.27 ^b ±0.04	4.27 ^b ±0.05	4.30 ^b ±0.02	
% Sólidos totales	11.9 ^a ±0.20	11.7 ^a ±0.21	10.9 ^b ±0.16	11.5 ^{ab} ±0.11	10.3 ^b ±0.16	10.5 ^b ±0.18	10.5 ^b ±0.16	10.4 ^b ±0.09	

Letrales diferentes en la misma fila indican diferencia significativa (P<0.05)

¹Producción de leche

Porcentaje de grasa en leche

En la Tabla 5 se observa que los porcentajes promedio de grasa durante el invierno y verano son estadísticamente diferentes (2.69 ± 0.10 vs 1.91 ± 0.06). En el verano el porcentaje de grasa en leche no rebasa el 2% además, existe una amplia variabilidad en los porcentajes de grasa encontrados en nuestro estudio, entre estaciones e incluso dentro del mismo mes. De manera similar, Kelsey *et al.* (2003) reportaron que el porcentaje de grasa en leche varió en un rango de 1.9 a 5.7% para la raza pardo suizo y de 2 a 6.1% para la raza Holstein, aun consumiendo la misma dieta.

Los porcentajes de grasa en los meses de verano y en febrero se encuentran por debajo del valor mínimo para grasa en leche de vaca (2.6%), considerado por la SAGARPA (2000). La diferencia en la variabilidad de los porcentajes de grasa podría explicarse en parte por las altas temperaturas ambientales presentes en los meses de verano (>30 °C), las cuales provocan disminución en el consumo de alimento e implícitamente de la producción de leche y sus componentes (NRC, 1981).

El porcentaje de grasa en leche se ve disminuido cuando existe producción del isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA a nivel ruminal (Bauman *et al.*, 1999). Este isómero es capaz de reducir la síntesis de ácidos grasos hasta en un 50% (Loor y Herbein, 2003). Al igual que el isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA, el *trans*-10, *cis*-12 CLA tienen como precursor a los ácidos grasos linoleico y linolénico, los cuales son comunes en granos y forrajes utilizados comúnmente en la alimentación de las vacas lecheras. Sin embargo, para que la producción del isómero *trans*-10, *cis*-12 CLA pueda efectuarse, es necesario un pH ácido en el rumen además de la presencia de ácidos grasos poliinsaturados (Griinari *et al.*, 1998).

La disminución en el porcentaje de grasa durante los meses de verano y febrero, puede estar relacionada con la disminución en la producción de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) producidos en el rumen. El acético y el butírico son las unidades de construcción de los ácidos grasos de cadena corta que se encuentran en leche, los cuales representan alrededor de 50% del total de ácidos grasos en leche. La falta de fibra en la dieta o un bajo consumo de alimento pueden provocar una disminución en la formación de acetato y butirato, provocando disminución en el porcentaje de grasa en leche (Zebeli *et al.*, 2006). En un estudio realizado por West *et al.* (1999), evaluaron la producción y composición de la leche en dos periodos con clima frío (23 °C) y con clima caliente (28 °C). Los tratamientos consistieron en tres niveles de fibra detergente neutra en la dieta de las vacas. El porcentaje de grasa no fue diferente entre los dos periodos. Sin embargo, existe una relación lineal positiva entre el porcentaje de grasa y la cantidad de fibra e inversa respecto a la producción de leche.

Porcentaje de proteína en leche

El porcentaje de proteína en verano fue significativamente menor (3.34%) respecto al porcentaje producido en invierno 3.45% (Tabla 5). En el mes de junio se produjo el porcentaje mas bajo de proteina (3.13 %), aunque no hay diferencia con los meses de julio y febrero, donde el porcentaje de proteína fue de 3.36 % y 3.35 % respectivamente. El porcentaje de proteína en los meses de agosto, diciembre y enero fue de 3.5 %, no habiendo diferencia con los meses de julio y febrero, pero si con junio. Algunos autores como Knapp y Grummer, (1990) estudiaron el efecto del estrés calórico sobre la producción y composición de la leche y concluyeron que las vacas con estrés calórico disminuyen su producción de leche y el porcentaje de proteina. Esta conclusión concuerda con los resultados obtenidos en nuestro trabajo, cuando se analizan

los datos en conjunto para el verano. En el caso del porcentaje de proteína, se cubre satisfactoriamente en todos los meses el valor mínimo (2.4%) para leche de vaca estipulado por SAGARPA (2000).

Porcentaje de lactosa en leche

El porcentaje de lactosa en verano (4.3) fue significativamente menor ($P < 0.05$) que el porcentaje de lactosa en invierno, el cual fue de 4.4 (Tabla 5). El mayor porcentaje de lactosa se produjo en el mes de diciembre (4.5) y es diferente significativamente de todos los meses de muestreo a excepción de febrero en el que la producción fue de 4.4%. Auldíst *et al.* (1998) reportan que existen variaciones en la concentración de lactosa en leche, siendo menor en los meses de invierno, comparada con el verano.

Porcentaje de sólidos totales en leche

El porcentaje de sólidos totales, que engloba los porcentajes de grasa, proteína, lactosa, vitaminas, minerales y proteínas del suero son iguales estadísticamente a los meses de diciembre y enero con 11.9 % y 11.75 respectivamente (Tabla 5). Durante los meses de verano y el mes de febrero la cantidad de sólidos totales fue muy baja y no se alcanzó el 10.6% de sólidos totales propuesto por SAGARPA (2000), como parámetro mínimo. A pesar de la alta variabilidad en la concentración de sólidos totales, así como en sus componentes (porcentajes de grasa, lactosa y proteína) cuantificados en este trabajo, son similares a los reportados por otros autores en diferentes sistemas de producción y alimentación (Shingfield *et al.*, 2005; Bell *et al.*, 2006).

Factores que afectan la concentración de ácidos grasos en base al modelo propuesto

La producción y composición de la leche esta regulada por una serie de hormonas que se activan al momento del parto. Sin embargo, tanto la producción y la composición de la leche pueden ser afectadas por factores externos como la alimentación, la estación del año o el mes de producción. Así mismo existen factores intrínsecos relacionados con el número de parto, los días después del parto (DIM) o la cantidad de leche producida que tienen un efecto sobre la calidad de la leche.

El procedimiento Proc Mixed del programa SAS permitió realizar un análisis de varianza ajustado del perfil de ácidos grasos y CLA en leche, por medio de un modelo lineal mixto. El cual incluyó como efectos fijos a época del año, mes anidado en época, número de parto y como efectos aleatorios a días en leche con efecto lineal y cuadrático, así como producción de leche. Los niveles de significancia para cada uno de los ácidos grasos de la leche de acuerdo a los términos del modelo son presentados en la Tabla 6.

Tabla 6 Nivel de significancia para los ácidos grasos de la leche acorde a el modelo ajustado

Ácido graso	Términos del modelo ajustado					
	Época	Mes (estación)	Parto	DIM	DIM ²	PL
C4:0	*	**	NS	NS	NS	NS
C6:0	**	**	NS	NS	NS	NS
C8:0	**	**	*	*	*	NS
C10:0	**	**	**	*	*	NS
C12:0	*	**	*	NS	NS	NS
C14:0	*	**	*	NS	NS	NS
C14:1	**	NS	NS	NS	NS	*
C15:0	NS	**	*	NS	NS	NS
C16:0	**	*	*	NS	NS	NS
C16:1	NS	0.064	*	*	*	NS
C17:0	NS	**	NS	NS	NS	NS
C18:0	*	*	NS	NS	NS	NS
C18:1, t11	*	**	*	NS	NS	NS
C18:1, c9	**	**	NS	NS	NS	NS
C18:2 ¹	**	**	*	NS	NS	*
C18:3 ³	**	**	NS	NS	NS	NS
c9, t11CLA ⁴	**	**	*	0.051	0.070	NS
C20:0	*	**	NS	NS	NS	NS
Otros	NS	NS	*	NS	NS	NS
Σ Saturados	**	**	NS	NS	NS	NS
Σ Monoinsaturados	**	**	NS	NS	NS	NS
Σ Poliinsaturados	**	**	*	NS	NS	*
Índice de desaturación						
cis-9 14:1	**	*	NS	NS	NS	*
cis-9 16:1	*	*	NS	*	*	NS
cis-9 18:1	**	**	NS	*	*	NS
c-9, t-11 CLA	**	**	NS	*	*	NS

1 Ácido linoleico

2 Días en leche en forma cuadrática

3 Ácido linolenico

4 Ácido linoleico conjugado: isómero cis-9, trans-11

* = P < 0.05

** = P < 0.001

NS = No significativo

La mayoría de los ácidos grasos se ven afectados significativamente por la época del año y mes dentro de época. El número de parto y días en leche en término lineal y cuadrático también tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la concentración de los ácidos grasos como C8:0, C10:0 y C16:1. Las concentraciones de los ácidos grasos mencionados sufren variaciones entre un parto y otro, además de que aumentarían su concentración a medida que aumente la producción de leche, el aumento no será permanente y disminuirá aunque la producción de leche siga en aumento. El nivel de producción de leche solo afecta ($P < 0.05$) a los ácidos grasos linoleico y miristoleico, indicando que el nivel de producción no es un factor que altere la concentración de la mayoría de los ácidos grasos en la leche (Tabla 6).

Los días en leche (DIM) son un factor que afecta la concentración de CLA y se considera significativo a un nivel de probabilidad de 0.051 en forma lineal, mientras que en su forma cuadrática es significativo a un nivel de probabilidad de 0.07. Los efectos de DIM cuadrático y lineal, se consideraron significativos a los niveles de probabilidad mencionados, ya que explican una tercera parte (33%) de la variabilidad en la concentración del CLA. El nivel de producción es un factor que no afecta ($P > 0.05$) la concentración de CLA en leche. Sin embargo, otros factores como la estación del año, el mes dentro de estación del año y el número de parto sí influyen ($P < 0.05$) sobre la concentración de CLA en leche. Debido a que el ácido graso palmitoleico puede ser un precursor del CLA a través de procesos de elongación en la glándula mamaria, se consideró significativo a un nivel de probabilidad de (0.064) para el factor mes dentro de estación.

En el caso de la sumatoria de ácidos grasos saturados, mono-insaturados y poli-insaturados, la época y el mes tuvieron un efecto ($P < 0.05$) en el modelo. Sin embargo, la sumatoria de los ácidos grasos saturados y mono-insaturados no es afectada ($P > 0.05$) por el número de parto, los días en leche en forma lineal o cuadrática, así como por el nivel de producción de leche.

Mientras que para la sumatoria de ácidos grasos poli-insaturados hay un efecto significativo por parto y producción de leche en el modelo.

En lo que respecta a los índices de desaturación, se ven afectados significativamente ($P < 0.05$) por la época, y el mes dentro de estación. El parto es uno de los factores que no tiene ninguna influencia ($P > 0.05$) sobre los índices de desaturación. Los índices de desaturación para los ácidos grasos palmitoleico, oleico y CLA son afectados significativamente ($P < 0.05$) por los días en leche en forma lineal y cuadrática. Por otro lado, la producción de leche afecta de manera significativa ($P < 0.05$) al índice de desaturación del ácido miristoleico, no afectando el índice de desaturación de los otros ácidos grasos.

Composición de Ácidos Grasos de la Leche de Vaca.

En el presente estudio se realizaron los análisis de ácidos grasos en 240 muestras de leche, que corresponden al mismo número de vacas. La composición de ácidos grasos promedio, el error estándar y el intervalo de confianza por época se presentan en la Tabla 7. Es posible observar un efecto significativo en la mayoría de los ácidos grasos, indicando que la época del año puede ser un factor que modifique las concentraciones de los ácidos grasos en la leche.

Ácidos grasos de cadena corta

En rumiantes, los principales precursores para la síntesis de ácidos grasos de cadena corta son: el acetil-CoA, acetato y butirato, los cuales son derivados de la degradación de celulosa, almidones y grasas efectuada por bacterias a nivel ruminal. Aproximadamente el 50% de los ácidos grasos de la leche son de cadena corta, los cuales son sintetizados en el hígado a nivel mitocondrial, usando como precursores acetil-CoA que es convertido en el citoplasma a malonil-CoA y el β -hidroxibutirato (Mathews y Van Holde. 2002). En la ruta de malonil CoA se produce el 100% de los ácidos grasos capríco (C10:0), laúrico (C12:0), mirístico (C14:0) y 50% de palmítico (C16:0). Sin embargo, el butírico (C4:0), caproico (C6:0) y Caprílico (C8:0) son sintetizados por la vía del β -hidroxibutirato, sin pasar por la vía del malonil CoA (Fox y McSweeney. 1998).

En la Tabla 7 se presentan la concentración promedio de los ácidos grasos de cadena corta, los cuales son en su mayoría saturados. Se puede observar que las concentraciones de todos los ácidos grasos, desde butírico (C 4:0) hasta palmítico (C16:0) son significativamente mayores ($P < 0.05$) en la

estación de invierno, comparada con el verano. En nuestro estudio la concentración de ácidos grasos saturados fue de 665 y 588 mg/g de grasa para las estaciones de invierno y verano, respectivamente, comparable a lo reportado por otros investigadores (648 mg/g de grasa en invierno y 608 mg/g de grasa en verano; Lock y Garnsworthy, 2003).

El porcentaje de grasa en leche es uno de los componentes que más variación tiene. La alimentación es uno de los factores que puede modificar el perfil de los ácidos grasos, tal como lo indican algunos estudios. Kelly *et al.* (1998), reportan disminución en la concentración de ácidos grasos saturados en vacas en pastoreo, comparado con la concentración de ácidos grasos en la leche de vacas estabuladas. En otro estudio reportan que la concentración de ácidos grasos saturados en leche disminuyó, cuando las vacas recibieron una dieta adicionada con aceite de girasol. La concentración fue de 470 mg de ácidos grasos saturados, significativamente menor que los 669 mg de ácidos grasos saturados producidos por la dieta control (Bell *et al.*, 2006). En otro estudio observaron una disminución en la concentración de ácidos grasos saturados en vacas que recibían una dieta con 80% de forraje, comparado con una dieta control que contenía 50 % de forraje (Ward *et al.*, 2003)

Stockdale *et al.* (2003) reportan que la cantidad de forraje ofrecido (bajo o alto) a las vacas no afectó la concentración de ácidos grasos saturados. Así mismo, tampoco encontraron diferencias entre tratamientos con presencia o ausencia de granos y buffer.

Es evidente que la concentración de ácidos grasos de cadena corta (saturados), son afectados por diferentes componentes de la dieta. Sin embargo, es necesario tomar en cuenta que todos los ácidos grasos de cadena corta son sintetizados de manera endógena por medio de la acetil-CoA y de la β -hidroxibutirato.

Tabla 7 Composición de grasa láctea de vaca en mg de ácido graso por gramo de grasa

Ácido graso	Invierno		Verano		P
	Media ± EE	IC	Media ± EE	IC	
C4:0	1.80 ± 0.18	1.44 – 2.14	0.90 ± 0.12	0.67 – 1.13	*
C6:0	9.69 ± 0.25	9.19 – 10.18	6.45 ± 0.30	5.86 – 7.03	**
C8:0	10.36 ± 0.14	10.07 – 10.64	8.28 ± 0.18	7.90 – 8.64	**
C10:0	26.10 ± 0.40	25.30 – 26.90	21.21 ± 0.41	20.40 – 22.02	**
C12:0	31.70 ± 0.48	30.74 – 32.65	27.74 ± 0.45	26.85 – 28.63	*
C14:0	109.05 ± 0.97	107.13 – 110.96	100.53 ± 1.01	98.51 – 102.54	*
C14:1	8.71 ± 0.21	8.29 – 9.13	11.83 ± 0.28	11.27 – 12.39	**
C15:0	11.53 ± 0.13	11.28 – 11.78	11.69 ± 0.19	11.30 – 12.08	NS
C16:0	332.31 ± 2.37	327.62 – 337.00	299.90 ± 2.73	294.54 – 305.37	**
C16:1	14.04 ± 0.30	13.45 – 14.63	15.97 ± 0.38	15.22 – 16.72	NS
C17:0	6.09 ± 0.10	5.88 – 6.30	5.54 ± 0.11	5.32 – 5.75	NS
C18:0	125.18 ± 1.63	121.90 – 128.42	105.86 ± 1.68	102.50 – 109.21	*
C18:1, t11	9.64 ± 0.23	9.17 – 10.11	8.18 ± 0.28	7.62 – 8.73	*
C18:1, c9	237.75 ± 2.50	232.80 – 242.70	288.23 ± 2.77	282.70 – 293.70	**
C18:2 ¹	22.79 ± 0.29	22.21 – 23.37	39.59 ± 0.84	37.92 – 41.26	**
C18:3 ²	2.82 ± 0.08	2.65 – 2.98	4.37 ± 0.09	4.18 – 4.56	**
c9, t11CLA ³	7.03 ± 0.29	6.46 – 7.59	9.36 ± 0.28	8.81 – 9.91	**
C20:0	1.25 ± 0.07	1.10 – 1.39	0.68 ± 0.08	0.51 – 0.84	*
Otros	32.62 ± 0.30	32.01 – 33.22	33.12 ± 0.63	31.86 – 34.38	NS
T Sat ⁴	665 ± 28.8	659.8 – 670.3	588.8 ± 41.4	581.3 – 596.3	**
T MUFA ⁵	270.1 ± 25.3	265.6 – 274.7	324.2 ± 31.2	318.5 – 329.9	**
T PUFA ⁶	32.3 ± 4.0	31.5 – 33.0	53.8 ± 11.2	51.7 – 55.8	**

¹Ácido linoleico

²Ácido linolénico

³Ácido linoleico conjugado: isómero *cis*-9, *trans*-11

⁴ Sumatoria de ácidos grasos saturados

⁵ Sumatoria de ácidos grasos monoinsaturados

⁶ Sumatoria de ácidos grasos poliinsaturados

* = P < 0.05

** = P < 0.001

NS = No significativo

N = 240 vacas (120 en invierno y 120 en verano)

Ácidos grasos de cadena media y larga

Los ácidos grasos de cadena media como el palmitico y el 100% de los ácidos grasos de cadena larga son sintetizados en la glándula mamaria. Son derivados de los lípidos sanguíneos (quilomicrones, triglicéridos, ácidos grasos libres y ésteres de colesterol), los cuales se forman por medio de reacciones de elongación y oxidaciones (Fox y McSweeney, 1998).

En la Tabla 7 se desglosan las concentraciones de los ácidos grasos de cadena media y larga, que en su mayoría pueden ser clasificados como insaturados. Los ácidos grasos insaturados se producen en mayor concentración en la estación de verano, y son significativamente mayores que la producción de ácidos grasos insaturados en invierno. Estos cambios son principalmente debidos al efecto de las dietas sobre la concentración de ácidos grasos como se reporta en otros estudios en donde se observan incrementos en las concentraciones de ácidos grasos insaturados cuando las vacas reciben dietas adicionadas con aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados (Abu Ghazaleh *et al.*, 2002; Bell *et al.*, 2006).

Ácido linoleico conjugado (CLA)

El contenido del isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA fue de 9.36 mg/g de grasa en leche durante verano y fue mayor ($P < 0.05$) respecto al contenido del CLA en invierno que fue de 7.03 mg/g de grasa (Tabla 7). En este sentido, en el verano se produce un 32% más CLA, comparado con el invierno. El aumento en la concentración de CLA en el verano pudiera estar asociado al incremento en la proporción de ácido linolénico en la dieta (Tabla 4).

Son pocos los trabajos publicados en los que se toma como uno de los factores principales la variación estacional. Así, Lock y Garnsworthy, (2003) evaluaron la concentración de CLA en leche en todos los meses del año a excepción del mes de enero, los autores reportan un efecto significativo en la concentración de CLA por efecto de época. Al igual que en nuestro trabajo ellos reportan que la concentración de CLA en verano fue de 13.3 mg/g de grasa, significativamente mayor ($P < 0.05$) que en invierno, donde se produjeron 7.5 mg de CLA/g de grasa, aunque las temperaturas no son tan extremas como las que tenemos en la costa de Hermosillo. Los reportes meteorológicos de la Universidad de Nottingham donde fue realizado el estudio de Lock, indican que la temperatura promedio del verano fue de 14.4 °C y la de invierno de 6.4 °C. Sin embargo, es preciso mencionar que en invierno las vacas se encontraban confinadas y que recibieron una dieta integral, mientras que en el verano fueron movidas a un sistema de producción en pastoreo. Así pues, las diferencias encontradas por época del año, pueden atribuirse al sistema de producción.

Por otro lado, Thorsdottir *et al.* (2004) investigaron la variación estacional del isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA en países nórdicos (Dinamarca, Finlandia, Islandia, Noruega y Suiza). La concentración de CLA en verano fue de 6.8 mg/g de grasa, mientras que en invierno fue de 4.8 mg/g de grasa. A pesar de que no hacen mención de las temperaturas ambientales, de acuerdo a reportes encontrados (www.worldclimate.com) se tiene que las temperaturas promedio

para la estación de invierno en estos países es de $-2.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y para verano un promedio de $13.74\text{ }^{\circ}\text{C}$, siendo por tanto menores que las que se pueden encontrar en Hermosillo durante el invierno. Aunque la producción de CLA mantiene patrones similares en verano e invierno.

Una característica peculiar en las dietas proporcionadas en los trabajos de Lock y Garnsworthy, (2003), así como en el de Thorsdottir *et al.* (2004) es que la alimentación de las vacas durante el verano fue en pastoreo y en invierno les proporcionaron dietas integrales en sistemas estabulados. En nuestro caso, las vacas se mantuvieron en confinamiento todo el año. Además, de que trataron de mantener la relación forraje concentrado y el aporte de energía en las dietas proporcionadas en ambas estaciones del año. Sin embargo, la dieta de verano contenía una mayor cantidad de alfalfa, mientras que en invierno se incrementaba la proporción de ensilado de maíz (Tabla 1). Estos ajustes se realizan normalmente dependiendo de la disponibilidad de los ingredientes y para estimular el consumo de alimento en verano, que se ve disminuido por estrés calórico, lo cual no sucede en invierno.

Los cambios en la composición de la dieta entre invierno y verano, además de obedecer a la disponibilidad de ingredientes entre estaciones, también se considera como una estrategia de alimentación. En verano las vacas disminuyen su consumo de alimento (fibra) por el estrés calórico, debido a que la fibra genera demasiado calor durante su proceso de digestión. Es por ello que el uso de un forraje apetecible como la alfalfa asegura el consumo mínimo de fibra en verano y evita la presencia de problemas metabólicos. Mientras que en invierno disminuye la producción de forraje (alfalfa) y las vacas se encuentran libres de estrés calórico, es posible el uso de grandes cantidades de ensilado de maíz. A pesar de las diferencias en algunos de los ingredientes de la dieta de invierno, respecto a la de verano, los análisis químicos practicados a las dietas muestran que son muy similares en sus aportes de energía, fibras y proteína (Tabla 3).

Respecto a las concentraciones de CLA por mes, no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los meses de diciembre, enero y febrero. Sin embargo, la concentración de CLA en el mes de febrero no fue significativa con el mes de julio, pero sí fue significativa respecto a los meses de junio y agosto (Tabla 8). La diferencia en la concentración del CLA entre los meses de verano e invierno pudo deberse a una alteración de la dinámica ruminal propiciada por los componentes de la dieta en sus respectivas estaciones (Kay *et al.*, 2005).

Se sabe que la adición de granos en la alimentación de las vacas reduce el pH ruminal, afectando la actividad de la flora propia del rumen. Además, en invierno se sustituyó aproximadamente el 50% de la fuente de forraje, cambiando alfalfa por ensilado de maíz. Éste último componente es fuente de ácido láctico, el cual se forma durante el proceso del ensilaje y puede contribuir en la reducción del pH ruminal. Por lo tanto, la ausencia de ensilado de maíz en verano, favorece el aumento del pH ruminal y la actividad de la bacteria *Butirivibrio fibrisolvens* encargada de la formación de CLA en el rumen. Dicha bacteria requiere de un pH de 7.5 para expresar su máximo potencial en la formación del CLA (Kim *et al.*, 2000). Los forrajes estimulan la rumia y masticación. Este proceso produce saliva que ayuda a mantener el pH ruminal con tendencia hacia la neutralidad, favoreciendo indirectamente la actividad de la bacteria *Butirivibrio fibrisolvens* responsable de la formación del CLA a nivel ruminal. Además de la presencia de un factor (alimentación, tamaño de partícula de los ingredientes) que promueva la tasa de pasaje de ácido vaccénico (precursor del CLA) a la glándula mamaria (Griinari *et al.*, 2000; Kay *et al.*, 2004).

La concentración de CLA mostró un amplio rango de variación dentro de la misma estación del año, aun cuando las vacas reciben la misma dieta. Este comportamiento ha sido reportado por varios autores (Donovan *et al.*, 2000; Lawless *et al.*, 1999; Bell *et al.*, 2006). La distribución de frecuencias para las

concentraciones de CLA se presentan en la Figura 13. En invierno el 85% de la vacas produjo leche con concentraciones de CLA entre 5 y 8.99 mg/g de grasa. Mientras que en verano el 73% las vacas produjo leche con un contenido de CLA de 7 a 12.99 mg /grasa y solo el 12.5% de las vacas en verano produjo mas de 13 mg de CLA/g de grasa.

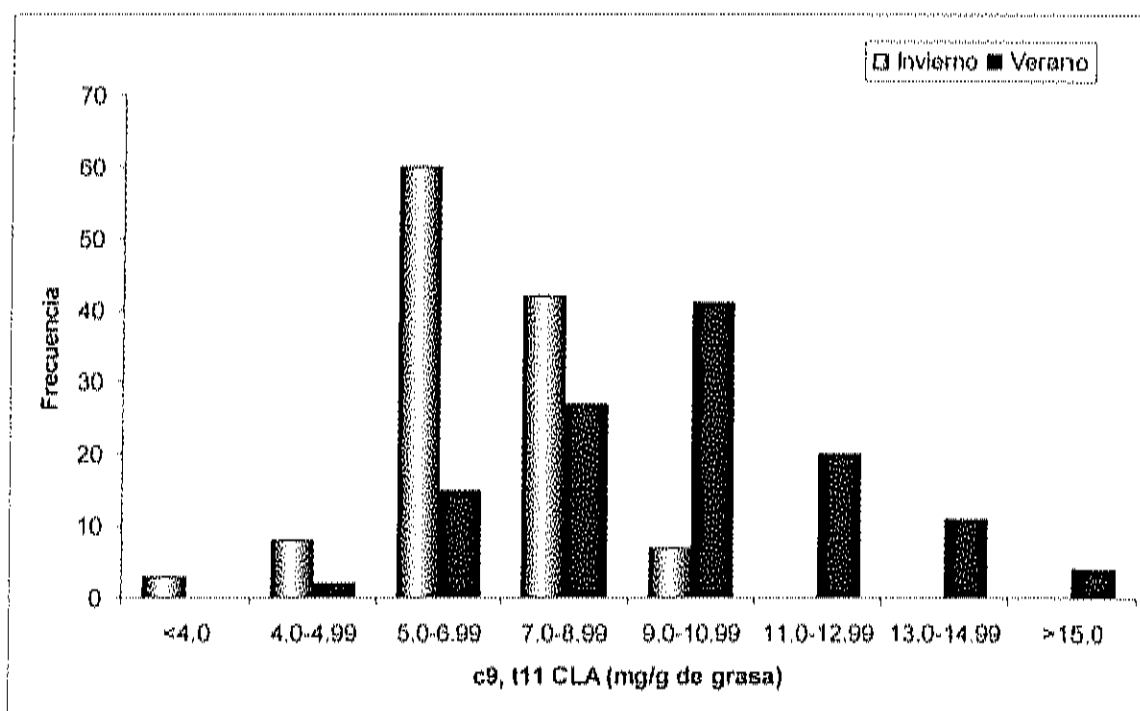


Figura 13. Distribución de frecuencias para el isómero *cis-9, trans-11* CLA en invierno y verano

El número de parto mostró tener un efecto significativo ($P < 0.05$) en la concentración de CLA en leche. En nuestro estudio, las vacas de primer parto produjeron más CLA respecto a las multíparas tardías, mientras que la concentración del CLA en las multíparas tempranas fue similar a la concentración de CLA en vacas primíparas y multíparas tardías (Tabla 8). En la mayoría de los estudios reportados en donde han evaluado las concentraciones de CLA en leche de vacas, el número de animales es limitado, por lo que se restringen a tomar vacas primíparas o multíparas para homogenizar sus tratamientos (Abu-Ghazaleh *et al.*, 2002; Kay *et al.*, 2005; Bell *et al.*, 2006).

Kelsey *et al.* (2003) reportaron que no hubo diferencias significativas en la concentración de CLA entre vacas primíparas y multiparas.

Tabla 8 Concentración de ácido linoleico conjugado en leche de vaca por número de parto y mes de muestreo

Parto	Promedio ± EE
Primíparas	8.74 ^a ± 0.21
Multiparas tempranas ¹	8.15 ^{ab} ± 0.20
Multiparas tardías ²	7.71 ^b ± 0.25
Mes de muestreo	
Junio	10.21 ^a ± 0.37
Julio	7.99 ^b ± 0.38
Agosto	9.89 ^a ± 0.38
Diciembre	6.87 ^c ± 0.38
Enero	6.97 ^c ± 0.40
Febrero	7.27 ^{bc} ± 0.37

¹ vacas de segundo y tercer parto

² Vacas de cuarto a sexto parto

Letras diferentes en la columna representan diferencia significativa (P<0.05)

En el análisis realizado para evaluar la concentración de CLA por número de parto se englobaron a vacas de las mismas características, no habiendo distinción de la estación del año. Derivado de la comparación y análisis con otros trabajos publicados, nuestros resultados sugieren que posiblemente la variación encontrada en la concentración de CLA en vacas de diferente parto se debe al orden jerárquico que guardan las vacas dentro de cada corral. En donde las vacas de mayor edad, peso y estatura son las primeras en alimentarse (Phillips y Rind, 2002). Las vacas dominantes pueden consumir mayor cantidad de concentrado, provocando disminución del pH ruminal, siendo este un factor adverso para la formación del CLA. Es por ello que las vacas multiparas producen menos CLA que las primíparas.

Índice de desaturación

El índice de desaturación es usado como un estimador de la actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa, la cual se encarga de mantener la fluidez de las membranas celulares (Perfield II *et al.*, 2002). Esta tarea la lleva a cabo introduciendo una doble ligadura entre los carbonos 9 y 10. La actividad de la enzima puede ser medida por la relación entre los productos y sustratos de ciertos ácidos grasos. Los cuatro productos principales de la enzima Δ^9 -desaturasa son C14:1, C16:1, C18:1 *cis*-9 y CLA, los cuales son producidos a partir de los ácidos grasos mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), oleico (C18:1) y váccenico (C18:1 *trans*-11), respectivamente (Bauman *et al.*, 1999).

La relación entre los productos y sustratos fue calculada para cada ácido graso, para el caso del miristoleico es $C14:1/(C14:1+C14:0)$, para el palmitoleico $C16:1/(C16:1+C16:0)$, para el oleico $C18:1/(C18:1+C18:0)$ y para el *cis*-9, *trans*-11 CLA es: $cis-9, trans-11\text{ CLA}/(cis-9, trans-11\text{ CLA} + C18:1\text{ trans-11})$. El mejor indicador de la actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa es esta relación con C14:1:C14:0 debido a que todo el mirístico proviene de la síntesis *de novo* en la glándula mamaria y la única forma de obtener el miristoleico es teniendo al mirístico de sustrato (Lock y Garnsworthy, 2003).

En la Tabla 9, se presentan los índices de desaturación para 4 ácidos grasos mencionados, los cuales son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) entre las épocas de invierno y verano. Aparentemente la enzima Δ^9 -desaturasa es más activa en la época de verano en los ácidos grasos seleccionados. Sin embargo, los índices de desaturación son bajos en los ácidos grasos miristoleico y palmitoleico, comparados con oleico y CLA. Kelsey *et al.* (2003) reportaron índices de desaturación de 0.06, 0.04 y 0.67 para C14:1, C16:1 y C18:1, respectivamente. Lo cual indica que puede haber un mismo patrón en la actividad de la enzima Δ^9 -desaturasa, debido a que en nuestro estudio los

Índices de desaturación en invierno fueron: 0.07, 0.04 y 0.65 para C14:1, C16:1 y C18:1, respectivamente.

Tabla 9 Índices de desaturación en invierno y verano¹

Índice de desaturación	Invierno		Verano		P
	Media ± EE	IC	Media ± EE	IC	
Cis-9 14:1	0.074 ± 0.001	0.071 – 0.077	0.104 ± 0.002	0.100 – 0.109	**
Cis-9 16:1	0.040 ± 0.001	0.038 – 0.042	0.05 ± 0.001	0.048 – 0.052	**
Cis-9 18:1	0.65 ± 0.002	0.65 – 0.66	0.73 ± 0.003	0.72 – 0.73	**
C-9, t-11 CLA	0.41 ± 0.007	0.39 – 0.42	0.55 ± 0.008	0.53 – 0.57	**

¹Calculado como la relación entre el producto de la Δ^9 -desaturasa dividido por la sumatoria de los sustratos de la Δ^9 -desaturasa. Por ejemplo: (cis-9 16:1)/(cis-9 16:1 + 16:0).

** P<0.001

Con respecto al isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA, el índice de desaturación invierno fue menor (P<0.05) respecto al obtenido en verano (Tabla 9). Ambos valores de índice de desaturación fueron mayores que los reportados en estudios previos (0.15 a 0.29, Lock *et al.* 2005; Kelsey *et al.*, 2003, respectivamente). La diferencia en los valores de índice de desaturación puede estar relacionada con el sistema de producción, tipo de dieta y época del año, es por ello que es muy variable entre un estudio y otro.

En nuestro estudio, las concentraciones de CLA, así como de los ácidos grasos miristoleico y oleico en verano concuerdan con el índice de desaturación (actividad enzimática) significativamente mayor (P<0.05) en verano, comparado con invierno.

Correlaciones entre CLA y variables de producción

El análisis de ácidos grasos por medio del modelo de regresión lineal múltiple, proporcionan una idea de los factores que pueden influenciar la concentración de un ácido graso en particular. Sin embargo, es posible correlacionar algunos de los factores de producción o composición de la leche con una variable de interés como es el caso de CLA. En la Figura 14, se puede observar la correlación entre la concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 con los días en leche. Al conjunto de datos se les aplicó una línea de tendencia cuadrática y se obtuvo un coeficiente de determinación de 0.338 para esta ecuación en particular. La R^2 nos indica que el avance de los días en leche pueden explicar un 33.8% de la variabilidad en la concentración del CLA.

En nuestro caso el factor días en leche, explica un tercio de la variación total del CLA, comparado con estudios previos en donde este mismo factor solo es capaz de explicar menos del 10% de la variación en la concentración de CLA. Por ejemplo: Lock *et al.* (2005) correlacionaron datos de días en leche con la concentración de CLA y obtuvieron un coeficiente de determinación de 0.08 con un modelo de regresión lineal simple. En otro estudio reportan un coeficiente de determinación de 0.07 entre los días en leche y la concentración del CLA (Kelsey *et al.*, 2003).

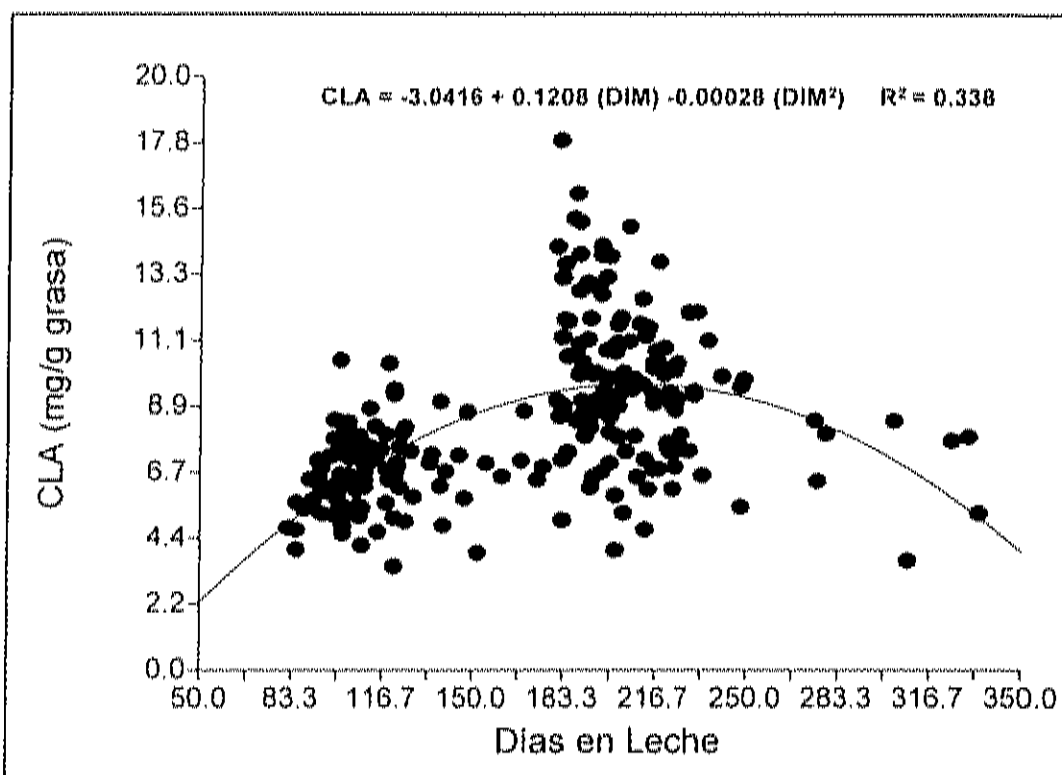


Figura 14. Relación entre los días en leche y la concentración de CLA

La correlación entre la producción de leche y la concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA se puede observar en la Figura 15. Es posible corroborar lo obtenido en el modelo lineal mixto, en donde la producción de leche no fue significativa ($P > 0.05$) para el CLA. La línea de tendencia de la regresión lineal, muestra en efecto negativo sobre la concentración del CLA a medida que aumenta el volumen de producción. Sin embargo, el coeficiente de determinación es de (0.017) para producción de leche. Estudios previos realizados por Keysey *et al.* (2003), reportan un coeficiente de determinación de 0.01 para la relación entre la producción de leche y la producción de CLA, siendo esta relación de carácter positivo. Un coeficiente de determinación negativo con valor de 0.029 fue reportado para la relación entre la producción de leche y la concentración de CLA por Lock *et al.* (2005).

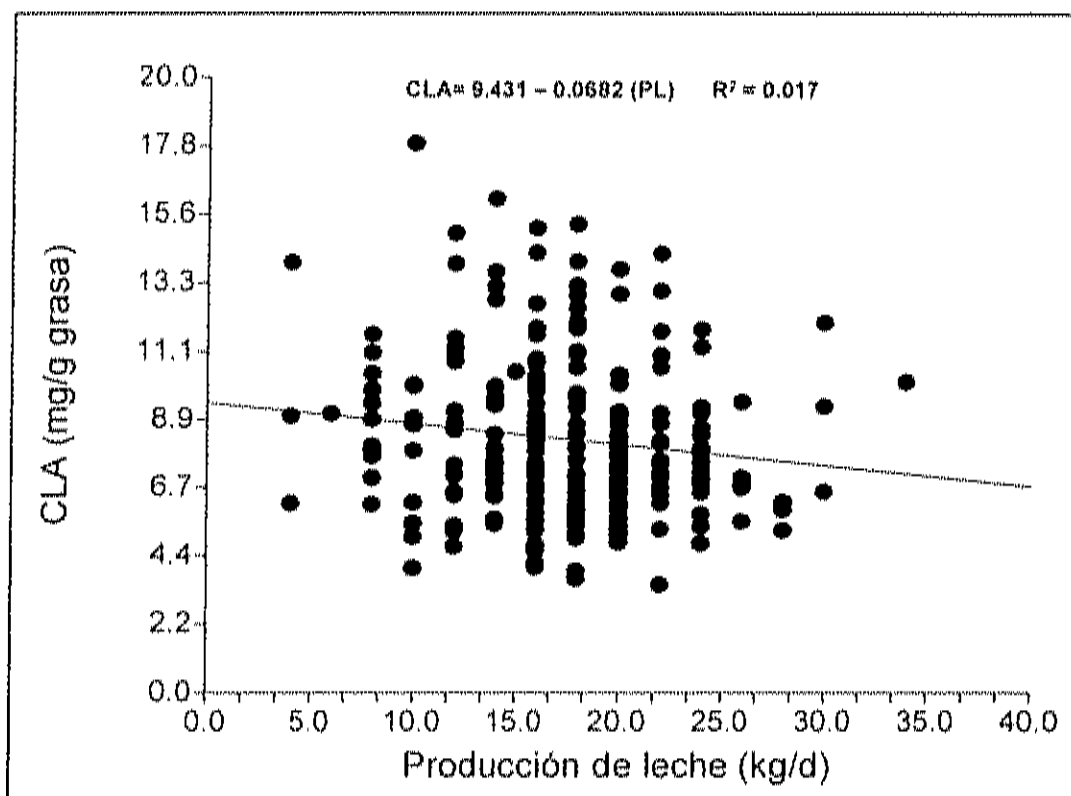


Figura 15. Relación entre la producción de leche y la concentración de CLA

La correlación entre la concentración del CLA y el porcentaje de grasa es negativa, de tal forma que existe una reducción aparente ($P > 0.05$) en la concentración de CLA en función de un aumento en la concentración de grasa en la leche (Figura 16). El coeficiente de determinación fue de 0.063 para el caso de porcentaje de grasa. Otros autores reportan una correlación positiva entre el porcentaje de grasa en leche y la concentración de CLA, aunque el coeficiente de determinación es de 0.01 (Lock *et al.*, 2005). Por otro lado Kelsey *et al.* (2003) reportaron un comportamiento similar al nuestro en la relación CLA con respecto al porcentaje de grasa. La concentración de CLA se ve disminuida a medida que aumenta el porcentaje de grasa en leche, con un coeficiente de determinación del 0.08

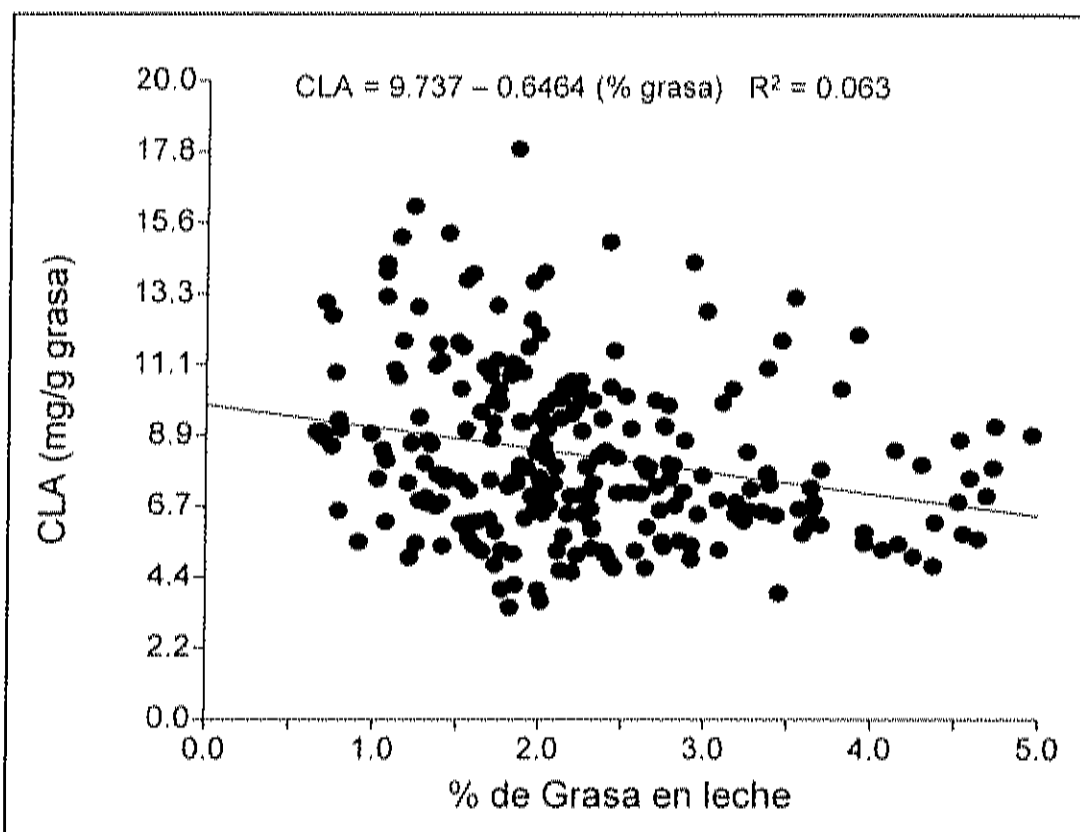


Figura 16. Relación entre el porcentaje de grasa en leche y la concentración de CLA

En base a los diferentes análisis de regresión obtenidos en este trabajo, se observó que son similares a los reportados por otros autores (Kelsey *et al.*, 2003; Lock *et al.*, 2005). En todos los casos, al igual que en el presente estudio, ninguno de los factores de producción o composición de la leche es capaz de explicar de forma contundente la variabilidad en la concentración del CLA. Sin embargo, existen factores como la época, el número de parto (Tabla 9) y la raza (Kelsey *et al.*, 2003) que pueden tener efectos positivos en la concentración de CLA en leche.

CONCLUSIÓN

La concentración del isómero *cis*-9, *trans*-11 CLA, es afectada por la estación del año, el número de parto y la etapa de lactancia. A pesar del estrés calórico del verano, las vacas produjeron mayor concentración de CLA en esta estación del año. La cantidad de CLA en leche no puede ser atribuida a la estación directamente, ya que puede ser el resultado de otros factores como la presencia de alfalfa, rica en ácidos grasos precursores del CLA (linoleico y linoleínico) durante el verano.

El aumento en la proporción de ácidos grasos insaturados y CLA en verano, así como un bajo porcentaje de grasa en leche encontrados en este estudio, podrían considerarse como parámetros de buena calidad, debido a la actual tendencia al consumo de productos bajos en grasa y especialmente bajos en grasas saturadas.

BIBLIOGRAFÍA

AbuGhazaleh A. A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, y K. F. Kalscheur. 2004. Conjugated linoleic acid increases in milk when cows fed fish meal and extruded soybeans for an extended period of time. *J. Dairy Sci.* 87:1758–1766

Alduist M.J., B.J. Walsh, N.A. Thomson. 1998. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Sci.* 65: 401-411.

AOAC (1990) Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15th Edition.

AOAC (2000) Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. 17th Edition.

Armstrong, D. V. 1994. Heat Stress Interaction with Shade and Cooling. *J Dairy Sci* 77:2044-2050

Bauman D. E., L. H. Baumgard, B. A. Corl y J. M. Griinari. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science (Proc. Am. Soc. Anim. Sci. 1999)* Online. disponible: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf>. (21 nov 2005).

Bauman D.E. 2002. Conjugated linoleic acid (CLA) and milk fat: A good news story. The University of Arizona. Arizona Dairy production conference. October. pp 47-56.

Bauman D.E., J.W. Perfield II, M.J. de Veth, y A.L. Lock. 2003. New perspectives on lipid digestion and metabolism in ruminants. *Proc. Cornell Nutr.* pp. 175-189.

Bayourthe C., F. Enjalbert, y R. Moncoulon. 2000. Effects of different forms of canola oil fatty acids plus canola meal on milk composition and physical properties of butter. *J. Dairy Sci.* 83:690–696

Belury, M.A. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22:505-31.

Bell J.A., J.M. Griinari, y J.J. Kennelly. 2006. Effect of safflower oil, flaxseed oil, monensin, and vitamin E on concentration of conjugated linoleic acid in bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 89:733-748.

Bormann J., G. R. Wiggans, T. Druet, y N. Gengler. 2002. Estimating effects of permanent environment, lactation stage, age, and pregnancy on Test-Day Yield. *J. Dairy Sci.* 2002 85: 263.

Bu D.P., J.Q. Wang, T.R. Dhiman, y S.J. Liu. 2007. Effectiveness of oils rich in linoleic and linolenic acids to enhance conjugated linoleic acid in milk from dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:998–1007.

Collier R. J., G. E. Dahl y M. J. VanBaale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89:1244–1253.

Collomb M., H. Sollberger, U. Bütikofer, R. Sieber, W. Stoll, y W. Schaeren. 2004. Impact of a basal diet of hay and fodder beet supplemented with rapeseed, linseed and sunflowerseed on the fatty acid composition of milk fat. *Int. Dairy J.* 14: 549–559

Cummins K. A. 1992. Effect of dietary acid detergent fiber on responses to high environmental temperature. *J. Dairy Sci.* 75:1465 -1471

Chichlowski M.W., J.W. Schroeder, C.S. Park, W.L. Keller, y D.E. Schimek. 2005. Altering the fatty acids in milk fat by including canola seed in dairy cattle diets. *J. Dairy Sci.* 88:3084-3094.

Chin, S. F., W. Liu, J. M. Storkson, Y. L. Ha, y M. W. Pariza. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.* 5:185-197.

Chouinard, P. Y., L. Corneau, A. Saebo, y D. E. Bauman. 1999. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2737–2745.

Christie, W. W. 1982. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.* 23:1072–1075.

Donovan. D.C., D. J. Schingoethe, R.J. Baer, J. Ryali, A.R. Hippen, y S.T. Franklin. 2000. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid and other fatty acids in milk fat from lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:2620–2628.

Elgersma A., G. Ellen, H. van der Horst, B. G. Mouse, H. Boer, y S. Tamminga. 2003. Influence of cultivar and cutting date on the fatty acid composition of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Grass and Forage Science* 58: 323–331.

Fox P.F. and P.L.H. McSweeney. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Ed. Blackie Academic and Professional. London UK.

Gonthier C., A. F. Mustafa, D. R. Ouellet, P. Y. Chouinard, R. Berthiaume, y H. V. Petit. 2005. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: Effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *J. Dairy Sci.* 88:748-756

Hara, A., y N. S. Radin. 1978. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal. Biochem.* 90:420-426.

He, M. L., P. S. Mir, K. A. Beauchemin, M. Ivan y Z. Mir. 2005. Effects of dietary sunflower seeds on lactation performance and conjugated linoleic acid content of milk. *Can. J. Anim. Sci.* 85: 75-83.

Ip, C., S. Banni, E. Angioni, G. Carta, J. McGinley, H. J. Thompson, D. Barbano, y D. E. Bauman. 1999. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 129:2135-2142.

Jahreis G., J. Fritsche, y H. Steinhart. 1997. Conjugated linoleic acid in milk fat: High variation depending on production system. *Nutrition Research.* 17(9):1479-1484.

Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851-3863.

Jensen R.G. 2002. The composition of bovine milk lipids: january 1995 to december 2000. *J. Dairy Sci.* 85:295-350.

Kay J.K., T.R. Mackle, M.J. Auldist, N.A. Thomson, y D.E. Bauman. 2004. Endogenous synthesis of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *J. Dairy sci.* 87:369-378.

Kay J.K., W.J. Weber, C. E. Moore, D.E. Bauman, L.B. Hansen, H. Chester- Jones, B.A. Crooker, y L.H. Baumgard. 2005. Effects of week of lactation and genetics selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 88:3886-3893.

Kelsey J.A., B.A. Corl, R.J. Collier, y D.E. Bauman. 2003. The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) on milk fat dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 2588-2587.

Kelly M. L., J. R. Berry, D.A. Dwyer, J.M. Griinari, P.Y. Chouinard, M. E. Amburgh y D. E. Bauman. 1998b. Dietary fatty acid sources affect conjugated linoleic acid concentrations in milk from lactating dairy cows. *J. Nutr.* 128: 881-885.

Kelly M.L., E.S. Kolver, D.E. Bauman, M.E. Van Amburgh, y D.L. Muller. 1998a. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 81: 1630-1636.

Khanal R.C. y T.R. Dhiman. 2004. Biosynthesis of conjugated linoleic acid (CLA): A Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 3(2): 72-81.

Kim Y. J., R. H. Liu, D. R. Bond y J. B. Russell. 2000. Effect of linoleic acid concentration on conjugated linoleic acid production by *Butyrivibrio fibrisolvens* A38. *Appl Environ Microbiol.* 66 (12): 5226-5230

Kolver E. S. y L. D. Muller. 1998. Performance and nutrient intake of high producing holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81:1403-1411.

Kramer, J. K. G., P. W. Parodi, R. G. Jensen, M. M. Mossoba, M. P. Yurawecz, y R. O. Adlof. 1998. Rumenic acid: a proposed common name for the major conjugated linoleic acid isomer found in natural products. *Lipids.* 33:835.

Lawless F., C. Stanton, P.L. Escop, R. Devery, P. Dillon, y J.J. Murphy. 1999. Influence of breed on bovine milk cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid. *Livest. Prod. Sci.* 62:43-49.

Lock A. L., P.C. Garnsworthy, B.A. Corl, y D.E. Bauman. 2003. Dietary manipulation of conjugated linoleic acid in ruminant products. *Proceedings of British Society of Animal Science.* pp 219-220.

Lock A.L., D.E. Bauman, y P.C. Garnsworthy. 2005. Short Communication: Effect of production variables on the cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content of cows' milk. *J. Dairy Sci.* 88:2714-2717.

Lock A.L., y P.C. Garnsworthy. 2003. Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and $\Delta 9$ -desaturase activity in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 79:47-59.

Loor J.J., and J. H. Herbein. 2003. Reduced fatty acid synthesis and desaturation due to exogenous trans-10,cis-12-CLA in cows fed oleic or linoleic oil. *J. Dairy Sci.* 86:1354-1369.

Luna P., M. Juárez, y M. A. de la Fuente. 2005. Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 88:3377-3381.

Mathews, C. K. y K.E. Van Holde. 2002. *Bioquímica.* 3a Ed. Pearson Addison Wesley.

Moore R.B., J.W. Fuquay, y W.J. Drapala. 1992. Effects of late gestation heat stress on postpartum milk production and reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 75:1877-1882.

Nagao K., N. Inoue, Y. Wang y T. Yanagita. 2003. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. *Biochem Biophys Res Commun* 310:562-566.

National Oceanic and Atmospheric Administration. 1976. Livestock hot weather stress. US Dept. Commerce, Natl. Weather Serv. Central Reg., Reg. Operations Manual Lett. C-31-76.

National Research Council. 1981. Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals. National Academy Press, Washington, DC.

National Research Council. 1988. Designing foods: Animal product options in the marketplace. National Academy Press, Washington, DC.

National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

Palmquist D.L. 1996. Utilización de lípidos en dietas de rumiantes. XII curso de especialización FEDNA. Madrid 7 y 8 de noviembre.

Pariza M. W. 2004. Perspective on the safety and effectiveness of Conjugated linoleic acid. *Am J Clin Nutr.* 79(supp1): 1132S-1136S.

Parodi P. W. 1997. Cows' milk fat components as potential anticarcinogenic agents. *J. Nutr.* 127: 1055-1060

Parodi P.W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82: 1339-1349.

Parodi, P. W. 1977. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.* 60:1550-1553.

Perfield II J.W., G. Bernal-Santos, T. R. Overton, y D. E. Bauman. 2002. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. *J. Dairy Sci.* 85:2609-2617.

Phillips C. J. C. y M. I. Rind. 2002. The Effects of social dominance on the production and behavior of grazing dairy cows offered forage supplements. *J. Dairy Sci.* 85:51-59

- Ray D.E., T.J. Halbatch, y D.V. Armstrong. 1992. Season and lactation number effects on milk production and reproduction of dairy cattle in Arizona. *J. Dairy Sci.* 75:2976-2983.
- Rego O.A., H.D.J. Rosa, P. Portugal, R. Cordeiro, A.E.S. Borba, C.M. Vouzela, y R.J.B. Bessa. 2005. Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livest Prod Sci.* 95:27-33.
- Reveneau C., C. V. D. M. Ribeiro, M. L. Eastridge, N. R. St-Pierre, y J. L. Firkins. 2005. Processing whole cottonseed moderates fatty acid metabolism and improves performance by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:4342-4355
- Secchiari P., M. Antongiovanni, M. Mele, A. Serra, A. Buccioni, G. Ferruzzi, F. Paoletti, y F. Petachi. 2003. Effect of kind of dietary fat on the quality of milk fat from Italian Friesian cows. *Livest Prod Sci.* 83:43-52.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2000. Situación actual y perspectiva de la producción de leche de ganado bovino en México 1990-2000.
- Shingfield, K.J., C.K. Reynolds, B. Lupoli, V. Toivonen, M.P. Yurawecz, P. Delmonte, J.M. Griinari, A.S. Grandison, y D.E. Beever. 2005. Effect of forage type and proportion of concentrate in the diet on milk fatty acid composition in cows given sunflower oil and fish oil. *Animal Science.* 80:225-238.
- Stanton C., F. Lawless, G. Kjellmer, D. Harrington, R. Devery, J.F. Connolly, y J. Murphy. 1997. Dietary influences on bovine milk cis-9, trans 11-conjugated linoleic acid content. *J. Food Sci.* 62:1083-1086
- Stockdale C.R., G.P. Walker, W.J. Wales, D.E. Dalley, A. Birkett, Z. Shen, y P.T. Doyle. 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. *J. Dairy Res.* 70:267-276.
- St-Pierre N. R., B. Cobanov y G. Schnitkey. 2003. Economic losses from heat stress by us livestock industries. *J. Dairy Sci.* 86:(E. Suppl.):E52-E77
- Sullivan H. M., J. K. Bernard, H. E. Amos, y T. C. Jenkins. 2004. Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil. *J. Dairy Sci.* 87:665-671
- Thorsdottir I, J Hill, y A. Ramel. 2004. Seasonal variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid content in milk fat from Nordic countries. *J. Dairy Sci.* 87:2800-2802.

Togashi K., y C. Y. Lin. 2004. Efficiency of different selection criteria for persistency and lactation milk yield. *J. Dairy Sci.* 87:1528–1535.

Van Soest, P.J., J. B. Robertson, y B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition *J. Dairy Sci.* 74: 3583- 3597.

Wahle K.W.J., S. D. Heys, y D. Rotondo. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog Lipid Res.* 43: 553-587.

Ward, A. T., k:m. Wittenberg, H.M. Froebe, R. przybylski, y L. Malcomson. 2003. Fresh forage and solin supplementation on conjugated linoleic acid levels in plasma and milk. *J. Dairy Sci.* 86:1742-1750.

West J. W., G. M. Hill, J. M. Fernandez, P. Mandebvu y B. G. Mullinix. 1999. Effects of dietary fiber on intake, milk yield, and digestion by lactating dairy cows during cool or hot, humid weather. *J. Dairy Sci.* 82:2455–2465

West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131–2144.

White S.L., J.A. Bertrand, M.R. Wade, S. P. Washburn, J.T. Green Jr. y T.C. Jenkins. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture o total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84: 2295-2301.

Zebeli Q., M. Tafaj, H. Steingass, B. Metzler y W. Drochner. 2006. Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 89:651–668