



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACIÓN DE ACEITE DE SOYA SOBRE LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE DE VACA HOLSTEIN EN PASTOREO**

## **TESIS**

**Que para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista**

**PRESENTA:**

**GUILLERMO ROBLES JOSÉ**

**ASESORES:**

**DR. ERNESTO MORALES ALMARÁZ**

**DR. IGNACIO ARTURO DOMÍNGUEZ VARA**

**DR. RODOLFO VIEYRA ALBERTO**



**Toluca, México; febrero de 2017**

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma del Estado de México**, por facilitar todos los medios para la realización de mi trabajo experimental, en especial al Departamento de Nutrición Animal y a la Posta Zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A mí tutor el **Dr. Ernesto Morales Almaráz** por su asesoría en el desarrollo de mi proyecto experimental, en la elaboración de mi tesis para graduarme y también por brindarme su apoyo y amistad.

A mis tutores adjuntos, **Dr. Ignacio Arturo Domínguez Vara** y **Dr. Rodolfo Vieyra Alberto**, por la asesoría en la elaboración de mi tesis.

A las personas que conocí durante esta trayectoria, en especial a Pedro De Jesús, Luis Mejía, Rodolfo Vieyra.

## DEDICATORIAS

A mis padres, porque siempre me han apoyado en todo y motivado a seguir hacia adelante.

A mi hermana por su cariño y confianza.

A mis tíos y demás familiares que siempre me han apoyado y confiado en mí.

## CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Situación actual de la producción de leche de vaca	2
2.2. Factores que influyen en la producción y composición de la leche	6
2.2.1. Factores intrínsecos	6
2.2.2. Factores extrínsecos	7
2.2.2.1. Época del año	7
2.2.2.2. Alimentación	8
2.3. Metabolismo de lípidos de los rumiantes	9
2.3.1. Lipólisis	11
2.3.2. Biohidrogenación	12
2.4. Uso de lípidos adicionales en la dieta de rumiantes	14
2.4.1. Efectos de la adición de lípidos en la dieta animal	15
2.4.1.1. Impacto en el desempeño productivo	15
2.4.1.2. Impacto en la composición de la leche	16
III. JUSTIFICACIÓN	17
IV. HIPÓTESIS	18
V. OBJETIVOS	19
5.1. OBJETIVO GENERAL	19
5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1. MATERIAL DE CAMPO	20
6.2. MATERIAL BIOLÓGICO	20
6.3. EQUIPO DE LABORATORIO	20
6.4. ANIMALES, DIETA Y TRATAMIENTOS	21
6.5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	22

6.6. MEDICIONES EN LA PRADERA	23
6.7. ANÁLISIS DE LABORATORIO	25
6.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	26
VII. LIMITE DE ESPACIO	27
VIII. LIMITE DE TIEMPO	28
IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
X. CONCLUSIONES	35
IX. LITERTURA CITADA	36

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	Ingredientes de las raciones totalmente mezcladas (TMR) con diferentes niveles de aceite de soya suministrada a bovinos lecheros en estabulación.	22
2	Composición química (g/kg MS) de las raciones completas mezcladas evaluadas con el ganado lechero en pastoreo.	29
3	Consumo diario de alimento (BS) de vacas Holstein en pastoreo suplementadas con diferentes niveles de aceite vegetal en las raciones completas mezcladas.	30
4	Producción y composición (g/kg) de la leche de vacas Holstein en pastoreo suplementadas con diferentes niveles de aceite de soya en las raciones completas mezcladas.	31
5	Contenido de ácidos grasos, según su grado de saturación, en la leche de vacas en pastoreo suplementadas con diferentes niveles de aceite de soya en raciones completas mezcladas.	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	Producción de leche de los principales países productores.	2
2	Producción de leche de vaca por continente.	3
3	Producción nacional de leche de vaca.	4
4	Producción de leche de vaca en el Estado de México según el distrito.	4
5	Esquema de la digestión de la grasa por los rumiantes.	10
6	Ruta de la biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados: linoleico, linolénico y oleico.	13
7	Modelo hipotético que describe los cambios en el rendimiento de leche cuando el contenido de grasa se incrementa en la dieta de vacas en lactación.	16

## I. INTRODUCCIÓN

Una dieta adecuada en sus contenidos de fibra y energía es esencial para las vacas lecheras en producción, especialmente si son de alto potencial productivo; por esta razón, la inclusión de grasa en su dieta se ha incrementado (Eastridge y Firkins, 1991). Al aumentar la energía de las dietas utilizando solamente la inclusión de granos de cereales requiere mayor reducción del nivel de forraje, en comparación con la adición de la grasa en el alimento. Sin embargo, el tipo de grasa en la dieta es de importancia (Eastridge y Firkins, 1991).

La suplementación de lípidos en vacas altas productoras se lleva a cabo con el objetivo de incrementar el consumo y la eficiencia de uso de la energía al inicio de la lactación, y por ende, para incrementar el rendimiento de leche y al mismo tiempo reducir la movilización de la grasa corporal (Chilliard, 1993).

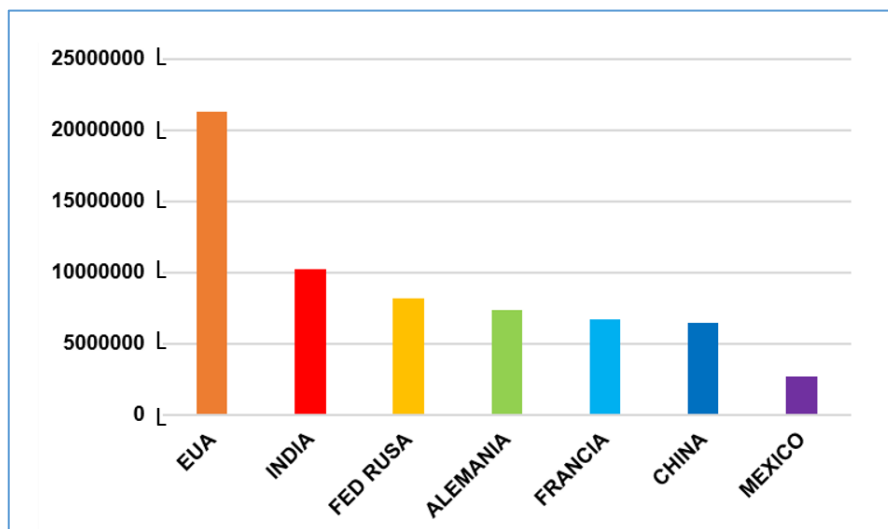
La inclusión de aceites o fuentes de grasa ricas en ácidos grasos poliinsaturados en la dieta de hembras rumiantes lecheras ha demostrado ser una estrategia efectiva para modificar el perfil lipídico de la grasa láctea (Chilliard et al., 2007); esta inclusión ha ganado enorme atención debido a sus efectos positivos (Parodi, 1999), tales como la reducción del contenido de ácidos grasos saturados (laúrico, mirístico y palmítico) en la grasa de la leche, los cuales se han relacionado con enfermedades cardiovasculares de humanos (Park, 2009). Además de este beneficio al consumidor, adicionar aceite de soya en la dieta de vacas incrementa el consumo de energía en la dieta de las vacas en el primer tercio de lactación, el cual es un periodo crítico para el animal por presentarse un balance energético negativo.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Situación actual de la producción de leche de vaca

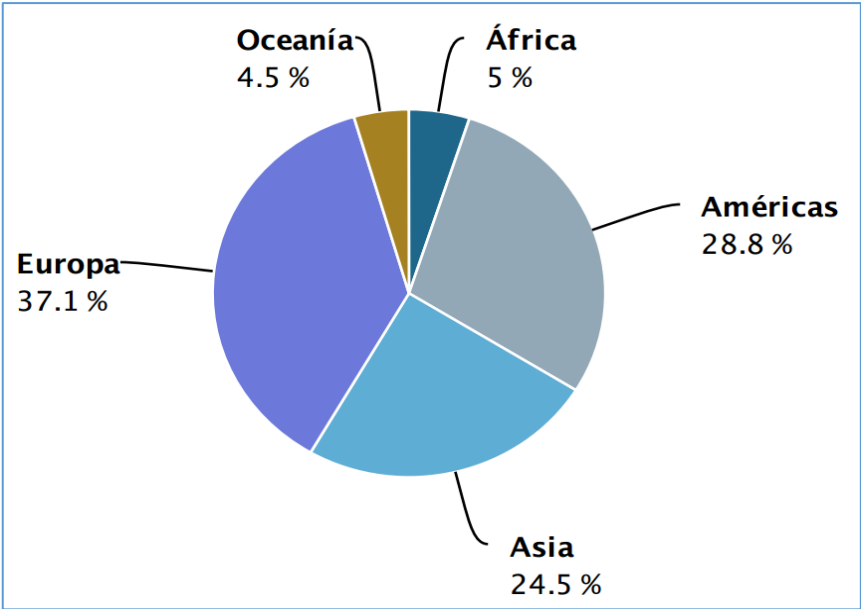
En los tres últimos decenios, la producción de leche en el mundo ha aumentado en más de 50%, pasó de 482 millones de toneladas en el año 1982 a 754 millones de toneladas en 2012. Estados Unidos de América (EE. UU.) se ha mantenido como el mayor productor de leche, aporta el 16% de la producción total; le siguen la India, China, Pakistán y Brasil. Desde el decenio de 1970, el aumento de la producción lechera se registra en su mayor parte en Asia meridional. Los países con los mayores excedentes de leche son Nueva Zelanda, EE. UU., Alemania, Francia, Australia e Irlanda (Figura 1). Los países con los mayores déficits de leche son China, Italia, la Federación de Rusia, México, Argelia e Indonesia (Ávila y Gutiérrez, 2009).



**Figura 1.** Principales países productores de leche (FAOSTAT, 2008).

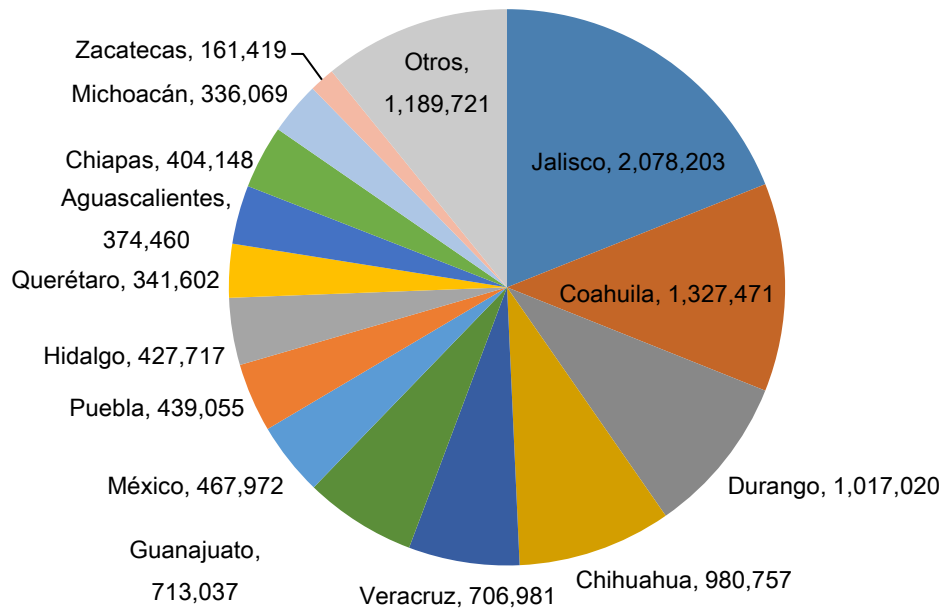
El ganado vacuno aporta 83% de la producción lechera mundial, seguido por los búfalos con 13%, las cabras con 2% y las ovejas con 1%, los camellos aportan solamente el 0.3%; la parte restante procede de otras especies lecheras, como los equinos y los yaks. En los países desarrollados, casi toda la leche procede del ganado vacuno. El bovino produce aproximadamente tres cuartos de la producción lechera del África subsahariana, alrededor de la mitad en Asia, con la

mayor parte de la otra mitad proveniente de los búfalos y casi toda la leche producida en América Latina. La leche procedente de otras especies diferentes del ganado vacuno representa 39% de la producción lechera en Asia, 24% en África, 3% en Europa, 0.4% en las Américas y es casi inexistente en Oceanía (FAOSTAT, 2013).



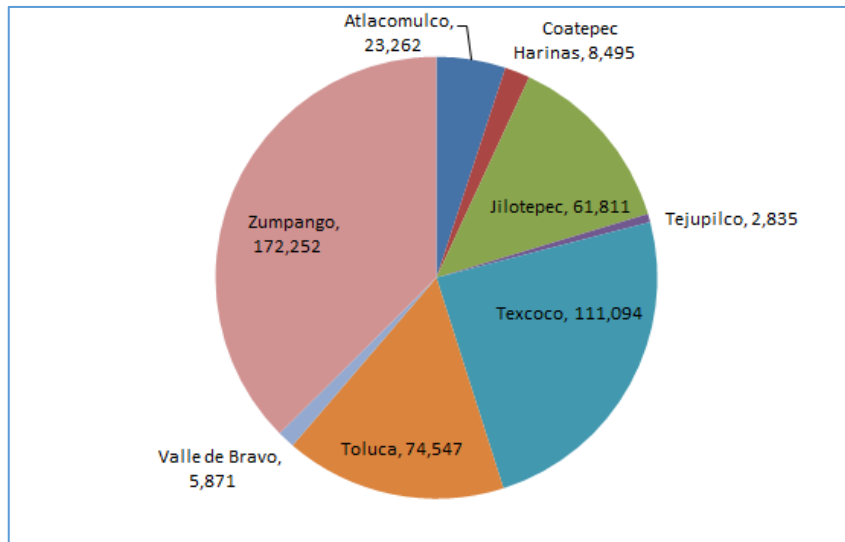
**Figura 2.** Producción de leche de vaca por continente (FAOSTAT, 2013).

En México, el Estado de Jalisco es la entidad con mayor producción de leche, seguido de Coahuila, Durango y Chihuahua; es importante resaltar que la región lagunera se encuentra ubicada en los Estados de Coahuila y Durango. El Estado de México ocupa el séptimo sitio en producción láctea (Figura 2).



**Figura 3.** Producción nacional de leche de vaca (litros) (SIAP, 2014).

El Estado de México se ha dividido tradicionalmente en 8 distritos, según el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera, de los cuales Zumpango aporta alrededor de 37% del total de leche que se produce en la entidad, seguido de Texcoco con casi 24%, el tercer sitio lo ocupa Toluca con el 16% (Figura 3).



**Figura 4.** Producción de leche de vaca en el Estado de México por distrito (litros) (SIAP, 2014).

En México, los sistemas de producción de leche son muy variados, pero principalmente se han clasificado tres tipos, los cuales son (Mellado, 2010):

- a) Lechería Familiar (pequeña escala, PE), son unidades de producción manejadas por los integrantes de la familia, cuentan con una población bovina de 3 a 40 vacas, generalmente de la raza Holstein o sus cruces de bajo potencial genético, con una producción de 2,500 L de leche por lactancia; no disponen de maquina ordeñadora ni de tanque enfriador, el producto se vende como leche bronca o queso fresco; la base de la alimentación de este sistema de producción son los esquilmos de la agricultura como el rastrojo de maíz, pajas de avena, sorgo y trigo, agostaderos, residuos de cervecería, residuos de hortalizas y en las zonas áridas el nopal. Este sistema de producción aporta el 30% de la producción nacional; los principales estados donde se practica este tipo de producción son Jalisco, Michoacán, Ciudad de México, Estado de México, Hidalgo, Durango, Zacatecas, Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila y Nuevo León.

- b) Lechería Tropical (doble propósito), este sistema consiste en la ordeña de vacas especializadas en la producción de carne, en su gran mayoría son vacas cebuinas y criollas, y en menor proporción vacas cruzadas de Cebú con Pardo Suizo; tienen una producción por lactancia de 800 L, aunque su lactancia no dura más de 240 días, habiendo una mayor producción en la época de lluvias, la vaca se ordeña a mano, con el becerro al lado; la alimentación se basa en forrajes nativos, en época de sequía algunos productores suplementan a su ganado con subproductos de cultivos tropicales como la punta de la caña, la melaza, el plátano, etc. Este sistema aporta el 20% de la producción nacional de leche; los principales Estados con este tipo de sistema son Veracruz, Tabasco, Chiapas, Guerrero y San Luis Potosí.
- c) Sistemas intensivos, son unidades de producción con más de 200 vacas, generalmente de la razas Pardo Suizo y Holstein, con una producción promedio de 5,500 a 7,000 L de leche/vaca/lactación. Las vacas se mantienen en estabulación, la base alimenticia es ensilado de maíz o de sorgo, heno de alfalfa, avena, cebada y grandes cantidades de concentrado. Este sistema de producción aporta el 80% de la leche pasteurizada y se encuentra principalmente en los estados de Jalisco, Aguascalientes, Durango, Coahuila, Guanajuato, Chihuahua, San Luis Potosí, Estado de México, Hidalgo, Querétaro y Baja California.

México produce 2,625,826 L de leche; es el principal importador de leche en polvo descremada, y el cuarto importador de leche en polvo entera. El principal proveedor de leche en polvo es EE. UU. con 43%, seguido de Canadá (18%) Nueva Zelanda (16%) y Australia (6%). Para la producción de quesos, yogurt, la industria dulcera, de helados y de leche condensada se destina 40% de la importación, el otro 60% se rehidrata y se distribuye a través de LICONSA y el DIF (Ávila y Gutiérrez, 2010).

## **2.2. Factores que influyen en la producción y composición de la leche**

La salud y productividad de un animal lechero, así como la calidad e inocuidad de la leche que produce, depende, en gran medida, del suministro de los alimentos y el agua apropiados. Las necesidades de alimentos y nutrientes de los animales lecheros dependen de factores tales como su raza, el estado fisiológico, el volumen de producción, la edad, la condición corporal, el peso vivo, el cambio de peso, su estado de salud, el nivel de actividad y el ejercicio, el clima y la estación del año (Ávila y Gutiérrez, 2010).

En la unidad de producción lechera (UPL), las buenas prácticas en cuanto a nutrición consisten en garantizar que los alimentos y el agua provengan de fuentes sostenibles; garantizar un suministro adecuado y de buena calidad de alimentos y agua; el control de las condiciones de almacenamiento de los alimentos, y la trazabilidad de los alimentos adquiridos fuera de la UPL (Ávila y Gutiérrez, 2010).

### **2.2.1. Factores intrínsecos**

Hay múltiples factores, que a continuación se describen, los cuales favorecen o demeritan la finalidad de optimizar, en primera instancia, la producción de leche; esos factores son inherentes a la composición y calidad del producto final.

El contenido de grasa en la leche muestra una disminución rápida durante las primeras semanas después del parto, hasta llegar al mínimo, aproximadamente en la semana 14 de lactación en vacas en estabulación con dietas balanceadas, y aproximadamente en la semana 10 en vacas en pastoreo (Craninx et al., 2008).

Para determinar los efectos de la semana de lactación y de la selección genética sobre la producción y composición de la leche, Kay et al. (2005) observaron que vacas con mejora genética mostraron mayor producción y contenido de componentes sólidos (proteína, grasa y lactosa) en leche, en comparación con las vacas testigo (sin selección genética) (44.4 vs 31.2 kg de leche/día).

### **2.2.2. Factores extrínsecos**

La época del año afecta directamente el consumo voluntario, en las épocas en las que hay altas temperaturas los animales comen menos e ingieren mayor cantidad de agua; cuando la temperatura baja, los animales comen más para recuperar la energía que pierden en mantener su temperatura corporal; en la época de lluvia los animales reducen el tiempo de pastoreo efectivo (Allison, 1985).

#### **2.2.2.1. Época del año**

La época del año desafía al animal en la tolerancia al calor, la fertilidad y la utilización del forraje, esto recae en el costo de producción de la granja, es decir, las vacas en pastoreo suplementadas en verano consumen menos alimento en la estabulación en comparación a las vacas bajo el mismo sistema en invierno, las cuales consumen mayor cantidad de alimento en el establo, por ende hay un efecto en la calidad de la leche, modificando los contenidos de la grasa y la proteína, principalmente (Hardie et al., 2010).

#### **2.2.2.2. Alimentación**

La alimentación del ganado es un problema importante en muchos países en desarrollo. Este problema es incluso mayor en las zonas tropicales debido a las fluctuaciones estacionales en la disponibilidad de alimentos, ocasionada por los períodos sin precipitaciones y la baja calidad de los alimentos. Cuando los productores no pueden utilizar los recursos forrajeros disponibles localmente, la alimentación de los animales lecheros puede resultar más cara (Mellado, 2010). Los métodos de alimentación utilizados por los pequeños productores lecheros en los países en desarrollo son el pastoreo, que exige superficies bastante extensas, los márgenes de los caminos, las zonas situadas en torno a las tierras de cultivos, etc. Por otro lado, la alimentación en estabulación requiere más aporte de mano de obra. Cuando se les proporciona suplementos, estos se distribuyen a todo el hato o individualmente. Los animales lecheros consumen grandes cantidades de agua durante el período de lactación y durante la gravidez. Por consiguiente, el acceso al agua tiene gran importancia en la producción de leche (Mellado, 2010).

Suplementar grasa tiene especial valor en las dietas para vacas con alto potencial productivo, por esto la alta densidad de la energía debido a la grasa suplementada permite una gran concepción de energía y directa transferencia de los ácidos grasos a la grasa de la leche, esto incrementa la eficiencia metabólica. Algunos suplementos grasos, en especial aceites con alto grado de insaturación, trastorna la actividad ruminal, reduce la digestibilidad de la fibra y disminuye el contenido de grasa en la leche; sin embargo, los granos de oleaginosas se pueden incorporar a la dieta sin inhibir la fisiología ruminal, probablemente debido a una liberación lenta del aceite sobre su contenido ruminal (Bargo et al., 2003). Este estudio justifica la suplementación con aceite de soya para elevar la cantidad de energía en la dieta de las vacas en el primer tercio de lactación y de esta forma disminuir el tiempo en el que la vaca está en balance energético negativo.

El cambio de la microbiota debido a la grasa suplementada reduce la digestibilidad de la fibra, reduce la caseína en la leche y reduce el consumo voluntario (Bargo et al., 2003).

### **2.3. Metabolismo de lípidos en rumiantes**

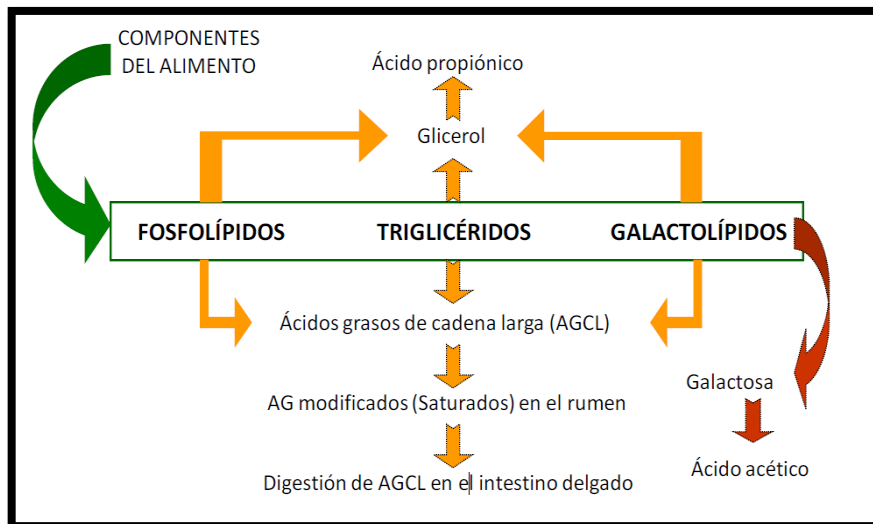
El contenido de lípidos en los alimentos varía ampliamente, desde menos de 1% en algunos subproductos, hasta el 100% en suplementos grasos (Palmquist, 1988; Van Soest, 1994). Los triglicéridos son el principal tipo de lípidos en la grasa de la mayoría de los cereales (90% de los AG) y aceite de semillas (>95%), mientras que en los forrajes se encuentran en forma de galactoglicéridos (McDonald et al., 1995). Una gran parte del extracto etéreo en los forrajes comprende sustancias no saponificables (ceras, clorofila, cutina, etc.). En los forrajes la mayoría de los lípidos se encuentran en los cloroplastos y su proporción, en el peso seco de la planta, disminuye conforme la planta madura (Hawke, 1973).

Los lípidos constituyen menos del 3 % de la dieta de los rumiantes y provienen del forraje, granos o semillas, que son ricas en ácido linoleico (C18:2 cis-9 cis-12) o linolénico (C18:3 cis-9 cis-12 cis-15) (Palmquist y Jenkins, 1980). La inclusión de



más de 6% de lípidos en base seca provoca un descenso en la actividad microbiana, reduce el consumo de alimento y el contenido de grasa en la leche (Chamberlain y Wilkinson, 1996). Los lípidos son una fuente concentrada de energía disponible para el animal una vez que llega al intestino delgado, no constituye una fuente de energía para la microbiota ruminal o para la síntesis de sus estructuras; sin embargo, la mayoría de las grasas no son inertes en el rumen.

En el rumen hay dos importantes transformaciones de los lípidos de la dieta: 1) la lipólisis y 2) la biohidrogenación. De ambos procesos efectuados por la población microbiana, los ácidos grasos liberados llegan a una reducción de 70 a 90 % de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en su transformación a ácidos grasos saturados (AGS, principalmente el ácido esteárico, C18:0) o isómeros *trans* de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) (Ferlay et al., 1992; Palmquist y Jenkins, 1980). En la figura 5 se resume la forma en que es procesada la grasa en el rumen. Una vez que la grasa llega al rumen sufre importantes cambios químicos realizados por la población microbiana (Harfoot, 1978) dando AG libres y glicerol. Éste es fermentado para producir ácido propiónico principalmente, que será absorbido junto con el resto de los ácidos grasos volátiles (AGV) a través de la pared ruminal. Los AG libres son saturados. Este proceso se debe a que el medio ambiente ruminal es reductor con un exceso de hidrógeno, produciendo la hidrogenación de los AG insaturados resultando marcadas diferencias entre el perfil de AG de los lípidos en la dieta [en su mayoría ácidos grasos insaturados (AGI)] y los lípidos que salen del rumen (la mayoría AGS).



**Figura 5.** Esquema de la digestión de la grasa por los rumiantes (Adaptado de Chamberlain y Wilkinson, 1996).

Como resultado, la grasa que abandona el rumen está toda virtualmente saturada, por lo que los lípidos en los productos de los rumiantes tienden a ser más saturados que los de los animales no rumiantes (Banks y Hilditch, 1931: citado por Jenkins et al., 2008); es por esta razón, que en el humano, el consumo de productos lácteos y carne de rumiantes es con frecuencia asociado con el incremento de la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Menotti et al., 1999).

### 2.3.1. Lipólisis

El proceso de lipólisis ocurre poco después de consumir lípidos esterificados de la dieta, entonces, estos son hidrolizados ampliamente por las lipasas microbianas que hidrolizan los ésteres vinculados en los complejos de los lípidos, liberando los ácidos grasos (Jenkins, 1993). Los principales tipos de lípidos de la dieta son los triglicéridos, fosfolípidos y galactolípidos. Las enzimas lipasas microbianas del rumen hidrolizan rápidamente a los triglicéridos (Garton et al., 1958) y a los galactolípidos y fosfolípidos (Dawson y Haemington, 1974). Sin embargo, Faruque

et al. (1974) sugirieron que la hidrólisis de los triglicéridos y galactolípidos del pasto se debe a la actividad enzimática de la planta.

Los animales en pastoreo ingieren un alto porcentaje de AG en forma de ácido linolénico como monogalactocildiglicéridos y galactocildiglicéridos. La cantidad de ácido linolénico libre en la planta durante la fermentación ruminal puede ser más alta que en el forraje fresco, porque las lipasas vegetales (galactolipasas y fosfolipasas) se activan después de la cosecha (Butler y Bailey, 1973). La hidrólisis de los lípidos esterificados se atribuye a una variedad de galactosidasas y fosfolipasas (incluyendo fosfolipasa A, fosfo~~Error! Marcador no definido.~~lipasa C, lisofosfolipasa y fosfodiesterasa) producidas por la microbiota ruminal (Harfoot y Hazlewood, 1988).

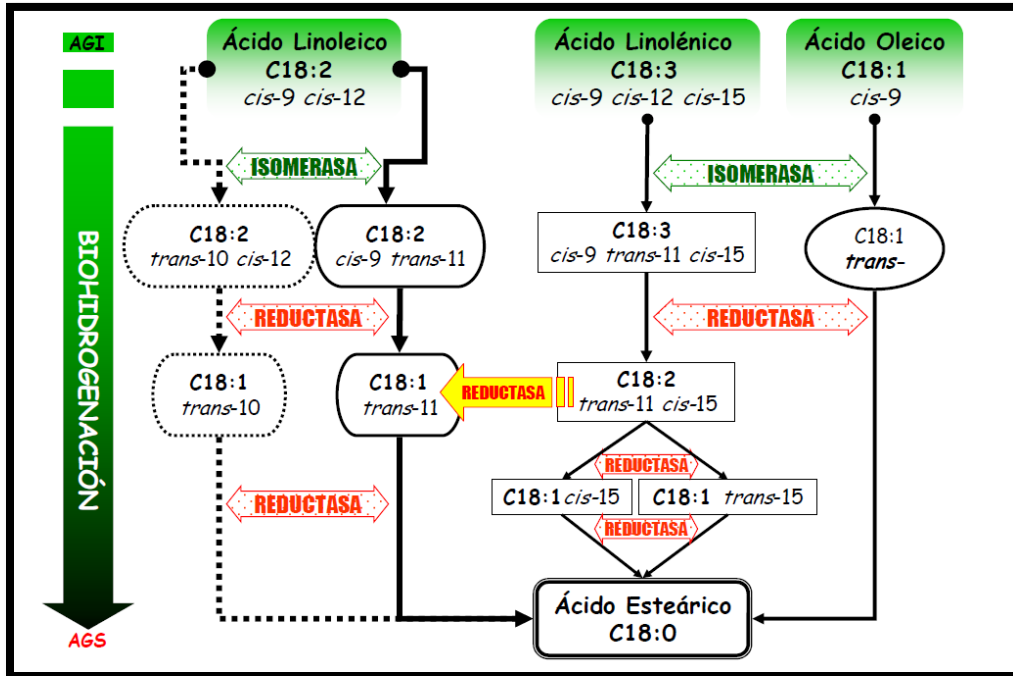
Aunque los protozoos pueden estar involucrados en el proceso de lipólisis (Wright, 1961), *Anaerovibrio lipolytica* es el mayor agente lipolítico en el rumen (Henderson, 1975). Esta bacteria produce dos enzimas hidrolíticas, una célula-esterasa y una lipasa extracelular (Harfoot, 1978), empaquetada en partículas de membranas compuestas de proteína, lípidos y ácidos nucleicos (Henderson y Hodgkiss, 1973), con actividad hacia triglicéridos y ácidos grasos esterificados (Henderson, 1971). Hespell y O'Bryan-Shah (1988) examinaron la actividad esterasa de varias bacterias ruminales incluyendo 30 cepas de *Butyrivibrio fibrisolvens*, y todas poseían actividad esterasa, pero pocas podrían hidrolizar ésteres con ácidos grasos de cadena larga.

Debido a que el grupo carboxilo es necesario para la hidrogenación de los ácidos grasos saturados, la lipólisis se convierte en un prerrequisito para la biohidrogenación (Chalupa y Kutches, 1968). La tasa de lipólisis es un factor importante en la determinación de los productos de la biohidrogenación (Wu y Palmquist, 1991) porque altera la liberación y posterior concentración de ácidos grasos que sufren la hidrogenación, porque la concentración de algunos ácidos grasos puede inhibir su hidrogenación (Noble et al., 1974), alterando la concentración de sus intermediarios.

### **2.3.2. Biohidrogenación (BH)**

Los ácidos grasos poliinsaturados representan un riesgo tóxico para muchos de los microorganismos del rumen (Harfoot y Hazlewood, 1997). Para protegerse de estos efectos tóxicos, los microorganismos del rumen tienen la capacidad de hidrogenar los lípidos de la dieta (Kemp y Lander, 1984; Harfoot y Hazlewood, 1997). En consecuencia, los AG de los productos de los rumiantes tienden a ser más saturados que aquellos de animales no rumiantes. De acuerdo con Wachira et al. (2000) entre los ácidos grasos insaturados, el ácido linolénico es uno de los más susceptibles a la biohidrogenación ruminal. Por arriba de 99% del ácido linolénico de la dieta puede ser parcial o completamente hidrogenado (Sasaki et al., 2001), entre sus principales derivados de la biohidrogenación del ácido linolénico está el ácido esteárico (Song, 2000) (Figura 6).

La biohidrogenación (BH) de los AG aumenta el crecimiento bacteriano, ya que los AGI provocan cambios en la permeabilidad de la membrana microbiana inhibiendo su desarrollo. También aumenta la energía disponible, ya que los AGS liberan más energía al oxidarse que los insaturados. Por otra parte, los AGI reducen la producción de metano al haber menos cantidad de hidrógeno. El proceso de BH se desarrolla en dos etapas (Kepler et al., 1966; Bauman et al., 1999). La primera etapa es la isomerización, y tras la formación de diferentes intermediarios, dependiendo del ácido graso insaturado de origen, continúa la segunda etapa que es la reducción, la cual consiste en la saturación o eliminación de los dobles enlaces del ácido graso insaturado. En la Figura 6 se describe la BH ruminal de distintos ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados.



**Figura 6.** Ruta de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados: linoleico, linolénico y oleico (Adaptado de Harfoot y Hazlewood, 1988)

El estudio de la BH ruminal ha recibido renovada atención por intentar establecer las rutas que prevalecen, así como la formación de intermediarios. Inicialmente, Reiser (1951) proporcionó la primera evidencia de la BH en el rumen cuando incubó aceite de linaza en fluido ruminal de ovinos, observando la acumulación de grandes cantidades de isómeros del ácido linoleico (C18:2). Shorland et al. (1955) también observaron una conversión de ácido linolénico a C18:2 y C18:1 como intermediarios, hasta terminar en ácido esteárico (C18:0). Garton et al. (1958) observaron que después de la hidrólisis de los triglicéridos, los AG fueron posteriormente hidrogenados, resultando en un incremento de la cantidad de ácido esteárico. Estudios *in vivo* e *in vitro* sobre las rutas de la BH de los AGI de la dieta, han observado la saturación de los mismos con la acumulación de ácidos grasos intermediarios durante el proceso.

La biohidrogenación se lleva a cabo por efecto de la microbiota ruminal. Algunos autores describen a *B. fibrisolvans* como la única bacteria capaz de realizar la

hidrogenación de AGI (Qiu et al., 2001; Bell y Kennelly, 2003). Sin embargo, otras bacterias pueden estar implicadas en el proceso (Bauman et al., 1999). Aunque los protozoos juegan un papel importante en la BH, las bacterias son más activas en este proceso y los microorganismos más estudiados (Harfoot y Hazlewood, 1997), siendo las bacterias celulolíticas las más involucradas en el proceso de BH de los AG (Martin y Jenkins, 2002).

Por otro lado, la biohidrogenación ruminal de los AGI puede explicar la presencia de AG específicos en la grasa de leche que pueden ser potencialmente inhibidores en la síntesis de la grasa de la leche, o generar la síntesis de otros AG con propiedades saludables para los consumidores.

#### **2.4. Uso de lípidos adicionales en la dieta de rumiantes**

Para muchas especies pecuarias, la composición de los ácidos grasos de la grasa de la leche es un fuerte reflejo de la composición de los ácidos grasos de la dieta; sin embargo, los rumiantes son una excepción debido a que los lípidos de la dieta son alterados por el metabolismo de las bacterias en el rumen y uno de los mayores cambios es la biohidrogenación de los ácidos grasos poliinsaturados (Bauman y Griinari, 2003). Cantidades moderadas de grasas saturadas tienden a aumentar la concentración de grasa de la leche en pequeña cantidad, los lípidos insaturados en grandes cantidades (>8%) decrecen en su mayoría un 1% la grasa en leche (Sutton, 1989).

Las principales fuentes de lípidos insaturados son las semillas de oleaginosas como el lino, la canola, la soya, el girasol, etc. (Glasser et al., 2008).

##### **2.4.1. Efectos de la adición de lípidos en la dieta del animal**

La esterificación y la insaturación son dos principales propiedades que influyen en la digestión de la grasa (Palmquist y Jenkins, 1980). Aunque la mayoría de los ácidos grasos alcanzan el intestino delgado serán saturados debido a la

biohidrogenación en el rumen, como fue comentado en apartados anteriores, los ácidos grasos insaturados tienden a tener efectos más negativos sobre el metabolismo de los microorganismos celulolíticos en el rumen que los ácidos grasos saturados (Chalupa et al., 1986).

En incubaciones *in vitro* (Chalupa et al., 1986) los ácidos grasos libres del cebo disminuyeron drásticamente la relación acético: propiónico en comparación con el testigo, mientras que los ácidos grasos de sales de calcio no tuvieron efecto. Aunque no completamente inertes en el rumen, las grasas saturadas tienden a tener efectos mínimos sobre la fermentación ruminal. El grado de esterificación también podría influir en los efectos de la fuente de grasa sobre la fermentación ruminal (Eastridge y Firkins, 1991)

#### **2.4.1.1. Impacto en el desempeño productivo**

En el ganado lechero de alta producción, un adecuado aporte de energía y fibra en la dieta es esencial. Por esta razón, la inclusión de grasa en su dieta se ha incrementado en los últimos años. Incrementando la energía en las dietas utilizando solo la adición de granos de cereales necesitará mayores reducciones de los niveles de forraje que si se suplementa grasa como alimento. Sin embargo, el tipo de grasa en la dieta es importante (Eastridge y Firkins, 1991).

En general, en las vacas hay mejor respuesta en leche cuando se adiciona grasa saturada comparado con grasa insaturada, y en la lactación media comparada con la lactación temprana. Ese incremento en la producción de leche probablemente esté relacionado con la mejora de la utilización de la energía (Schroeder et al., 2004). Chalupa et al. (1986) refieren que los AG insaturados tienden a tener efectos más negativos sobre el metabolismo de los microorganismos celulolíticos en el rumen comprado con los AG saturados.

Jenkins (2002) describe tres fases o posibles escenarios que ocurren con la adición de lípidos para la alimentación de vacas lecheras, la fase I muestra un incremento en el rendimiento de leche debido a la mayor densidad energética de

la dieta, sin embargo, conforme se aumenta la grasa en la ración pueden ocurrir efectos negativos como digestibilidad reducida, disminución del consumo de materia seca y pobre digestibilidad de suplementos grasos (fase II); en la fase III estos efectos negativos dominan sobre el aumento de la oferta de energía trayendo consigo una disminución global de la producción de leche (Figura 7).

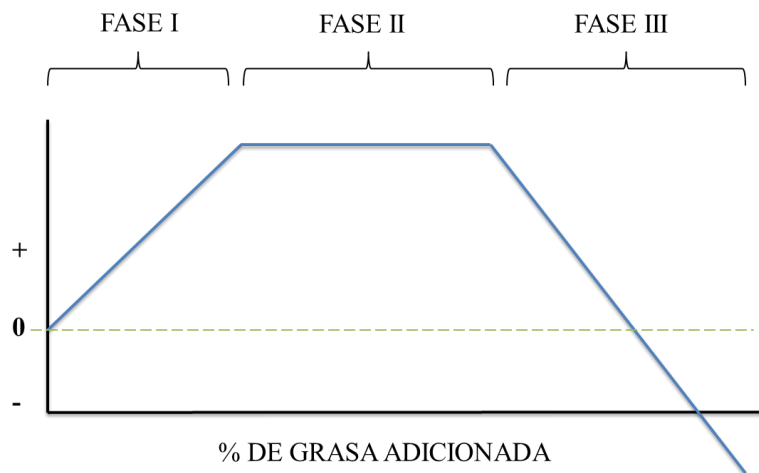


Figura 7. Modelo hipotético que describe los cambios en el rendimiento de leche cuando se aumenta el contenido de grasa en la dieta de vacas en lactación (Adaptado de Jenkins, 2002).

Kairenius et al. (2015) reportan un consumo de materia seca disminuido y baja producción de leche al día conforme se incrementa la adición de aceite de pescado en la dieta (0, 75, 150 y 300 g/d). La afectación del rendimiento productivo se debe a la interacción con los microorganismos del rumen (Jenkins, 1993).

#### 2.4.1.2. Impacto en la composición de la leche

El perfil de los ácidos grasos (AG) de la leche de vaca se ve influenciado por la dieta, con variaciones en su mayor parte causadas por diferentes cantidades de forraje fresco y concentrados comerciales. Otros factores reportados para influir en el perfil de AG de la leche incluyen diferencias entre genotipos, la estación del año, el clima y la etapa de lactancia, etc.; cualesquiera de estos factores, así como



sus interacciones, podría contribuir a la concentración de AG en la leche (Schwendel et al., 2015).

Las concentraciones de los AG cis-9, trans-11, el isómero principal del ácido linoleico conjugado (CLA) en la leche se pueden aumentar a través de la alimentación de semillas oleaginosas enteras, complementando la dieta con aceites vegetales o lípidos de origen marino (Chilliard y Ferlay, 2004).

La disminución en el contenido de proteína de la leche de vacas es consistente con las respuestas al suministro de dietas que contienen semillas de oleaginosas o harina de pescado y extruidos de soya; la complementación de dietas con aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados causa una reducción general en el contenido de proteína de la leche, los cambios que tienen con frecuencia se atribuyen al aumento de la producción de leche más que a una disminución de la síntesis de proteínas de la leche (Lock y Shingfield, 2004), aunque probablemente también se deba a la disminución de aminoácidos que aporta la población microbiana afectada por la inclusión en la dieta de estos ácidos grasos poliinsaturados (Relling y Mattioli, 2007).

La concentración de la grasa de la leche fue incrementada con suplementos de grasa saturada y fue disminuida cuando se utilizaron suplementos de grasa insaturada, probablemente por la inhibición de la síntesis de novo en la glándula mamaria (Schroeder et al., 2004).

### III. JUSTIFICACIÓN

Una de las principales razones para incluir fuentes de lípidos en la dieta de los rumiantes es incrementar el consumo de alimento y mejorar la eficiencia de uso de la energía de la dieta; además, representa la posibilidad de modificar el perfil de ácidos grasos de la leche, debido al interés creciente de los consumidores en el efecto que la grasa consumida tiene sobre la salud y la prevención de ciertas enfermedades. No obstante, el tipo de lípidos y la cantidad incluida en la dieta podrían representar efectos negativos para el animal.

El metabolismo de los ácidos grasos insaturados de la dieta en el rumen tiene gran influencia sobre la composición de la carne y la leche de los rumiantes (Jenkins et al., 2008). No obstante, a pesar de que los lípidos insaturados abundantes en los pastos y otros alimentos aportados en la dieta del ganado, como el ácido linoleico o linolénico, su concentración en los productos de los rumiantes es todavía baja. Suplementar con ácidos grasos de cadena larga, específicamente el ácido linoleico (C18:2 c9 c12), a dietas de ganado lechero en pastoreo puede mejorar el contenido de ácidos grasos mono y poliinsaturados, beneficios para el hombre.

#### **IV. HIPÓTESIS**

La adición de aceite de soya, como una fuente de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, en una dieta completa mezclada de ganado lechero en pastoreo mejora su desempeño productivo con el incremento en la producción de leche y mejora del contenido de ácidos grasos insaturados en la misma.

## V. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de aceite de soya en una dieta completa mezclada sobre la respuesta productiva y composición química de la leche de ganado vacuno en pastoreo.

### 5.2. Objetivos específicos

Medir la respuesta productiva en términos del consumo de alimento y la producción láctea del ganado lechero en pastoreo con la adición de aceite de soya en su dieta.

Analizar la composición química de la leche de vacas en pastoreo con la adición de aceite de soya en su dieta.

Conocer la proporción de la saturación de los ácidos grasos en la leche de vacas en pastoreo con la adición de aceite de soya en su dieta.

Determinar la viabilidad económica del sistema de producción de leche de vacas en pastoreo con la adición de aceite de soya en su dieta, mediante un análisis económico de presupuestos parciales (fuente bibliográfica???)

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Material de campo

- Cuadrantes.
- Tijeras.
- Bolsas.
- Carretillas.
- Palas.
- Tinajas.
- Bolígrafos.
- Marcadores
- Hojas de registros.
- Tabla de campo.
- Gamarras.
- Cinta adhesiva gris.
- Plato medidor.
- Calculadora.

#### Equipo de campo

- Lactoscan.
- Cerco eléctrico
- Báscula digital.

### 6.2. Material biológico

- Seis vacas de la raza Holstein en producción entre el primero y segundo tercio de lactación.
- Pradera de forraje rye grass.

### 6.3. Equipo de laboratorio

- Horno de microondas.
- Balanza analítica.
- Estufa de aire forzado.
- Mufla.
- Equipo Kjeldahl.
- Equipo Ankom para determinación de fibra (FAD, FND).
- Equipo Soxtec.

### 6.4. Animales, dieta y tratamientos

Se utilizaron un total de seis vacas Holstein multíparas ( $4 \pm 2$ ) entre el primer y segundo tercio de lactación ( $602 \pm 45$  kg peso vivo, producción media de leche de

23.0±2.9 kg/d, y 183±123 días en lactación), las cuales fueron manejadas de acuerdo con las normas de salud y bienestar animal de la institución. En un arreglo de cuadro latino 3x3, las vacas fueron distribuidas en tres grupos homogéneos de acuerdo con su peso vivo, días en lactación y producción de leche.

El estudio comprendió tres periodos experimentales de 21 días cada uno, con 16 días de adaptación al manejo y la dieta, y cinco días de medición.

La alimentación de los animales estuvo basada en un sistema mixto, con acceso de 12 horas en la pradera y la alimentación en el establo. En la estabulación se oferto una dieta completa mezclada (TMR; por sus siglas en ingles), a base de ensilado de maíz. Los tratamientos establecidos fueron:

- i) **Ctrl:** TMR sin adición de aceite de soya.
- ii) **TMR3:** TMR más la adición de 3.0% de aceite de soya.
- iii) **TMR6:** TMR más la adición de 6.0% de aceite de soya.

En los tratamientos con aceite de soya, el aceite se adicionó al concentrado en el momento de su elaboración utilizando una mezcladora horizontal. Para evitar problemas de rancidez del alimento, las dietas que incluyen aceite de soya fueron preparadas diariamente. Las dietas integrales fueron formuladas para ser isoproteicas e isoenergéticas. Los ingredientes y el aporte nutricional de la TMR de los tratamientos se muestran en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Ingredientes de las raciones totalmente mezcladas (TMR) con diferentes niveles de aceite de soya suministradas a bovinos lecheros en la estabulación.

Ingredientes	Tratamientos <sup>a</sup>		
	Ctrl	TMR3	TMR6
Ensilado de maíz	27.98	32.74	32.74
Heno avena	31.55	26.79	26.79
Maíz grano	18.35	13.06	8.96

Harina soya	15.91	13.39	13.39
Salvado	4.05	4.05	4.05
Canola	1.04	5.90	6.98
Aceite de soya	-	3.04	6.07
Carbonato de calcio	0.84	0.84	0.82
Premezcla vitaminas y minerales <sup>‡</sup>	0.28	0.20	0.20
Precio de la dieta \$/Kg MS	4.08	4.50	4.73
Composición química <sup>†</sup>			
Materia seca, %	57.8	54.7	54.9
Proteína bruta, %	16.0	16.0	16.0
Fibra detergente neutro, %	38.7	38.9	38.9
Energía Neta, Mcal/kg	1.9	1.9	2.0
Relación Forraje:Concentrado	60:40	60:40	60:40

<sup>‡</sup>Ctrl: TMR sin aceite de soya. TMR3: TMR con 3% de aceite de soya. TMR6: TMR con 6% de aceite de soya.

<sup>‡</sup>Multitec, lechero bovino® = Vitamina A: 231 UI, Vitamina D<sub>3</sub>: 58.5 UI, Vitamina E: 566 mg, Cobre: 400 mg, Hierro: 2,560 mg, Manganeso: 1,860 mg, Cobalto: 5.85 mg, Yodo: 19.84 mg, Zinc: 2,000.16 mg, Selenio: 12 mg, Fósforo: 38,220 mg, Magnesio: 39,959.92, Carbonato de Calcio: 194 g, Sal: 236.621 g, Bicarbonato de Sodio: 150 g, Sodio: 1,851.60 mg, Potasio: 2,439 mg.

<sup>†</sup> Análisis calculado.

## 6.5. Desarrollo experimental

Diariamente se realizaron dos ordeños al día (matutino: 06:00h, y vespertino: 15:00h) establecidos dentro del manejo de la unidad de producción. Finalizado el ordeño matutino (07:00h) las vacas fueron trasladadas al área nueva de la pradera donde permanecieron hasta el inicio del ordeño vespertino, al finalizar este (16:00h), las vacas nuevamente fueron llevadas a la pradera por cuatro horas más (de 16:00 a 20:00h), posteriormente los animales fueron llevados al corral donde permanecieron alojados de forma individual (en corrales de 4 x 3m) el resto del día.

## 6.6. Mediciones y manejo en la pradera

En la pradera se estableció una asignación diaria de pastoreo de 22.0 kg de MS por vaca, los bovinos fueron manejados en un solo grupo, la pradera fue fraccionada dividiéndola con cercos eléctricos. La pradera, compuesta por

distintas especies, mayoritariamente de gramíneas principalmente *Lolium perenne*, *Festuca arundinacea* y *Dactylis glomerata*, y *Trifolium repens* como leguminosa, fue manejada bajo un sistema de pastoreo rotacional.

Para la asignación de pastoreo, se muestreo la pradera con cuadrantes de 0.25 m<sup>2</sup> aleatoriamente un día previo al pastoreo, se tomaron ocho muestras para sacar un total de 2 m<sup>2</sup>, cortando a ras de suelo con tijeras de esquila, las muestras se guardaron en bolsas y fueron llevadas al laboratorio donde se determinó materia seca en un horno de microondas doméstico siguiendo la técnica propuesta por Teuber et al. (2007), una vez obtenido el contenido de materia seca se calculó la producción de biomasa y con ello se determinó el área de pastoreo.

En la estabulación se les oferto la dieta tipo TMR *ad libitum* según el tratamiento asignado. Los animales tuvieron disponibilidad de agua de bebida. Al inicio y término de cada fase experimental de medición las vacas fueron pesadas.

En la etapa de medición, se midió el consumo de alimento en la estabulación, el cual se realizó por diferencia entre la oferta y el rechazo de alimento. El consumo de pasto en la pradera fue estimado por el método de rendimiento animal según Maccon et al. (2003), a partir de los requerimientos de energía neta mediante el cálculo de los requerimientos de energía neta total del ganado lechero (ENL) estimados a partir de la aplicación de las ecuaciones de predicción del NRC (2001), y de los aportes de energía neta de los alimentos consumidos en la estabulación. Para dicha estimación se aplicó el procedimiento de ecuaciones de los requerimientos de energía neta total del ganado lechero incluyendo las necesidades de energía neta para:

1) Lactación (NELL), calculo basado en la producción diaria de leche (kg/d) y la concentración de grasa en la leche, así:

$$\text{NELL} = \text{kg de leche por día} * (0.3512 + [0.0962 * \% \text{grasa en leche}])$$

2) Mantenimiento (NELM), basadas en el peso vivo (PV) del animal y el número de parto, así:



- a) primer parto:  $NELM = 1.2 (0,080 * PV 0.75)$
- b) segundo parto:  $NELM = 1.1 (0,080 * PV 0.75)$
- c) tercer parto o más:  $NELM = (0.080 * PV 0.75)$

3) Cambio de Peso Corporal (NELBW), de acuerdo con el NRC (2001) para la ganancia promedio de peso fue asignado el requerimiento de NEL 5.12 Mcal/kg PV, mientras que para la pérdida de PV se previeron 4.92 Mcal/kg PV de energía disponible, adicional a la energía proporcionada por el alimento.

4) Actividad de Pastoreo (NELG), este cálculo fue hecho usando la ecuación:

$$NELG = 1.2 \text{ kcal} * \text{ tiempo de pastoreo, h} * PV 0.75$$

5) Actividad de desplazamiento o caminata (NELW), calculado usando la estimación para el caminar horizontal según el AFRC (1993):

$$NELG = 0.62 \text{ cal} / (\text{kg PV} * \text{distancia})$$

El requerimiento de energía neta total fue la sumatoria de las cinco estimaciones anteriores. La energía neta para lactación desde el consumo de forraje se estimó por diferencia entre los requerimientos de ENL menos la energía consumida por el alimento suministrado en la estabulación. El contenido de energía neta de la TMR fue calculado con las ecuaciones descritas por Menke y Steingass (1988) a partir del contenido de fibra detergente ácido.

La producción de leche se midió individualmente en cada ordeño, y se muestreó la leche en ambos ordeños para posteriormente preparar una alícuota por animal por día, la cual se mantuvo en refrigeración para su posterior análisis.

En cada periodo experimental, en la fase de medición, se tomaron diariamente muestra de la dieta TMR al momento de ofertarla, esta fue congelada (-20°C) para su posterior análisis. Las muestras de pasto fueron tomadas utilizando la técnica de pastoreo simulado (hand plucking) (Wayne, 1964), estas fueron también congeladas hasta su análisis.

## **6.7 Análisis de laboratorio**

### **6.7.1. Alimentos**

El análisis de la composición química de los alimentos (pasto y TMR) comprendió la determinación del contenido de materia seca (MS) y cenizas por pérdida de peso tras desecación de la muestra a  $100 \pm 5.0^{\circ}\text{C}$  en estufa de aire forzado durante 24 h, seguida de la incineración en mufla a  $550 \pm 10.0^{\circ}\text{C}$  (AOAC, 2012). El contenido de proteína cruda se determinó por la concentración de nitrógeno mediante destilación directa de la muestra en analizador Kjeldalh (Kjeltec Auto 1030, Tecator, Foss, Glechic A/S, Hillarod, Dinamarca). La determinación de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina detergente ácido (LDA) se realizó por el método descrito por Van Soest *et al.* (1991).

### **6.7.2. Leche**

Para medir el contenido de proteína, grasa y lactosa en la leche se utilizó un analizador Lactoscan SL60. El perfil de AG de la leche se determinó previa extracción de la grasa de acuerdo con la técnica descrita por Feng *et al.* (2004) La metilación de la muestra se realizó por medio de la metodología reportada por Christie (1982) con modificaciones de Chouinard *et al.* (1999). Los ésteres metílicos de los AG de la leche y los alimentos fueron separados y cuantificados por cromatografía de gases (Perkin Elmer Clarus 500) con una columna capilar de  $100\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.2\text{ mm}$  (SUPELCO TM-2560) utilizando nitrógeno como gas acarreador. El detector e inyector se mantuvieron a  $260^{\circ}\text{C}$ , la temperatura inicial del horno fue  $140^{\circ}\text{C}$  por 5 min, aumentando  $4^{\circ}\text{C}$  por minuto hasta llegar a  $240^{\circ}\text{C}$ . Cada pico fue identificado de acuerdo con los tiempos de retención de estándares de esteres metílicos (Supelco 37, FAME MIX analytical; trans-11-octadecenoic methyl ester; linoleic acid conjugated methyl ester SIGMA USA).

## **6.8. Análisis estadístico**

El tratamiento de los datos de la composición química de los alimentos fue procesado mediante un análisis de varianza con el procedimiento GLM (SAS, 1999)

En el análisis estadístico de la producción, composición de la leche y contenido total de ácidos grasos se utilizó un análisis de varianza para un diseño de cuadro latino repetido, tomando a cada animal como una repetición en cada tratamiento con apoyo del procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1999), según el modelo estadístico siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + P_{j(i)} + A_{k(i)} + T_l + E_{ijkl}.$$

Donde:

$Y_{ijk}$ , es la variable respuesta

$\mu$ , es la media general

$C_i$ , es el efecto de cuadro

$P_{j(i)}$ , es el efecto del periodo anidado al cuadro

$A_{k(i)}$ , es el efecto del animal anidado al cuadro

$T_j$ , es el efecto debido al tratamiento

$E_{ijk}$ , es el error residual.

En las variables donde se observó efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias (Steel et al., 1997).

## VII. LIMITE DE ESPACIO

La investigación se llevó a cabo en el área de bovinos de la Posta Zootécnica y los análisis de laboratorio se realizaron en los laboratorios del Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, ubicada en El Cerrillo Piedras Blancas, municipio de Toluca de Lerdo, localizada a 19° 24' 43.48" Latitud Norte y 99° 41' 6.18" Longitud oeste en relación al meridiano de Greenwich, con una altura sobre el nivel del mar de 2604 m, el clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, temperatura media anual de 18.7 °C, con una precipitación pluvial de 780 mm (INEGI, 2014).

## VIII. LIMITE DE TIEMPO

La presente investigación comprendió tres fases, la fase experimental de respuesta productiva animal donde la toma de muestras se realizó en los meses de julio a septiembre(año????); posteriormente se efectuó la fase del análisis de laboratorio que duro aproximadamente tres meses; finalmente se realizó el análisis e interpretación de resultados y redacción del documento de tesis.

## IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se muestra la composición química del forraje y de la TMR utilizados en la alimentación de las vacas en pastoreo. A excepción del contenido de materia seca y extracto etéreo, el resto de los componentes de la TMR no difirieron ( $P>0.05$ ) entre los tratamientos.

El tratamiento TMR6 mostró el contenido más bajo de MS, siendo 9.7% menor que la TMR0, con valores intermedios de este componente para TMR3. Como era esperado, el contenido de extracto etéreo fue directamente proporcional al aumento ( $P<0.05$ ) de la inclusión de aceite de soya en la TMR (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Composición química (g/kg MS) de las raciones completas mezcladas evaluadas con el ganado lechero en pastoreo.

Concepto	Forraje	Tratamientos			EEM <sup>†</sup>	Valor P
		TMR0	TMR3	TMR6		
<b>Materia seca</b>	23.12	55.13 <sup>a</sup>	52.18 <sup>ab</sup>	49.76 <sup>b</sup>	9.778	0.023
<b>Materia orgánica</b>	88.34	93.40	93.20	94.02	0.935	0.162
<b>Proteína cruda</b>	17.36	13.90	15.01	14.91	2.984	0.072
<b>Extracto etéreo</b>	3.01	3.95 <sup>c</sup>	6.00 <sup>b</sup>	8.39 <sup>a</sup>	4.563	0.001
<b>Fibra detergente neutro</b>	48.13	37.83	35.82	36.56	17.13	0.715
<b>Fibra detergente ácido</b>	25.41	21.94	20.74	21.02	12.04	0.769
<b>Lignina detergente ácido</b>	2.51	2.82	3.03	3.10	3.127	0.817
<b>Energía neta de lactación<sup>‡</sup></b>	1.58	1.65	1.68	1.68	0.028	0.800

<sup>ab</sup> Medias con distinta literal en la misma hilera son diferentes ( $P<0.05$ ).

<sup>†</sup> EEM = Error estándar de la media.

<sup>‡</sup> Energía neta de lactación en Mcal/kg MS, calculada según la ecuación:  $(9.07 - 0.0097 * FAD) / 4.184$  (Menke y Steingass, 1988).

Las diferencias en el contenido de materia seca de las dietas TMR pueden ser explicadas básicamente porque la proporción del ensilado de maíz fue menor en la TMR0 (Cuadro 1).

Los datos de consumo alimento de vacas en lactación en pastoreo suplementadas con TMR incluyendo distintos niveles de aceite de soya se observa en el Cuadro 3.

El consumo de MS de TMR mostró diferencias ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos. La dieta TMR6 mostró 14.4% menor consumo en comparación con TMR0. El consumo de forraje en la pradera no difirió ( $P > 0.05$ ) entre tratamientos ( $2.11 \pm 2.19$ ).

El consumo de TMR tuvo relación inversa con el contenido de EE en las dietas. La inclusión de más de 6 % de lípidos en la dieta provoca un descenso en la actividad microbiana, reduciendo el consumo de alimento y la síntesis de grasa en la leche (Chamberlain y Wilkinson, 1996).

**Cuadro 3.** Consumo diario de alimento (base seca) de vacas Holstein en pastoreo suplementadas con diferentes niveles de aceite vegetal en la raciones completas mezcladas.

Concepto	Tratamientos			EEM <sup>†</sup>	Valor P
	TMR0	TMR3	TMR6		
<b>TMR, kg/d</b>	15.44 <sup>a</sup>	15.11 <sup>ab</sup>	13.21 <sup>b</sup>	0.4668	0.0298
<b>Pasto, kg/d</b>	1.94	2.01	2.39	0.9871	0.6768
<b>Total, kg/d</b>	17.38 <sup>a</sup>	17.12 <sup>a</sup>	15.60 <sup>b</sup>	0.3134	0.0139
<b>CMS % PV<sup>‡</sup></b>	2.87 <sup>a</sup>	2.79 <sup>a</sup>	2.58 <sup>b</sup>	0.0476	0.0123

<sup>ab</sup> Medias con distinta literal en la misma hilera son diferentes ( $P < 0.05$ ).

<sup>†</sup> EEM = Error estándar de la media.

<sup>‡</sup> Consumo de materia seca como porcentaje del peso vivo corporal.

Los valores encontrados de consumo de pasto son bajos en comparación con otros estudios con el mismo tiempo de permanencia de las vacas en la pradera. Morales-Almaráz et al. (2010) reportaron un consumo de forraje de 8.56 kg MS/vaca/día, y una TMR a base de ensilado de haba en estabulación; Castro-Hernández et al. (2014) reportaron consumos de forraje de 3.36 y 4.63 kg MS

vaca/día, al suplementar 4.5 y 2.7 kg MS de concentrado a base de cereales y ensilado de maíz *ad libitum* en estabulación. En la presente investigación no se limitó la oferta de TMR en el establo esto ocasionó un bajo consumo de forraje en la pradera a pesar de permanecer 12 h en la misma y de asignar 22 kg MS vaca/día.

La diferencia ( $P < 0.05$ ) observada en el consumo diario de MS total, siguió el patrón de respuesta del consumo de TMR, siendo menor en el tratamiento con el nivel más alto de inclusión de aceite de soya en la TMR. El mismo patrón fue observado para el consumo de materia seca como proporción del peso vivo corporal (Cuadro 3). Kairenius et al. (2015) reportaron una disminución lineal del consumo de MS y menor producción de leche de vacas suplementadas con aceite de pescado (0, 75, 150 y 300 g/día).

Se observaron diferencias ( $P < 0.05$ ) en la producción y composición de la leche por efecto de los niveles de inclusión de aceite de soya en la TMR suministrada a vacas Holstein en pastoreo (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Producción y composición (g/kg) de la leche de vacas Holstein en pastoreo suplementadas con diferentes niveles de aceite de soya en la raciones completas mezcladas.

Concepto	Tratamientos			EEM <sup>†</sup>	Valor P
	TMR0	TMR3	TMR6		
<b>Producción de leche, kg/d</b>	22.22 <sup>ab</sup>	22.64 <sup>a</sup>	21.60 <sup>b</sup>	0.2559	0.0185
<b>Composición:</b>					
<b>Grasa</b>	38.51 <sup>a</sup>	36.89 <sup>a</sup>	30.10 <sup>b</sup>	0.5076	<0.0001
<b>Proteína</b>	29.14 <sup>a</sup>	29.06 <sup>a</sup>	28.81 <sup>b</sup>	0.0748	0.00570
<b>Lactosa</b>	43.41	43.32	43.09	0.1093	0.09900

<sup>ab</sup> Medias con distinta literal en la misma hilera son diferentes ( $P < 0.05$ ).

<sup>†</sup> EEM = Error estándar de la media.



La producción de leche disminuyó ( $P < 0.05$ ) con la inclusión de aceite de soya en la dieta TMR, siendo 4.6% más baja en la TMR6 comparada con la TMR3. Los tratamientos TMR0 y TMR3 mostraron mayor ( $P < 0.05$ ) contenido de grasa y proteína en leche comparado con el tratamiento TMR6 que mostró el contenido más bajo de ambos componentes (Cuadro 4). El contenido de lactosa en leche no difirió ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos probados.

La influencia de la dieta sobre el contenido de grasa en la leche depende, entre otros factores, del contenido de fibra y de los lípidos presentes (Bauman y Griinari, 2003); Jenkins (1993) refiere que suplementar de 60 a 70 g/kg MS de grasas animales o vegetales a bovinos puede reducir el consumo y afectar su digestión normal.

Kargar et al. (2013) adicionaron 2% de aceite de pescado o aceite de soya en la dieta y tuvieron una diferencia de 29% sobre el contenido de grasa de la leche (2.24 vs 2.90%).

El bajo contenido de proteína en leche en la dieta TMR-6 podría estar relacionado con el efecto tóxico de los ácidos grasos insaturados sobre los microorganismos del rumen (Buccioni et al., 2012); un exceso de éstos ácidos en el rumen disminuye la actividad de los microorganismos y con ello la síntesis de proteína microbiana (Chamberlain y Wilkinson, 1996).

En relación al grado de saturación de los AG (Cuadro 5); la dieta TMR6 fue 19.1% menor con respecto a TMR0 para AGS. Para AGMI en la dieta TMR0 disminuyó un 33.2% con respecto a TMR6 con valores intermedios de ambos componentes para la dieta TMR3.

La inclusión de aceite de soya en la dieta de las vacas disminuyó linealmente ( $P \leq 0.05$ ) la concentración de ácidos grasos saturados (AGS) y con ello la relación AGS/AGI, esto debido principalmente al aumento del contenido de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en la leche (Cuadro 4). En consecuencia las vacas produjeron una leche más saludable en las

raciones TMR-6 y TMR-3 con menos AGS, 23.6 y 10.7 %, respectivamente, comparado con la dieta TMR-0.

**Cuadro 5.** Contenido de ácidos grasos según el grado de saturación en la leche de vacas en pastoreo suplementadas con diferentes niveles de aceite de soya en raciones completas mezcladas.

Categorías‡	Tratamientos			EEM†	P<
	TMR0	TMR3	TMR6		
<b>AGS</b>	64.57 <sup>a</sup>	58.31 <sup>ab</sup>	52.22 <sup>b</sup>	2.0215	0.0009
<b>AGMI</b>	28.57 <sup>a</sup>	33.00 <sup>ab</sup>	42.78 <sup>b</sup>	1.5473	<0.0001
<b>AGPI</b>	3.37	4.29	4.43	0.1233	<0.0001
<b>AGS / AGI</b>	1.95	1.60	1.12	0.0623	<0.0001

<sup>ab</sup> Medias con distinta literal en la misma hilera son diferentes (P<0.05).

† EEM = Error estándar de la media.

‡ AGS= Ácidos grasos saturados, AGMI= Ácidos grasos monoinsaturados, AGPI= Ácidos grasos poliinsaturados, AGI= Ácidos grasos insaturados.

Los procesos de lipólisis y de biohidrogenación que sufren los lípidos de la dieta, son efectuados por la población microbiana del rumen, los ácidos grasos liberados llegan a una reducción de 70 a 90 % de los AGPI en su transformación a AGS (principalmente ácido esteárico, C18:0) o isómeros *trans* de AGMI (Ferlay et al., 1992; Palmquist y Jenkins, 1980). Este proceso se debe a que el medio ambiente ruminal es reductor con un exceso de hidrógeno, produciendo la hidrogenación de los AG insaturados resultando marcadas diferencias entre el perfil de AG de los lípidos en la dieta (en su mayoría AGI) y los AG que salen del rumen (la mayoría AGS). Sin embargo, parte de esos AG saturados al ser absorbidos y llegar a tejido de la glándula mamaria, sufren un proceso de desaturación, también llamado síntesis *de novo*, el cual favorece la síntesis de AGI por acción de la enzima delta<sup>9</sup> desaturasa, la cual utiliza como sustrato AGS procedentes del rumen (Bauman y Griinari, 2003), principalmente AG esteárico (C18:0), palmítico (C16:0), mirístico (C14:0) y laurico (C12:0). Este proceso de síntesis endógena de AG en el tejido mamario del animal, aunado a la fuente rica de AGI de la dieta que escapa a la BH

ruminal podrían explicar el incremento de AGMI en los tratamientos donde se adicionó el aceite de soya en la dieta TMR.

En su revisión, Ulbricht y Southgate (1991) sugieren en humanos consumir más AGMI y AGPI y menos AGS para disminuir el riesgo de padecer la enfermedad coronaria del corazón.

## **X. CONCLUSIONES**

La adición de aceite de soya en dietas completas mezcladas de vacas Holstein en pastoreo mejora la proporción de ácidos grasos insaturados en su leche; sin embargo, la adición de 6% de aceite de soya en la dieta, causa una disminución en el consumo voluntario de alimento, con menor producción láctea y menor cantidad de proteína en la leche.

## XI. LITERATURA CITADA

- Allison C D. (1985). Factors affecting forage intake by range ruminants: a review. *J. Range Management*. 38. pp. 305-311.
- AFRC. (1993). Energy and protein requirements of ruminants. Agricultural and Food Research Council. CAB International, Wallingford, U.K.
- Association of Official Analytical Chemists (2012). *Official Methods of Analysis*. 19th ed. AOAC. Arlington. VA, USA. pp. 34-36.
- Ávila T S, Gutiérrez C A J. (2009). Producción de leche con ganado Bovino. Editorial Manual Moderno. pp. 442.
- Bargo F, Muller L D, Kolver E S, Delahoy J E. (2003). Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. *J. Dairy Sci.* 86, pp. 1-42.
- Bauman D E, Baumgard L H, Corl BA, Griinari J M. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. I. in *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.*, IN. pp. 1-11.
- Bauman D E, Griinari Mikko J. (2003). Nutritional Regulation of Milk Fat Synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 2003. 23, pp. 203-27.
- Bell J A, Kennelly J J. (2003). Short communication: Postruminal infusion of conjugated linoleic acids negatively impacts milk synthesis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 86, pp. 1321-1324.
- Buccione A, Decandia M, Minieri S, Molle G, Cabiddu A. (2012). Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with emphasis on the role of endogenous plant factors. *Anim. Feed Sci. Technol.* 174, pp. 1-15.
- Butler G W, Bailey R W. (1973). *Chemistry and biochemistry of herbage*, Academic Press, London, UK.
- Chalupa W, Vecchiarelli B, Elser A E, Kronfeld D S, Sklan D, Palmquist D L. (1986). Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids. *J. Dairy Sci.* 69, pp.1293-1301.
- Chalupa W, Kutches A J. (1968). Biohydrogenation of linoleic-1-14C acid by rumen protozoa. *J. Dairy Sci.* 27, pp. 1502-1508.

- Chamberlain A T, Wilkinson J M. (1996). Feeding the dairy cow. Lincoln, UK. pp. 89.
- Chilliard Yves. (1993). Dietary Fat and Adipose Tissue Metabolism in Ruminants, Pigs, and Rodents: A Review. *J. Dairy Sci.* 76, pp. 3897-3931.
- Chilliard Y, Ferlay A. (2004). Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Repr. Nutr. Dev.* 44, pp. 467-492.
- Chilliard Y, Glasser F, Ferlay A, Rouel J, Doreau M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109, pp. 828-855.
- Christie W W. (1982). A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J. Lipid Res.* 23, pp. 1072-1075.
- Craninx M, Steen A, VanLaar H, Van Nespen T, Martín Tereso J, De Baets B, Fievez V. (2008). Effect of lactation stage on the odd- and branched-chain milk fatty acids of dairy cattle under grazing and indoor conditions. *J. Dairy Sci.* 91, pp. 2662-2677.
- Dawson R M C, Hemington N. (1974). Digestion of grass lipids and pigments in the sheep rumen. *Br. J. Nutr.* 32, pp. 327-340.
- Eastridge M L, Firkins J L. (1991). Feeding Hydrogenated Fatty Acids and Triglycerides to Lactating Dairy Cows, *J. Dairy Sci.* 74, pp. 2610-2616.
- FAOSTAT. (2013). Producción de leche de vaca por continente. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Faruque A J M O, Jarvis B D W, Hawke J C. (1974). Studies on rumen metabolism. IX. Contribution of plant lipases to the release of free fatty acids in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* 25, pp. 1313-1328.
- Feng S, Lock L A, Garnsworthy P C. (2004). Technical note A rapid lipid separation method for determining fatty acid Composition of milk. *J. Dairy Sci.* 87, pp.3785-3788.
- Ferlay A, Chilliard Y, Doreau M. (1992). Effects of calcium salts differing in fatty acid composition on duodenal and milk fatty acid profiles in dairy cows. *J. Sci. Food Agric.* 60, pp. 31.

- Garton G A, Hobson P N, Lough A K. (1958). Lipolysis in the rumen. *Nature* 182, pp: 1511-1512.
- Glasser F, Ferlay A, Chilliard Y. (2008). Oilseed Lipid Supplements and Fatty Acid Composition of Cow Milk: A Meta-Analysis. *J. Dairy Sci.* 91 pp: 4687-4703.
- Goering H K, and Van Soest. (1970). Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handbook No. 379.* ARSUSDA, Washington, DC.
- Hardie C A, Wattiaux M, Dutreuil M, Gildersleeve R, Keuler N S, Cabrera V E. (2010). Feeding strategies on certified organic dairy farms in Wisconsin and their effect on milk production and income over feed costs. *J. Dairy Sci.* 97, pp. 4612-4623.
- Harfoot C G. (1978). Lipid metabolism in the rumen. *Prog. Lipid Res.* 17, pp.21.
- Harfoot C G, Hazlewood G P. (1988). Lipid metabolism in the rumen. In: *The Rumen Microbial Ecosystem.* PN Hobson (ed.), Elsevier Appl. Sci. Publ. Co., Inc., New York, NY. pp. 285-322.
- Harfoot C G, Hazlewood G P. (1997). Lipid metabolism in the rumen. In: *The Rumen Microbial Ecosystem.* PN Hobson (Ed). London, UK, Elsevier. pp. 382-426.
- Hawke J C. (1973). Lipids. *Chemistry and biochemistry of herbage.* Butler GW, Bailey EW (Eds). London, UK. Academic Press. pp. 213-263.
- Henderson C, Hodgkiss W. (1973). An electron microscopic study of *Anaerovibrio lipolytica* (strain 5s) and its lipolytic enzyme. *J. Gen. Microbiol.* 76, pp. 389.
- Henderson C. (1971). "A study of the lipase produced by *Anaerovibrio lipolytica*, a rumen bacterium". *J. Gen. Microbiol.* 65, pp. 81-89.
- Hespell R B, O'Bryan-Shah P J. (1988). Esterase activities in *Butyrivibrio fibrisolvens* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, pp. 1917-1922.
- INEGI. (2014). *Anuario Estadístico.* México. Gobierno del Estado de México. México. pp: 230.

- Jenkins T C, Wallace R J, Moate P J, Mosley E E. (2008). BOARD-INVITED REVIEW: Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86, pp. 397-412.
- Jenkins T C. (2002). The benefits and limitations of fat in dairy rations. Department of Animal and Veterinary Science, Clemson University.
- Jenkins T C. (1993). Symposium: advances in ruminant lipid metabolism. *Lipid Metabolism in the Rumen. J. Dairy Sci.* 76, pp. 3851-3863.
- Kairenius P A, Arola H, Leskinen V, Toivonen S, Ahvenjarvi A, Vanhatalo P, Huhtanen T, Hurme J M, Griinari K J, Shingfield. (2015). Dietary fish oil supplements depress milk fat yield and alter milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 98, pp. 5653-5671.
- Kargar S, G R Ghorbani, M Khorvash, E Kamalian, D J Schingoethe. (2013). Dietary grain source and oil supplement: Feeding behavior and lactational performance of Holstein cows. *Livestock Science* 157, pp. 162-172.
- Kay J K, Roche J R, Kolver E S, Thomson N A, Baumgard L H. (2005). A comparison between feeding systems (pasture and TMR) and the effect of vitamin E supplementation on plasma and milk fatty acid profiles in dairy cows. *J. Dairy Res.* 73, pp. 322-332.
- Kemp P, Lander D J. (1984). Hydrogenation in vitro of c-linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130, pp. 527-533.
- Kepler C R, Hirons K P, McNeill J J, Tove S B. (1966). Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 241, pp. 1350-1354.
- Lock A L, Shingfield K J. (2004). Optimising milk composition, *Anim. Sci. Publ.* pp. 29.
- Maccon B, Sollenberger L E, Moore J E, Staples C R, Fike J H, Portier K M (2003). Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. *J. Anim. Sci.* 81, pp. 2357-2366.



- Martin S A, Jenkins T C. (2002). Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria. *J. Anim. Sci.* 80, pp. 3347-3352.
- McDonald P, Edwards R A, Greenhalg J F P, Morgan C A. (1995). *Nutrition Animal*, Prentice Hall. London, UK.
- Mellado B M. (2010). Producción de leche en zonas templadas y tropicales, Editorial Trillas. pp. 350.
- Menke K H, Steingass H. (1988). Estimation of the energetic feed value from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28, pp. 7-55.
- Menotti A, Kromhout D, Blackburn H, Fidanza F, Buzina R, Nissinen A. (1999). Food intake patterns and 25-year mortality from coronary heart disease: Cross-cultural correlations in the Seven Countries Study. The Seven Countries Study Research Group. *Eur. J. Epidemiol.* 15, pp. 507–515.
- Noble R C, Moore J H, Harfoot C G. (1974). Observations of the pattern of biohydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. *Br. J. Nutr.* 31, pp. 99-108.
- NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. The National Academy Press, Washington, DC. USA. pp. 292.
- Palmquist D L. (1988). The feeding value of fats. *World Animal Science. B. Disciplinary Approach. 4. Feed Science*. ER Ørskov (Ed). Elsevier, Amsterdam. pp. 293-311.
- Palmquist D L, Jenkins T C. (1980). Fat in lactation rations: review. *J. Dairy Sci.* 63, pp. 1-14.
- Parodi P W. (1999). Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J. Dairy Sci.* 82, pp. 1339-1349.
- Park Y. (2009). Conjugated linoleic acid (CLA): Good or bad *trans* fat? *J. Food Comp. and Anal.* 22, pp. 6-12.
- Qiu X, Reed D W, Hong H, MacKenzie S L, Covello P S. (2001). Identification and analysis of a gene from *calendula officinalis* encoding a fatty acid conjugase. *Plant Physiology* 125, pp. 847-855.

- Reiser R. (1951). Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by the ruminant. Fed. Proc. 10, pp. 236 (Abstr.).
- Relling A E, Mattioli G A. (2007). Fisiología Digestiva y Metabolica de los Rumiantes. Catedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de la Plata. Argentina.
- SAS. (1999). SAS/STATM User's Guide. Statistical Analysis System Institute Inc. Cary, North Caroline, USA.
- Sasaki H, Horiguchi K, Takahashi T. (2001). Effects of Different Concentrate and Roughage ratios on Ruminal Balance of Long-Chain Fatty Acids in Sheep, Asian-Austral. J. Anim. Sci. 14, pp. 960-965.
- Schroeder G F, Gagliostro G A, Bargo F, Delahoy J E, Muller L D. (2004). Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. Livest. Prod. Sci. 86, pp. 1-18.
- Schwendel B H, Morel P C H, Wester T J, Tavendale M H, Deadman C, Fong B, Shadbolt N M, Thatcher A, Otter D E. (2015). Fatty acid profile differs between organic and conventionally produced cow milk independent of season or milking time. J. Dairy Sci. 98, pp. 1411-1425.
- Shorland F B, Weenink R O, Goldfine H. (1955). Effect of the rumen on dietary fat. Nature 175, pp. 1129-1130.
- SIAP, SAGARPA. (2014). principales estados productores de leche de vaca, 2013 <http://www.siap.gob.mx/ganaderia-resumen-estatal-pecuario/>.
- Song M K. (2000). Fatty Acid Metabolism by Rumen Microorganisms. Asian-Austral. J. Anim. Sci. 13, pp. 137-148.
- Steel R G D, Torrie J H, Dickey D A. (1997). Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 3rd ed. McGraw-Hill Series in Probability and Statistics. USA. pp. 622.
- Sutton J D. (1989). Altering Milk Composition by Feeding. J. Dairy Sci. 72, pp. 2801-2814.
- Teuber K N O, Balocchi L J, Parga M. 2007. Manejo del pastoreo. Imprenta America. Chile. pp 129.

- Ulbricht T, L V and D A T Southgate. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet* 338, pp. 985-992.
- Van Soest P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. Chapter 20 in *Lipids*, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY.
- Van Soest P J, Robertson J B, Lewis B A. (1991). Methods of dietary, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, pp. 3583-3597.
- Wachira A M, Sinclair L A, Wilkinson R G, Hallet K E M, Wood J D. (2000). Rumen Biohydrogenation of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Effects on Microbial Efficiency and Nutrient Digestibility in Sheep. *J. Agric. Sci.* 135, pp. 419-428.
- Wayne C C. (1964). Symposium on nutrition of forages and pastures: Collecting samples for representative of ingested material of grazing animals for nutritional studies. *J. Anim. Sci.* 23, pp. 265-270.
- Whitlock L A, Schingoethe D J, Hippen A R, Kalscheur K F, AbuGhazaleh A A. (2003). Milk Production and Composition from Cows Fed High Oil or Conventional Corn at Two Forage Concentrations. *J. Dairy Sci.* 86, pp. 2428-2437.
- Wright D E. (1961). Lipase activity of rumen micro-organisms. *N. Z. J. Agric. Res.* 4, pp. 216-223.
- Wu Z, Palmquist D L. (1991). Synthesis and biohydrogenation of fatty acids by ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 74, pp. 3035-3046.