

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



DEPARTAMENTO DE PATOLOXÍA ANIMAL

FACULTADE DE VETERINARIA DE LUGO

Efecto del incremento del ordeño sobre la capacidad productiva de vacas lecheras. Aplicación al uso "Robots de Ordeño"

Jesús Deiros Rodríguez

Lugo, Febrero 2011

ISBN 978-84-9887-791-5 (Edición digital PDF)

Dr. Luis Ángel Quintela Arias, Dr. Pedro García Herradón y Dr. Juan J. Becerra González, Profesores do Departamento de Patoloxía Animal da Universidade de Santiago de Compostela

Informan:

Que a Tese Doutoral titulada: Efecto del Incremento del ordeño sobre la capacidad productiva de vacas lecheras. Aplicación al uso de "Robots de Ordeño", da que é autor o Licenciado en Veterinaria D. Jesús Deiros Rodríguez, foi realizada no Departamento de Patoloxía Animal da Universidade de Santiago de Compostela, baixo a núa dirección e, na opinión dos abaixo firmantes, este traballo reúne as condicións legais precisas para optar ó Título de Doutor en Veterinaria.

E para que conste ós efectos oportunos, asinamos a presente en Lugo a 1 Febreiro de 2011.

Fdo. Luis A. Quintela Arias

Fdo. Pedro García Herradón

Fdo. Juan J. Becerra González

ABREVIATURAS

ACC: CoA carboxilasa

FAS: Ácido graso sintetasa

GT: Galactosil transferasa

FIL: Factor retroinhibidor de lactación

ZO: Zonula occludens

PTHrP: Paratohormona

AMS: Automatic milking systems (sistemas de ordeño automático)

LH: Hormona luteinizante

FSH: Hormona folículo estimulante

IGF-I: Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

BEN: Balance energético negativo

BHB: Beta-hidroxibutirato

NEFA: Ácidos grasos no esterificados

IGFs: Factores de crecimiento similares a la insulina

CC: Condición corporal

TAG: Triacilglicerol

BEP: Balance energético positivo

NPY: Neuropeptido Y

GnRH: Hormona liberadora de gonadotropina

POMC: Pro-opi-omelanocortin

GH: Hormona del crecimiento

T3: Hormona tiroidea tipo 3

T4: Hormona tiroidea tipo 4

RIA: Radioinmunoanálisis

IA: Inseminación artificial

ELISA: Enzimoimunoanálisis

Agradecimientos:

A los Directores de este trabajo, Dr. Luis Ángel Quintela Arias, Dr. Pedro García Herradón y Dr. Juan José Becerra González, por sus consejos, apoyo y estímulo en los momentos difíciles, sin ellos este estudio no sería realidad. Hago extensible este agradecimiento al resto de profesores de Obstetricia y Reproducción.

A mis compañeras y compañeros de Departamento, Mónica, Carmen y Álex, por haber compartido tantos años de trabajo y amistad.

A Germán Alonso, veterinario especialista en nutrición animal, por habernos ayudado en el enfoque de los resultados y en la elaboración de las raciones de los animales.

A Venancio Iglesias Mourelle y su familia, propietarios de la explotación en la que se tomaron muestras de sus animales, por permitirnos el uso de los mismos para este estudio y por las facilidades que me brindaron para el uso de sus instalaciones y la recogida de muestras.

A la Xunta de Galicia por haberme concedido una beca predoctoral que me permitió llevar a cabo este estudio.

A Ledi, a mi madre y a mi hermano Juan por ser los estímulos constantes que me han permitido culminar este trabajo.

A todos los que han colaborado, en mayor o menor medida, para que este trabajo salga a la luz: GRACIAS.

A Uxía y Ledi
A mis padres

I. Introducción	5
II. Revisión Bibliográfica	9
I. Frecuencia e intervalo entre ordeños	10
II. Modificación de la frecuencia de ordeño	10
1. Reducción de la frecuencia de ordeño	11
2. Incremento de la frecuencia de ordeño	11
III. Efectos de la frecuencia de ordeño sobre la funcionalidad mamaria	14
1. Factor retroinhibidor de la lactación (FIL)	15
2. Modificaciones en la permeabilidad de las zonulas óccludens	16
.- Frecuencia de apoptosis	17
IV. Efectos de la modificación de la frecuencia de ordeño	18
1. Sobre la composición de la leche	18
2. Sobre la reproducción	19
3. Sobre la persistencia de la lactación	19
4. Sobre el recuento de células somáticas y la salud de la ubre	20
5. Sobre la longevidad	20
V. Sistemas de ordeño automático (robot de ordeño)	20
1. Ventajas e inconvenientes de los AMS	21
2. Robots de ordeño en España	22
VI. Producción de leche y reproducción	23
1. Factores fisiológicos	23
2. Factores genéticos	26
3. Factores de manejo	26
4. Factores nutricionales	27
4.1. Balance energético	27
4.1.1. BEN previsto	28
4.1.2. Condición corporal	29
4.1.3. Concentraciones de NEFA y de TAG	31
VII. Evaluación de la actividad ovárica durante el posparto	37
1. Progesterona en leche frente a progesterona en sangre	38
2. Perfiles de progesterona	38
III. Objetivos	41
IV. Material y Métodos	43
1. Animales	44
2. Diseño experimental	44
2.1. Ordeños	45
2.2. Alimentación	45
3. Toma de muestras	46
3.1. Sangre	46
3.2. Condición corporal	46
3.3. Datos reproductivos	46
3.4. Leche	47
4. Metodología analítica	47
5. Tratamiento estadístico	48
V. Resultados	49
I. Reproducción	50
1. Parámetros reproductivos	50
1.1. Involución uterina	50
1.2. Intervalo parto celo	51
1.3. Intervalo parto-primera inseminación	51
1.4. Intervalo parto-gestación	51
1.5. Número de inseminaciones	51
2. Actividad ovárica	51
2.1. Primera ovulación	51
2.2. Reinicio de la actividad ovárica	52
2.3. Número de ovulaciones	53
2.4. Tipos de retraso en el reinicio de la actividad ovárica	53

II. Metabolismo	54
1. Metabolismo energético	54
1.1. Glucosa	54
1.2. Colesterol total.....	56
1.3. Triglicéridos	58
1.4. Ácidos grasos no esterificados (NEFA)	60
1.5. Condición corporal	62
1.6. Ganancia de condición corporal	65
2. Metabolismo proteico.....	67
2.1. Albúmina.....	67
2.2. Proteínas totales.....	69
2.3. Urea	71
3. Metabolismo mineral	73
3.1. Calcio.....	73
3.2. Fósforo.....	75
3.3. Relación Calcio/Fósforo	77
3.4. Magnesio.....	79
III. Producción y calidad de la leche	81
1. Producción mensual de leche (9 meses)	81
2. Porcentaje de grasa existente en la leche.....	83
3. Porcentaje de proteína existente en la leche	85
4. Porcentaje de lactosa existente en la leche.....	87
5. Recuento de células somáticas en la leche.....	89
VI. Discusión.....	92
I. Metabolismo	94
1. Metabolismo energético	94
1.1. Glucosa	94
1.2. Colesterol	95
1.3. Triglicéridos	95
1.4. NEFA	95
1.5. Condición corporal/Ganancia de condición corporal	96
2. Metabolismo proteico.....	97
2.1. Albúmina.....	97
2.2. Proteínas totales.....	98
2.3. Urea	99
3. Metabolismo mineral	100
3.1. Calcio.....	100
3.2. Fósforo.....	100
3.3. Relación Calcio/Fósforo	101
3.4. Magnesio.....	101
II. Producción y calidad de la leche	101
1. Producción mensual de leche	101
2. Porcentaje de grasa en leche	103
3. Porcentaje de proteína en la leche.....	104
4. Porcentaje de lactosa en la leche	104
5. Recuento de células somáticas.....	105
III. Reproducción.....	105
1. Parámetros reproductivos	105
1.1. Involución uterina.....	105
1.2. Intervalos reproductivos.....	106
2. Reinicio de la actividad ovárica	108
VII. Conclusiones.....	111
VIII. Referencias bibliográficas	113
IX. Anexo Tablas	146
X. Resúmen	166
XI. Summary.....	168

Introducción

El sector bovino, en su doble aptitud cárnica y lechera, ha constituido históricamente uno de los pilares básicos de la ganadería gallega, que, además, está íntimamente ligado al tejido social del medio rural. En los últimos años se ha producido una considerable transformación del sector, tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, que ha ido acompañada de una progresiva profesionalización de los ganaderos, en detrimento de su número, y de una especialización en su orientación productiva.

La situación a la que se enfrentan durante estas últimas décadas los ganaderos especializados en la producción de leche se caracteriza por:

- Disponer de animales de gran calidad genética, que han sido seleccionados por su elevado potencial productivo.
- Haber realizado fuertes inversiones en instalaciones y maquinaria
- Un notable incremento de los costes de producción
- Una estabilización o disminución del precio del litro de leche, de los terneros y de las vacas de desecho.

Además, las posibilidades de crecimiento de las explotaciones se ven limitadas por el régimen de cuotas de producción, existente desde nuestra adhesión a la Unión Europea, así como por la incertidumbre de su desaparición y a la creciente preocupación social por la contaminación medioambiental, derivada del vertido de purines.

A pesar de que con el incremento del precio de los piensos compuestos, el sector se plantea una reconversión hacia producciones basadas en el pastoreo y consumo de forrajes, aún la mayor parte de los productores han adoptado la estrategia de tratar de incrementar la eficiencia en la utilización de los nutrientes, aumentando la cantidad de leche producida por cada vaca, al objeto de que los animales expresen al máximo su potencial productivo, lo que les permite reducir el número de individuos necesarios para alcanzar la cuota de producción disponible.

Las tres técnicas más comúnmente empleadas para lograr este objetivo son: la administración exógena de somatotropina bovina, la modificación del fotoperiodo (aumentando el número de horas de luz) y el incremento de la frecuencia de ordeño.

El empleo de sustancias hormonales con fines productivos suscita el rechazo de la opinión pública europea, por los posibles efectos nocivos sobre la salud de los consumidores. Por este motivo, su empleo para incrementar la producción de carne o de leche no ha sido autorizado en la Unión Europea y en Canadá. Sin embargo, en otros países, como Estados Unidos, su empleo está permitido y, además, es una

práctica generalizada desde principios de la década de los 90, lo que permite abaratar notablemente los costes de producción.

El incremento artificial del número de horas de luz ejerce un efecto positivo sobre la producción de leche. Así, algunos investigadores observaron que las vacas expuestas a un régimen diario de 16 a 18 horas de luz mostraban incremento en su producción láctea del 6,7%, respecto a otros animales sometidos a un fotoperiodo natural (Peters y col. 1981; Dahl y col. 1997).

Otra de las estrategias para incrementar la eficiencia productiva de un rebaño es modificar la frecuencia de ordeño. El efecto de esta técnica sobre la producción láctea se conoce desde hace muchos años (Wall y McFadden, 2008). Por lo general, las modificaciones en la frecuencia de ordeño han obedecido a causas sociales, de manejo, y en especial a motivos productivos y económicos. La reducción de la frecuencia diaria de ordeño de dos a uno ocasiona una reducción de la producción, cifrada entre el 7 y el 34 % y un incremento de la pérdida de tejido mamario (Carruthers y col., 1993; Clark y col., 2006). Por el contrario, el incremento de la frecuencia de 2 a 3 ordeños diarios induce un incremento de la producción del 10 al 20% (Van der Iest y Hilerton, 1989; Jurjanz y col., 1993; Erdman y Varner, 1995, Smith y col., 2002), siempre y cuando se mantengan unas adecuadas condiciones de manejo (Knight, 1994). Diversos estudios han demostrado que aumentar la frecuencia del ordeño en las primeras etapas del postparto provoca un aumento de la producción de leche en toda la lactación (Hale y col., 2003; Dahl y col., 2004). Además, el incremento de la frecuencia de ordeño tiene la capacidad potencial de aumentar la persistencia de la lactación (Sanders y col., 2000; Shorten y col., 2002; Hale y col., 2003), aunque este procedimiento no sea utilizado en la práctica.

Uno de los principales inconvenientes derivados del incremento de la frecuencia de ordeño es la mayor carga de trabajo. Sin embargo, el diseño y comercialización de sistemas automatizados de ordeño permiten superar este inconveniente (Lind y col., 2000). Por todo ello, este método parece ideal para incrementar la cantidad de leche producida por animal. Sin embargo, antes de recomendar su aplicación de forma generalizada debemos considerar algunos factores capaces de condicionar su efectividad.

El incremento de la productividad de los animales los sitúa al borde de sus límites fisiológicos, determinando que su equilibrio metabólico sea muy inestable. Ello se manifiesta con claridad a través de una reducción de su fertilidad y de su longevidad, y ocasiona un incremento en la frecuencia de aparición de diversas enfermedades que repercuten en el bienestar animal.

La curva de lactación de la vaca lechera se caracteriza por un incremento de la producción desde el momento del parto, alcanzando su valor máximo entre las 6 y las 12 semanas del posparto. Posteriormente, la producción desciende entre un 4 y un 10 % cada mes, dependiendo de diferentes variables (McFadden, 1996) hasta el cese de la secreción láctea. Cada ciclo de lactación debe ser iniciado y renovado mediante una gestación y un parto. Por ello, el rendimiento productivo de una vaca lechera dependerá de su capacidad para iniciar una nueva gestación al comienzo de la lactación, etapa en la que se encuentra sometida a un considerable estrés metabólico, al objeto de reducir la duración de los periodos improductivos. Esta situación ocasiona que la eficiencia reproductiva represente uno de los principales condicionantes de la producción láctea y viceversa.

Revisión Bibliográfica

I.- Frecuencia e intervalo entre ordeños

Antes de comenzar a analizar el efecto de las diferentes rutinas de ordeño sobre la producción de leche, debemos definir dos términos: frecuencia e intervalo. Estos términos están muy relacionados, pero definen dos conceptos totalmente diferentes. Además, en algunas traducciones literales del inglés se utilizan de forma indiferenciada.

La frecuencia define el número de ordeños realizados a lo largo de un periodo de 24 horas (número de ordeños/día), en nuestro país, las vacas son ordeñadas, generalmente, 2 veces al día.

El intervalo representa el tiempo (en horas) que transcurre entre los ordeños realizados en un periodo de 24 horas. La duración de este intervalo deberá ser inferior a 18 horas, con el fin de evitar efectos adversos en la cantidad y la calidad de la leche producida (Stelwagen y Lacey-Hulbert, 1996; Stelwagen y col., 1997), y deberá ser superior a las 8 horas, ya que los intervalos de menor duración incrementan el riesgo de padecer infecciones mamarias (Neijenhuis, 2001).

En las últimas décadas ha aumentado notablemente el interés por conocer los efectos de la modificación de la frecuencia o del intervalo entre ordeños en la producción láctea, ello se debe a razones sociales, cambios en los sistemas de producción o motivos económicos.

II.- Modificación de la frecuencia de ordeño.

La realización de dos ordeños al día, con un intervalo de 12 horas, es una práctica generalizada, que se viene utilizando desde hace mucho tiempo en la mayor parte de las explotaciones lecheras, considerándose, además, el procedimiento óptimo (Armstrong y Daugherty, 1997; Shorten y col., 2002). Sin embargo, al analizar la situación real podemos comprobar que los intervalos entre ordeños son muy variables (8-16h, 9-15h ó 10-14h), como consecuencia de la gran variabilidad de las circunstancias sociales y económicas (Sahr y Ormiston, 1966; Labussière y Coindet, 1968; Knight y col., 1994). Por otra parte, las investigaciones encaminadas a demostrar la superioridad del intervalo de 12 horas frente al de 10-14 horas (uno de los más frecuentes), no han sido totalmente concluyentes. Ningún estudio ha podido demostrar que el ordeño a intervalos irregulares provoque efectos negativos sobre la salud de la ubre. En algunos casos se ha observado disminuciones de la producción, pero que nunca superaban el 2% (Koshi y Petersen., 1954; Mcmeekan y Brumby, 1956; Schmidt y Trimberger, 1963; Sahr y Ormiston, 1966). No obstante, Armstrong y Daugherty (1997) mencionaban que los rebaños de elevada producción, en los que se aplica un intervalo entre ordeños de

10-14 horas, podrían aumentar su producción, entre un 4 y un 6%, a las 2 semanas de establecer un intervalo entre ordeños de 12 horas.

1.- Reducción de la frecuencia de ordeño

En algunas explotaciones extensivas, ubicadas principalmente en Nueva Zelanda, resulta interesante reducir la frecuencia de ordeño durante una parte de la lactación o en algunas estaciones del año, con la finalidad de ajustar la producción o de reducir el calendario laboral (Davis y col., 1999). Por lo general, en estas regiones el ganado lechero tiene partos estacionales, coincidiendo con las épocas de mayor disponibilidad de alimentos. Las vacas se mantienen en praderas acompañadas de sus crías durante una gran parte del día y, posteriormente, se retiran los terneros y se procede al ordeño de los animales. En este método de manejo, el amamantamiento del ternero es el responsable del mantenimiento de la producción de leche (Lumerud y col., 1963). Este sistema de producción está recobrando importancia en la actualidad, como un procedimiento para controlar los excedentes de cuota láctea en las granjas de la UE. La reducción de la frecuencia de ordeño a uno diario produce un descenso de la producción (Clark y col., 2006; Hickson y col., 2006), siendo del 50% en la primera lactación y del 40% en las restantes (Claesson y col., 1959). La reducción media de la cantidad de leche producida es mayor durante el pico de lactación que al final de la misma (Carruters y col., 1993). La capacidad de los animales para adaptarse a la disminución de la frecuencia de ordeño depende del volumen de la cisterna de la ubre. Así, la disminución es más acentuada en las hembras primíparas que en las múltiparas, como consecuencia de su inmadurez en el desarrollo de las cisternas (Davis y col., 1999)

Otra estrategia propuesta consiste en omitir uno de los ordeños semanales, generalmente el que correspondería a la tarde del domingo. Con ello se consigue atenuar el descenso de la producción, sin modificar la composición de la leche, ni reducir la persistencia de la lactación (Ayadi y col., 2003).

2.- Incremento de la frecuencia de ordeño

En las granjas que utilizan sistemas de producción intensivos y en las que los costes de producción del litro de leche son elevados, el procedimiento empleado para maximizar la producción es incrementar la frecuencia de ordeño (Armstrong, 1997; Wall y McFadden, 2008). Los datos bibliográficos existentes indican que al incrementar la frecuencia de ordeño de 2 a 3 veces al día, se provoca un incremento de la producción que oscila del 3 al 39 % (Hanson y Bonnier., 1947; Lush y Shrode, 1950; Elliott y Loosli, 1959; Goff y Gaunya, 1977; Pelissier y col., 1978; Pearson y col., 1979; Barnes y col., 1990, Van Raden y col., 1999; Wall y

McFadden, 2008). No obstante, la respuesta de los animales al incremento de la frecuencia de ordeño está condicionada por las prácticas de manejo y las instalaciones. Así, la alimentación deberá satisfacer la mayor demanda de nutrientes, evitando repercusiones negativas sobre la salud del animal. Además, la distancia que deben recorrer las vacas hasta la sala de ordeño no debe superar los 200 metros y las dimensiones de esta instalación deberán ser las adecuadas para permitir que el proceso se complete en menos de 1 hora. Si no se respetan estas condiciones el incremento productivo obtenido será sensiblemente inferior al esperado (Knight, 1994; Armstrong y Daugherty, 1997; Stelwagen, 2001; VanBaale y col., 2005).

Existen algunos trabajos en los que se observa que la respuesta al incremento de la frecuencia de ordeño está condicionada por otros factores. Así, algunos autores indican que el incremento de la producción está condicionado por el número de lactaciones, señalando que la respuesta es mayor en las primíparas que en las múltiparas (Ludwin, 1942; DePeters y col., 1985; Allen y col., 1986; Gisi y col., 1986; Barnes y col., 1990). Por el contrario otros autores no apreciaron diferencias en función del número de lactaciones (Erdman y Varner 1995).

Un hallazgo muy interesante tanto desde el punto de vista científico como comercial, es el hecho de que el momento en que se realizaba el incremento en la frecuencia del ordeño condicionaba la respuesta. Así cuando se incrementa la frecuencia del ordeño en mitad o al final de la lactación se produce un aumento en la producción, pero este aumento desaparece en el momento que volvemos al régimen de ordeño anterior (Elliot, 1961; Morag, 1973; Svennersten y col., 1990). Sin embargo, incrementar la frecuencia de ordeño al comienzo de la lactación (durante un corto período de tiempo) provocaba un efecto a largo plazo y persistente en lo que restaba de lactación. Originalmente este efecto fue observado en vacas nodrizas. Así, Everit y Phillips (1971) en un diseño experimental en el que empleaban vacas gemelas idénticas, descubrieron que las vacas en las que se producía el amamantamiento de los terneros, junto con el ordeño mecánico, en las primeras 8-10 semanas de lactación, tenían una mayor producción de leche tras el destete, y este aumento de producción se mantenía a lo largo de toda la lactación (tanto en novillas primíparas como en vacas múltiparas). Tras este artículo se publicaron varios estudios que confirmaban esta teoría (Edmunds, 1977; Moss y O'Grady, 1978; Thomas y col., 1978; Fulkerson, 1981). En un intento por minimizar los costes asociados al aumento en la frecuencia del ordeño, se han planteado diferentes experiencias tratando de reducir la ventana durante la cual era necesario aumentar la frecuencia del ordeño (Bar-Peled y col., 1995; Sanders y col., 2000; Hale y col., 2003, Dahl y col., 2004). En resumen, es ampliamente

aceptado que aumentar la frecuencia del ordeño aumenta la producción de leche, y que incrementar esta frecuencia en las primeras etapas de la lactación puede producir un aumento de la producción el resto de la lactación.

Otro factor que condicionaba la respuesta al incremento de la frecuencia del ordeño era la raza de los animales, observándose una respuesta mayor en la raza Holstein que en la Jersey (Campos y col, 1994).

En algunos casos se han empleado frecuencias de ordeño superiores, y existen datos bibliográficos en los que se analizan sus efectos. En la década de los 30 se realizaron diversos estudios para demostrar la respuesta productiva a 4 ordeños diarios (Morgan y Davis, 1931; Copeland, 1934; Garrison y Turner, 1936). Estos trabajos señalaban incrementos de producción de entre un 5 y un 12%. No obstante, las producciones medias obtenidas en aquellos años no son comparables a las actuales. Hoy en día estas frecuencias de ordeño solamente se utilizan durante la primera mitad de la lactación (Hale y col., 2003; Dahl y col., 2004). En algunos estados de Norteamérica (Washington, Idaho, Nueva York y Arizona) se practican 4 ordeños al día durante cortos periodos de tiempo, coincidiendo con las épocas del año en los que el precio de la leche es elevado (Armstrong, 1997), lo que permite rentabilizar esta práctica. Armstrong (1997) cuantificó el aumento de producción obtenido mediante este sistema en el mes posterior a su introducción, que cifró en un incremento del 29-30%, frente al sistema de 2 ordeños, y del 9-14% frente al de 3 ordeños.

Elevar la frecuencia de ordeño de 3 a 6 veces al día, supone una mejora productiva del 6 al 14% (Bar-Peled y col., 1995; Sanders y col., 2000; Dahl y col., 2004). Sin embargo, este aumento no siempre se observa cuando el cambio se introduce en la mitad de la lactación (Van der Iest y Hillerton, 1989; Bar-Peled y col., 1995). Así, se ha podido comprobar que realizando 6 ordeños al día durante las 6 primeras semanas posparto, se consigue un aumento la producción, que no queda restringido al periodo de aplicación, sino que se mantiene cuando la frecuencia retorna a 3 ordeños al día durante el resto de la lactación (Bar-Peled y col., 1995; Sanders y col., 2000; Dahl y col., 2004). No obstante, la aplicación de esta elevada frecuencia de ordeño produce un notable incremento en el consumo de materia seca y grandes pérdidas de peso y de condición corporal en los animales. Algunos estudios recientes demuestran que una vaca emplea 21 h/día en alimentarse y rumiar (Grant, 2003), al aumentar la frecuencia de ordeño, se reduce el tiempo disponible para desarrollar estas actividades y el animal puede ser incapaz de satisfacer sus necesidades energéticas, entrando en una situación de balance energético negativo.

El principal problema del incremento de la frecuencia de ordeño es que supone un considerable aumento de la carga de trabajo. No obstante, aplicando una buena planificación del ordeño, el tiempo necesario para ordeñar un rebaño 3 veces al día puede llegar a ser inferior en un 8 a un 10%, al utilizado para ordeñar el mismo rebaño 2 veces diarias (Smith y col., 1996). Esta planificación resulta más fácil de aplicar en explotaciones de gran tamaño, respecto a las de tipo familiar. La reciente introducción de los sistemas de ordeño automatizado ofrece la posibilidad de incrementar la frecuencia de ordeño sin necesidad de intervención humana. En la mayor parte de los sistemas de ordeño automático es la propia vaca la que determina la frecuencia con la que es ordeñada, aunque se establecen intervalos mínimos entre ordeños, generalmente de 4-6 horas.

III. - Efectos de la frecuencia de ordeño sobre la funcionalidad mamaria

Las modificaciones en la frecuencia de ordeño repercuten en la funcionalidad mamaria a través de diversos mecanismos reguladores de naturaleza local. Este hecho ha sido comprobado mediante diversos experimentos en los que cada mitad de la ubre de un mismo animal era sometida a diferentes frecuencias de ordeño. Así, ambas mitades eran sometidas a los mismos factores sistémicos, por lo que las diferencias en la respuesta únicamente podían deberse a factores intramamarios locales (Linzell y Peaker, 1971; Stelwagen y Knight, 1997; Wall y McFadden, 2007).

El potencial productivo de una glándula mamaria dependerá del número de células secretoras que contenga y de la actividad metabólica de las mismas. Así, se ha comprobado en cabras que la cantidad de leche producida antes de alcanzar el pico de lactación está condicionada por la actividad secretora de las células, mientras que después del pico dependerá de su número (Knight y Wilde, 1987). Sin embargo, en los roedores, es el número de células el que condiciona la producción a lo largo de toda la lactación (Knight y Wilde, 1987).

Los cambios en la capacidad secretora de las células mamarias suelen ser consecuencia de las variaciones en la actividad de ciertos enzimas como la acetil CoA carboxilasa (ACC), ácido graso sintetasa (FAS) y la galactosil transferasa (GT). El incremento en la frecuencia de ordeño provoca un aumento de la actividad secretora de las células mamarias, observándose un incremento de la actividad de estos enzimas, tanto en cabras (Wilde y col., 1985, 1987; Wilde y Knight, 1990), como en vacas (Hillerton y col., 1990; Knight y col., 1992). Igualmente se ha comprobado que la disminución de la frecuencia de ordeño origina una reducción de las actividades de la ACC, FAS y GT tanto en vacas (Farr y col., 1995; Stelwagen y Knight 1997), como en cabras (Wilde y Peaker, 1990).

Sin embargo, cuando el ritmo de 3 ordeños diarios se aplica durante periodos prolongados el incremento de la actividad celular no se mantiene, a pesar de que se incrementa la producción (Wilde y Hendrson, 1985). Esto implica que, a largo plazo, la mayor producción no es consecuencia de un incremento en la actividad celular, sino de otros mecanismos, concretamente del aumento de la cantidad de parénquima mamario, como consecuencia del aumento del número de células secretoras (Wilde y col 1987).

En resumen, los efectos a corto plazo de la modificación de la frecuencia de ordeño son debidos al aumento o descenso de la actividad celular, mientras que los observados a largo plazo dependen de cambios en el número de células (Stelwagen, 2001).

No obstante, los primeros efectos de la modificación de la frecuencia de ordeño se producen de manera casi inmediata, comenzando a apreciarse a las 24 horas de introducir la variación, mucho antes de que se produzcan cambios en la actividad secretora de las células o en su número (Stelwagen, 2001). Por ello, existe una clara evidencia de la intervención de otros factores durante esta etapa inicial, entre ellos se han señalado el factor retroinhibidor de lactación (Linzell y Peaker, 1971; Wilde y col., 1995) y las modificaciones en la permeabilidad de las zonulas ocludens y de la frecuencia de apoptosis (Wilde y col., 1995; Knight y col., 1998; Delamaire y Guinard-Flament, 2006).

1.- Factor retroinhibidor de la lactación (FIL: Feedback inhibitor of lactation)

A comienzos de la década de los 70, Linzell y Peaker (1971) apuntaron la posibilidad de que la producción de leche pudiese autorregularse a través de una sustancia presente en la misma, capaz de ejercer un retrocontrol negativo (FIL). Desde entonces, se han realizado numerosos estudios con la finalidad de aislar dicha sustancia en las distintas fracciones de la leche y se han propuesto diferentes modos de actuación. En la actualidad sabemos que se trata de una proteína con capacidad inhibidora y acción autocrina (Wilde y col., 1995) y que al incrementar la frecuencia de ordeño se reduce su concentración intramamaria, lo que al disminuir su acción inhibidora determina una mayor secreción láctea por unidad de tiempo (Knight, 1994). Esta proteína se sintetiza en las células secretoras del alveolo y se han propuesto dos teorías para explicar su mecanismo de acción (Stelwagen, 2001). La primera de ellas señala que el FIL se va acumulando en la leche almacenada en la glándula, hasta alcanzar una concentración suficiente para inducir su efecto inhibidor. La segunda teoría propone que el FIL está siempre presente en la leche, pero solamente se une a su receptor cuando la leche acumulada en el alveolo provoca la expansión del mismo, exponiendo los receptores del FIL.

Independientemente de su mecanismo de acción, la acumulación de leche en el interior de la glándula reduce la síntesis de componentes no lipídicos y favorece la degradación de la caseína (Wilde y col., 1987; Wilde y Peaker, 1990; Wilde y col., 1995). Para aclarar el modo de acción del FIL es necesario aislar el gen que lo codifica, medir sus concentraciones en leche y establecer su cinética en relación con la frecuencia de ordeño.

2.- Modificaciones en la permeabilidad de las zonulas ocludens

La zonula ocludens (ZO) es la región de los complejos de unión entre las células epiteliales situada en la parte más apical y desempeña una doble función. Así, actúa como una barrera, que separa dos dominios de la membrana celular (el apical y el vasolateral) y regula el paso de iones y/o de pequeñas moléculas entre dos células adyacentes (Schneeberger y Lynch, 1992). Por ello, el paso de iones no constituye un proceso pasivo, sino que las ZO intervienen activamente en la regulación del transporte paracelular (Madara, 1988; Schneeberger y Lynch, 1992). Algunos experimentos realizados en cabras (Stelwagen y col., 1994a) y vacas (Stelwagen y col., 1997, 1998) indicaban que los cambios en la permeabilidad de la zonula ocludens estaban condicionados por la frecuencia de ordeño. Así, se pudo comprobar que, dependiendo de la especie, las ZO se hacen permeables transcurridas de 17 a 20 horas del último ordeño (Stelwagen y col., 1994a, 1997, 1998), coincidiendo con un descenso en la producción de leche (Davis y col., 1998). Otra evidencia que permite relacionar la permeabilidad de las ZO y la secreción de leche se obtuvo mediante estudios en los que se provocó el aumento de permeabilidad de las ZO de forma experimental (Allen, 1990; Stelwagen y col., 1995). Así, al inducir un incremento de la permeabilidad se provocaba un descenso de producción próximo al 15%, cifra muy similar a la observada al reducir el número de ordeños diarios de 2 a 1 (Stelwagen y col., 1995).

En la actualidad se desconoce el mecanismo que relaciona la permeabilidad de las ZO con la producción de leche, aunque Stelwagen (2001) ha propuesto un posible modelo. La disminución de la frecuencia de ordeño determina un descenso en la secreción de prolactina y un aplanamiento de las células secretoras alveolares como respuesta al incremento de la presión intramamaria. Ambas circunstancias regulan la secreción de un péptido relacionado con la paratohormona -PTHrP- (Thiede, 1989; Daifotis y col., 1992; Yamamoto y col., 1992), provocando un descenso en su concentración, lo que activa el bloqueo de los canales apicales de calcio (Bacskai y Friedman, 1990). Esta circunstancia impide el reaprovisionamiento de las reservas intracelulares de calcio, fundamentales para el mantenimiento de las ZO (Jovov y col., 1994). Además, se ha comprobado que la concentración de

PTHrP en la leche se reduce cuanto mayor es la frecuencia de ordeño (Thompson y col., 1994). Por otra parte algunos estudios realizados *in vitro*, con células epiteliales mamarias de ratón, indican la existencia de un efecto directo del PTHrP sobre la formación de ZO (Stelwagen, 2001). Así mismo, se ha demostrado que la prolactina ejerce un efecto directo en la expresión de la ocludina, uno de los principales constituyentes las ZO (Stelwagen y col., 1999). Este mecanismo de acción permitiría explicar el efecto del incremento de la frecuencia de ordeño, puesto que la concentración de lactoalbúmina, buen indicador de la permeabilidad de las ZO (Stelwagen y col., 1997), se reduce cuando aumenta la frecuencia de ordeño (se sustentaría también en el caso de un incremento en la frecuencia de ordeño) (McFadden y col., 1987).

3.- Frecuencia de apoptosis

La apoptosis es un proceso de muerte celular programada que sucede en todos los tejidos corporales y durante todas las etapas del desarrollo de los seres vivos. Este procedimiento ha sido desarrollado por los organismos vivos para eliminar las células innecesarias, sin que exista una reacción inflamatoria como ocurre en los procesos necróticos. El tejido mamario no es una excepción y la apoptosis forma parte de los procesos normales de remodelación del tejido mamario (Walker y col. 1989; Strange y col. 1992).

El destete y el secado ocasionan un descenso en la concentración de hormonas lactogénicas, que va seguido de la involución de la glándula mamaria. Este proceso de involución es reversible en su inicio, primeras 30-36 horas y posteriormente se transforma en irreversible (Jaggi y col., 1996). A las 24 horas del destete suceden numerosos cambios en las células mamarias: aumento en la actividad de la Protein Kinasa A y del factor de transcripción del activador de la proteína I, un aumento en la expresión de los genes de respuesta temprana c-Fos, junD, c-Jun, glucoproteína sulfatada-2, bcl-x y bax (Strange y col., 1992; Jaggi y col., 1996; Li y col., 1997), procesos íntimamente relacionados con la apoptosis. Los procesos de apoptosis han sido descritos, también, durante la involución de las glándulas mamarias de cabras y vacas (Quarrie y col., 1994; Wilde y col., 1997). Cuando se prolonga el intervalo entre ordeños se inicia el proceso de apoptosis, aunque se revierte parcialmente cada vez que se ordeña. El sistema de la plasmina también está implicado en la involución del tejido mamario (Politis, 1996). Así, los incrementos de la concentración láctea en plasmina, plasminógeno y factor activador del plasminógeno, observados en las vacas ordeñadas solamente una vez al día, coinciden con los cambios preapoptóticos derivados de la activación de ciertos genes (Knutson y col., 1993; Stelwagen y col., 1994b; Kelly y col., 1998).

Por el contrario, al incrementar la frecuencia de ordeño se evitarían los cambios asociados con la apoptosis temprana. No obstante, carecemos de datos en los que apoyar esta última afirmación, ya que la información disponible en relación a la actividad de plasmina, en relación con la frecuencia de ordeño, es muy limitada. Únicamente sabemos que cuando la extracción de leche se realiza con mucha frecuencia, cada 2 horas, se reduce la actividad de la plasmina en la leche (Kaartinen y col., 1990).

El efecto de la frecuencia de ordeño sobre la producción está condicionado, también, por las características anatómicas de la glándula mamaria, sobre todo cuando se reduce la frecuencia. La leche secretada por la glándula entre dos ordeños consecutivos se almacena en unos senos elásticos, denominados cisternas. Por lo tanto, las dimensiones de la cisterna determinarán la respuesta del animal a diferentes ritmos de ordeño. Así, las vacas con cisternas de gran volumen tolerarán mejor largos intervalos entre ordeños y viceversa (Dewhurst y Knight, 1992; Knight y Dewhurst, 1994; Davis y col., 1987; Stelwagen y Knight, 1997). Sin embargo, otros autores indican que esta relación es poco acusada (Carruthers y col. 1993). La capacidad de la leche para drenar libremente desde el alveolo hasta la cisterna parece ser un factor determinante de la magnitud del descenso de la producción en respuesta a la reducción de la frecuencia de ordeño. La repleción del alveolo se produce a las 16 horas del ordeño (Davis y col., 1999), coincidiendo con el momento en el que se incrementa la permeabilidad de las ZO (Stelwagen y col., 1997). Obviamente, cuando la leche se mantiene en el interior del alveolo alcanzado este punto, se activan diversos mecanismos intramamarios que reducen la secreción (Stelwagen, 2001).

La funcionalidad de los alvéolos mamarios y su número se incrementan al aumentar la frecuencia de ordeño (Shorten y col, 2002). No obstante, la magnitud de dicho aumento se reduce a medida que la frecuencia de ordeño se incrementa.

IV- Efectos de la modificación de la frecuencia de ordeño

1.- Sobre la composición de la leche

El precio que percibe el ganadero por litro de leche está supeditado a su calidad, y en su determinación intervienen, entre otros factores, las cantidades de grasa y de proteína. Sin embargo, existen opiniones contrapuestas en cuanto al efecto del incremento de la frecuencia de ordeño sobre la composición química de la leche. Algunos autores indican que el contenido en grasa y proteínas no se modifica en función de la frecuencia de ordeño (Amos y col, 1985; DePeters y col, 1985; Gisi y col, 1986), otros señalan que aumenta (Allen y col, 1986; Campos y col, 1994; Klei y col, 1997) y otros que disminuye (Erdman y Varner, 1995).

Cuando la leche se encuentra en el interior de la glándula mamaria se producen dos procesos metabólicos que es necesario tener en cuenta: la lipólisis y la proteólisis. Ambos procesos, además de reducir la calidad de la leche (Murphy y col, 1989), afectan a la producción de queso y de lacto derivados (Barbano y col, 1991). El incremento de la frecuencia de ordeño provoca un incremento del contenido en ácidos grasos de cadena corta en la leche, (Lynch y col, 1992), que son más sensibles a la lipasa y, por tanto, aumenta el riesgo de lipólisis. La degradación de las proteínas lácteas afecta sobre todo a la caseína, que se transforma de β -caseína a γ -caseína, y es consecuencia de la acción de la plasmina (Polistis y col, 1989). Esta situación se produce en el interior de la glándula mamaria, y a la temperatura de 38,5°C (a la que se encuentra la leche), resulta óptima para la actuación de la plasmina. Al aumentar la frecuencia de ordeño se reduce la proteólisis de la caseína.

2.- Sobre la reproducción

Existen datos contrapuestos en cuanto a la influencia de la frecuencia de ordeño sobre la eficiencia reproductiva, que probablemente sean debidos al bajo número de animales empleados. Algunos autores indican que la frecuencia de ordeño no afecta a los intervalos parto-1ª inseminación, parto-gestación, ni al nº de inseminaciones/gestación (Barnes y col., 1990), otros indican que sólo provoca un alargamiento del intervalo parto-gestación (Amos y col, 1985), mientras que otros investigadores señalan que empeora sensiblemente los resultados reproductivos (DePeters y col, 1985; Allen y col, 1986).

3.- Sobre la persistencia de la lactación

Debido a que la mayoría de estudios sobre los efectos del aumento de la frecuencia de ordeño son de corta duración, unas semanas a lo sumo, es difícil determinar si los efectos sobre la funcionalidad mamaria son permanentes. Desde un punto de vista teórico, el aumento de la frecuencia de ordeño podría prolongar la persistencia de la lactación, salvo en situaciones de restricción nutricional (Shorten y col., 2002), si bien no ha sido demostrado (Knight y Wilde, 1993). El término persistencia se utiliza para definir la velocidad con la que se reduce la cantidad de leche producida al día tras alcanzarse el pico de lactación. En las vacas, se ha comprobado que la reducción de la frecuencia de ordeño de 3 a 2 veces al día (Poole, 1982) o de 6 a 3 veces al día (Bar-Peled y col., 1995) origina una disminución de la cantidad de leche producida, pero los valores alcanzados son siempre superiores a los del grupo control. Este hecho parece sugerir que la mayor frecuencia de ordeño incrementa la cantidad de parénquima mamario. Contrariamente a lo que cabría pensar, el aumento de parénquima mamario no se

traduce en una mayor persistencia de la lactación, puesto que se ha comprobado que la tasa de descenso de la producción tras el pico de lactación era similar en los grupos sometidos previamente a diferentes frecuencias de ordeño (DePeters y col. 1985). No obstante, cuando las vacas son ordeñadas una vez al día la velocidad de regresión mamaria aumenta (Carruthers y col., 1993) y cuando se realiza un ordeño incompleto de forma continuada, dicha regresión se acelera todavía más provocándose lactaciones más cortas (Davis y col., 1985; Ziesack y col., 1986).

4.- Sobre el recuento de células somáticas y la salud de la ubre

La mayor parte de los estudios realizados señalan que el incremento de la frecuencia de ordeño tiene escasas repercusiones sobre la salud de la ubre (DePeters y col., 1985; Gisi y col., 1986; Hale y col., 2003; Patton y col., 2006; Wall y McFadden, 2007). Sin embargo, algunos trabajos indican que la práctica de tres ordeños reduce el recuento de células somáticas (Klei y col., 1997; Dahl y col., 2004) y la incidencia de mamitis (Pearson y col., 1979). Además, Hogeveen y col. (2001) observaron que el incremento en la frecuencia de ordeño provocaba una disminución del recuento de células somáticas en tanque y reducía el porcentaje de vacas con recuentos superiores a 250.000 células/ml. Smith y col. (2002) y Dahl y col. (2004) obtuvieron resultados similares, ambos grupos de investigación encontraron que al incrementar la frecuencia de ordeño, independientemente de que se mantuviese durante toda la lactación o se aplicase únicamente al principio, se producía un descenso en los recuentos de células somáticas.

5.- Sobre la longevidad

Las referencias bibliográficas que abordan la influencia de la frecuencia de ordeño sobre la longevidad (entendida como la duración de la vida productiva del animal) son escasas y contradictorias. Así, mientras que Allen y col. (1986) y Gisi y col. (1986) concluyen que el incremento de la frecuencia ordeño no repercute negativamente sobre la longevidad. Sin embargo, Smith y col. (2002) observaron que los porcentajes de vacas eliminadas en los rebaños donde se practicaban 3 ordeños eran mayores.

V.- Sistemas de ordeño automático (robot de ordeño)/Automatic milking systems (AMS)

Los primeros intentos de automatizar completamente el proceso de ordeño surgieron a mediados de los años setenta (Koning y van de Vorst, 2002). La principal razón que llevó a desarrollar métodos de ordeño automático fue el creciente coste de la mano de obra observado en numerosos países. La mayor dificultad a superar, fue el desarrollo de sistemas automatizados de colocación de pezoneras, lo que provocó que se tardara más de una década en desarrollar un

AMS totalmente integrado y con plenas garantías en cuanto a su funcionamiento (Ipema y Benders, 1992). Los primeros sistemas de ordeño robotizado se instalaron en 1992 en granjas lecheras comerciales de Holanda (Halachmi, 1999). Pero, su verdadera expansión no se produjo hasta finales de la década de los 90 y el inicio del nuevo siglo, así a finales del año 2001 existían en el mundo unas 1150 granjas que ordeñaban de forma totalmente automática (Koning, 2002).

Los robots de ordeño no constituyen un método universal aplicable en el futuro a todas las explotaciones de vacuno lechero. Pero resulta evidente que han dejado de ser una utopía o una posibilidad lejana, para pasar a ser una opción de manejo para un importante segmento de explotaciones en las condiciones productivas europeas y españolas (Caja y col., 2002).

En la mayoría de los casos, lo que motiva el interés de su posible empleo en una explotación no es la situación económica o la disponibilidad de mano de obra. Así, cobran importancia otros conceptos como: la profesionalización y modernización del trabajo, la mayor dedicación a la gestión técnico-económica o a otras actividades profesionales (diversificación productiva, agricultura y ganadería a tiempo parcial, etc.), la mejora de la calidad de vida, el relevo generacional, etc., (Buxadé, 2002).

En la práctica, el actual robot de ordeño resulta un sofisticado equipo que materializa la antigua aspiración del ganadero de que las vacas se ordeñen solas. Además, constituye un complejo sistema de gestión de las explotaciones de vacuno lechero en las que, la operación rutinaria del ordeño diario es automatizada y repartida a lo largo del día, permitiendo el máximo aprovechamiento del potencial productivo de cada animal y facilitando la recogida y análisis de sus datos productivos. Como resultado de su empleo los ganaderos reducirán y flexibilizarán sus horarios de trabajo y mejorarán su calidad de vida, sin que ello suponga una reducción de sus resultados productivos y económicos (Caja y col., 2002).

1.- Ventajas e inconvenientes de los AMS

El principal beneficio del ordeño automático debería ser un incremento en la producción de leche, como resultado del aumento de la frecuencia de ordeño. La información recogida en explotaciones holandesas que lo utilizan, indica que la producción diaria de leche se incrementa alrededor del 11.4%, respecto a sistema de 2 ordeños diarios previos a su instalación (Koning, 2002). Los datos franceses señalan un aumento de producción de un 9-13% de media, en aquellas granjas que llevan utilizando el robot durante un mínimo de 2 años (Billón, 2001; Veysset y col., 2001).

Otros aspectos ventajosos a considerar, son los relativos al bienestar animal y la reducción de la carga de trabajo en la granja, con la consecuente mejora en la calidad de vida del ganadero y de su entorno familiar (Lind y col., 2000).

En cuanto a los inconvenientes más destacados podemos señalar, la elevada inversión inicial que debe soportar aquel que quiera instalar uno de estos sistemas (Wauters y Mathijis, 2004) y sobre todo, un probable descenso en la calidad de la leche, con incrementos del recuento bacteriano, células somáticas, contenido en ácidos grasos libres y punto crioscópico (Justesen y Rasmussen, 2000; Klungel y col., 2000; Van der Vorst y Hogeveen, 2000; Pomies y Bony, 2000; Billon, 2001; Rasmussen y col., 2001). Sin embargo, Van der Vorst y Koning (2002) demostraron que este descenso de calidad, observado inmediatamente después de la introducción del AMS, comienza a estabilizarse al cabo de 6 meses, de tal forma que los valores del recuento bacteriano y de células somáticas dejan de aumentar y se estabilizan, aunque continúan siendo superiores a los observados en las granjas que utilizan sistemas de ordeño convencionales.

Otras desventajas derivadas del uso del robot son: el largo periodo que necesitan los animales para adaptarse (en torno a un año desde su introducción en la explotación), las dimensiones mínimas de la explotación para que sea rentable, (entre 50 y 70 animales, cifra que no se adecúa al tamaño medio de las explotaciones gallegas), el hecho de que algunas vacas no lleguen a acostumbrarse nunca a este sistema, la tasa de eliminación (se estima en torno a un 10%) y, además, que en la actualidad se desconoce el tipo de toros más adecuados para producir novillas con una ubre de morfología ideal para el ordeño robotizado (Caja y col., 2002).

2.- Robots de ordeño en España

Las características principales y los detalles del funcionamiento de los robots utilizados en España, así como las modificaciones que deberían realizar las explotaciones convencionales para adaptarse al uso de un robot, han sido descritas por Carnero y Bustos (2002) y Ruíz-Labourdette (2002). Además, San Julián (2001) ha publicado un interesante análisis en el que lo compara con las salas de ordeño convencionales.

Los primeros robots de ordeño se instalaron en Cataluña (marzo) y Navarra (agosto) de 2000. Desde entonces se han instalado en nuestro país numerosos equipos, en condiciones ligeramente diferentes a las habituales en el resto de Europa. Se espera que esta cifra se incremente con rapidez hasta llegar al 3-5% de las explotaciones (Caja y col., 2002).

VI.- Producción de leche y reproducción

Los considerables progresos alcanzados a nivel mundial en relación a la genética y el manejo de las vacas de aptitud láctea, acontecidos durante el último cuarto del siglo XX, han dado lugar a una situación nueva, en la que un menor número de animales permiten satisfacer la demanda creciente de productos lácteos. Sin embargo, de forma simultánea, se ha producido un descenso de la fertilidad y de la fecundidad de los animales, lo que repercute negativamente sobre la eficiencia productiva del sector (Lucy, 2001). Los índices de concepción obtenidos en la década de los 50 aplicando la inseminación artificial se aproximaban al 65% (Casida, 1961), mientras que los publicados en los últimos años no superan el 45%, cuando se utilizan celos naturales, descendiendo hasta el 35% cuando se emplea la inseminación a tiempo fijo (Macmillan et al, 1996; Schmitt y col., 1996; Dransfield y col., 1998; Pursley y col., 1998; Roche y col., 2000; Royal y col., 2000; López-Gatius, 2003). Este descenso de la fertilidad se observa en todo el mundo (Macmillan et al, 1996; Roche y col., 2000; Royal y col., 2000; López-Gatius, 2003) y es una consecuencia de la globalización. Durante este mismo periodo de tiempo se ha producido un considerable incremento en la producción láctea, lo que nos lleva a establecer de forma intuitiva una asociación entre el incremento de la producción y el deterioro de la capacidad reproductiva. Sin embargo, algunos estudios en los que se comparan los datos reproductivos de explotaciones con distintos niveles de producción, permitió comprobar que en las de mayor producción el rendimiento reproductivo era también mayor (Nebel y McGilliard, 1993; Stevenson y col., 1999). Ello indicaba que en estas explotaciones se aplicaba un mejor manejo nutricional y reproductivo, lo que determinaba que las vacas estuvieran más sanas. Por ello, las causas del descenso de la fertilidad no habrá que buscarlas solamente en el nivel de producción, sino en la combinación de diversos factores fisiológicos, genéticos, nutricionales, ambientales y de manejo, cuyo efecto sobre la eficiencia reproductiva, probablemente sea aditivo.

1.- Factores fisiológicos

Existen muy pocos estudios bien documentados en los que se analicen los cambios acontecidos en la fisiología reproductiva de las hembras bovinas lecheras durante los últimos 50 años, uno de ellos es el realizado por Hansen (2000) en la Universidad de Minnesota. Por ello, debemos recurrir a comparaciones de los datos actuales con los reseñados en trabajos previos, realizados en las décadas de los 50 o 60, con las limitaciones que ello supone.

Los estudios realizados en los años 60, señalaban que en las vacas de aptitud láctea, la primera ovulación se producía entre los 14 y los 21 días del

posparto y que tan solo el 5% de los animales presentaba anestro a partir de los 60 días posparto (Morrow y col., 1966; Marion y Gier, 1968). Sin embargo, cuando analizamos estos mismos parámetros, en la actualidad, en vacas de elevada producción láctea, podemos comprobar que el intervalo medio entre parto y la primera ovulación se ha incrementado en 10 días, y el porcentaje de vacas en anestro a los 60 días posparto está próximo al 38% (Stevenson, 2000, Hansen, 2000). El alargamiento en el intervalo parto-primera ovulación parece ser consecuencia de la existencia de una subpoblación de vacas en las que dicho intervalo es muy largo (de Vries y Veerkamp 2000). La causa de este alargamiento ha sido atribuida a la mayor frecuencia de situaciones de balance energético negativo y a su efecto negativo sobre la secreción pulsátil de LH (Beam y Butler, 1999; Butler, 2000). Sin embargo, la corrección del desequilibrio energético tan sólo provoca una reducción de 4 días en la duración de este intervalo (de Vries y Veerkamp, 2000), lo que sugiere la intervención de otros factores diferentes del desequilibrio energético.

Las vacas de elevada producción láctea presentan una menor secreción de progesterona, especialmente acentuada en los días posteriores a la inseminación (Lucy y col., 1998), lo que podría determinar su menor fertilidad. Esta situación parece ser provocada por diferentes circunstancias, entre las que se ha señalado un menor desarrollo del cuerpo lúteo (Lucy, 2001) y una mayor degradación de la progesterona a nivel hepático, consecuencia de la mayor actividad funcional de este órgano por la mayor ingesta de alimentos (Sangsritavong y col. 2000).

Otra situación observada con frecuencia en las vacas de alta producción, es el incremento de la incidencia de fases luteales de duración anormal. Así, se ha observado fases luteales que duran más de 20 días (Opsomer y col. 1998) e incluso algunos estudios describen animales cuyo intervalo medio entre dos estros se sitúa entre los 24 y 28 días (Kirby y col., 1997). Estas alteraciones se han relacionado con el desequilibrio energético y con la presentación de enfermedades peripartales (Opsomer y col. 2000). Es preciso tener en cuenta que cualquier cambio en la duración de la fase luteal complica el manejo reproductivo de los animales, al dificultar notablemente la predicción de los celos. La existencia de fases luteales alargadas, también, podría ser indicativa de alteraciones en la funcionalidad folicular, con repercusiones negativas sobre la secreción y el metabolismo del estradiol o de fallos en la cascada luteolítica, asociados a mecanismos dependientes del estradiol (Lucy, 2001).

Existen diversas evidencias que indican que las vacas de alta producción muestran diferencias en la dinámica de crecimiento folicular y en la secreción de

estrógenos. Así, los folículos dominantes de estas hembras requieren más tiempo para producir suficiente cantidad de estrógenos para desencadenar la descarga preovulatoria de LH (Sartori y col., 2000), lo que origina que los folículos dominantes alcancen un mayor diámetro. Sin embargo, tampoco podemos descartar, que al igual que sucede en el caso de la progesterona, este hecho sea consecuencia del incremento de la velocidad de degradación hepática. Lo que ha quedado sobradamente demostrado es que los ovocitos procedentes de los folículos persistentes de gran diámetro, tienen menor competencia para ser fecundados y soportar el desarrollo embrionario temprano (Austin y col., 1999), lo que podría contribuir al descenso de la fertilidad.

Por otra parte, las vacas de alta producción tienen una mayor incidencia de ovulaciones dobles, cifrándose en torno a un 20-25% en vacas adultas, mientras que en las novillas es tan solo de un 2%, ello determina un considerable incremento en el porcentaje de gestaciones gemelares (5%) (Kirby y col., 1997; Fricke y Wiltbank, 1999). Esta situación es indeseable debido a que repercute negativamente en la fertilidad, al incrementar la incidencia de mortalidad embrionaria (Fricke y Wiltbank, 1999), al tiempo que reduce la producción láctea. Esta característica indica claramente la existencia de anomalías en la regulación ovárica en las vacas de alta producción, relacionadas con la secreción de inhibina, y/o estradiol, al ser ambos esenciales en la regulación de la secreción de FSH durante la oleada de crecimiento folicular.

Los diferentes estudios realizados en estas hembras han puesto de manifiesto una pobre expresión de los signos de celo. Así, en estudio realizado por Nakao y Ono (2003), analizando un cuestionario cumplimentado por técnicos inseminadores, se comprobó que el 74 % de los encuestados coincidían en la reducción de la expresión de los signos de celo. En un estudio en el que se realizó un exhaustivo análisis del periodo de celo mediante el empleo de un detector de monta electrónico (Heat-Watch System, DDx Inc., Denver, CO), se pudo comprobar que la duración media del celo era tan solo de 7 horas, con una media de 8,5 episodios de monta (Dransfield y col. 1998). Además, un elevado porcentaje de animales (35 a 37%) no presentaron reflejo de inmovilidad en el transcurso del celo (Yoshida y Nakao, 2005). Estos datos ponen de manifiesto que la detección del celo resulta cada día más difícil, lo que obliga a incrementar el número de periodos de observación y la duración de los mismos, así como a utilizar dispositivos auxiliares para la detección del celo.

2.- Factores genéticos

Los niveles de consanguinidad en la raza Holstein se han incrementado dramáticamente desde 1980, situándose en la actualidad en torno al 5% y algunos investigadores han previsto que llegarán al 10% en 2020 (Hansen, 2000). Se desconoce el nivel de consanguinidad que podría suponer un límite de alarma, aunque es sobradamente conocido que afecta a la supervivencia de los terneros, a su velocidad de crecimiento, a la resistencia a las enfermedades y a la fertilidad. Un estudio realizado en vacas Guernsey, permitió comprobar que el aumento de la consanguinidad en 1% determinaba un incremento de 0,17 en el número de servicios por concepción, de 2 días en el intervalo parto gestación y reducía en un 3,3% la tasa de concepción (Hermas y col. 1987). Si estas cifras fueran exactas permitirían explicar por si solas el descenso de la fertilidad que viene observándose en la raza Holstein desde la década de los 80.

Una de las soluciones propuestas para combatir el descenso de la eficiencia reproductiva es aplicar la selección para recuperar unos índices reproductivos aceptables. Las características reproductivas tienen una heredabilidad muy baja, pero es posible la selección basada en criterios reproductivos. Así, algunos programas de selección aplicados en los países escandinavos incluyen en el cálculo del mérito genético total algunas características genéticas no productivas (fertilidad, resistencia a la mamitis, longevidad, etc.) (Philipsson y col., 1994)

3.- Factores de manejo

El incremento del número de animales por explotación contribuye a reducir la eficiencia reproductiva, aunque dicha contribución sea difícil de cuantificar, dada la imposibilidad de utilizar el manejo reproductivo aplicado en las granjas de reducidas dimensiones. Los procedimientos tradicionales de identificación, detección del celo, inseminación y análisis de los datos reproductivos llevados a cabo en explotaciones pequeñas resultan inadecuados cuando son aplicados a explotaciones de grandes dimensiones. Las grandes explotaciones obligan a aplicar nuevos métodos de manejo reproductivo: métodos auxiliares para la detección del celo, informatización de los datos reproductivos, inseminación a tiempo fijo, etc.

Por otra parte, en estas explotaciones existe una elevada tasa de reposición, incrementándose el número de novillas de primer parto. Estas hembras están especialmente predispuestas a padecer desequilibrios energéticos, debido a que las necesidades derivadas de su crecimiento corporal se solapan con las de la lactación. Este hecho compromete su capacidad reproductiva, provocando un alargamiento del anestro posparto y una menor tasa de concepción a la primera inseminación

(Lucy, 1992b). Esta situación es especialmente grave en las granjas con problemas de fertilidad, en las que el incremento de la reposición es mayor, debido a la eliminación de vacas con problemas reproductivos, lo que contribuye a agravar la situación general.

4.- Factores nutricionales

Las necesidades de energía y de proteínas de una vaca lechera de alta producción, al inicio de la lactación, superan con creces a las obtenidas a través de la ingesta de alimentos. Por ello, al inicio de la lactación estas vacas se encuentran en un balance energético y proteico negativos. Para compensar este desequilibrio se produce la movilización de las reservas corporales de grasa, proteínas y minerales (Blum, 1992; Chilliard y col., 1998). Este proceso determina diversos cambios metabólicos y endocrinos: elevación de las concentraciones de hormona del crecimiento y de cuerpos cetónicos, bajas concentraciones de glucosa, insulina, IGF-I y de hormonas tiroideas, y una disminución de los cocientes insulina/hormona del crecimiento, insulina/glucagón e insulina/cortisol (Blum y col., 1983; Kunz y col., 1985; Ronge y col., 1988; Chilliard y col., 1998). Por todo ello, los animales se encuentran en un equilibrio muy inestable entre la normalidad y la aparición de alteraciones metabólicas que resultan determinantes para el descenso en la eficiencia reproductiva.

4.1.- Balance energético

Durante el periodo de secado las reservas de energía acumuladas se emplean para cubrir las necesidades derivadas del mantenimiento del animal y el desarrollo fetal, pero el inicio de la lactación supone que la cantidad de energía que un animal recibe a través de la dieta no sea capaz de compensar las necesidades derivadas del rápido incremento en la producción láctea (Buttler, 2000), lo que determina la aparición de un balance energético negativo (BEN). El balance energético negativo se inicia unos días antes del parto y alcanza sus valores más bajos a las 2 semanas del mismo (Butler y Smith, 1989; Bell, 1995), manifestándose por la progresiva pérdida de condición corporal.

El BEN puede cuantificarse mediante diferentes indicadores: requerimientos de energía para el mantenimiento, peso corporal, producción de leche y composición de la misma (Butler y col., 1981; Canfield y Butler, 1990; Beam y Butler, 1999). Entre los índices utilizados para dicha cuantificación (BEN previsto o calculado) podemos citar el NRC norteamericano, el VEM holandés y el UFL francés (Van Es y col., 1978; Vermorel, 1978). No obstante, estos índices solamente son aplicables a animales tipo, mantenidos en unas condiciones muy determinadas, lo que impide su aplicación de forma generalizada. Además, su capacidad para

predecir la severidad y la duración del BEN, se ven afectadas por otros factores como la composición de los alimentos (Van der Honing y col., 1977; Bruinenberg y col., 2002).

Durante el balance energético negativo se producen diversos cambios metabólicos: la disminución de las concentraciones de glucosa e insulina, la elevación de los valores de beta-hidroxibutirato (BHB) y de los ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Canfield y Butler, 1990). En aquellos casos en los que el BEN es muy severo puede producirse el síndrome de hígado graso (Andrews y col., 1991; Van der Top y col., 1995). Los cambios en el perfil bioquímico, van acompañados, además, de una modificación en el equilibrio endocrino de las vacas. Así, observamos disminuciones en la concentración de leptina (Ehrhardt y col., 2000; Block y col., 2001), hormonas tiroideas (McGuire y col., 1991) y factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) (Lucy y col., 1991). Todos estos cambios son indicativos de la activación de un proceso de adaptación, que pretende adecuar las necesidades energéticas al aporte de energía. Dada la gran complejidad de este proceso de adaptación y del elevado número de metabolitos implicados, parece imposible determinar el momento exacto en el que se inicia, y si se está produciendo con éxito. Además, la adaptación es un fenómeno gradual, que difiere de unos animales a otros. Es obvio que la mayoría de las vacas logran adaptarse y superan el BEN, por lo que carece de sentido establecer una clasificación puntual del grado de adaptación de las vacas al BEN (Jorritsma y col., 2003). Sin embargo, resulta de gran utilidad emplear indicadores (bioquímicos, hormonales y sintomatológicos) del grado de riesgo, que combinados de forma adecuada y analizados antes del parto, permitan evaluar la extensión del BEN y la capacidad del animal para superarlo (Jorritsma y col., 2003).

Entre los indicadores más comúnmente empleados para predecir situaciones de riesgo se incluyen: el BEN calculado o previsto, la condición corporal (CC) y las concentraciones de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en sangre y de triacilglicerol (TAG) en hígado.

4.1.1.- BEN previsto

Existen diferentes evidencias de que el BEN se mantiene hasta los 72 días del posparto y de que el mayor desequilibrio, suele producirse entre los 2,5 y 12 días del mismo (Canfield y Butler, 1990; De Vries y col., 1999). Por lo tanto, cuando la duración del desequilibrio o su intensidad son mayores, podemos predecir que los mecanismos necesarios para superarlo no funcionan de manera adecuada. Por lo tanto, todos los factores que prolonguen y/o agraven el BEN previsto, como la producción de leche y la baja ingesta de alimentos, son a su vez

factores de riesgo en la adaptación al BEN. Sin embargo, algunos autores han comprobado que la cantidad de alimento ingerida tiene mayor repercusión en el BEN previsto que la producción láctea (Villa-Godoy y col., 1988; Zurek y col., 1995). Además, Butler y Smith (1989) comprobaron que la relación existente entre el BEN previsto y la producción de leche no era tan estrecha como inicialmente se suponía. Las vacas de elevada producción tienen mayor riesgo de padecer un BEN más severo, pero las diferencias en el BEN están condicionadas por el manejo alimentario (Butler y col., 1981; Villa-Godoy y col., 1988, Beam y Butler, 1999; Heuer y col., 2001). En conclusión, tanto la producción de leche como la ingesta de alimentos actúan como factores de riesgo en la falta de adaptación al BEN, pero el segundo tiene más importancia que el primero.

Las diferencias observadas en individuos entre el BEN previsto y real, pueden estar ocasionadas por diferencias en la utilización de la energía. Así, Veerkamp (1998) observó que la distribución de la energía entre las distintas funciones vitales variaba de unos animales a otros. Este hecho determinaba que vacas con una producción láctea similar y que recibían la misma cantidad de energía, mostraban diferencias en cuanto a la duración e intensidad del BEN. En principio podría ser consecuencia de diferencias genéticas (Veerkamp y col., 1995), no obstante, cabe la posibilidad de que influyesen otros factores (Veerkamp, 1998). En cualquier caso, y con independencia de su origen, los procesos de redistribución de energía que se activan en el posparto, juegan un papel destacado en la respuesta al BEN.

4.1.2.- Condición corporal

La evaluación de los cambios en la condición corporal (CC) constituye un método sencillo y útil para conocer las reservas energéticas y la situación nutricional de las hembras bovinas de aptitud láctea (Wildman y col., 1982; Hady y col., 1994). El método de valoración consiste en observar y palpar la cantidad de grasa subcutánea y musculatura del animal (Wildman y col., 1982; Wagner y col., 1988; Edmonson y col., 1989; Houghton y col., 1990). La técnica aplicada al vacuno lechero es una adaptación de la previamente utilizada en el ganado de carne. La condición corporal de las vacas suele cifrarse utilizando una escala de 5 puntos (con incrementos de 0,25): de manera que va desde el 1, muy delgada, hasta el 5, muy gorda (Edmonson y col., 1989). No obstante, en aquellos casos en los que la palpación de los animales resulta muy complicada, la determinación de la condición corporal se realiza únicamente de forma visual (Wildman y col., 1982; Edmonson y col., 1989). La CC varía de forma paralela a la etapa del ciclo reproductivo en que se encuentra la vaca, produciéndose los cambios más

marcados en torno al parto y durante el inicio de la lactación (Kim y Suh, 2003). La pérdida de CC y su posterior recuperación, reflejan los cambios del equilibrio energético y pueden relacionarse con la aparición de enfermedades durante el posparto y con el rendimiento reproductivo.

Las vacas con altos valores de CC durante la etapa de secado muestran un brusco descenso de la ingesta de materia seca después del parto y el incremento de la misma durante las primeras semanas del posparto es más lento (Garnsworthy y Topps, 1982). El valor máximo en cuanto a la ingesta de materia seca se alcanza entre las 12 y 16 semanas del posparto (Garnsworthy y Topps, 1982; De Vries y col., 1999). Por el contrario, aquellas vacas a las que se les restringe la ingesta durante el periodo seco y que presentaban menores valores de CC, muestran una menor reducción de la ingesta después del parto (Kunz y col., 1985; Garnsworthy y Jones, 1987). Estos resultados indican que los animales con mayor CC durante el periodo de secado están predispuestos a padecer un BEN más acentuado y de mayor duración.

La evaluación de la CC puede realizarse, también, durante inicio de la lactación (Gearhart y col., 1990; Ehrhardt y col., 2000), a pesar de que su baja sensibilidad, dificulta la apreciación de pequeños cambios en la CC. Además, se trata de un procedimiento muy subjetivo, por lo que pueden variar notablemente los resultados obtenidos por distintos observadores (Heuer y col., 2000). No obstante, presenta una ventaja considerable sobre el BEN previsto, dado que la pérdida de CC permite conocer la situación en que se encuentra cada individuo (Jorritsma y col., 2003).

Se ha establecido una correlación entre la CC y el rendimiento reproductivo. Así, Markusfeld y col. (1997) demostraron que la pérdida de condición corporal durante el secado incrementaba la duración del anestro posparto y la incidencia de las patologías reproductivas. Otros autores han demostrado que las pérdidas de CC acontecidas durante el inicio de la lactación determinaban una reducción del rendimiento reproductivo (Domecq y col. 1997; Gillund y col. 2001; López-Gatius y col. 2003). No obstante, algunos investigadores señalaban que no existe tal efecto (Ruegg y Milton, 1995; Heuer y col., 1999; Loeffler y col., 1999). Todos los estudios citados con anterioridad consideraron de forma separada los efectos de los cambios de CC en uno de los periodos, secado o inicio de lactación, pero ninguno de ellos analizó las variaciones de la CC en ambos periodos de manera simultánea. En un estudio realizado por Kim y Suh (2003), se demostraba que cuando se observaba un marcado descenso de la CC desde el secado hasta el inicio de la lactación, se producía un incremento en la frecuencia de patologías metabólicas y

reproductivas, un descenso de las concentraciones séricas de colesterol y un alargamiento del intervalo parto-primera inseminación.

4.1.3.- Concentraciones de NEFA y de TAG

Las concentraciones de los ácidos grasos no esterificados (NEFA) en sangre (Cameron y col., 1998) y de triacilglicerol (TAG) en hígado, determinadas a través de biopsias hepáticas (Jorritsma y col., 2000), pueden utilizarse para valorar la capacidad de adaptación al BEN. Al ser métodos objetivos, permiten detectar pequeñas diferencias entre animales y reflejan con precisión la situación en la que se encuentra cada individuo. Además, nos proporcionan una información muy valiosa sobre la actividad metabólica del hígado y de la intensidad de movilización de las reservas grasas.

Así, cuando las concentraciones de NEFA son elevadas y se mantienen en esta situación durante un periodo prologado, indican que el hígado es incapaz de metabolizar las grasas movilizadas. En estas circunstancias el hígado recibe grandes cantidades de NEFA, que son transformados en TAG (Drackley., 1999; Jorritsma y col., 2001). Cuando la producción de TAG supera la capacidad hepática para transformarlo en lipoproteínas de muy baja densidad y excretarlo, esta sustancia se acumula en el órgano. Así, la presencia de elevadas concentraciones hepáticas de TAG indica una alteración en el metabolismo de los NEFA. La acumulación de TAG en hígado es un proceso anabólico, difícil de comprender dada la situación catabólica que padece la vaca en ese momento (Herdt y col., 1988). Los procesos de lipólisis, el transporte de los NEFA hasta el hígado y la síntesis y acumulación de TAG suponen un considerable gasto energético y, además, a medida que el TAG se acumula en el hígado la capacidad funcional del órgano disminuye (Strang y col., 1998a, 1998b; Rukkwamsuk y col., 1999a, 1998b; Zhu y col., 2000).

Por tanto, la presencia de elevadas concentraciones de TAG en hígado y de NEFA en sangre, ponen de manifiesto la existencia de serias dificultades de adaptación a la elevada demanda energética del inicio de la lactación. Durante esta situación se observan, también, bajas concentraciones de glucosa e insulina en sangre, hecho que se mantiene en el tiempo (Jorritsma y col., 2003). Por todo ello, la valoración de los parámetros metabólicos indicados (NEFA, TAG, glucosa e insulina) permite conocer la evolución del proceso de adaptación al BEN (Jorritsma y col., 2003).

Así, la adaptación al desequilibrio energético existente al comienzo de la lactación es un proceso fisiológico complejo, con un notable componente individual. Durante esta situación intervienen procesos metabólicos muy diversos: la gluconeogénesis, la glucogenolisis, el metabolismo de las proteínas, la lipólisis y la cetogénesis. La adaptación se logra cuando la vaca es capaz de equilibrar sus necesidades energéticas, hecho que consiguen todas las vacas más tarde o más temprano, de manera que solamente mueren algunos animales que se encuentran en situaciones muy severas. Por ello, no es posible clasificar a los animales como adaptados o no adaptados en un momento puntual, sino que debemos tratar de predecir la evolución de la adaptación valorando los efectos de los factores de riesgo.

Diversos estudios han analizado la asociación entre el BEN posparto y la capacidad reproductiva de las hembras bovinas (Villa-Godoy y col., 1988; Butler y Smith, 1989; Spicer y col., 1990; Staples y col., 1990; Butler, 2000). Así, se ha comprobado que diversos valores séricos están correlacionados con la eficiencia reproductiva (Spicer y col., 1990; Andersson y col., 1991; Beam y Butler, 1999; Reist y col., 2000; Spicer y col., 2001) y que algunas hormonas y metabolitos, que intervienen en la regulación del metabolismo energético, están también implicados en la regulación de la dinámica de crecimiento folicular (Lucy y col., 1992a y b; Spicer y Echterkamp, 1995; Ahmad y col., 1996; Decuypere y col., 1999; Spicer y col., 2000). Sin embargo, las conexiones existentes entre la homeostasis energética y la reproducción no están plenamente aclaradas.

Una vez concluido el parto, se inicia la recuperación estructural y funcional de diversos órganos y tejidos, que han sufrido modificaciones en el transcurso de la gestación (hipotálamo/hipófisis, ovario, útero, etc.). Sin embargo, este proceso de recuperación está influido negativamente por el BEN existente durante este mismo periodo (Butler, 2003).

El BEN, actuando a través de la combinación de diferentes señales metabólicas (bajos niveles de glucosa e insulina y elevadas concentraciones de NEFA, etc.), retrasa el incremento de los pulsos de LH y FSH necesarios para la estimulación de las oleadas de crecimiento folicular (Butler y col., 2006). Además, los bajos niveles de insulina provocan una reducción de la secreción hepática de IGF-I, lo que reduce la respuesta ovárica a las gonadotropinas.

Los bajos niveles de LH y de FSH constituyen un factor limitante para el reinicio de la actividad ovárica en el posparto (Lamming y col., 1981; Stagg y col., 1998). Sin embargo, el eje hipotálamo-hipófisis-ovario puede verse afectado por otra serie de factores neuroendocrinos. Los péptidos opioides de origen endógeno,

relacionados con situaciones de estrés, alteran la secreción pulsátil de la LH en las vacas, y pueden intervenir en el retraso de la recuperación de la actividad ovárica posparto (Ahmadzadeh y col., 1998).

Algunos estudios realizados en ratones a mediados de la década de los 90, pusieron de manifiesto la existencia de un posible mediador entre la función ovárica y la situación metabólica de los animales. Este mediador era la leptina, cuya concentración basal guardaba una estrecha correlación con las reservas de grasa corporal. Algunos estudios posteriores realizados en vacas han permitido comprobar que los cambios en el equilibrio energético tienen un claro reflejo en las concentraciones basales de leptina, aumentando la concentración de esta sustancia en situaciones de balance energético positivo (BEP) (Block y col., 2001). La insulina y los glucocorticoides provocan un aumento de concentración sanguínea de leptina y disminuyen la eliminación del neuropéptido Y (NPY) (Houseknecht y col., 1998). El NPY es un potente estimulador de la ingesta, pero a su vez también puede servir como punto de conexión de la leptina con las neuronas productoras de GnRH. Además, algunos estudios sugieren la existencia de una acción directa de la leptina sobre secreción de GnRH a través del pro-opi-melanocortin (POMC) (Cunningham y col., 1999).

Sin embargo, son muy escasos los estudios realizados en la especie bovina para analizar el papel de la leptina en la regulación de la secreción de gonadotropinas. No obstante, se ha comprobado que la inyección de NPY en el tercer ventrículo cerebral de vacas ovariectomizadas ocasionaba un descenso en la amplitud de los pulsos de LH (Thomas y col., 1999). También se ha comprobado que los efectos de la inyección de NPY sobre la frecuencia de pulsos de la LH era dosis-dependiente y que estaba precedido de cambios en la concentración de GnRH en el líquido cefalorraquídeo (Gazal y col., 1998). Sin embargo, en las ovejas ovariectomizadas sometidas a una alimentación deficitaria, que presentaban bajas concentraciones de NPY en líquido cefalorraquídeo y elevadas concentraciones de NEFA en plasma, la administración de leptina mediante inyección en el ventrículo cerebral no modificó la frecuencia de pulsos de la LH (Henry y col., 1999). Esto parece indicar que la leptina no tiene un efecto directo sobre el sistema neuroendocrino cuando se mantienen las concentraciones de glucosa e insulina, indicando la compensación del BEN (Henry y col., 1999). Por ello, algunos investigadores señalan que el efecto modulador de la leptina y el NPY sobre la descarga pulsátil de la LH, solamente se detecta en situaciones de BEN.

Otro dato a tener en cuenta en relación a los efectos del balance energético negativo sobre la secreción de gonadotropinas, es que a medida que el balance

energético cambia hacia valores positivos en el transcurso del posparto, se incrementa la frecuencia de los pulsos de LH (Canfield y Butler, 1990).

La insulina y el IGF-I actúan como reguladores de la función ovárica. La primera ejerce un efecto estimulador sobre la secreción de progesterona de células de la granulosa porcinas y bovinas cultivadas *in vitro* (Poretsky y Kalin, 1987). Por su parte el IGF-I estimula el crecimiento folicular, jugando un papel mediador entre la función reproductiva y el estatus metabólico de la vaca (Jorritsma y col., 2003).

Como hemos señalado previamente, las vacas que sufren un severo BEN durante el posparto presentan bajas concentraciones de insulina (Van der Top y col., 1995) y ello provoca una menor secreción hepática de IGF-I (Lucy y col., 1992a; Yung y col., 1996). Esta situación es especialmente marcada en los animales seleccionados por su elevada producción láctea y, por tanto, con un mayor riesgo de padecer un BEN severo (Bonczek y col., 1988).

Por otra parte es necesario tener en cuenta la existencia de un vínculo entre el sistema leptina/NPY y el IGF-I. Así, en la especie bovina, en la que la hormona del crecimiento (GH) estimula la producción de IGF-I, se ha comprobado también que las concentraciones de GH se ven afectadas de forma positiva por una elevada concentración de NPY (Lucy, 2000). Así, se ha comprobado que la inyección de NPY en el tercer ventrículo cerebral provoca un incremento en la secreción hipofisaria de GH (Thomas y col., 1999). Durante el BEN momento en el que la concentración de insulina está disminuida y, en consecuencia, se reduce la producción de GH, se ve reducido, también, el efecto estimulador de la GH sobre la producción de IGF-I (McGuire y col., 1995).

Algunos estudios han comprobado la existencia de receptores para la insulina y el IGF-I en diferentes tipos celulares presentes en el ovario. Sin embargo, su número varía en función de la etapa del ciclo ovárico y del tamaño de los folículos (Spicer y Echterkamp, 1995). El mecanismo a través del cual interviene la insulina en la regulación de la secreción de esteroides no está plenamente aclarado, aunque parece variar en función de la especie (Damario y col., 2000). Por lo que respecta al IGF-I, parece tener una acción sinérgica con la FSH y la LH (Damario y col., 2000), comprobándose que tiene mayor importancia los niveles ováricos que los sistémicos (Lucy, 2000).

Diversos estudios realizados en hembras bovinas han demostrado la existencia de una estrecha relación entre la concentración plasmática de la insulina y el intervalo parto-primera ovulación (Canfield y Butler, 1990; Gong y col., 2002), así como con el porcentaje de folículos dominantes, procedentes de la primera oleada de crecimiento folicular, capaces de ovular (Beam y Butler, 1997). Esto

sugiere que las concentraciones de IGF-I y de insulina intervendrían, principalmente, en la regulación del proceso final de maduración folicular (Armstrong y col., 2001). No obstante, Meikle y col. (2004) no encontraron ninguna relación entre las concentraciones de insulina y el reinicio de la actividad ovárica cíclica.

La concentración sérica de hormonas tiroideas disminuye durante los periodos en los que los animales son sometidos a restricción de alimentos (McGuire y col., 1991). Algunos estudios epidemiológicos, sugieren que las hormonas tiroideas podrían jugar un papel en el restablecimiento de la actividad ovárica. Así, los animales que muestran inactividad ovárica tienen menores concentraciones de T3 y T4 (Suriyasathaporn, 2000). Además, cuando la concentración sérica de T3 es inferior a 1.4 nM, existen menores concentraciones de β -estradiol y disminuye la expresión de los signos de celo (Suriyasathaporn, 2000).

Algunos estudios en los que se evaluaba el efecto de las hormonas tiroideas, sobre las células bovinas de la teca y de la granulosa cultivadas *in vitro*, revelaron que, tanto la T3 como la T4, ejercían un efecto estimulador sobre dichas células, siendo éste mayor en presencia de insulina o de FSH (Spicer y col., 2001). Reist y col. (2003) observaron también que la existencia de elevados niveles de T3 y T4 se asociaban con un reinicio más temprano de la actividad ovárica cíclica.

A la vista de estos resultados parece lógico pensar que las hormonas tiroideas forman parte del complejo mecanismo hormonal que regula el reinicio de la actividad ovárica posparto.

El BEN no repercute, únicamente, en el reinicio de la actividad ovárica posparto, sino que también afecta a la calidad del ovocito y a la capacidad secretora del cuerpo lúteo. Algunos estudios indican la posibilidad de que los ovocitos queden marcados por algunos factores deletéreos cuando el desarrollo de los folículos que los contienen tiene lugar durante una situación de BEN. El periodo necesario para evolucionar desde folículo primordial a ovulatorio es, aproximadamente, de 180 días (Campbell y col., 1995). En casos de BEN severo disminuye la competencia para el desarrollo de los ovocitos, circunstancia que ha sido atribuida al efecto tóxico de las elevadas concentraciones de NEFA (Kruip y col., 2001). Otro estudio reciente ha comprobado que los embriones procedentes de vacas de elevada producción, obtenidos al inicio de la lactación son de menor calidad y viabilidad, respecto a los obtenidos en otras etapas (Sartori y col., 2002). No obstante, aún se desconoce cómo se relacionan las concentraciones de NEFA en plasma y con las del fluido folicular (Rabiee y col., 1997).

El IGF-I y sus proteínas transportadoras juegan un importante papel en cuanto a la calidad del ovocito. Así, ciertas experiencias en los que se provocaba un incremento de la concentración de moléculas de bajo peso molecular de IGFBP, inhibidores del IGF-I, se apreciaban anomalías en el crecimiento folicular (van der Leemput, 1998).

Durante el proceso de adaptación al BEN puede producirse la movilización de las reservas proteicas, ocasionando una elevación de las concentraciones plasmáticas de urea. En estos animales es también frecuente un elevado aporte proteico y un desequilibrio entre la energía y proteína en el rumen. Además, la acumulación de triacilglicerol en el hígado, provoca un incremento en las concentraciones de amoníaco, al encontrarse inhibida la ureagénesis (Zhu y col., 2000). Como consecuencia de todas estas situaciones, al inicio de la lactación es habitual encontrar elevadas concentraciones de urea y amoníaco.

Existen referencias bibliográficas que describen los efectos negativos de las elevadas concentraciones de urea y amoníaco sobre la calidad ovocito en las distintas etapas de su desarrollo (Jorritsma, 2003). Además, estos metabolitos repercuten negativamente sobre la fecundación, el desarrollo del blastocisto y la implantación (Jorritsma, 2003). La exposición del ovocito a elevadas concentraciones de amoníaco durante su permanencia en un folículo antral, afecta a su capacidad posterior para ser fecundado y desarrollarse hasta blastocisto y a la implantación del embrión (Hammon y col. 2000; Sinclair y col. 2000). Por otro lado, los efectos de las elevadas concentraciones de urea sobre el porcentaje de ovocitos fecundados, descritos por los diferentes autores, son contradictorios (De Wit y col., 2001; Fahey y col., 2001). Sin embargo, existe un acuerdo en que la urea repercute negativamente en el desarrollo hasta blastocisto y la implantación (Fahey y col., 2001; De Wit y col., 2001).

Otro posible vínculo entre el BEN y la reducción de la fertilidad son los cambios en las concentraciones de progesterona en sangre (Butler 2000), dado que esta hormona juega un papel destacado en la fisiología reproductiva de las hembras bovinas. Las variaciones de los niveles de progesterona pueden afectar a la dinámica de crecimiento folicular, la fecundación, el transporte embrionario y la supervivencia embrionaria (Garrett y col., 1988; Mee y col., 1991).

Los menores niveles de progesterona observados en las vacas de alta producción, parecen ser consecuencia de la alimentación que reciben estos animales (Rabiee y col, 2002). Estas vacas ingieren una mayor cantidad de nutrientes y presentan un metabolismo muy elevado, especialmente al inicio de la lactación (Huntington, 1990; Butler, 2000). Esta alta tasa metabólica podría ser

responsable de una mayor degradación hepática de la progesterona. El hígado posee un sistema enzimático propio, capaz de metabolizar grandes cantidades de progesterona en los microsomas de los hepatocitos (Kaddouri y col., 1992). Por ello, la menor concentración de progesterona en sangre sería debida a la eliminación/metabolización en lugar de a la menor producción ovárica (Rabiee y col., 2001).

Algunos estudios realizados "*in vitro*" sobre cultivos de células de la granulosa, demuestran que los NEFA, sustancias que se encuentran elevadas durante el BEN, provocan una disminución de la secreción de progesterona (Jorritsma y col., 2004). Además, las vacas con elevadas concentraciones de NEFA presentaron una reducción de la concentración de progesterona, así como cuerpos lúteos de menor tamaño (Yung y col., 1996). No obstante, otros autores señalan que únicamente se produce una reducción del tamaño del cuerpo lúteo, sin que la concentración de progesterona se vea afectada (Rhodes y col 1995).

VII.- Evaluación de la actividad ovárica durante el posparto

Para controlar el reinicio de la actividad ovárica durante el posparto puede utilizarse la detección del celo. La eficacia de éste depende de la capacidad del ganadero para identificar el celo de sus animales y de su constancia en el momento de anotar sus observaciones. Además, los primeros celos que aparecen durante el posparto son silentes, es decir que el animal no muestra signos clínicos. Ambas circunstancias determinan que la observación del celo no resulte un procedimiento adecuado para conocer el momento en el que se reinicia la actividad ovárica posparto.

Otro procedimiento, utilizado de forma habitual, es la exploración del tracto genital mediante palpación rectal. Este método, realizado de forma adecuada, proporciona mayor eficacia en el control rutinario del restablecimiento de la actividad ovárica. Sin embargo, en ocasiones no permite diferenciar con precisión la situación funcional del ovario, ni establecer un diagnóstico diferencial en algunas situaciones patológicas. El desarrollo de la ecografía y su aplicación a la reproducción bovina, ha aportado considerables ventajas respecto a la exploración rectal, especialmente en el diagnóstico diferencial de los quistes ováricos, en el diagnóstico precoz de gestación y en el análisis de la dinámica del crecimiento folicular (Pieterse y col., 1990; Quintela y col. 2006).

El reinicio de la actividad ovárica va rápidamente seguido por la formación de un cuerpo lúteo funcional, por lo que numerosos investigadores han utilizado la determinación de los niveles de progesterona como método de evaluación de la actividad ovárica. Así, cuando la concentración plasmática de esta hormona supera

los valores basales en una hembra no gestante, podemos afirmar que existe tejido luteal con actividad secretora. La aplicación de las técnicas de radioinmunoanálisis (RIA) para la determinación de progesterona en leche, aumentó las posibilidades de este tipo de determinaciones, permitiendo la evaluación de la actividad ovárica en rebaños completos (Lamming y Bulman, 1976; Hoagland y Barnes, 1984). En la actualidad puede emplearse el enzimoimmunoanálisis (ELISA) para su determinación en leche (entera o desnatada), saliva, suero o plasma, lo que simplifica y abarata el análisis (Shrestha y col., 2004).

A finales de los años 80 la determinación de progesterona en leche fue utilizada para el estudio de las relaciones entre los desordenes metabólicos y la función ovárica (Huszenicza y col., 1987, 1988). Estos dos estudios indicaban que la determinación de progesterona en leche (más concretamente en la fracción grasa de la leche) constituía un método apropiado y fidedigno, tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, lo que permitía disponer de una herramienta muy útil para estudiar las posibles interacciones entre el estrés metabólico y la reproducción.

A pesar de que la determinación de los niveles de progesterona para evaluar la actividad ovárica (normal o anormal) posparto es un método generalizado, todavía existen numerosas diferencias en el procedimiento utilizado. Estas diferencias comienzan con la toma de muestra (principalmente en muestras de leche) y finalizan en la propia interpretación de los perfiles obtenidos. Por ello, es preciso indicar como van a interpretarse los perfiles antes del análisis y la discusión de los resultados (Opsomer y col., 1999).

1.- Progesterona en leche frente progesterona en sangre

En 1971 se confirmó que las concentraciones de progesterona en plasma y leche siguen un patrón similar (Hoffman y Hamburger, 1973). No obstante, al ser la progesterona altamente liposoluble, su concentración por unidad de volumen es mayor en la leche que en la sangre. Además, las muestras de leche pueden obtenerse de forma repetida sin provocar ninguna respuesta negativa en la vaca. Por todo ello, el análisis de progesterona en leche facilita considerablemente el estrecho control de la actividad ovárica cíclica. No obstante, cuando se desea conocer con precisión los niveles existentes es necesario determinarlos en sangre (Opsomer y col., 1999).

2.- Perfiles de progesterona

En los estudios iniciales encaminados a elaborar perfiles de progesterona se utilizaban muestreos diarios, pero, en la actualidad, se considera suficiente realizar

muestreos con una periodicidad de 2 o 3 veces por semana (Opsomer y col., 1998 y 1999; Shrestha y col., 2004). Por lo que respecta a la duración del periodo de muestreo, la mayor parte de los autores coinciden en que se debe desarrollar entre los días 10 y 50 del posparto.

En cuanto a la clasificación de los perfiles destaca la realizada por Opsomer y col. (1998) y la más reciente de Shrestha y col. (2004).

Opsomer y col. (1998) distinguen 6 tipos distintos de perfiles de progesterona, realizando su determinación en la grasa de la leche.

I.- perfil normal: el primer pico de progesterona ($\geq 1,5$ ng/ml en la grasa de la leche) se produce antes del día 50 posparto, y va seguido de una actividad cíclica normal, caracterizada por periodos de dos semanas en los que los niveles de progesterona son $\geq 1,5$ ng/ml y alternan con bajos niveles durante periodos de 1 semana de duración.

II.- retraso en el reinicio de la actividad ovárica cíclica o anovulación: bajos niveles de progesterona durante al menos los 50 primeros días del posparto.

III.- interrupción de la actividad ovárica cíclica: la actividad ovárica se restablece antes del día 50, pero posteriormente se ve interrumpida durante 14 días al menos, como lo indican los bajos niveles de progesterona observados durante este periodo.

IV.- alargamiento de la fase luteal: los valores de progesterona permanecen en niveles elevados durante más de 20 días sin que la vaca tenga posibilidades de estar gestante.

V.- acortamiento de la fase luteal: después de restablecida la actividad ovárica cíclica la duración de las siguientes fases luteales no supera los 10 días.

VI.- perfil irregular: aquellos que no pueden ser clasificados dentro de ninguno de los 5 grupos anteriores.

Shrestha y col. (2004) distinguen, básicamente, los mismos grupos, aunque los clasifican de manera diferente. Estos autores realizaron la determinación de las concentraciones de progesterona en leche desnatada y consideraron la existencia de tejido luteal cuando la concentración de esta hormona superaba el valor de 1 ng/ml en 2 muestreos consecutivos. Estos autores consideraban que la actividad ovárica se había restablecido cuando los ciclos constaban de 2 semanas de fase luteal y 1 semana de fase folicular.

Atendiendo a todos estos criterios establecieron la siguiente clasificación:

1.- Recuperación normal de la actividad ovárica cíclica: la ovulación tiene lugar dentro de los 45 días después del parto, seguida de ciclos ováricos regulares.

2.- Retraso en la recuperación de la actividad ovárica cíclica: la ovulación seguida de ciclos ováricos regulares no tiene lugar hasta transcurridos 45 días del posparto. A su vez establecieron 4 subgrupos:

- a) Retraso tipo I: uno o más ciclos presentaban una fase luteínica de más de 20 días de duración (fase lútea prolongada).
- b) Retraso tipo II: la primera ovulación tiene lugar después del día 45 posparto.
- c) Retraso tipo III: dos o más ciclos ováricos, con la excepción del primero, tienen una fase luteínica con una duración inferior a 10 días.
- d) Retraso tipo IV: ausencia de actividad luteal durante más de 14 días entre la primera y segunda fases luteales observada (interrupción de la ciclicidad).

Además de la gran información que proporcionan los perfiles de progesterona, éstos pueden utilizarse como una valiosa herramienta para la detección de las disfunciones ováricas que aparecen en el transcurso del posparto, especialmente cuando se combinan con la detección de celos y la exploración rectal (Opsomer y col., 1998).

La utilidad de combinar estos métodos se comprueba al analizar los resultados obtenidos en un trabajo realizado en Polonia (Zdunczyk y col., 2002) utilizando 388 vacas lecheras que no mostraron signos de celo durante los 60 primeros días del posparto y que, por tanto, se las consideraba que estaban anestro. Estas vacas fueron sometidas a 2 exploraciones rectales y 2 extracciones de sangre, con 10 días de separación. Al analizar los resultados obtenidos de forma combinada, se comprobó que 189 vacas (48.7%) presentaban celos silentes, 178 (45.9%) mostraban ausencia de actividad ovárica, 19 (4.9) presentaban quistes foliculares y 2 (0.5%) cuerpo lúteo persistente. Utilizando únicamente la exploración rectal solamente se había detectado correctamente 270 vacas (69.6%).

Objetivos

Los objetivos del siguiente estudio han sido:

Determinar el efecto de incrementar el número de ordeños de 2 a 4, en una granja típica, con cubículos, sala de ordeño y 100 vacas, sobre la producción y reproducción. El estudio se realizó, además, con dos raciones diferentes.

Para llevar a cabo este objetivo general se plantearon diversos objetivos secundarios:

- Efecto del incremento en el número de ordeños sobre la producción de leche y el contenido en grasa, proteína y lactosa.
- Efecto del incremento en el número de ordeños sobre los procesos inflamatorios de la mama, evaluados mediante el recuento de células somáticas.
- Efecto del incremento del número de ordeños sobre la involución uterina y el restablecimiento de la actividad ovárica postparto.
- Efecto del incremento del número de ordeños sobre los parámetros reproductivos: intervalos parto primer celo visto, primera inseminación e inseminación fecundante y número de inseminaciones necesarias para obtener una gestación.

Material y Métodos

1.- Animales.

Para el desarrollo de este trabajo se han utilizado 66 vacas de raza Frisona, entre el segundo y cuarto parto, pertenecientes a una explotación lechera situada en el ayuntamiento de Pastoriza (Lugo, España). La explotación contaba con calificación sanitaria y estaba en control lechero.

Ninguno de los animales escogidos para este estudio tenía antecedentes de problemas reproductivos y se encontraban en un buen estado de carnes. Se seleccionaron vacas con producciones de leche y número de lactaciones similares.

La explotación elegida estaba dotada de un sistema informático que gestionaba la administración del concentrado, mientras que el resto de los alimentos se mezclaban en un carro mezclador justo antes de su distribución en los comederos.

De los 66 animales que se incluyeron inicialmente en el estudio, 56 completaron los cinco meses de muestreos (muestras de sangre y condición corporal), mientras que las restantes 10 vacas, fueron eliminadas por distintos motivos: 7 como consecuencia de desplazamientos de abomaso, 2 vacas se vendieron por elevados recuentos celulares y 1 debido a un accidente en el establo.

2.- Diseño Experimental

Para desarrollar los distintos experimentos, los animales fueron divididos en 4 grupos: Control-Dieta 1 (C1), Control-Dieta 2 (C2), Tratamiento-Dieta 1 (T1), Tratamiento-Dieta 2 (T2), considerando como grupo Control los animales sometidos a dos ordeños, mientras que el grupo Tratamiento comprendía a los animales ordeñados 4 veces al día.

Inicialmente se pretendió que todos los grupos estuvieran formados por el mismo número de individuos. Sin embargo, como consecuencia de las bajas y dificultades técnicas producidas a lo largo del estudio, cada grupo quedó formado por un número distinto de animales (Tabla 1).

GRUPO	ORDEÑOS	RACIÓN	N
T1	4	1	10
C1	2	1	11
T2	4	2	14
C1	2	2	21

Tabla 1.- Distribución de los animales en los distintos grupos experimentales

2.1.- Ordeños.

La distribución de los ordeños en los distintos grupos experimentales quedó diseñada de la siguiente forma:

- Grupos T1, T2: Inmediatamente tras el parto, las vacas asignadas a estos grupos comenzaron ordeñándose 4 veces al día (7:00 h, 13:00 h, 19:00 h y 24:00 h) durante los tres primeros meses de lactación, 3 veces al día (7:00 h, 13:00 h y 19:00 h) desde el cuarto al sexto mes de lactación y 2 veces al día (7:00 h y 19:00 h) a partir del séptimo mes de lactación y hasta el final de la misma.
- Grupos C1, C2: Los animales de estos grupos se emplearon como controles ordeñándose 2 veces al día (7:00 h y 19:00 h) durante toda su lactación.

La pauta empleada en los grupos T1 y T2 se escogió por su similitud con el manejo del vacuno lechero sometido a ordeño automático, si bien, existen ciertas diferencias, ya que en el caso del ordeño automático es la propia vaca quien elige el momento del ordeño y en nuestro caso la frecuencia estaba prefijada de antemano.

2.2.- Alimentación.

A lo largo del periodo de estudio se emplearon 2 raciones (1 y 2), que se administraron a todos los animales que participaron en el trabajo, independientemente de la rutina de ordeño. La ración 1 se empleó durante la primera lactación, la 2, más rica en energía, se empleó en la segunda lactación. Las concentraciones porcentuales de ambas raciones se muestran en la tabla adjunta:

RACIÓN	1	2
MS	En función de la producción y calidad de la leche	En función de la producción y calidad de la leche
FB	16%MS	17% MS
UFL	1.2 UFL/Kg MS	0.95 UFL/Kg MS
PDIN PDIE	9.8	<10
PB	17.4% MS	17% MS
ALMIDÓN	20.7% MS	21.5% MS
GRASA BRUTA	4.3% MS	≤7% MS
FND	33.4% MS	28% MS
FND forraje	17.3% FND	75% FND
FAD	33% MS	15% MS
FORRAJE	38% MS	37.5% MS

Tabla 2.- Composición de las raciones empleadas en el estudio

3.- Toma de Muestras

3.1.- Sangre.

Su recogida se inició a partir del parto (0+2 ó 3 días), realizando 2 muestreos por semana (martes y viernes) hasta los 2 meses y medio del posparto. A partir de ese momento, la toma de muestras continuó con extracciones puntuales en el tercer, cuarto y quinto mes del posparto. La toma se realizó mediante punción en los vasos coccígeos, previa limpieza y desinfección de la zona, empleando tubos de vacío con activador del coagulo (Venoject-Terumo, Leuven, Bélgica). Tras su identificación, las muestras fueron transportadas hasta el laboratorio, donde se centrifugaron a 450 g durante 20 minutos. El suero obtenido de este modo se dividió en alícuotas de 1 ml, que fueron congeladas y almacenadas a -20°C hasta el momento de su análisis.

En las muestras de suero correspondientes a los días del parto, 1º mes, 2º mes, 3º mes, 4º mes y 5º mes, se determinaron: triglicéridos, NEFA, colesterol, urea, proteínas totales, albúmina, calcio, fósforo y magnesio; con el fin de establecer el estatus metabólico de los animales en el posparto. En las procedentes de las muestras realizadas 2 veces por semana desde el parto hasta los dos meses y medio del posparto, se determinaron las concentraciones séricas de progesterona, para establecer el momento del reinicio de la actividad ovárica cíclica.

3.2.- Condición Corporal.

Para evaluar la condición corporal de los animales de este estudio, se asignaron los valores numéricos que se estimaron más ajustados a la situación de cada animal, tomando como referencia la escala de graduación descrita por Edmonson y col. (1989). La valoración fue realizada siempre por el mismo observador una vez por semana (viernes) hasta el segundo mes y medio del posparto, posteriormente se determinó a los tres, cuatro y cinco meses del posparto.

3.3.- Datos Reproductivos.

El viernes de cada una de las semanas que duró el estudio se realizó una exploración rectal de todos los animales, con el fin de comprobar el estado del aparato genital. En el transcurso de ese examen se prestaba especial atención en observar la involución uterina, así como la presencia de estructuras fisiológicas o patológicas en los ovarios. Las exploraciones finalizaban cuando se consideraba que la involución uterina había concluido, considerando que ésta se producía en el momento en que no se apreciaba una reducción del tamaño del útero, con respecto a la exploración anterior.

A lo largo de todo este proceso se tomó registro de las alteraciones reproductivas que padecían los animales (si era el caso) y de las fechas de celos, inseminaciones y diagnóstico de gestación. Con estos datos se procedió al cálculo de los parámetros reproductivos (número de IA por gestación, intervalo parto-celo, intervalo parto-1ªIA, Intervalo parto-gestación).

3.4.- Leche.

Inicialmente, la producción de leche de cada animal se anotaba diariamente. No obstante, como consecuencia de la pérdida de algunos datos por motivos ajenos a nuestra voluntad y a la del ganadero, se optó por utilizar las cifras de producción mensual recogidas por el Control Lechero de Galicia. De la misma forma, se emplearon como parámetros de calidad (porcentajes de grasa, proteína, lactosa y número de células somáticas) los datos mensuales extraídos del control lechero.

A la hora de proceder al análisis de los resultados y debido a los problemas propios de la diferente duración de la lactación en cada animal, nos vimos en la necesidad de tomar como límite el noveno mes de producción. De ahí que el número de animales a los que se evaluó su lactación (producción y calidad) fuera de 51.

4.- Metodología Analítica.

Las técnicas analíticas empleadas en este estudio aparecen reflejadas en la tabla 3

Grupo	Parámetro	Técnica Analítica
Metabolitos Séricos	Proteínas Totales	Refractometría (Refractómetro portátil PG50303010)
	Albúmina	Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	NEFA	Enzimático-Colorimétrico (Randox, Barcelona, España)
	Triglicéridos	Enzimático-Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	Colesterol	Enzimático-Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	Glucosa	Enzimático-Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	Urea	Enzimático-Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
Minerales	Calcio	Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	Fósforo	Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	Magnesio	Espectrofotometría (BioSystems, Barcelona, España)
	Progesterona	ELISA competición (DRF Instruments GMBH, Alemania)

Tabla 3.- Técnicas analíticas empleadas en este estudio.

5.- Tratamiento Estadístico.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa informático SPSS 15.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, EEUU).

Inicialmente se calcularon los estadísticos descriptivos de todas las variables. Posteriormente se aplicaron los siguientes tratamientos estadísticos en función de la variable estudiada:

- Reinicio de la actividad ovárica. Se realizaron curvas de supervivencia y regresión de Cox para comprobar el efecto del número de ordeños (2 vs. 4) y de la ración (1 vs.2) sobre los intervalos entre el parto y la primera ovulación, la primera fase luteínica y el restablecimiento de la actividad ovárica cíclica.
- Parámetros reproductivos. Se utilizó un modelo lineal general (GLM) univariante para determinar el efecto del número de ordeños (2 vs. 4) y la ración (1 vs. 2).
- Parámetros bioquímicos y condición corporal. Se empleó un modelo lineal general (GLM) de medidas repetidas para determinar el efecto del número de ordeños (2 vs. 4) y la ración (1 vs. 2).
- Producción y calidad de la leche. Empleamos un modelo lineal general (GLM) de medidas repetidas para determinar el efecto del número de ordeños (2 vs. 4) y la ración (1 vs. 2).
- Patologías posparto. En estos casos se analizó la influencia del número de ordeños (2 vs. 4) y la ración (1 vs. 2) mediante la elaboración de tablas de contingencia y la prueba de χ^2 .

En todos los casos se consideraron diferencias significativas cuando el valor de p fue menor de 0.05.

Resultados

I.- Reproducción

1.- Parámetros Reproductivos.

1.1.- Involución Uterina

Puede comprobarse la existencia de un efecto significativo de la dieta sobre la involución uterina. La involución es más rápida con la dieta 2. Sin embargo, el número de ordeños no mostró ningún efecto sobre este parámetro (Tabla 4).

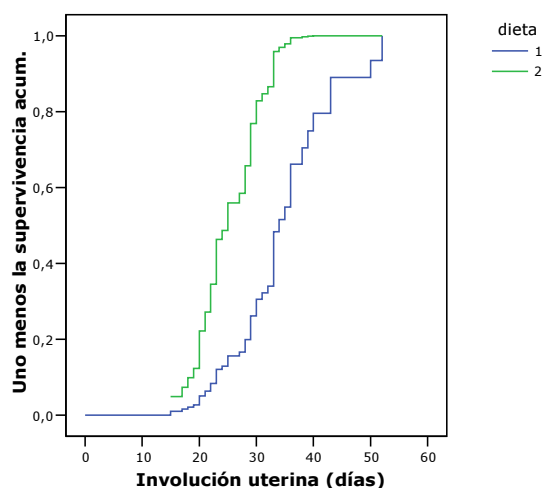
Grupo	Dieta	Invol. Ute. (N)	P.-celo (N)	P.-1ºIA (N)	P.-gestación (N)	Nº IA (N)
2 Ordeños	1	34,18±6,09 (11)	82,09±33,61 (11)	82,09±33,61 (11)	134,11±74,94 (9)	2,55±1,74 (9)
	2	24,43±4,94 (21)	72,50±30,56 (20)	81,40±41,28 (20)	127,20±67,78 (15)	1,80±0,86 (15)
	Total	27,78±7,06 (32)	75,90±31,46 (31)	81,65±38,16 (31)	129,79±69,01 (24)	2,08±1,28* (24)
4 Ordeños	1	38,00±10,62 (10)	63,40±20,59 (10)	102,60±28,44 (10)	182,10±61,56 (10)	3,50±1,26 (10)
	2	25,57±6,46 (14)	70,36±22,81 (14)	70,36±22,81 (14)	147,07±87,27 (14)	2,64±1,61 (14)
	Total	30,75±10,34 (24)	67,46±21,73 (24)	83,79±29,57 (24)	161,67±78,09 (24)	3,00±1,61* (24)
Total	1	36,00±8,55** (21)	73,19±29,10 (21)	91,86±32,23 (21)	159,37±70,69 (19)	3,05±1,54 (19)
	2	24,89±5,54** (35)	71,62±27,28 (34)	76,85±34,88 (34)	136,79±77,04 (29)	2,20±1,42 (29)
	Total	29,05±8,66 (56)	72,22±27,73 (55)	82,58±34,39 (55)	145,73±74,66 (48)	2,54±1,51 (48)

Tabla 4.- Parámetros reproductivos (media ± desviación típica) en función de la dieta y del nº de ordeños

(*): Diferencias significativas $P < 0,05$ entre los valores marcados

(**): Diferencias significativas $P < 0,001$ entre los valores marcado

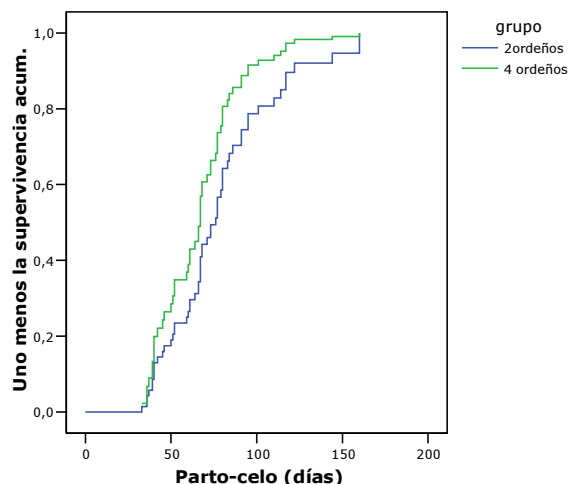
Este efecto significativo de la dieta se evidenció también en la prueba de regresión de Cox (Gráfica 1).



Gráfica 1.- Regresión de Cox para la involución uterina en función de la dieta.

1.2 Intervalo Parto Celos.

No hemos apreciado diferencias significativas entre el número de ordeños, ni entre las dietas (Tabla 4). No obstante, los animales sometidos a 4 ordeños mostraron un intervalo parto celo más corto que el resto, tal y como puede verse en la gráfica 2.



Gráfica 2.- Regresión de Cox para el intervalo parto-celo en función del grupo de ordeño.

1.3.- Intervalo Parto-Primera Inseminación.

Al igual que en el caso anterior no se apreció ningún efecto, ni del número de ordeños, ni de la dieta, sobre la duración de este intervalo (Tabla 4).

1.4.- Intervalo Parto-Gestación.

Nuevamente no se encontró influencia ni del número de ordeños, ni de la dieta, sobre este intervalo (Tabla 4).

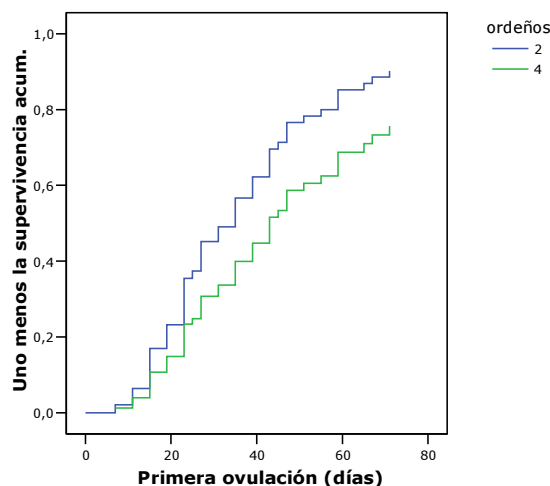
1.5.- Número de Inseminaciones.

En este estudio apreciamos la existencia de diferencias significativas en función del número de ordeños. Así, los animales que fueron sometidos a un régimen de 4 necesitaron, prácticamente, una inseminación más, para quedar gestantes (Tabla 4).

2.- Actividad Ovárica

2.1.- Primera Ovulación

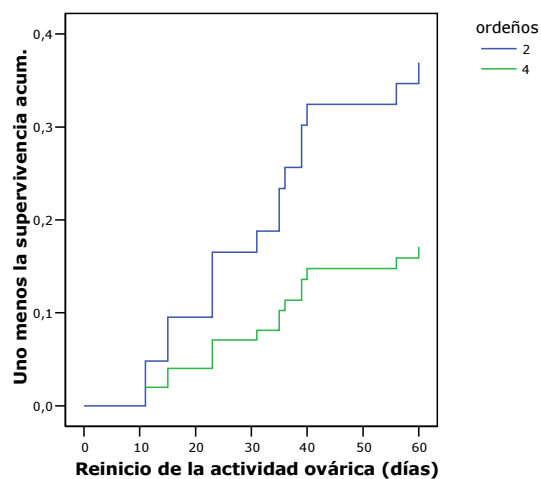
El análisis de supervivencia realizado demostró que no existía ninguna influencia ni del grupo de ordeño, ni de la dieta, aunque, en el grupo de 4 ordeños la primera ovulación fue más tardía como puede verse en la gráfica 3.



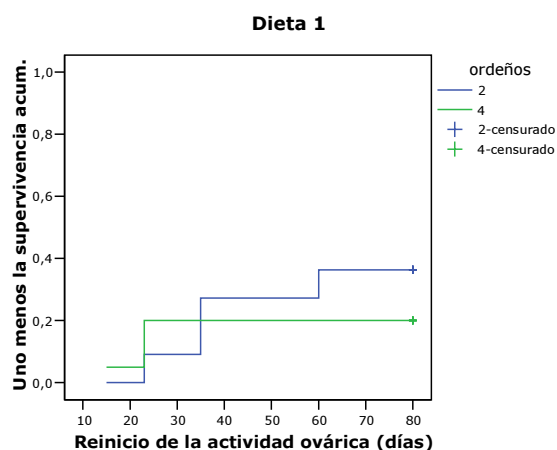
Gráfica 3.- Regresión de Cox para la primera ovulación en función del número de ordeños.

2.2.- Reinicio de la actividad ovárica.

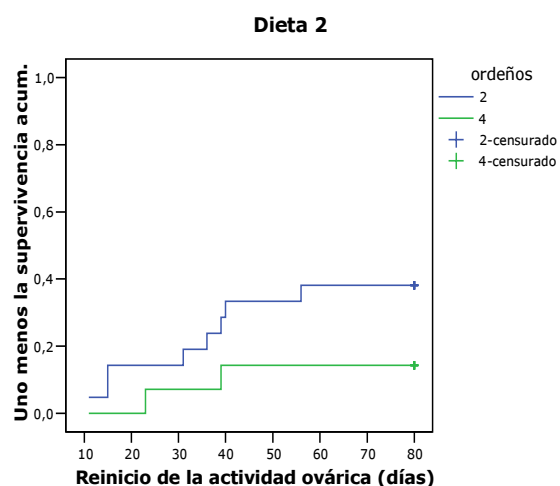
Nuevamente los análisis de supervivencia no mostraron ningún efecto significativo ni de la dieta, ni del número de ordeños sobre el momento del reinicio de la actividad ovárica (Gráficas 4, 5 y 6). Eso sí, se evidencia que con 4 ordeños (Gráfica 4) el reinicio se produce más tarde (es probable que la diferencia no sea significativa debido a la disminución en el número de datos). Así, a los 80 días del posparto no habían reiniciado actividad ovárica un 63,64% de los animales del grupo C1, un 61,90% del C2, un 80,00% del T1 y un 85,71% del T2 respectivamente



Gráfica 4.- Regresión de Cox para el reinicio de la actividad ovárica en función del número de ordeños.



Gráfica 5.- Regresión de Cox para el reinicio de la actividad ovárica con dieta 1 en función del número de ordeños.



Gráfica 6.- Regresión de Cox para el reinicio de la actividad ovárica con dieta 2 en función del número de ordeños.

2.3.- Número de Ovulaciones

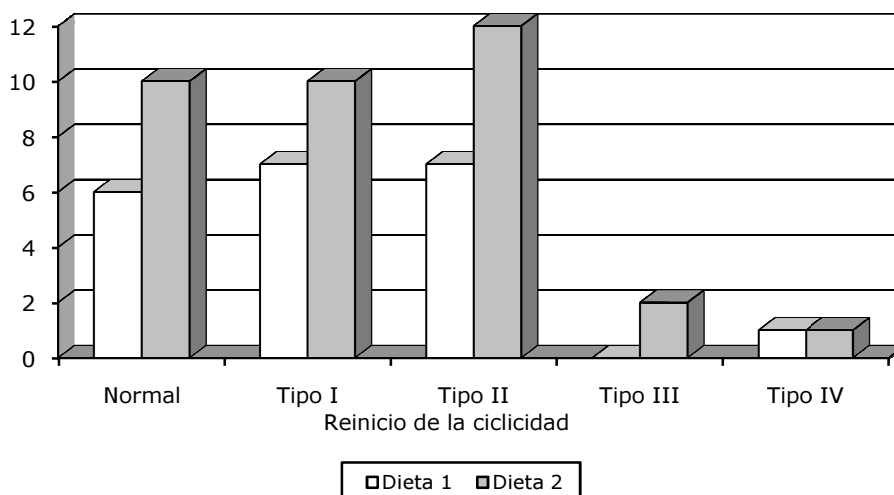
Pese a no existir diferencias significativas, puede asumirse la existencia de una diferencia en cuanto al número de ordeños ($P=0,052$). Así, se produjeron más ovulaciones en el grupo de 2 ordeños (Tabla 5).

Grupo	Dieta	Media \pm Desv. Tip.	N
2 Ordeños	1	2,09 \pm 0,53	11
	2	1,81 \pm 0,98	21
	Total	1,91 \pm 0,85	32
4 Ordeños	1	1,10 \pm 1,28	10
	2	1,71 \pm 0,99	14
	Total	1,46 \pm 1,14	24
Total	1	1,62 \pm 1,07	21
	2	1,77 \pm 0,97	35
	Total	1,71 \pm 1,00	56

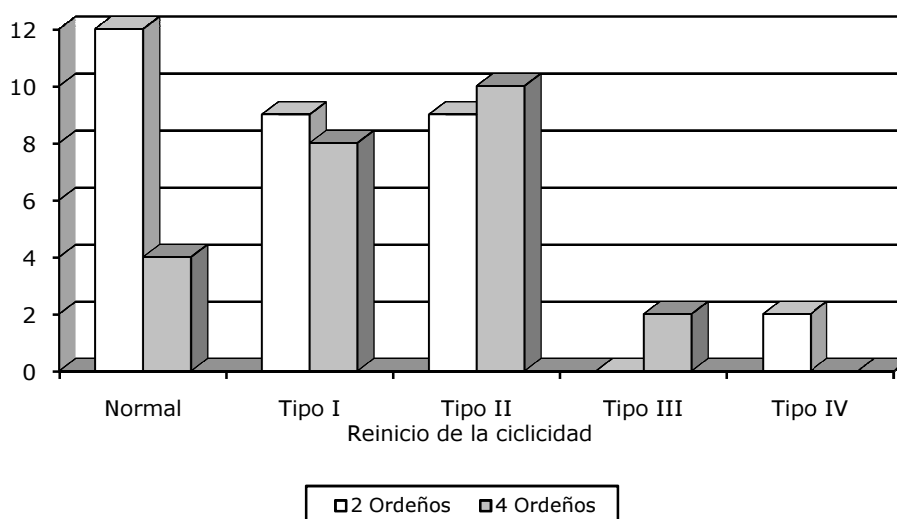
Tabla 5.- Número de ovulaciones en función de la dieta y del nº de ordeños

2.4.- Tipos de retraso en el reinicio de la actividad ovárica.

Tomando como referencia la clasificación de los diferentes tipos de reinicio de la actividad ovárica que realizan Shrestha y col. (2004), su distribución con relación a la dieta (Gráfica 7) muestra que, a excepción del retraso tipo IV (similar con ambas dietas), cualquiera de los restantes tipos de retraso, incluido el reinicio normal, son más frecuentes con la dieta 2. Si atendemos a su distribución con relación al número de ordeños (Gráfica 8) comprobamos que tanto el reinicio normal como los retrasos tipo I y IV son más frecuentes con 2 ordeños, mientras que los tipos II y III lo son con 4 ordeños.



Gráfica 7.- Distribución de los diferentes tipos de reinicio de la actividad ovárica en función de la dieta empleada.



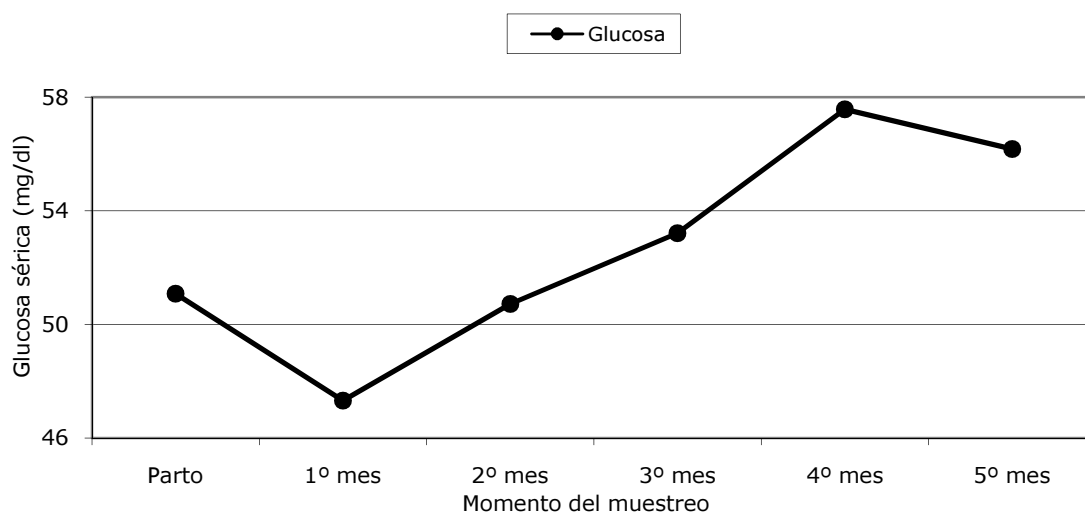
Gráfica 8.- Distribución de los diferentes tipos de reinicio de la actividad ovárica en función del número de ordeños.

II.- METABOLISMO

1.- Metabolismo Energético.

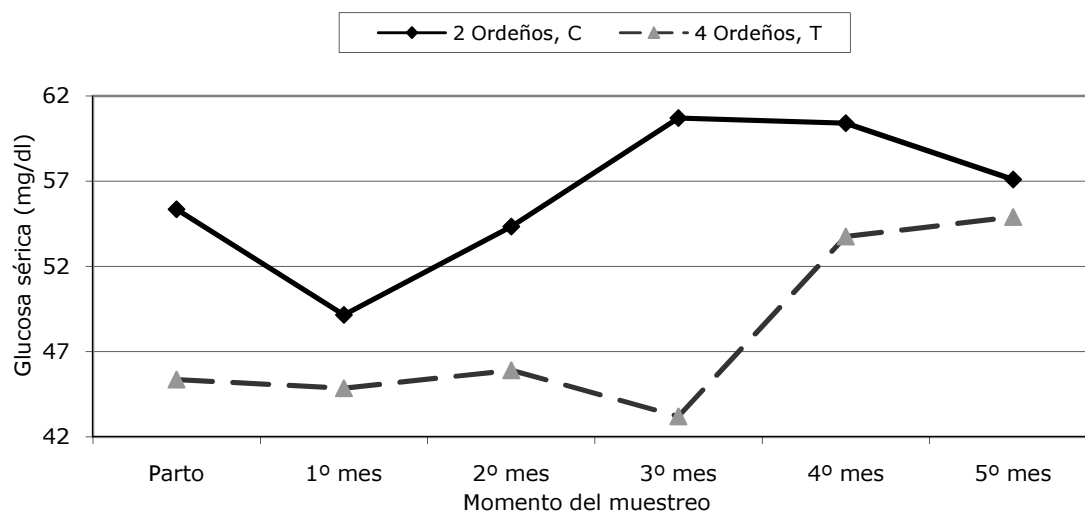
1.1.- Glucosa.

La evolución de sus concentraciones muestra un descenso desde el parto hasta el primer mes del posparto para, posteriormente, elevarse hasta alcanzar y superar los valores de partida al final del estudio (Gráfica 9).

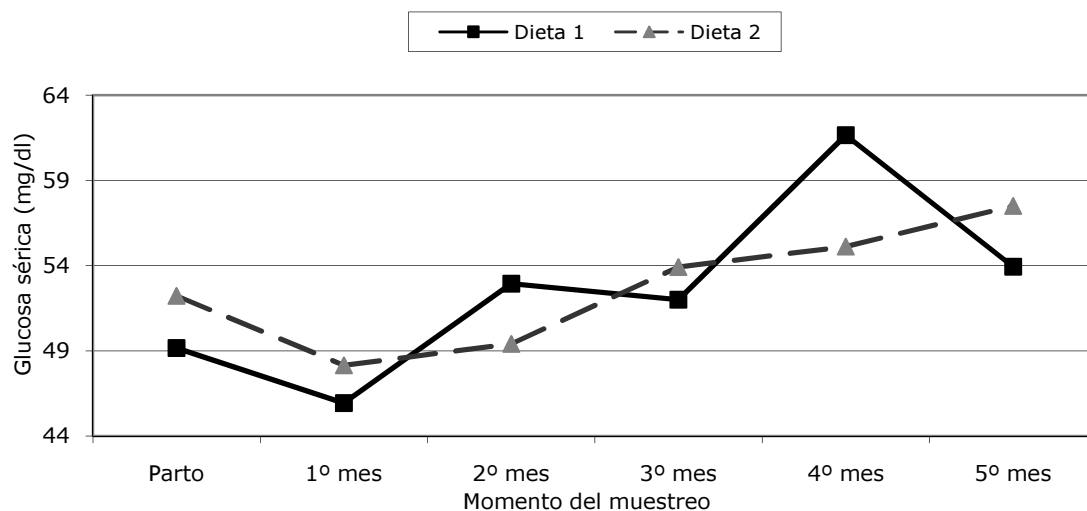


Gráfica 9.- Evolución de la concentración de glucosa, del total de los animales, a lo largo del estudio (ver tabla 6).

En cuanto al análisis estadístico, pudimos comprobar la existencia de un efecto significativo del grupo de ordeño. Los valores séricos de glucosa eran significativamente menores en los animales sometidos a 4 ordeños (Gráfica 10). No apreciamos ningún efecto significativo de la dieta (Gráfica 11).

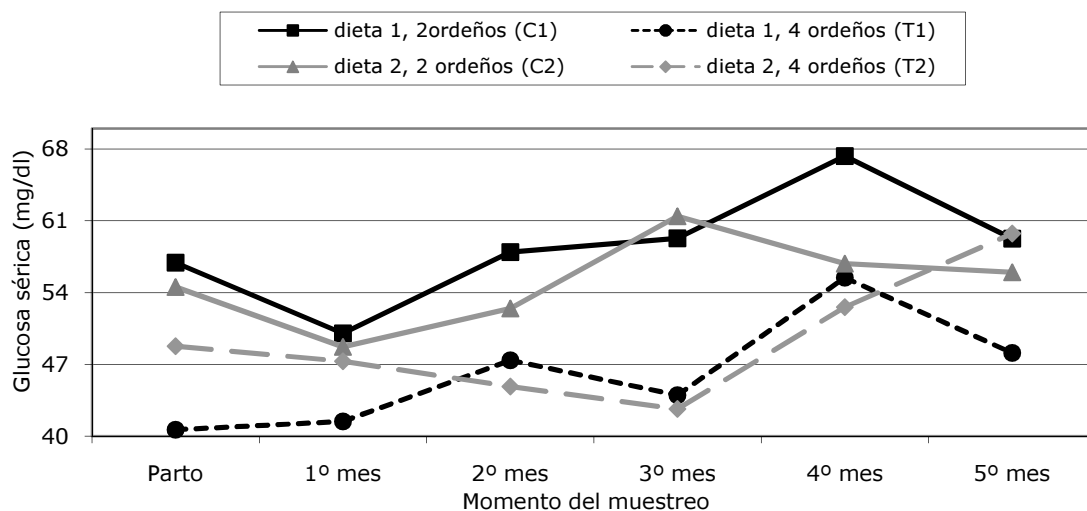


Gráfica 10.- Evolución de las concentraciones de glucosa en función del grupo de ordeño (ver tabla 6).



Gráfica 11.- Evolución de las concentraciones de glucosa en función de la dieta empleada (ver tabla 6).

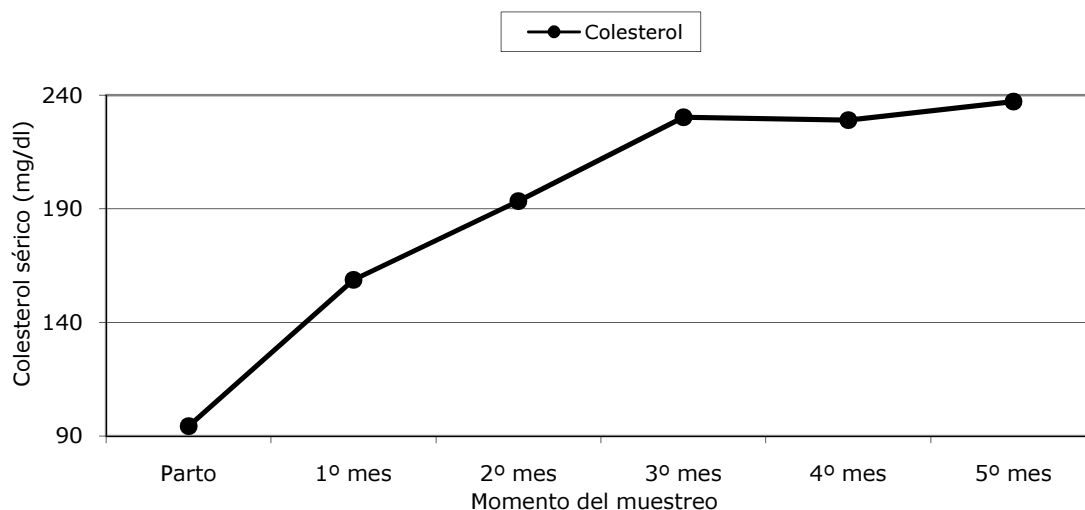
Hemos apreciado la existencia un efecto de la interacción grupo de ordeño-dieta: con la dieta 1 los niveles de glucosa del grupo de 4 ordeños son claramente inferiores a los de 2 ordeños (Gráfica 12).



Gráfica 12.- Evolución de las concentraciones de glucosa en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 6).

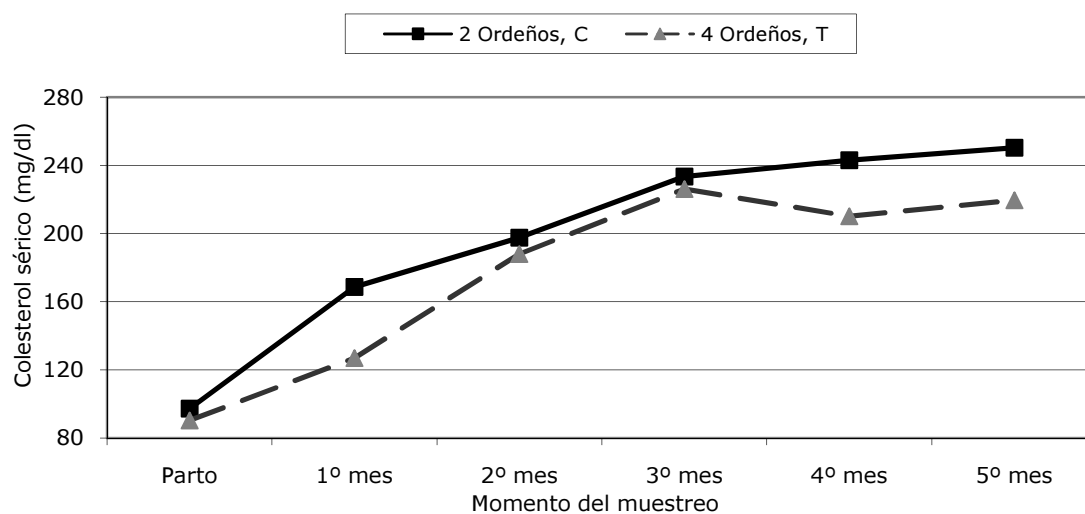
1.2.- Colesterol Total.

Al evaluar la evolución del colesterol sérico a lo largo del periparto, comprobamos que se produce un incremento paulatino desde el momento del parto hasta el final del estudio (Gráfica 13).



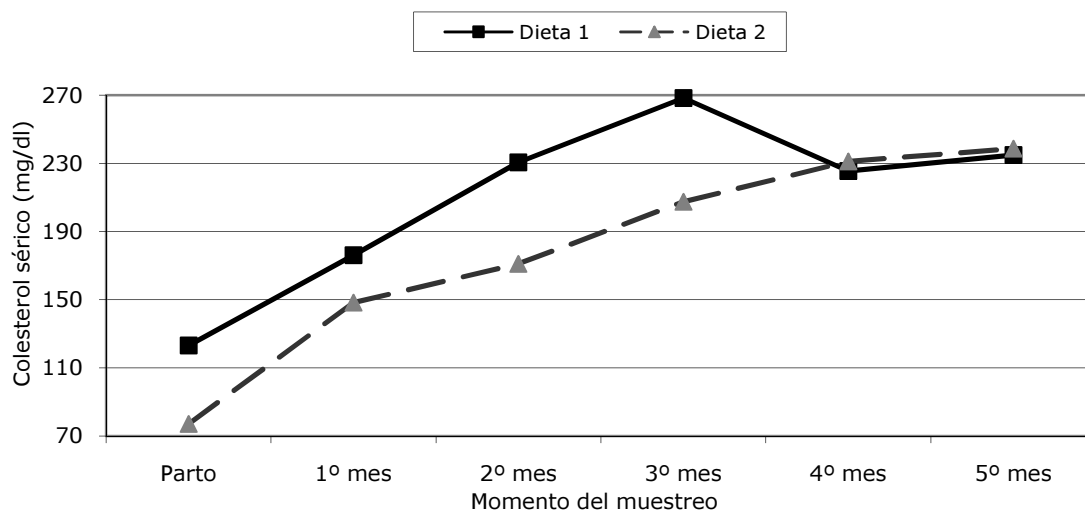
Gráfica 13.- Evolución de la concentración de colesterol, del total de los animales, a lo largo del estudio (ver tabla 7).

En cuanto al análisis estadístico, comprobamos un efecto significativo del grupo de ordeño (Gráfica 14). Así, comprobamos que las concentraciones de colesterol total eran mayores en los animales que sólo se ordeñaban dos veces al día.



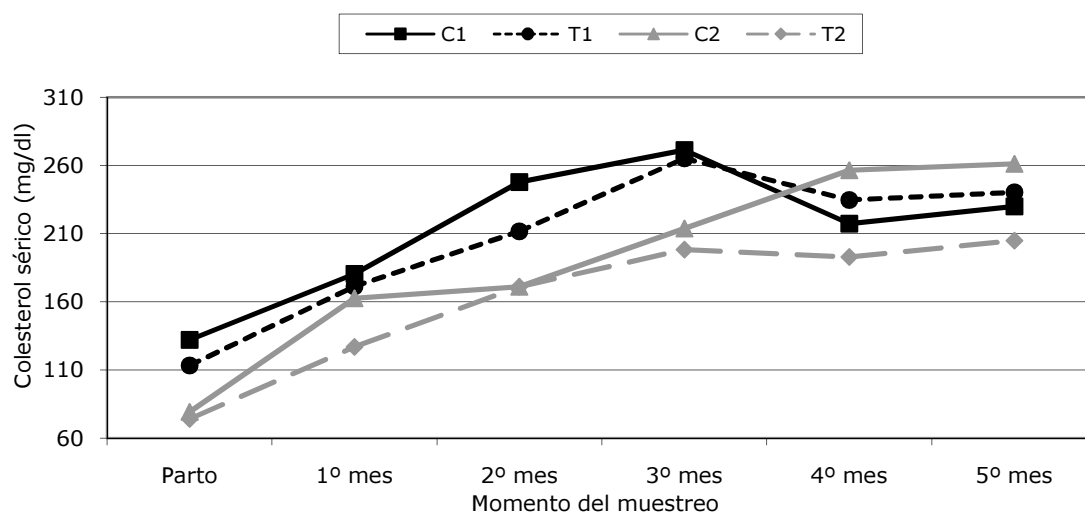
Gráfica 14.- Evolución de las concentraciones de colesterol en función del grupo de ordeño (ver tabla 7).

También apreciamos un efecto significativo del tipo de dieta (Gráfica 15). De forma que, las concentraciones de colesterol total eran mayores en los animales alimentados con la dieta 1, frente a los alimentados con la dieta 2.



Gráfica 15.- Evolución de las concentraciones de colesterol en función de la dieta empleada (ver tabla 7).

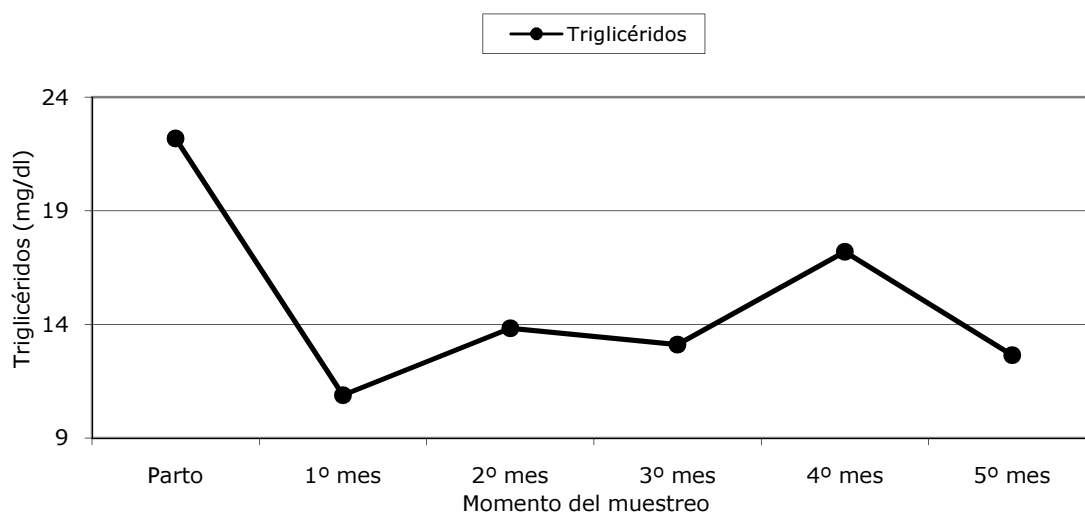
Finalmente, no hemos encontrado ningún efecto significativo de la interacción grupo de ordeño-dieta sobre los niveles de colesterol a lo largo del postparto (Gráfica 16).



Gráfica 16.- Evolución de la concentración de colesterol en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 7).

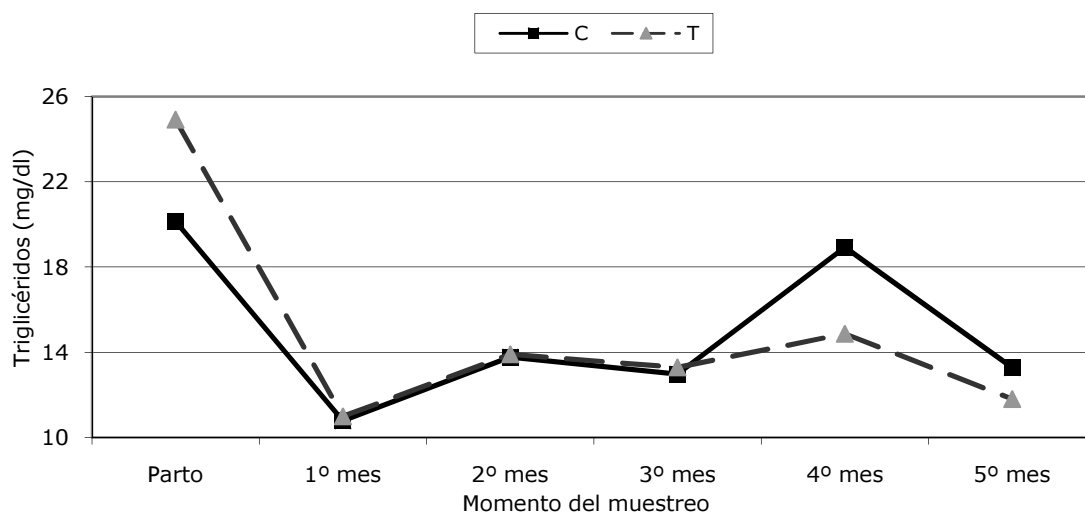
1.3.- Triglicéridos.

En cuanto a los triglicéridos, observamos que se produce un descenso muy marcado tras el parto hasta el primer mes postparto, para, posteriormente, producirse una ligera y progresiva recuperación hasta el 4º mes, y un nuevo descenso en el 5º mes del postparto (Gráfica 17).



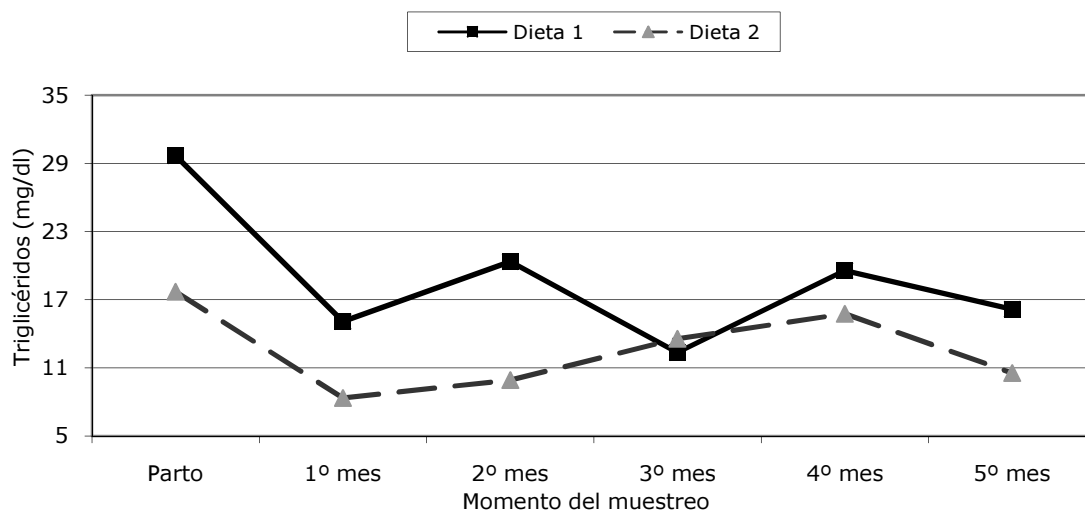
Gráfica 17.- Evolución de la concentración de triglicéridos, del total de los animales, a lo largo del estudio (ver tabla 8).

Tras el análisis estadístico no encontramos ninguna influencia significativa del grupo de ordeños (2 ordeños vs. 4 ordeños) en los niveles de triglicéridos (Gráfica 18).



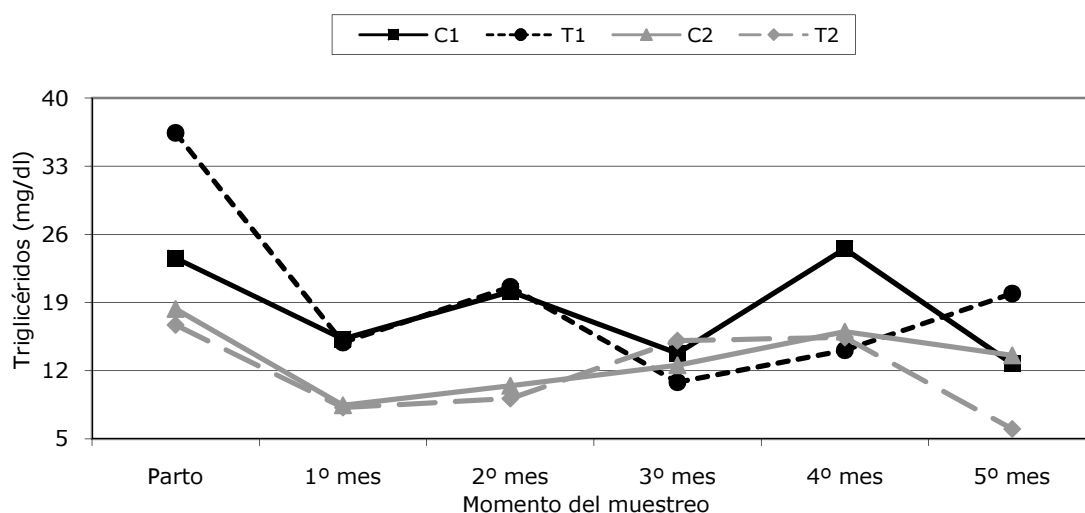
Gráfica 18.- Evolución de las concentraciones de triglicéridos en función del grupo de ordeños (ver tabla 8).

Sin embargo, los diferentes tipos de dieta considerados en el estudio mostraron un efecto significativo sobre los valores de los triglicéridos, de tal forma que los animales a los que se les proporcionó la dieta 1 presentaron valores más elevados de los triglicéridos (Gráfica 19).



Gráfica 19.- Evolución de las concentraciones de triglicéridos en función de la dieta empleada (ver tabla 8).

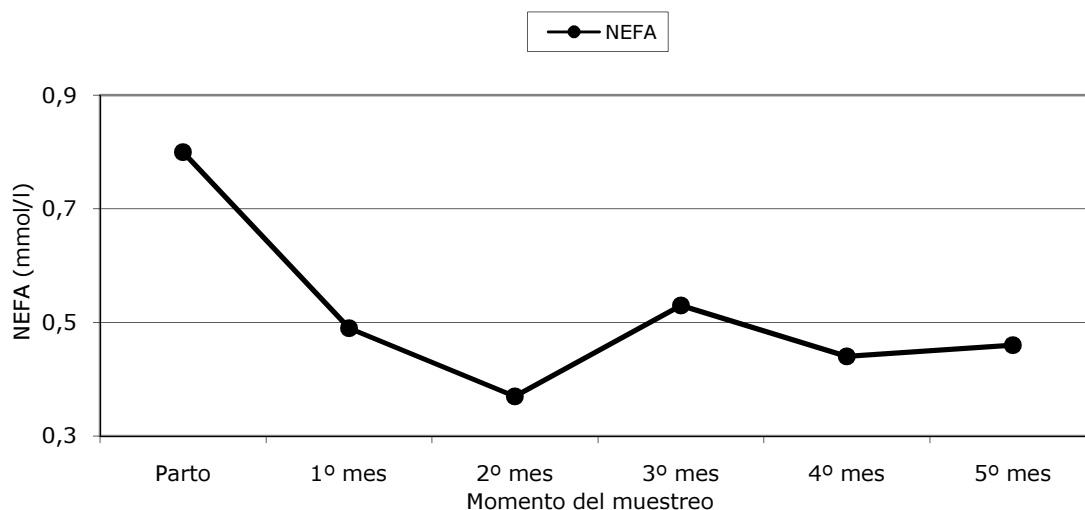
Finalmente, al estudiar la posibilidad de una interacción entre el grupo de ordeños-dieta, tampoco mostraron ninguna influencia significativa sobre los niveles de triglicéridos (Gráfica 20).



Gráfica 20.- Evolución de las concentraciones de triglicéridos en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 8).

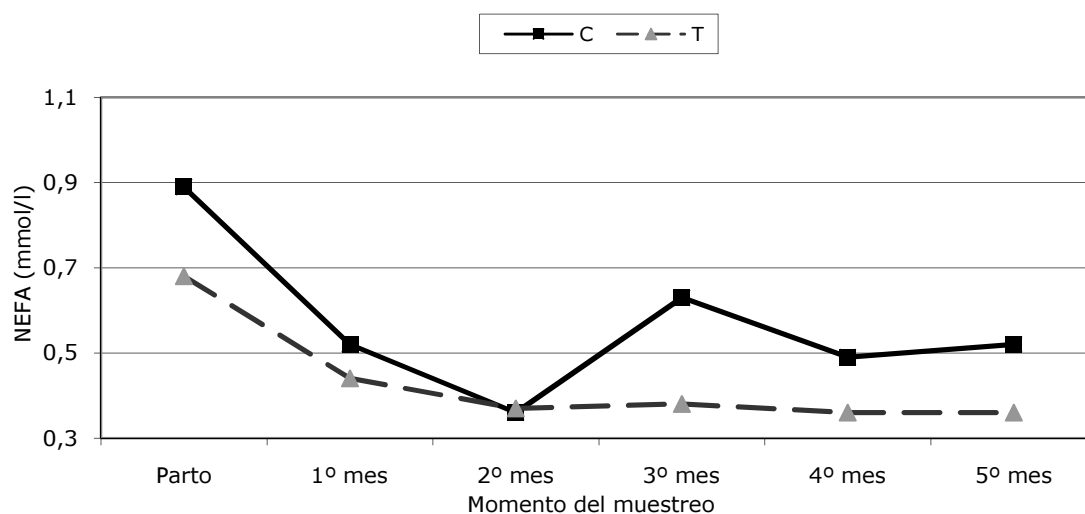
1.4.- Ácidos Grasos no Esterificados (NEFA)

La evolución de los niveles de NEFA en el periparto podemos observarlos en la Gráfica 21. Sus valores descienden desde el parto hasta el 2º mes posparto. Desde ese punto inician una recuperación progresiva hasta el 3º mes posparto y mantenerse así hasta el final del estudio.



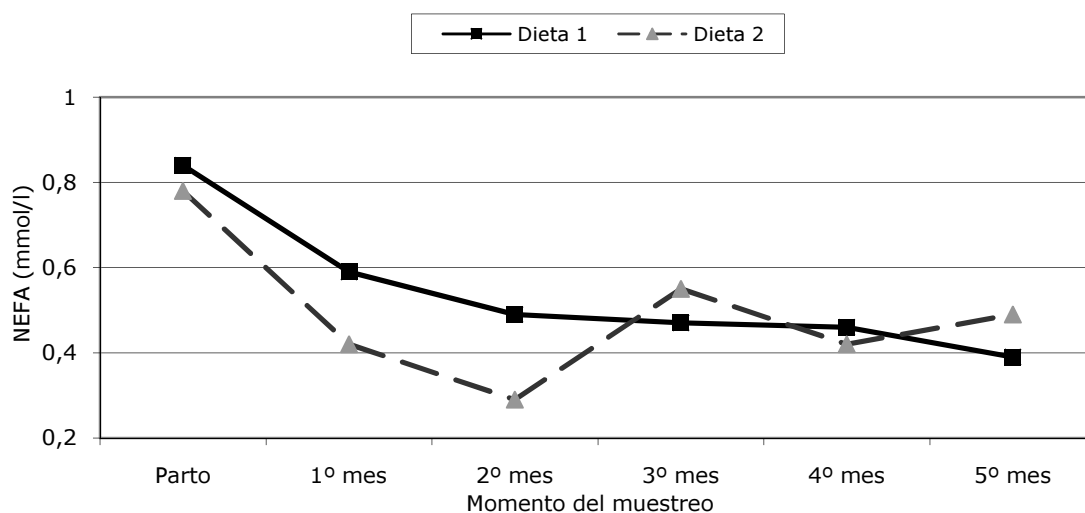
Gráfica 21.- Evolución de la concentración de NEFA, del total de los animales, a lo largo del estudio (ver tabla 9).

Tras el análisis estadístico comprobamos que, aunque no llega a ser significativa ($p=0,084$), existe un cierto efecto del grupo de ordeño (Gráfica 22) sobre la concentración de NEFA. Así cuando los animales eran sometidos a 4 ordeños presentaban valores más bajos de NEFA que los que sólo se ordeñaban dos veces al día.



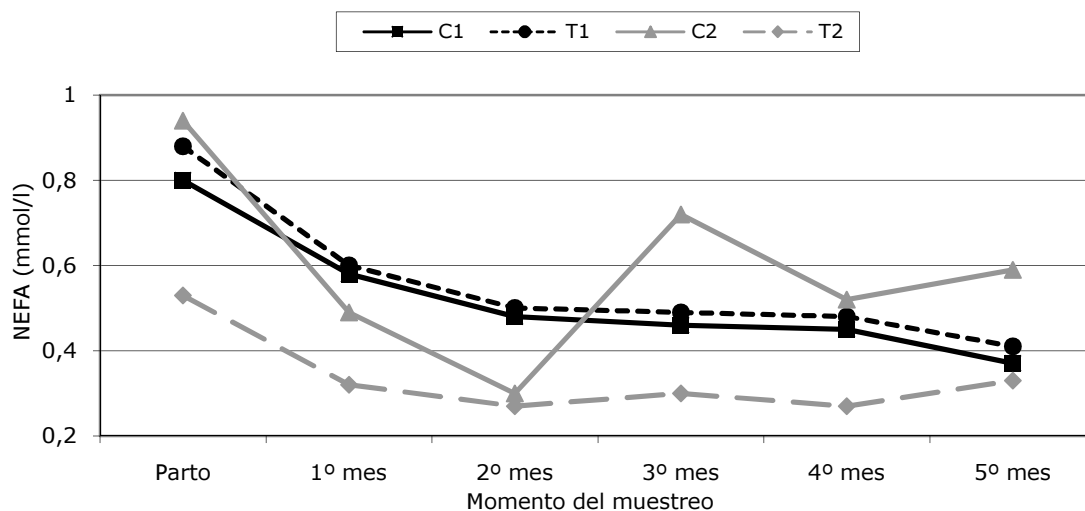
Gráfica 22.- Evolución de las concentraciones de NEFA en función del grupo de ordeño (ver tabla 9).

Por otro lado, la dieta no mostró ninguna influencia significativa (Gráfica 23) sobre los valores de los ácidos grasos no esterificados.



Gráfica 23.- Evolución de las concentraciones de NEFA en función de la dieta empleada (ver tabla 9).

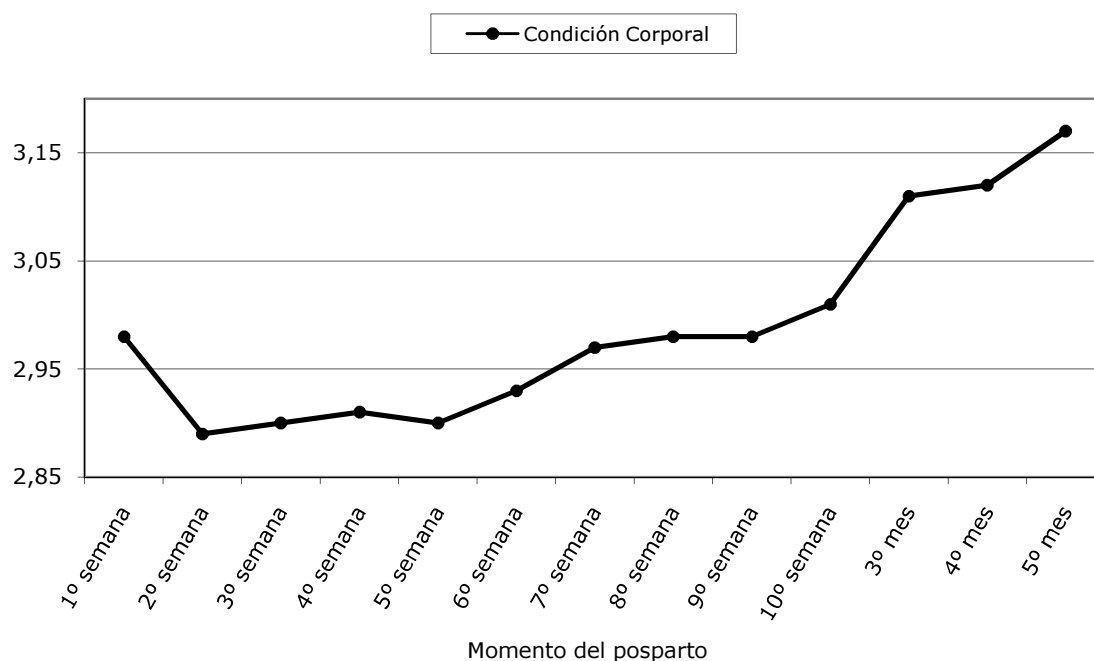
Cuando estudiamos la influencia de la interacción del grupo de ordeño y de la dieta, comprobamos que existía una influencia significativa sobre los valores de NEFA. Así, se comprobaba que los animales que eran alimentados con la dieta 2 tenían valores más elevados de NEFA cuando sólo se ordeñaban en dos ocasiones (Gráfica 24).



Gráfica 24.- Evolución de las concentraciones de NEFA en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 9).

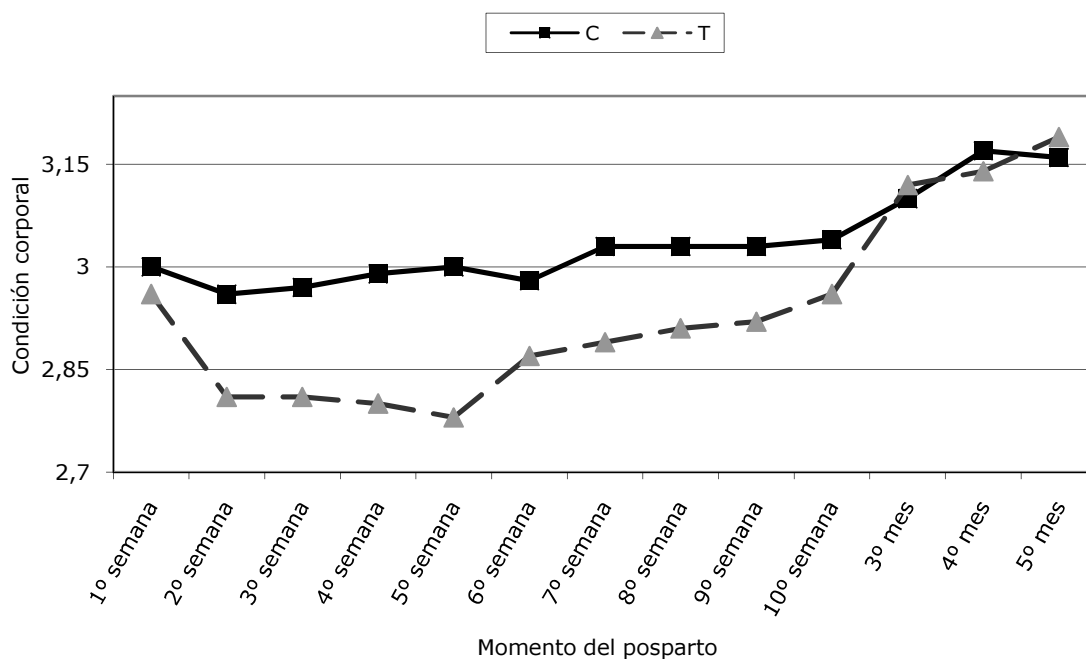
1.5.- Condición Corporal.

Tal y como se esperaba, la evolución de la condición corporal en el postparto sigue la curva típica. Tras un primer descenso, inmediatamente después del parto, se produce una recuperación progresiva de la condición corporal (Gráfica 25).



Gráfica 25.- Evolución de la condición corporal, del total de los animales, a lo largo del estudio (ver tabla 18).

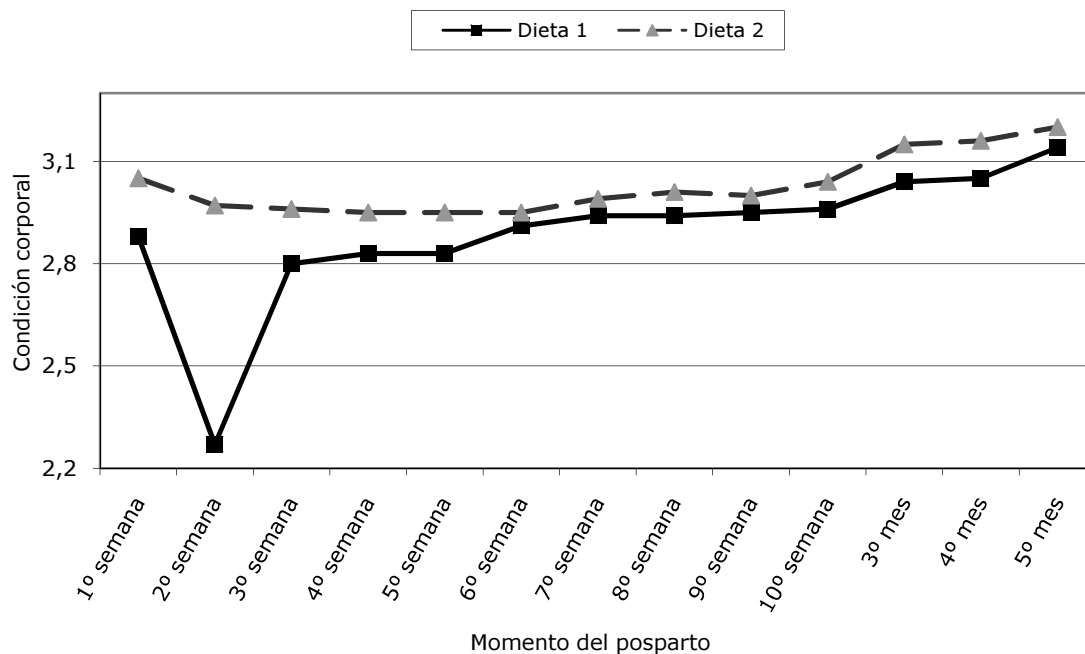
Al evaluar la influencia del grupo de ordeño sobre la condición corporal en el postparto, comprobamos que existían diferencias significativas. De tal forma que los animales que sólo eran ordeñados dos veces tenían una menor caída de la condición corporal y se producía una más rápida recuperación de la misma (Gráfica 26).



Gráfica 26.- Evolución de la condición corporal en función del grupo de ordeño (ver tabla 18).

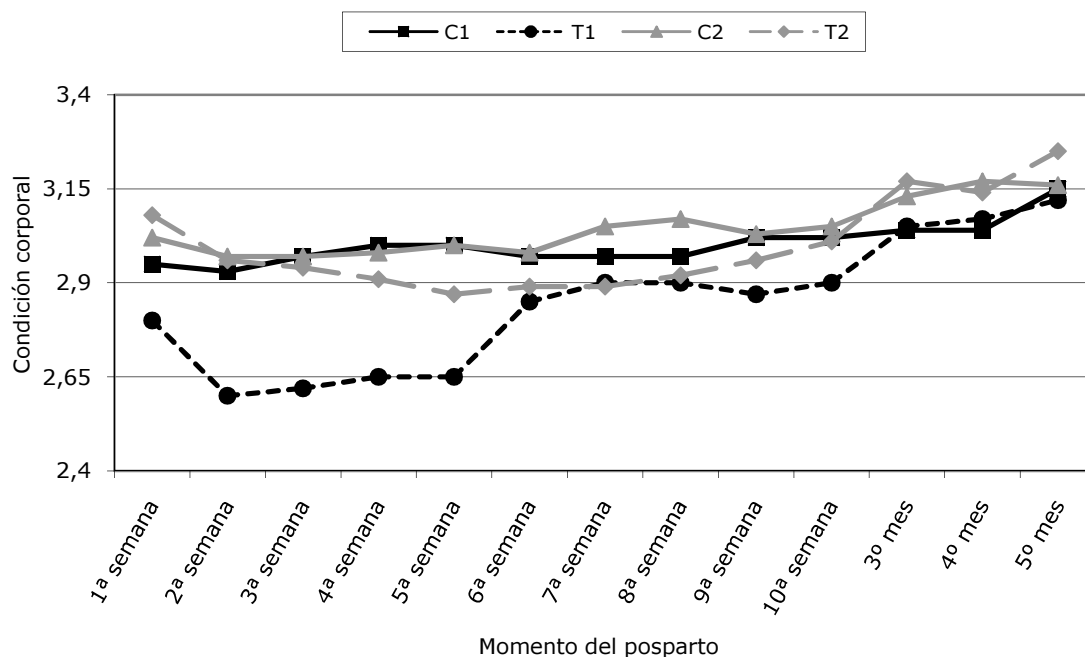
Por su parte, también se demostró una influencia significativa de la dieta sobre la evolución de la condición corporal en el postparto. De forma que, los

animales alimentados con la dieta 2 tenían una menor caída de la condición corporal y una más rápida recuperación (Gráfica 27). Llama poderosamente la atención la brusca caída de condición corporal que se produce en los animales alimentados con la dieta 1.



Gráfica 27.- Evolución de la condición corporal en función de la dieta empleada (ver tabla 18).

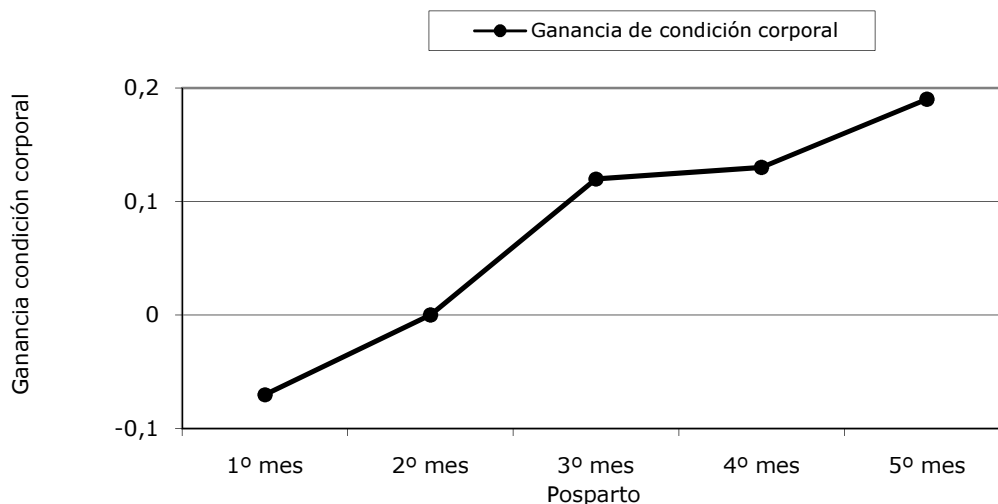
Finalmente, intentamos evaluar la posible influencia de la interacción del grupo de ordeño y la dieta, sobre la evolución de la condición corporal en el postparto. Sin embargo, no hemos apreciado que exista ninguna influencia, estadísticamente significativa, de esta interacción (Gráfica 28).



Gráfica 28.- Evolución de la condición corporal en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 18).

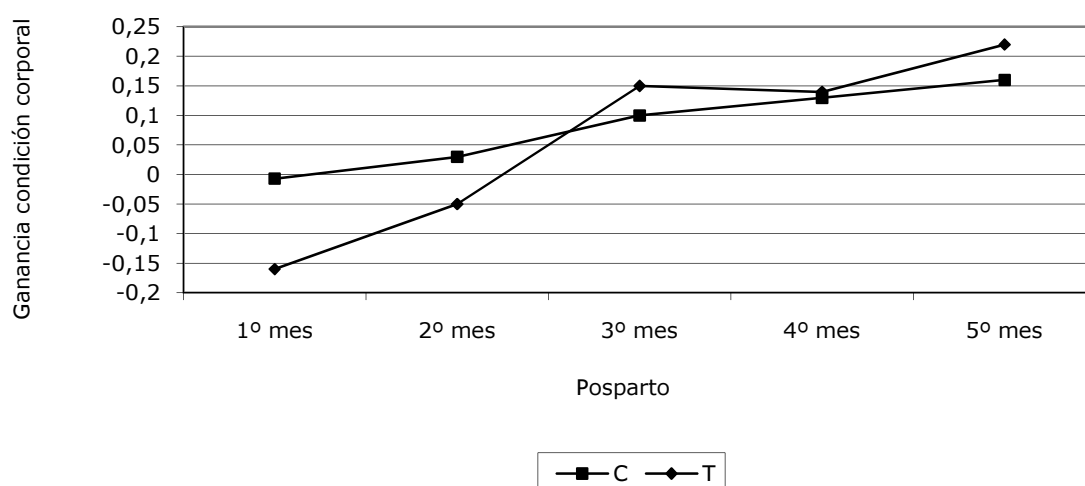
1.6.- Ganancia de condición corporal.

Otro de los parámetros evaluados en nuestro estudio fue la "Ganancia de condición corporal". Tal y como se esperaba, la condición corporal de los animales se recupera a lo largo del postparto (Gráfica 29).



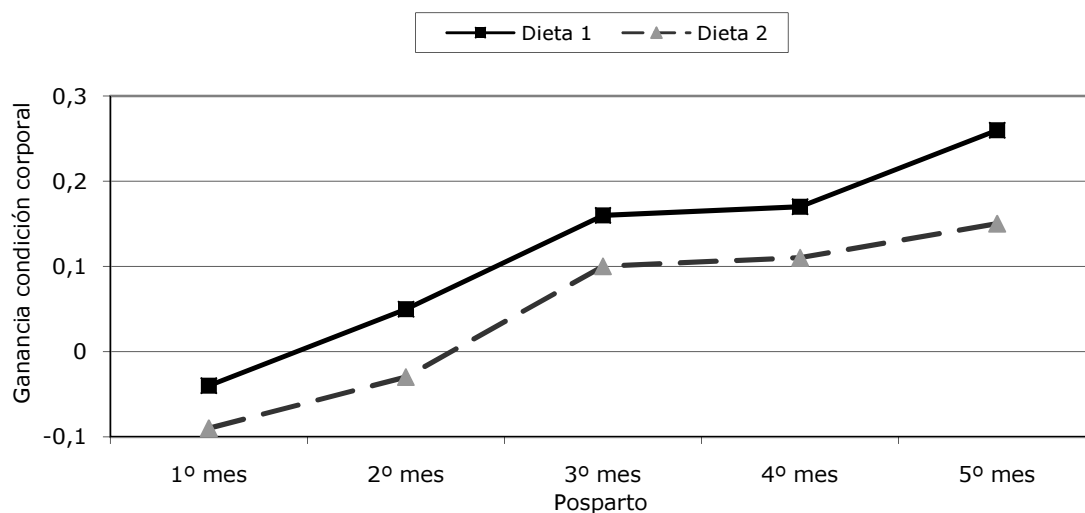
Gráfica 29.- Evolución de la ganancia de condición corporal, en el total de animales, a lo largo de estudio (ver tabla 17).

Tal y como se puede ver en la Gráfica 30, la evolución de la ganancia de la condición corporal no se vio afectada por el grupo de ordeño.



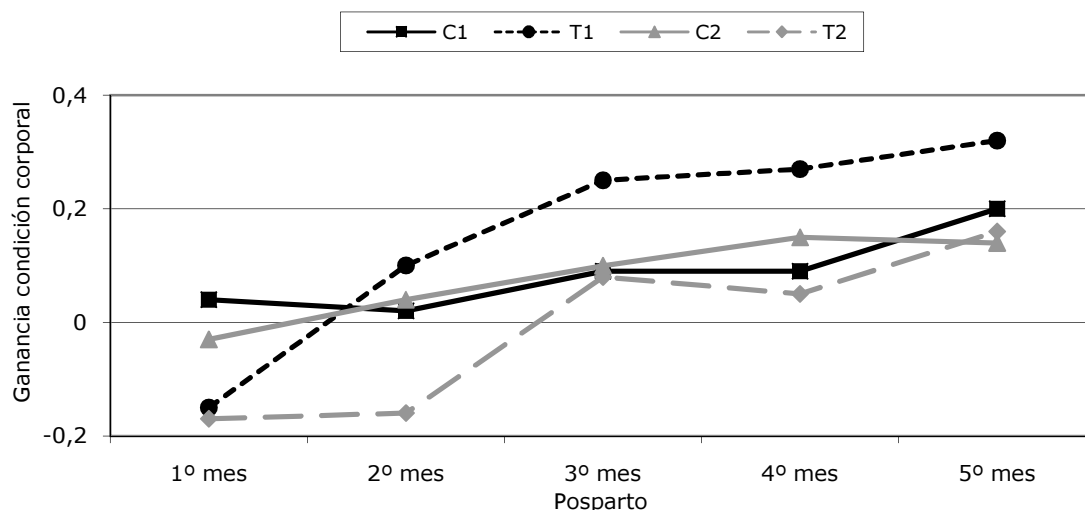
Gráfica 30.- Evolución de la ganancia de condición corporal en función del grupo de ordeño (ver tabla 17).

En la Gráfica 31, se representa la evolución de la ganancia de la condición corporal en función de la dieta. No se observó ninguna influencia significativa de la dieta sobre la esta característica.



Gráfica 31.- Evolución de la ganancia de condición corporal en función de la dieta empelada (ver tabla 17).

Finalmente, tampoco hemos podido encontrar ningún efecto de la interacción grupo de ordeño y de la dieta, sobre la ganancia de la condición corporal (Gráfica 32).

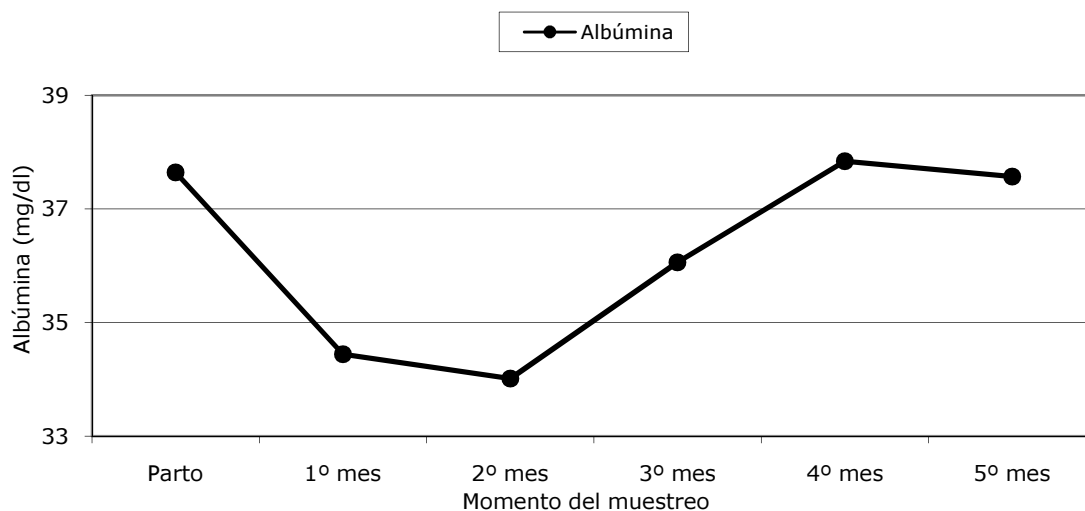


Gráfica 32.- Evolución de la ganancia de condición corporal en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 17).

2.- Metabolismo Proteico.

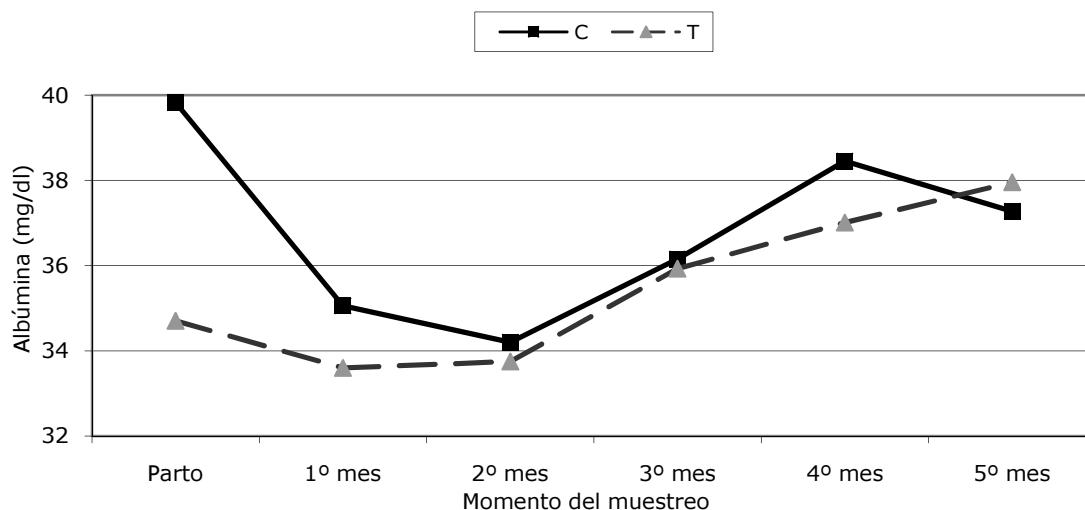
2.1.- Albúmina.

Uno de los parámetros empleados para evaluar el metabolismo proteico ha sido la concentración sérica de Albúmina. En nuestro estudio pudimos comprobar que, desde el momento del parto se produce un descenso en los valores séricos de la Albúmina, alcanzando su nivel más bajo en el 2º mes del postparto. Superado ese momento, este parámetro se recupera progresivamente hasta el 5º mes del postparto (Gráfica 33).



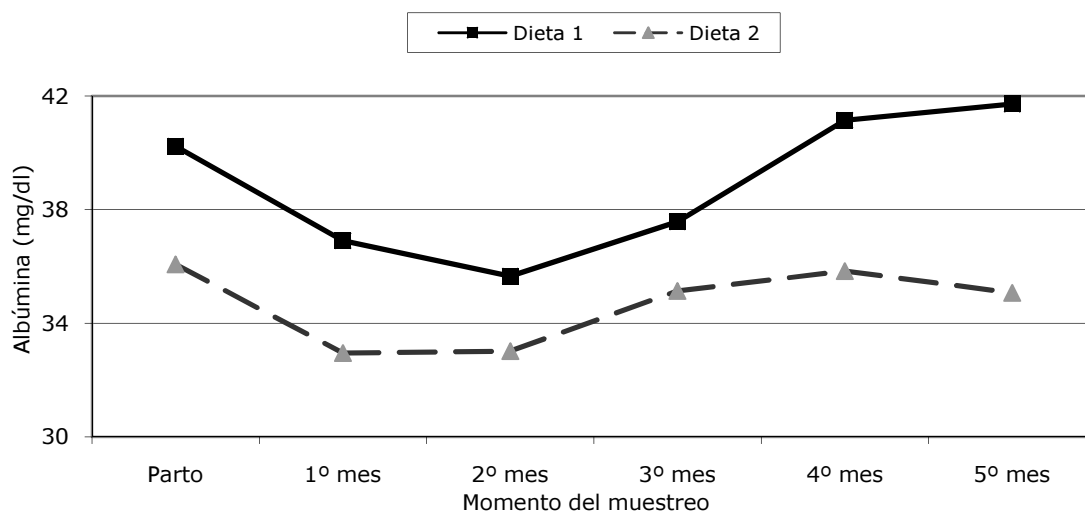
Gráfica 33.- Evolución de la concentración sérica de Albúmina a lo largo del estudio (ver tabla 11).

El análisis estadístico evidenció la existencia de un efecto significativo del grupo de ordeño (Gráfica 34), de tal forma que, la concentración de albúmina era más baja en el colectivo de animales que eran ordeñadas 4 veces al día.



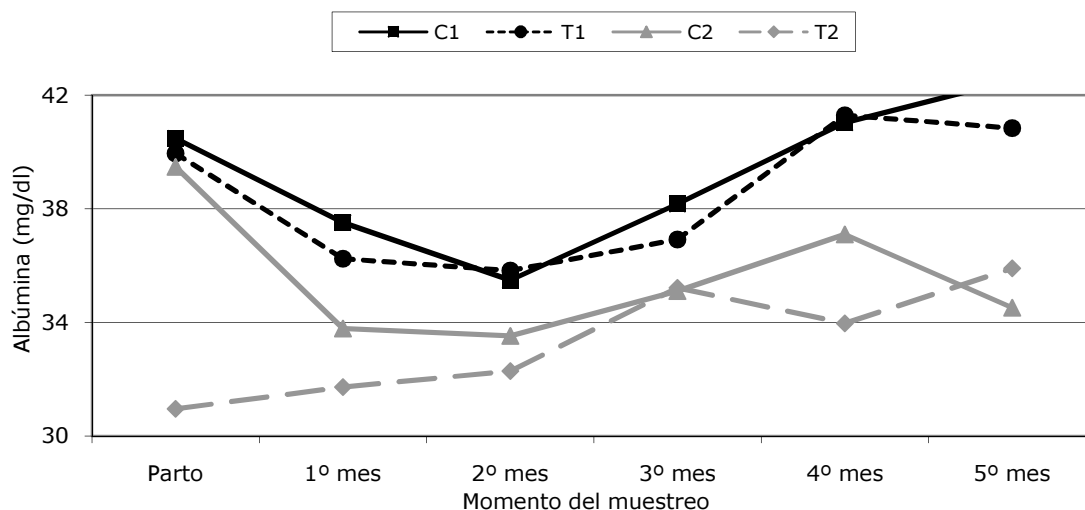
Gráfica 34.- Evolución de la concentración sérica de albúmina en función del grupo de ordeño (ver tabla 11).

También se comprobó la existencia de un efecto significativo de la dieta empleada (Gráfica 35). Así, los niveles de albúmina eran más bajos en los animales alimentados con la dieta 2 que en los mantenidos con la dieta 1.



Gráfica 35.- Evolución de la concentración sérica de albúmina en función de la dieta empleada (ver tabla 11).

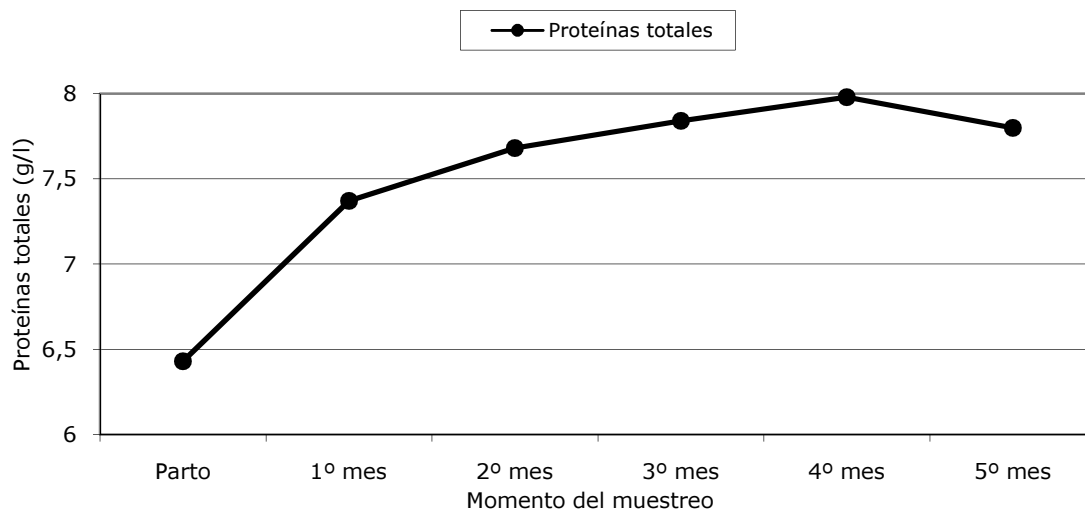
Finalmente, no se ha encontrado ninguna influencia significativa de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre los valores séricos de albúmina (Gráfica 36).



Gráfica 36.- Evolución de la concentración sérica de albúmina en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 11).

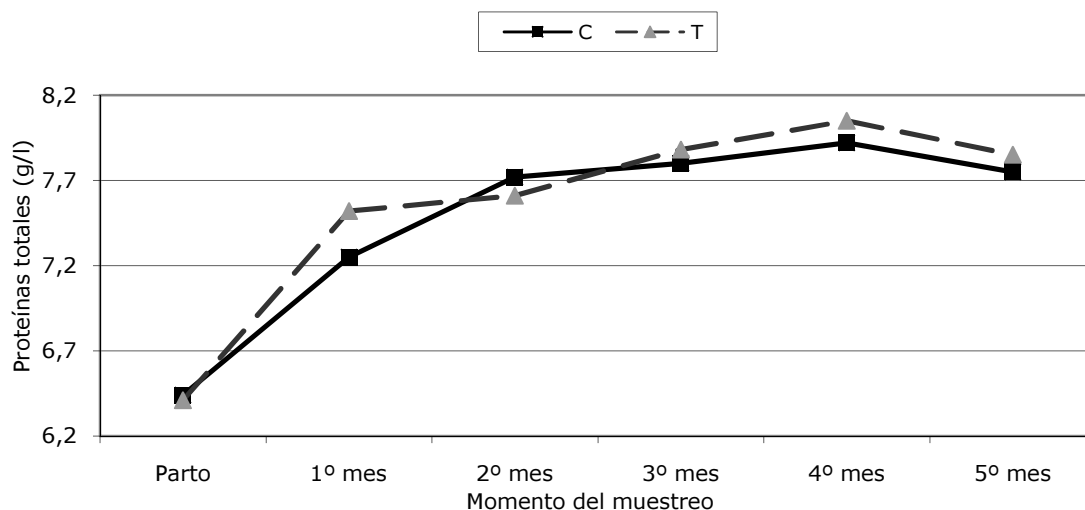
2.2.- Proteínas Totales.

Cuando analizamos la evolución de la concentración sérica de las proteínas totales en el periparto, comprobamos que se producía un aumento progresivo desde el parto hasta el final del estudio (Gráfica 37).



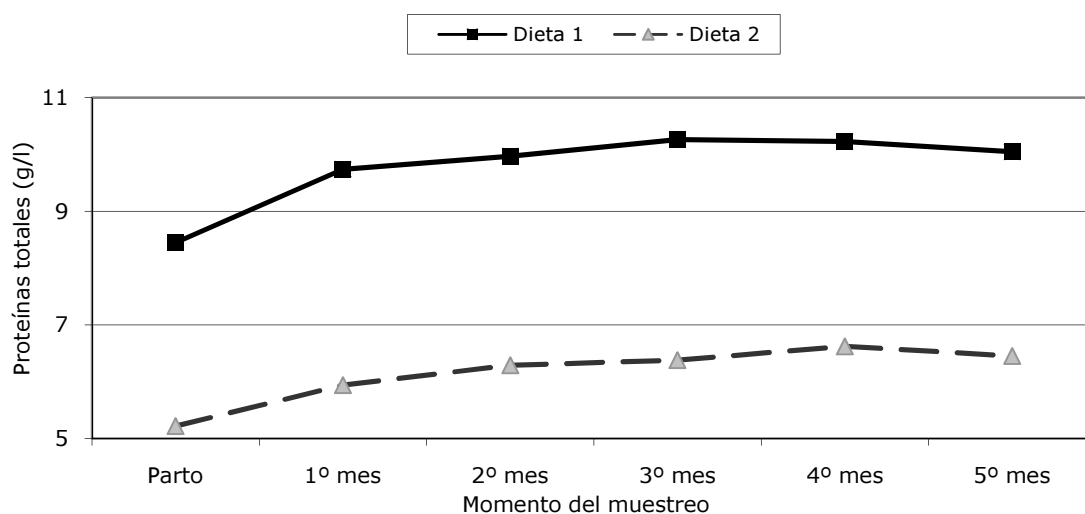
Gráfica 37.- Evolución de la concentración sérica de Proteínas totales a lo largo del estudio (ver tabla 12).

Tras realizar el análisis estadístico, comprobamos la existencia de un efecto significativo del grupo de ordeño (Gráfica 38). La concentración sérica de proteínas totales era mayor en el grupo animales que tenían una mayor frecuencia de ordeños.



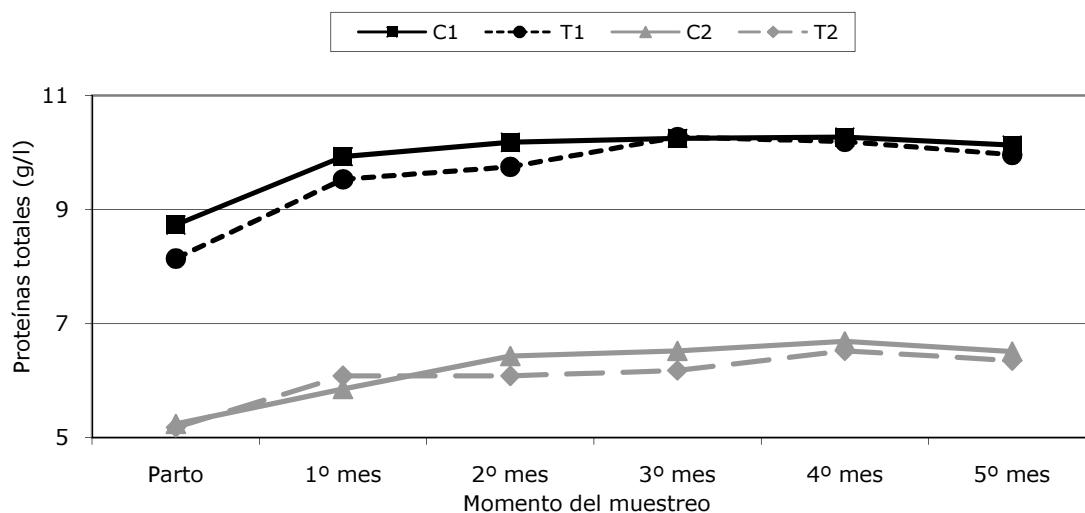
Gráfica 38.- Evolución de la concentración sérica de proteínas totales en función del grupo de ordeño (ver tabla 12).

Además, también pudimos comprobar que la dieta afectaba significativamente los valores séricos de Proteínas Totales (Gráfica 39). De tal forma que, los animales mantenidos con la dieta 1, presentaban valores séricos más elevados que los alimentados con la dieta 2.



Gráfica 39.- Evolución de la concentración sérica de proteínas totales en función de la dieta empleada (ver tabla 12).

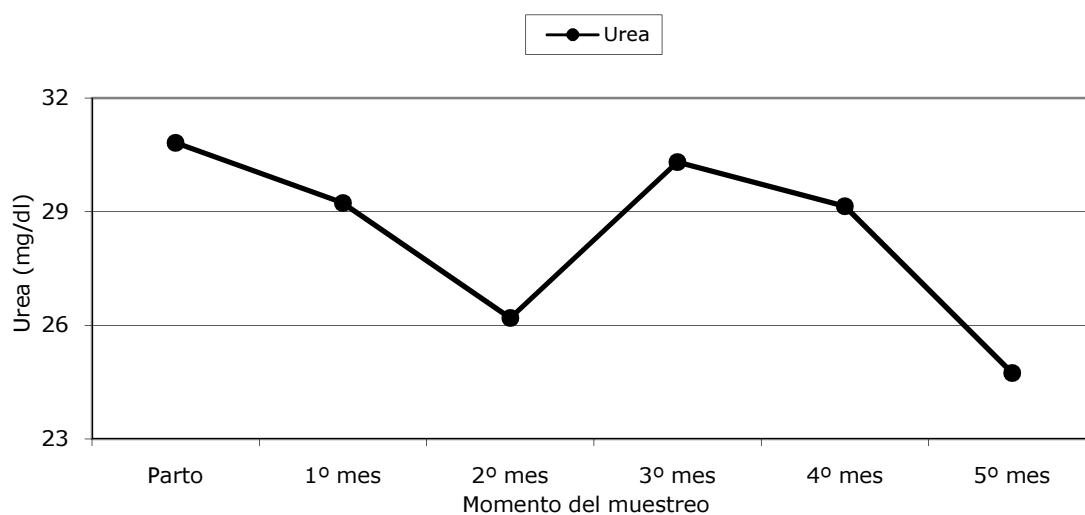
Por otro lado, no encontramos ninguna influencia significativa de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre los niveles séricos de proteínas totales a largo del estudio (Gráfica 40).



Gráfica 40.- Evolución de la concentración sérica de proteínas totales en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 12).

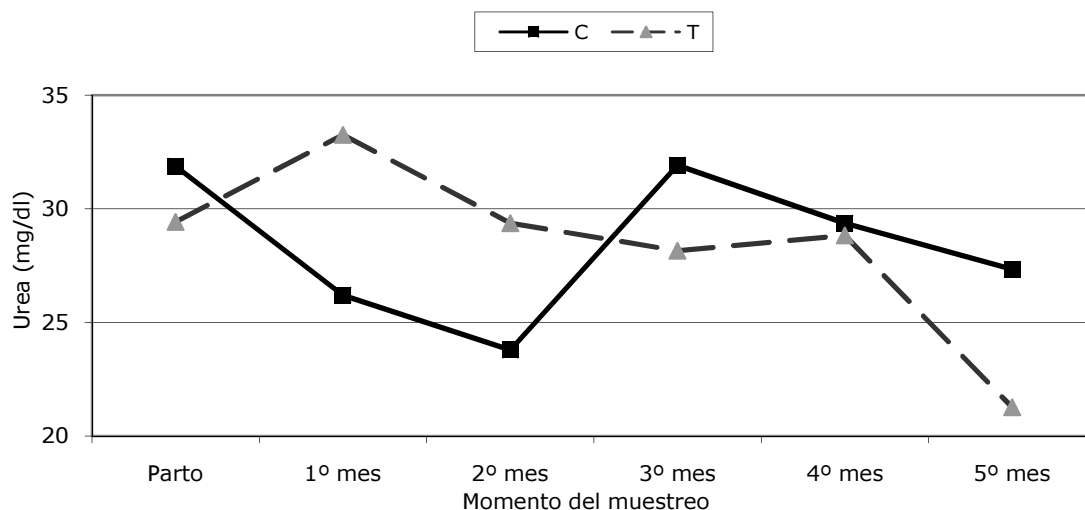
2.3.- Urea.

Al estudiar la evolución de la concentración sérica de Urea a lo largo del periparto, comprobamos que ésta descendía desde el momento del parto hasta el segundo mes del puerperio. En ese momento, se elevaba hasta alcanzar los valores iniciales para sufrir un nuevo descenso hasta el final del período de muestreo (Gráfica 41).



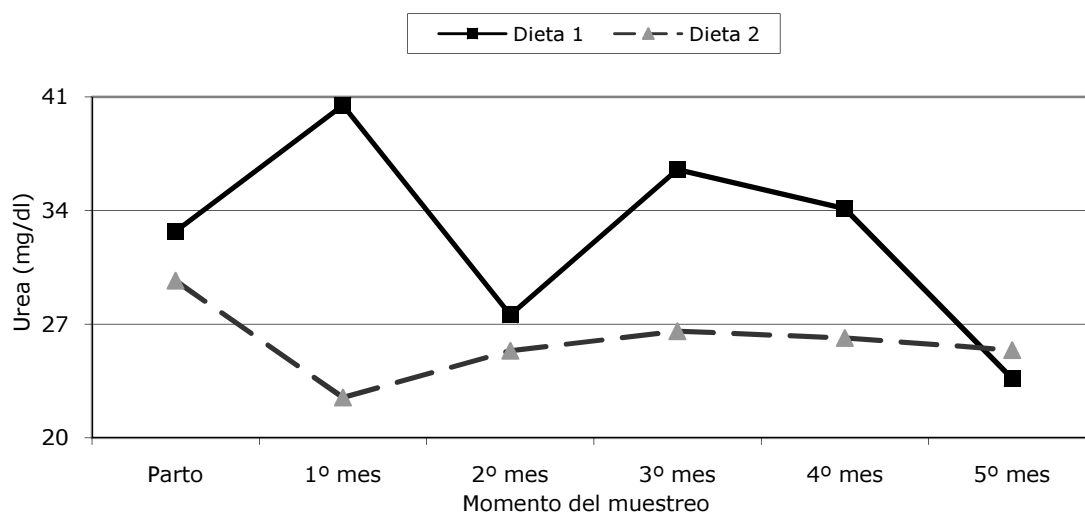
Gráfica 41.- Evolución de la concentración sérica de Urea, del total de los animales, a lo largo del estudio (ver tabla 10).

Tras realizar el análisis estadístico, no encontramos ninguna influencia significativa del grupo de ordeño sobre los valores séricos de la Urea (Gráfica 42).



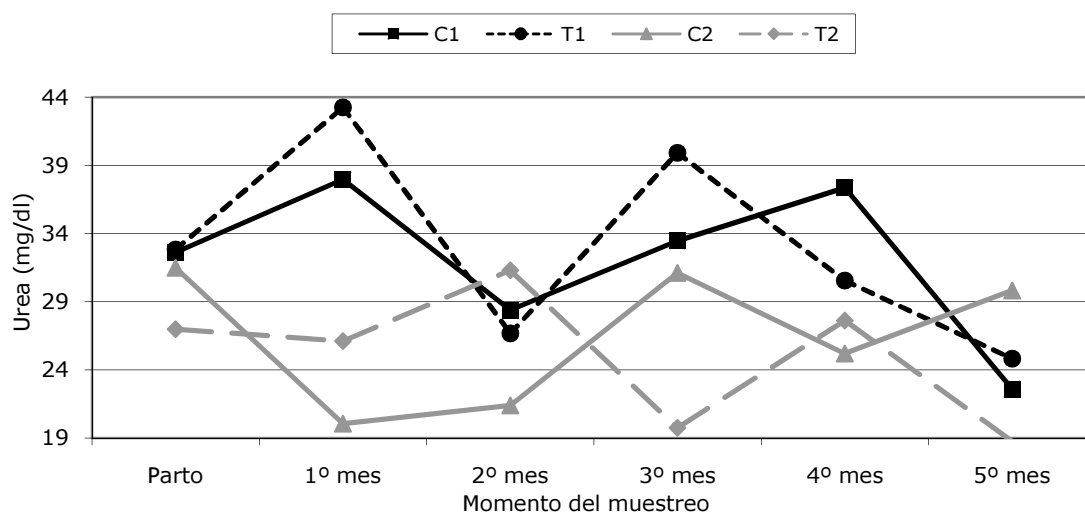
Gráfica 42.- Evolución de la concentración sérica de urea en función del grupo de ordeño (ver tabla 10).

Sin embargo, cuando fue introducido el efecto de la dieta sobre la evolución de la concentración sérica de la Urea, comprobamos que los animales mantenidos con la dieta 1 presentaban mayores valores de Urea, a lo largo del período de estudio (Gráfica 43).



Gráfica 43.- Evolución de la concentración sérica de urea en función de la dieta empleada (ver tabla 10).

Finalmente, tras estudiar la posibilidad de una influencia de la interacción grupo de ordeño-dieta sobre la evolución de los niveles séricos de la Urea, no se pudo determinar ningún efecto (Gráfica 44).

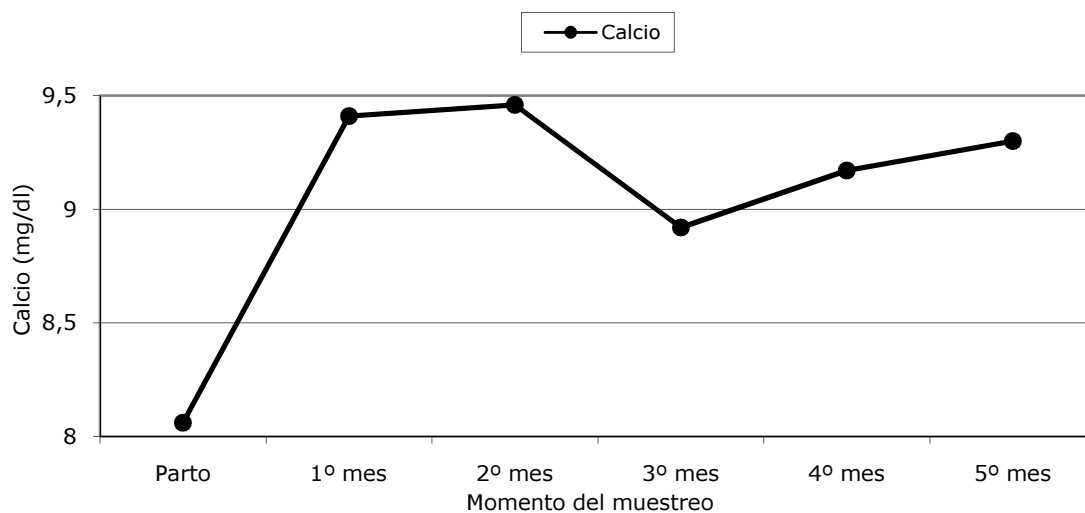


Gráfica 44.- Evolución de la concentración sérica de urea en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 10).

3.- Metabolismo Mineral

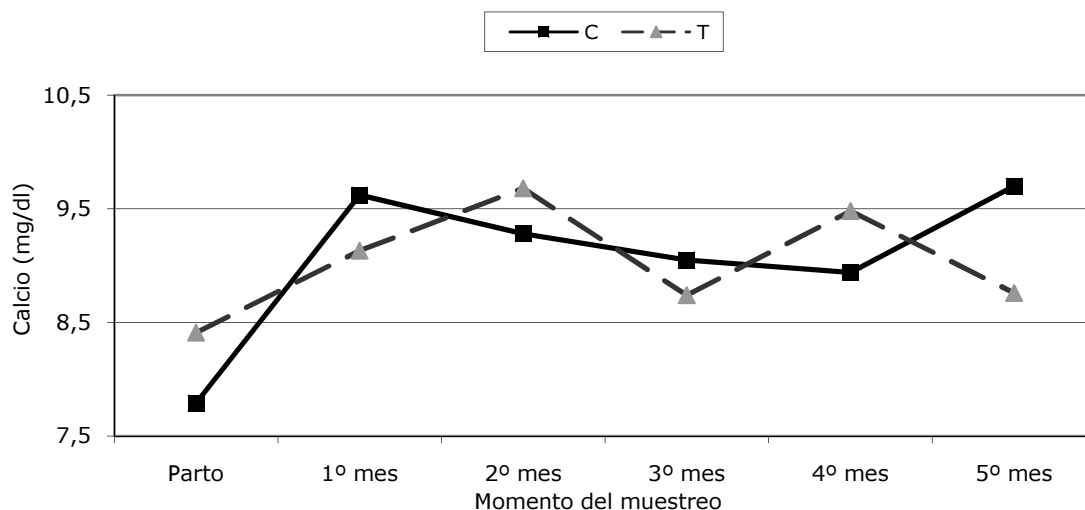
3.1.- Calcio.

Estudiando la evolución de este mineral a lo largo del período de periparto de la vaca comprobamos que, inicialmente se produce un aumento en la concentración sérica del Calcio hasta el 2º mes del puerperio, con ligero descenso en el 3º mes, para recuperarse nuevamente durante los últimos meses del estudio (Gráfica 45).



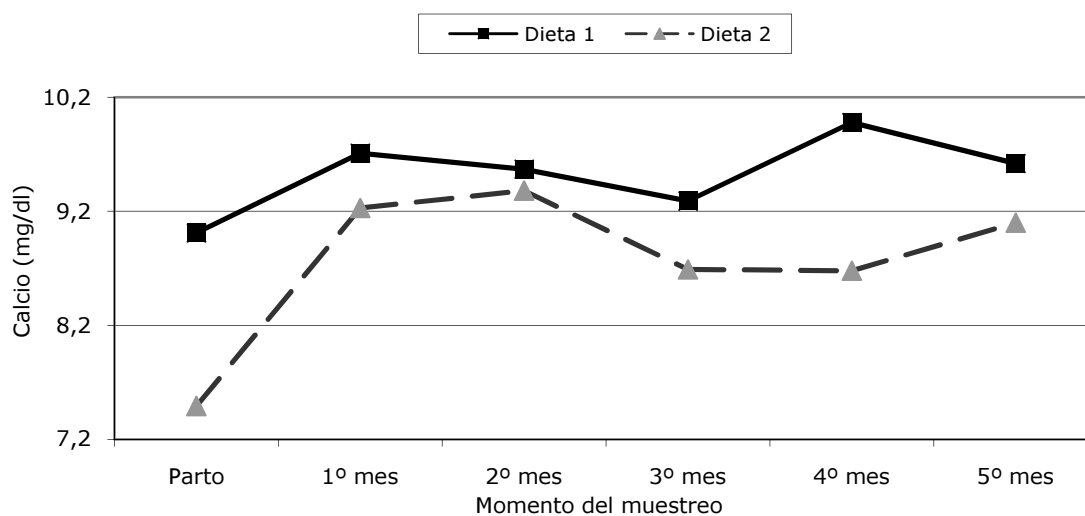
Gráfica 45.- Evolución de la concentración sérica de Calcio a lo largo del estudio (ver tabla 13).

Por otra parte, el análisis estadístico no evidenció ningún efecto significativo del grupo de ordeño sobre la evolución de la concentración sérica de este mineral a lo largo del estudio (Gráfica 46).



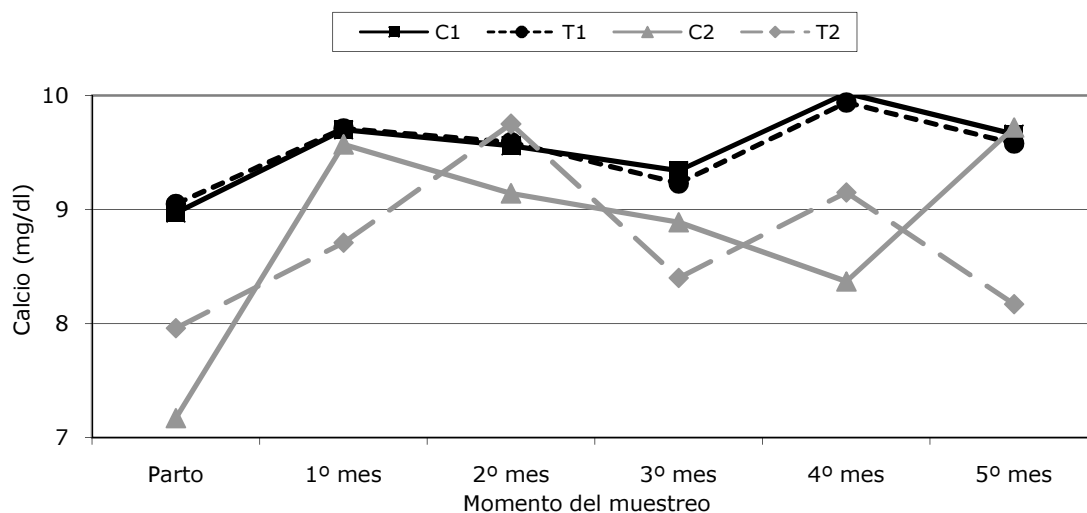
Gráfica 46.- Evolución de la concentración sérica de calcio en función del grupo de ordeño (ver tabla 13).

Al evaluar la influencia de la dieta, comprobamos que ésta ejercía un efecto significativo sobre la evolución de este parámetro. Así, los animales que se alimentaban con la dieta 2 tenían niveles séricos de calcio más bajos, a lo largo de todo el estudio, que los alimentados con la dieta 1 (Gráfica 47).



Gráfica 47.- Evolución de la concentración sérica de calcio en función de la dieta empleada (ver tabla 13).

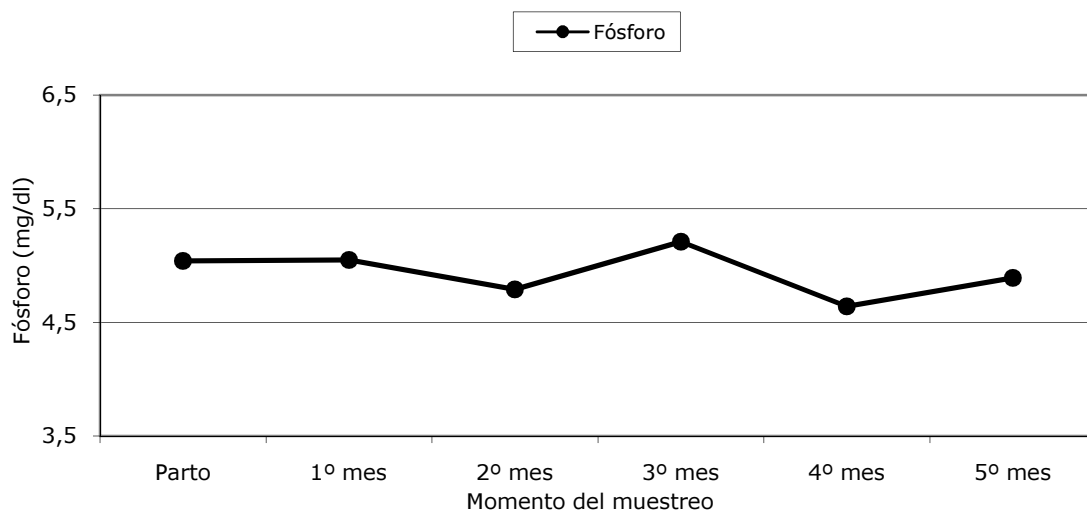
Finalmente, no apreciamos que exista ninguna influencia significativa de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre la evolución de los valores séricos de Ca, a lo largo del período de estudio (Gráfica 48).



Gráfica 48.- Evolución de la concentración sérica de calcio en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 13).

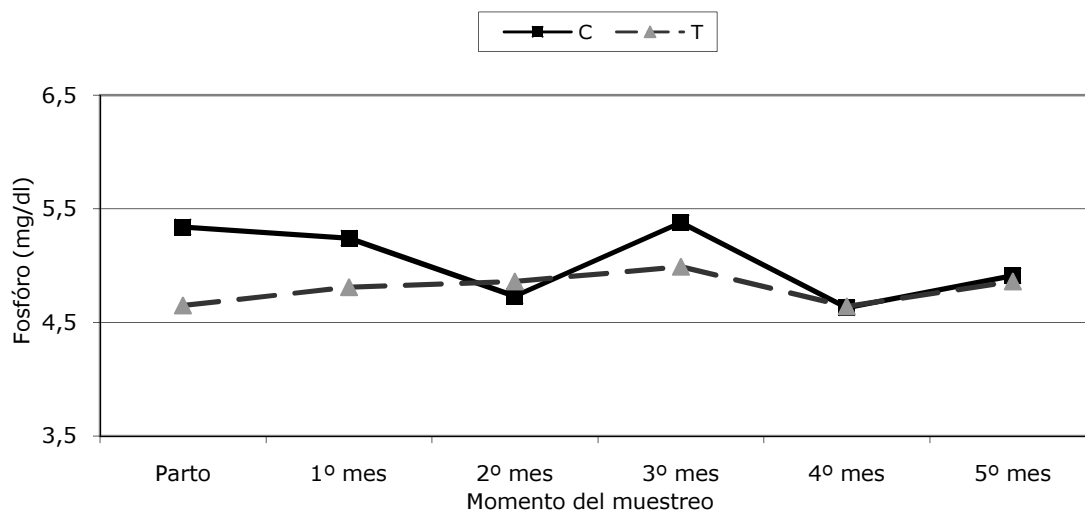
3.2.- Fósforo

Al estudiar la evolución de la concentración sérica del fósforo en el periparto, observamos que este mineral se mantiene prácticamente constante en los primeros 5 meses del puerperio, mostrando sólo pequeñas oscilaciones (Gráfica 49).



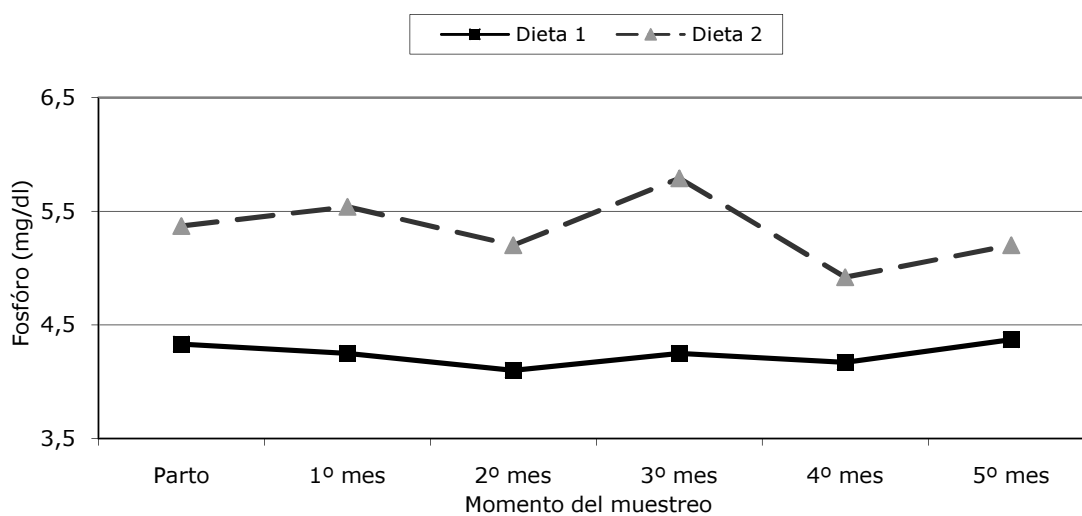
Gráfica 49.- Evolución de la concentración sérica de Fósforo a lo largo del estudio (ver tabla 14).

Al considerar la posible influencia del grupo de ordeño (2 ordeños vs 4 ordeños) sobre la evolución de la concentración sérica de este mineral, a lo largo del estudio, no hemos apreciado ningún tipo de influencia significativa (Gráfica 50).



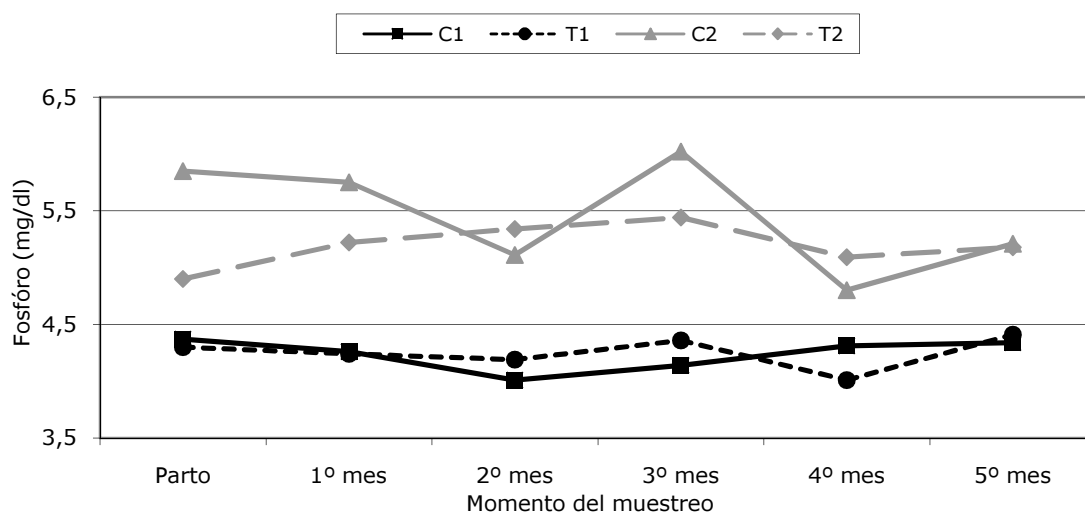
Gráfica 50.- Evolución de la concentración sérica de fósforo en función del grupo de ordeño (ver tabla 14)

Sin embargo, al estudiar el posible efecto de la dieta sobre la evolución de este parámetro, comprobamos que los animales alimentados con la dieta 1 tenían niveles de fósforo significativamente más bajos que los alimentados con la dieta 2 (Gráfica 51).



Gráfica 51.- Evolución de la concentración sérica de fósforo en función de la dieta empleada (ver tabla 14).

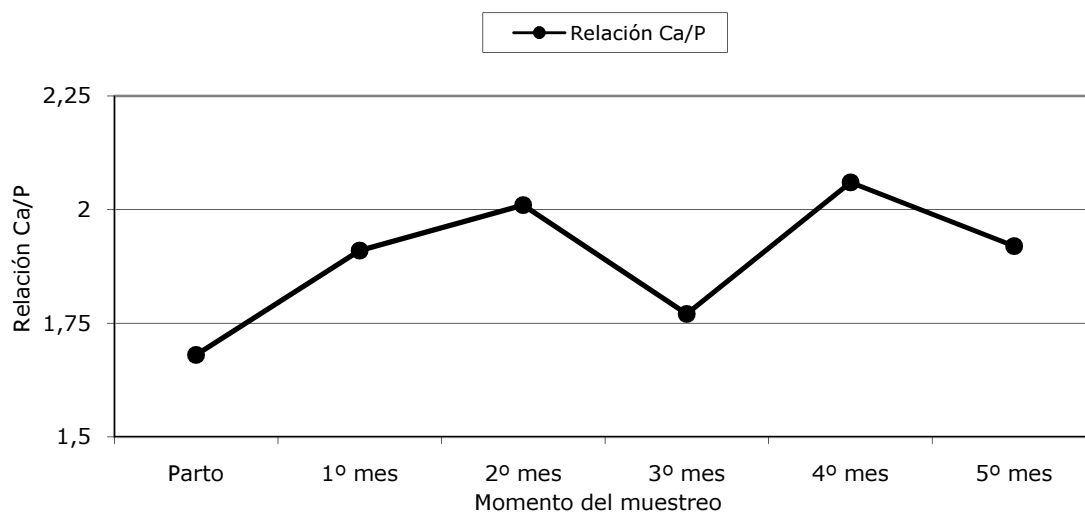
En nuestro estudio no encontramos ninguna influencia significativa de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre la evolución de los niveles séricos de fósforo a lo largo del período de estudio (Gráfica 52).



Gráfica 52.- Evolución de la concentración sérica de fósforo en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 14).

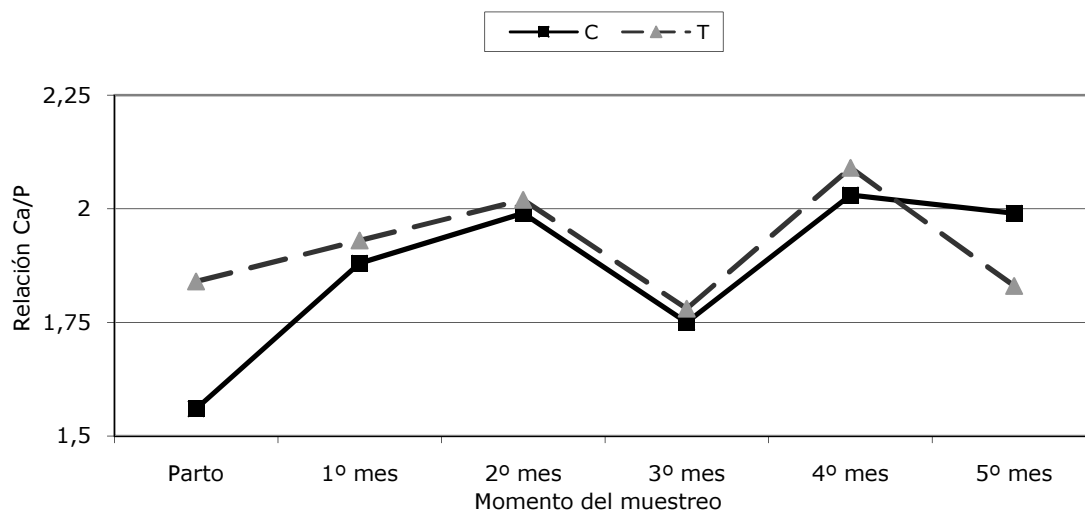
3.3.- Relación Calcio/Fósforo.

En este trabajo también hemos considerado la evolución de la relación Ca/P en el periparto. Tal y como se refleja en la Gráfica 53, el cociente se incrementa de una forma progresiva desde el momento del parto hasta el 2º mes de puerperio. Sufre una ligera caída en el tercer mes, para ascender nuevamente el 3 y 4º mes. Finalmente, se produce una bajada en el último mes del estudio.



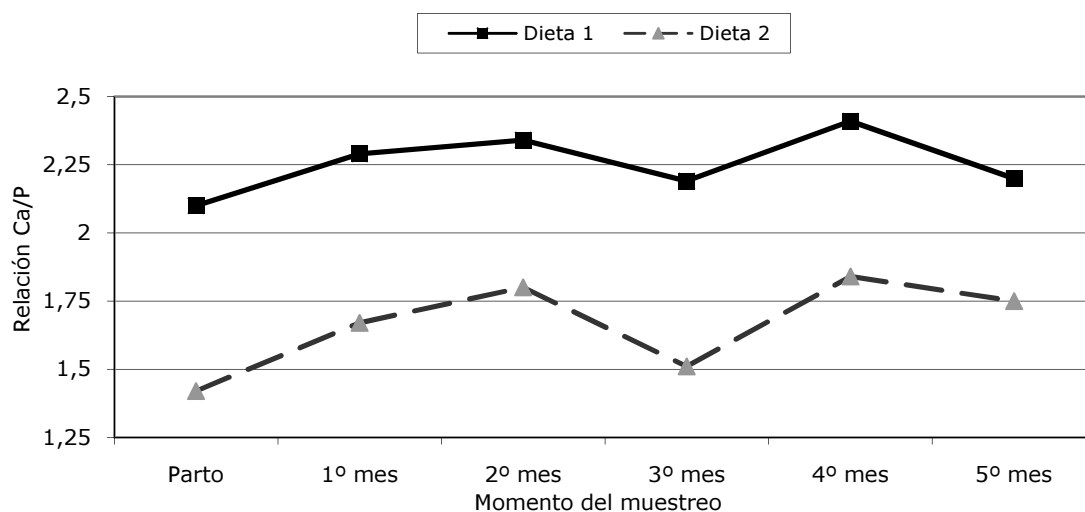
Gráfica 53.- Evolución de la relación Calcio/Fósforo a lo largo del estudio (ver tabla 15).

Tras realizar el análisis estadístico, no hemos podido encontrar ningún efecto significativo del número de ordeños sobre la evolución del cociente Ca/P (Gráfica 54).



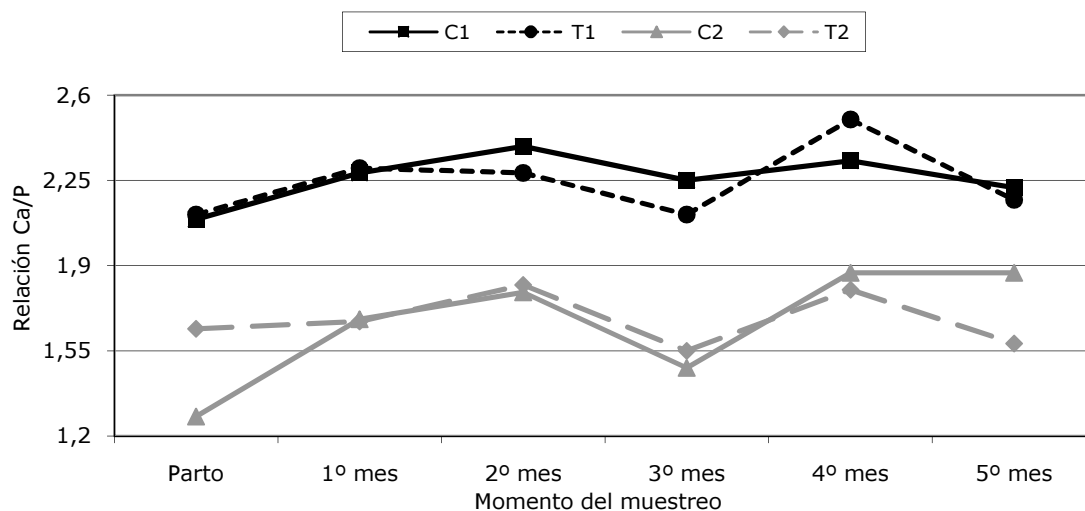
Gráfica 54.- Evolución de la relación calcio/fósforo en función del grupo de ordeño (ver tabla 15).

Sin embargo, pudimos poner en evidencia la existencia de un efecto significativo del tipo de dieta administrada a los animales, sobre la evolución de la relación Ca/P a lo largo del periparto. De tal forma que, el cociente Ca/P era significativamente más bajo en los animales a los que se les suministraba la dieta 2 (Gráfica 55).



Gráfica 55.- Evolución de la relación calcio/fósforo en función de la dieta empleada (ver tabla 15).

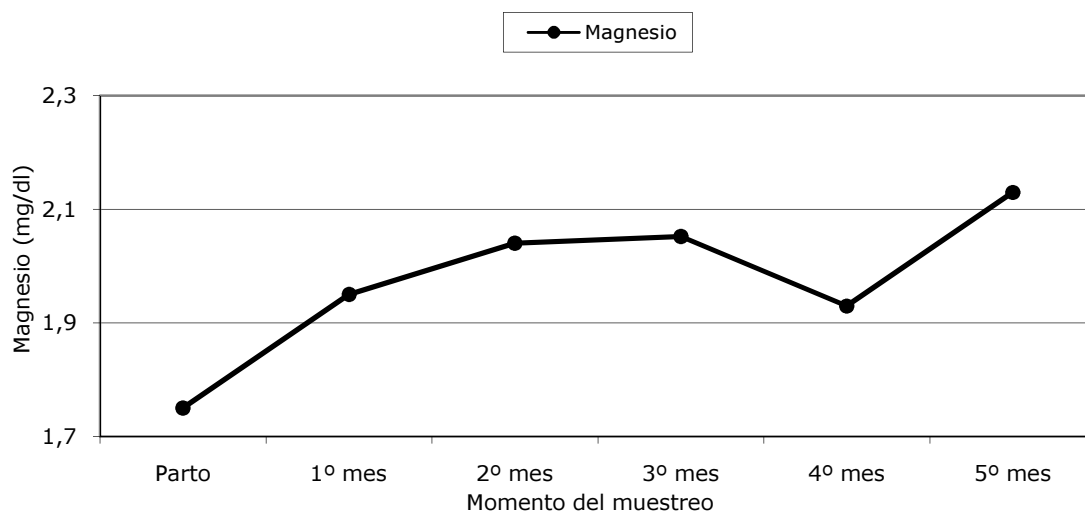
Finalmente, no se apreció ninguna influencia de la interacción grupo de ordeño-dieta sobre la evolución del cociente Ca/P a lo largo del estudio (Gráfica 56).



Gráfica 56.- Evolución de la relación calcio/fósforo en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 15).

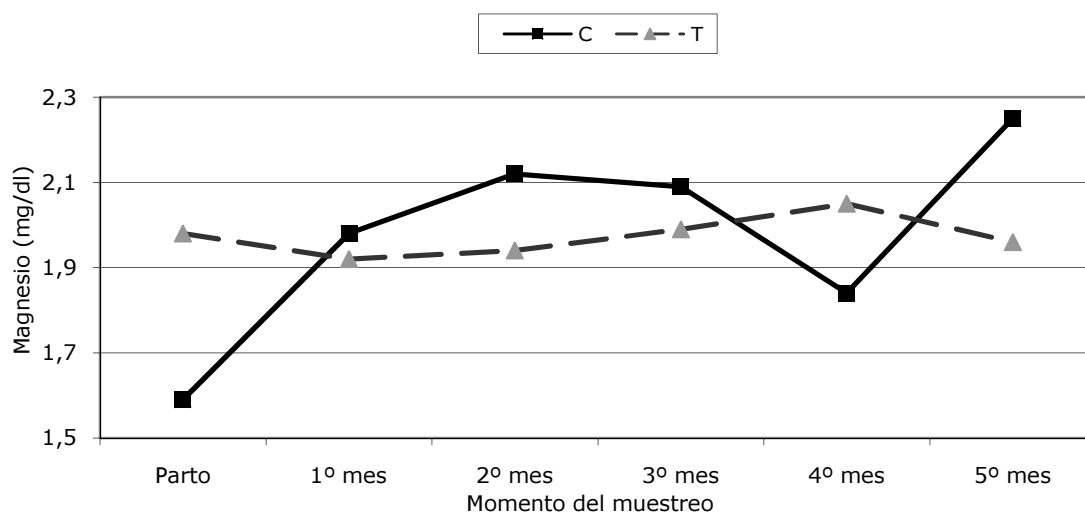
3.4.- Magnesio.

Al estudiar la evolución del Magnesio a lo largo del Periparto, se observa que la concentración sérica de este elemento experimenta un incremento progresivo desde el parto hasta el final del estudio (Gráfica 57).



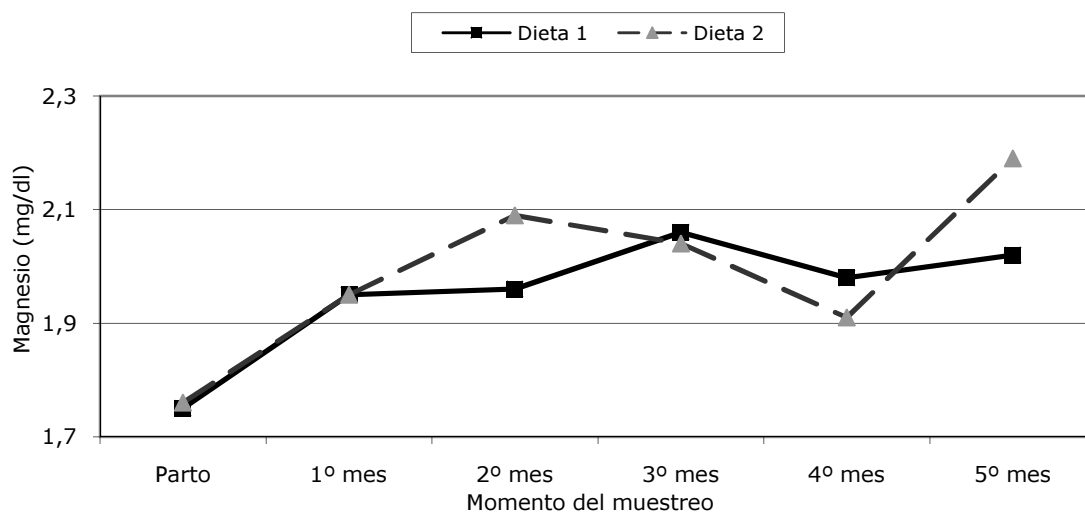
Gráfica 57.- Evolución de concentración sérica de magnesio a lo largo del estudio (ver tabla 16).

No hemos podido encontrar ninguna influencia del número de ordeños realizados sobre la evolución de este mineral a lo largo del período de estudio (Gráfica 58).



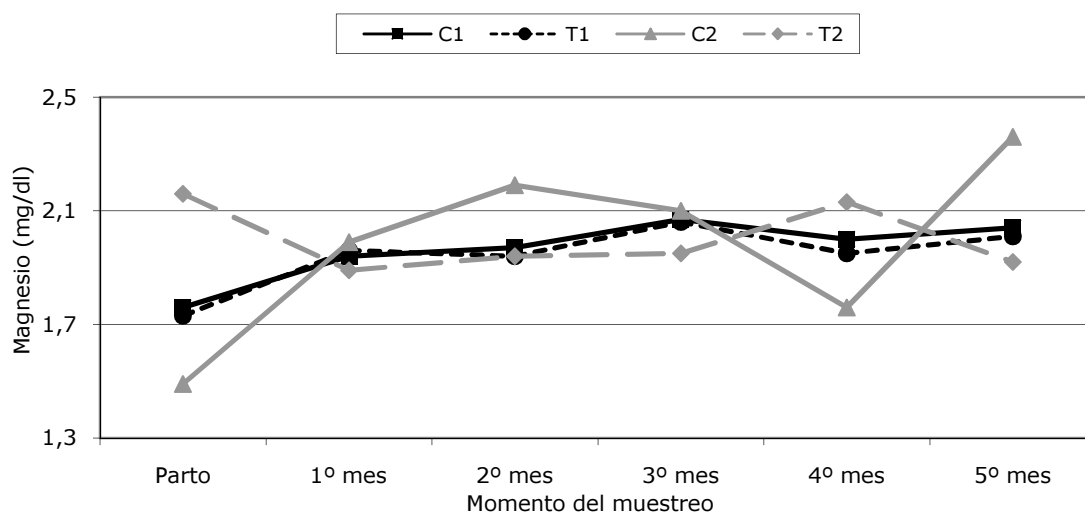
Gráfica 58.- Evolución de la concentración sérica de magnesio en función del grupo de ordeño (ver tabla 16).

El tipo de dieta administrado a los animales, tampoco tuvo una influencia significativa sobre la evolución de este parámetro, a lo largo del período de muestreo (Gráfica 59).



Gráfica 59.- Evolución de la concentración sérica de magnesio en función de la dieta empleada (ver tabla 16).

Finalmente, la interacción grupo de ordeño-dieta, tampoco mostró ningún tipo de influencia sobre la evolución de la concentración sérica del Magnesio, a lo largo del período analizado (Gráfica 60).

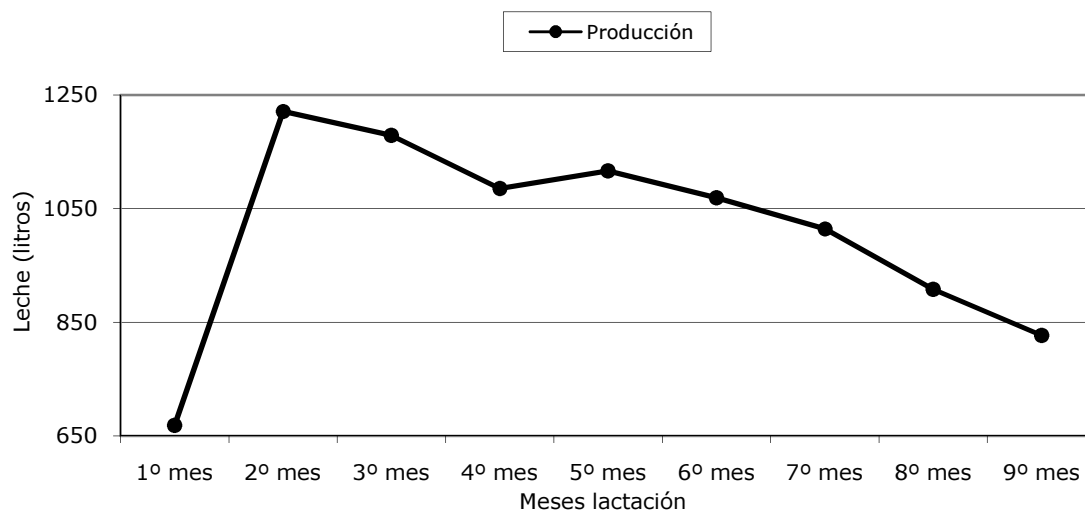


Gráfica 60.- Evolución de la concentración sérica de magnesio en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 16).

III.-PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

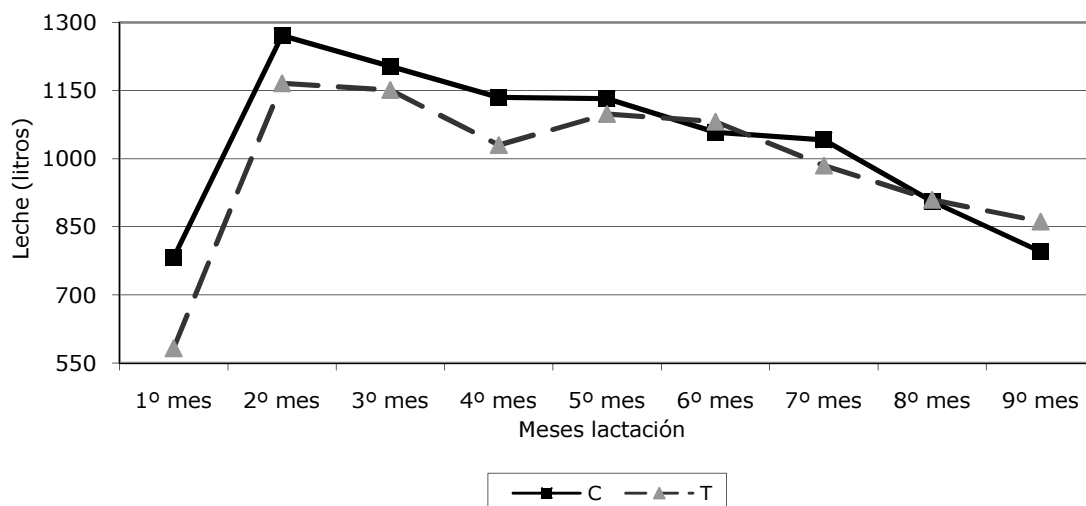
1.- Producción mensual de Leche (9 meses).

Al evaluar la producción total de leche de los animales estudiados confeccionamos la curva de lactación típica. Así, se produce un aumento progresivo hasta alcanzar su máximo entorno al 2º mes de lactación. Posteriormente, se inicia un lento descenso (con una fase de meseta entre el 3º y 6º mes), que se hará mucho más marcado en el último tercio de la lactación (Gráfica 61).



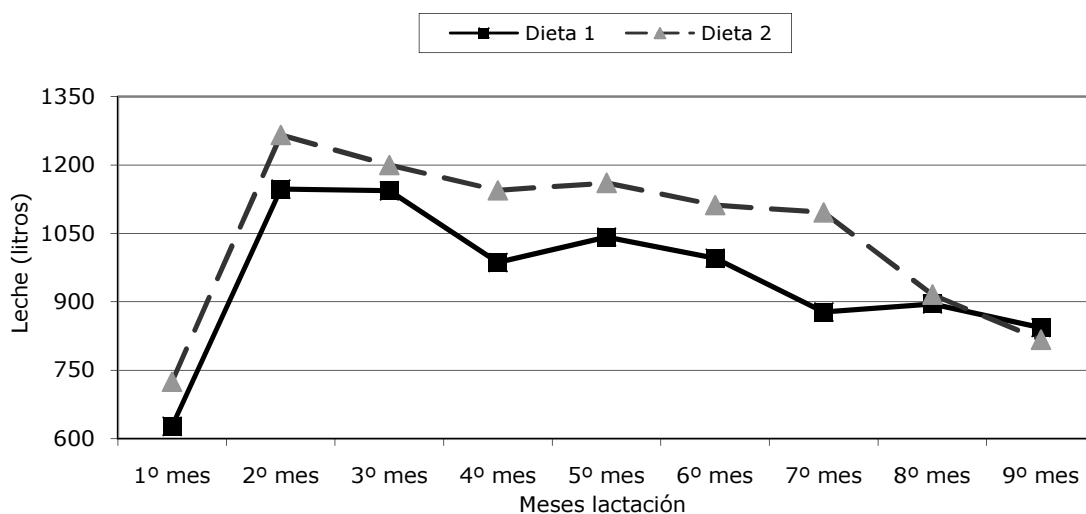
Gráfica 61.- Evolución de la producción mensual de leche a lo largo del estudio (ver tabla 19).

Curiosamente, al analizar la influencia del número de ordeños sobre la producción total de los animales, comprobamos, sorprendidos, que los animales que sólo se ordeñaban en dos ocasiones producían más leche. Además este efecto era más marcado en la primera mitad de la lactación, mientras que se corregía, en parte, en cola de lactación (Gráfica 62).



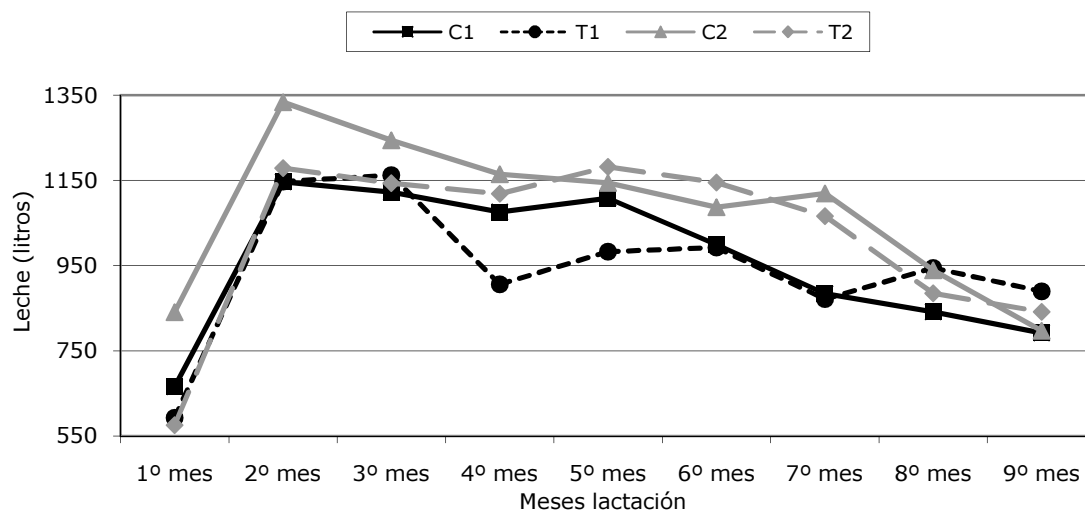
Gráfica 62.- Evolución de la producción mensual de leche en función del grupo de ordeño (ver tabla 19).

También encontramos una influencia significativa en función de la alimentación que se les suministraba a los animales (Gráfica 63). De forma que los animales alimentados con la dieta 2 tenían mayor producción a lo largo de toda la curva de lactación.



Gráfica 63.- Evolución de la producción mensual de leche en función de la dieta empleada (ver tabla 19).

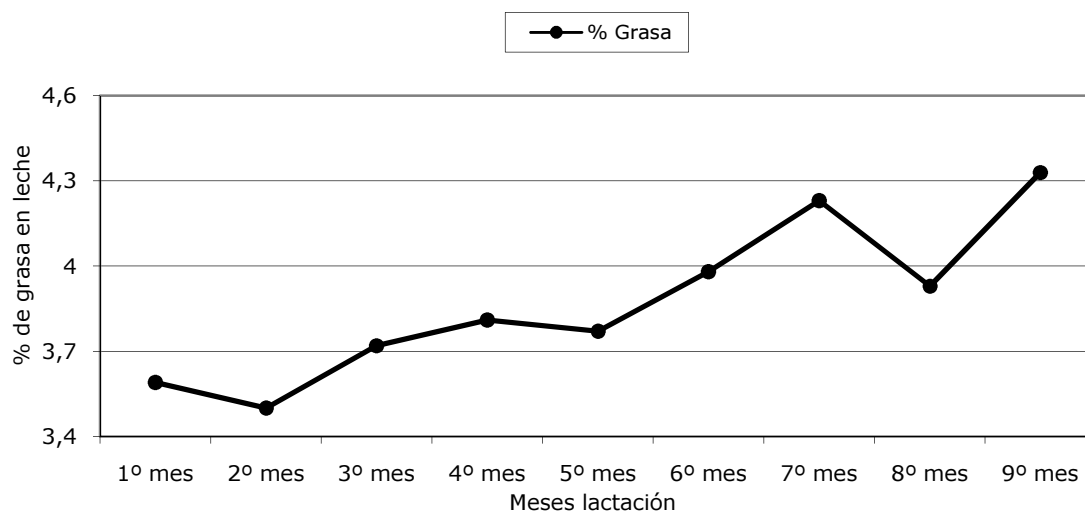
Sin embargo, no hemos encontrado ninguna influencia de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre la evolución de la producción total de los animales del estudio (Gráfica 64).



Gráfica 64.- Evolución de la producción mensual de leche en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 19)

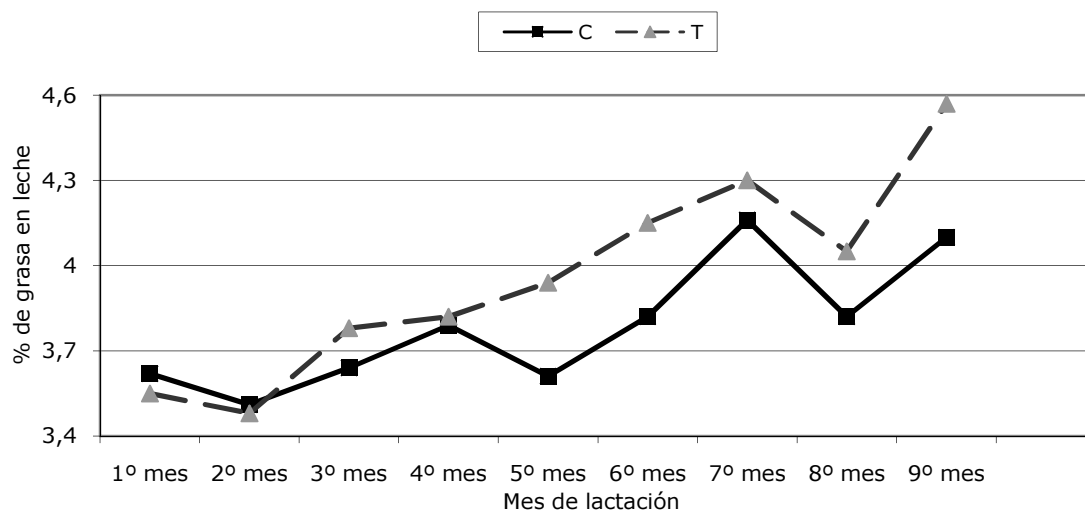
2.- Porcentaje de Grasa existente en la leche.

La evolución del porcentaje de grasa existente en la leche, mostró un incremento paulatino y continuado a lo largo de la lactación, de tal forma que el porcentaje era más elevado en la cola que en el pico de lactación (Gráfica 65).



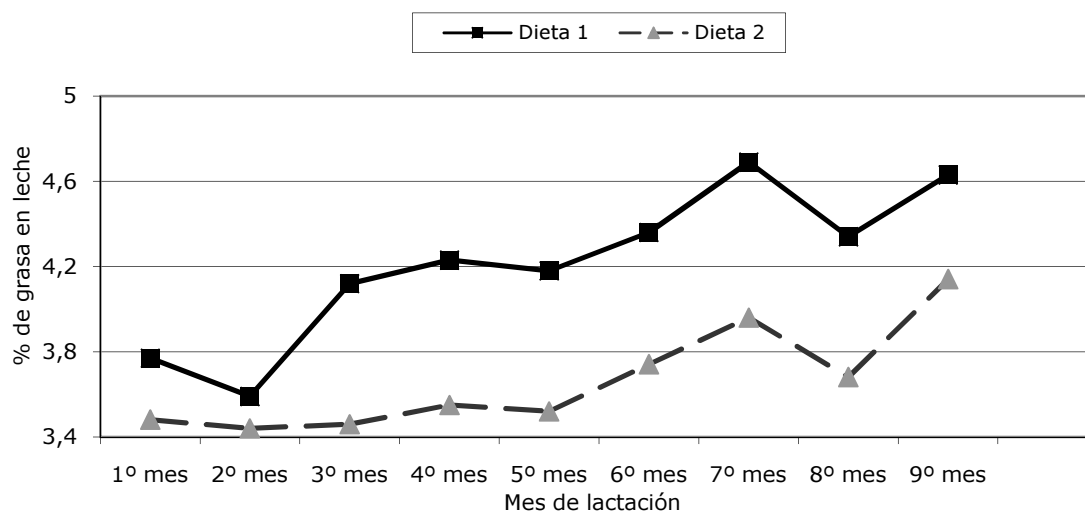
Gráfica 65.- Evolución del porcentaje mensual de grasa en leche a lo largo de la lactación (ver tabla 20).

En este estudio, no apreciamos ningún tipo de influencia del número de ordeños, al que sometíamos a las vacas, sobre el porcentaje de grasa que presentaba la leche (Gráfica 66).



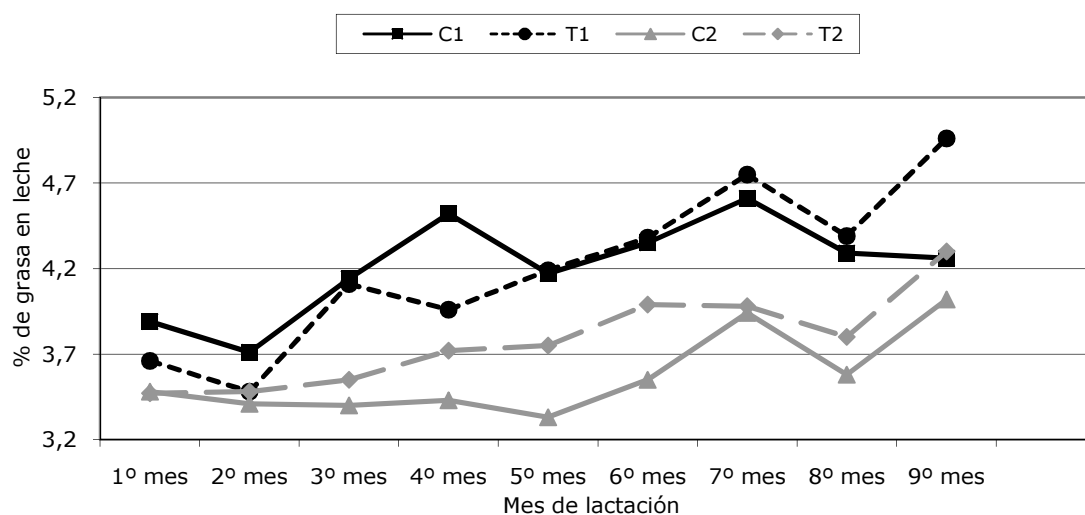
Gráfica 66.- Evolución del porcentaje de grasa en leche en función del grupo de ordeño (ver tabla 20).

En cambio, el tipo de alimentación que recibían los animales (dieta 1 vs dieta 2), mostró una influencia marcada sobre el porcentaje de grasa que contenía la leche. Al contrario que en el caso de la producción total de leche, aquellos animales que se habían alimentado con la dieta 1 tenían leche con mayor porcentaje de grasa (Gráfica 67).



Gráfica 67.- Evolución del porcentaje de grasa en leche en función de la dieta empleada (ver tabla 20).

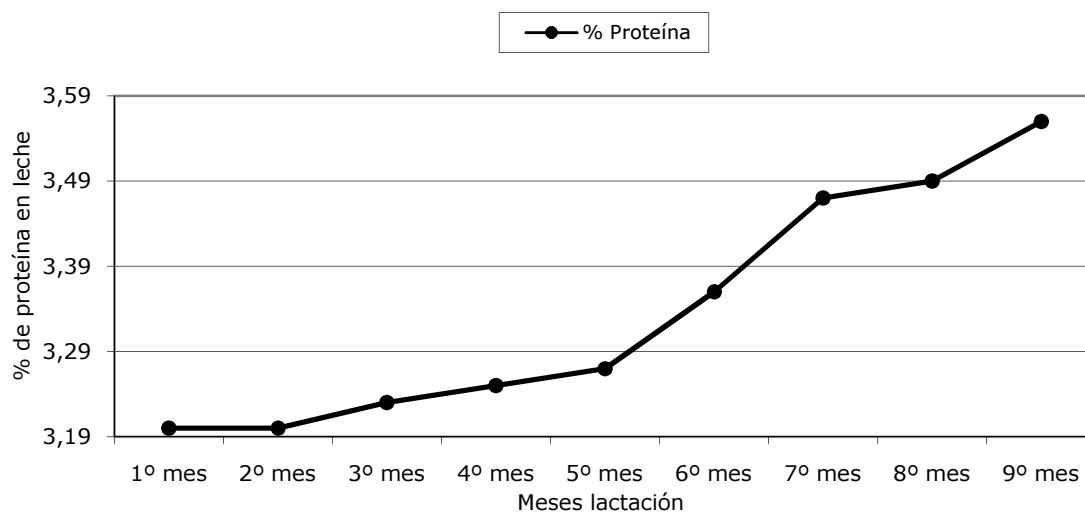
Finalmente, no se demostraron influencias de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre el porcentaje de grasa presente en la leche a lo largo de la curva de lactación (Gráfica 68).



Gráfica 68.- Evolución del porcentaje de grasa en leche en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 20).

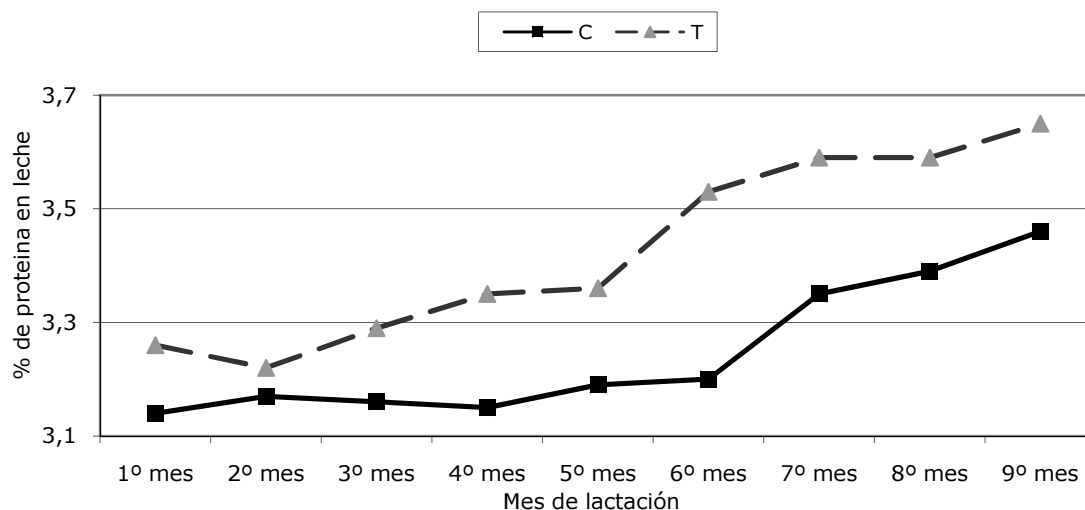
3.- Porcentaje de Proteína existente en la leche.

La evolución del Porcentaje de Proteína presente en la leche experimentó una evolución similar al porcentaje de grasa. Así, encontramos que los valores del porcentaje de proteína aumentaban según avanzaba la lactación (Gráfica 69).



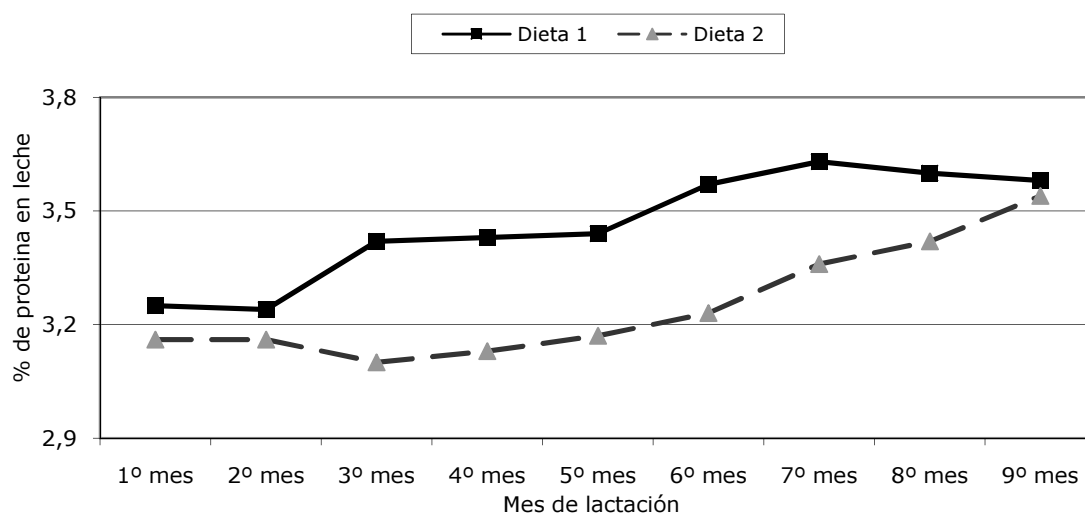
Gráfica 69.- Evolución del porcentaje mensual de proteína en leche a lo largo de la lactación (ver tabla 21).

El análisis estadístico evidenció que el número de ordeños a los que eran sometidos los animales, influía de forma significativa sobre el porcentaje de proteína presente en la leche a lo largo de la lactación (Gráfica 70). Comprobando que el porcentaje de proteína era mayor en los animales que se ordeñaban 4 veces al día.



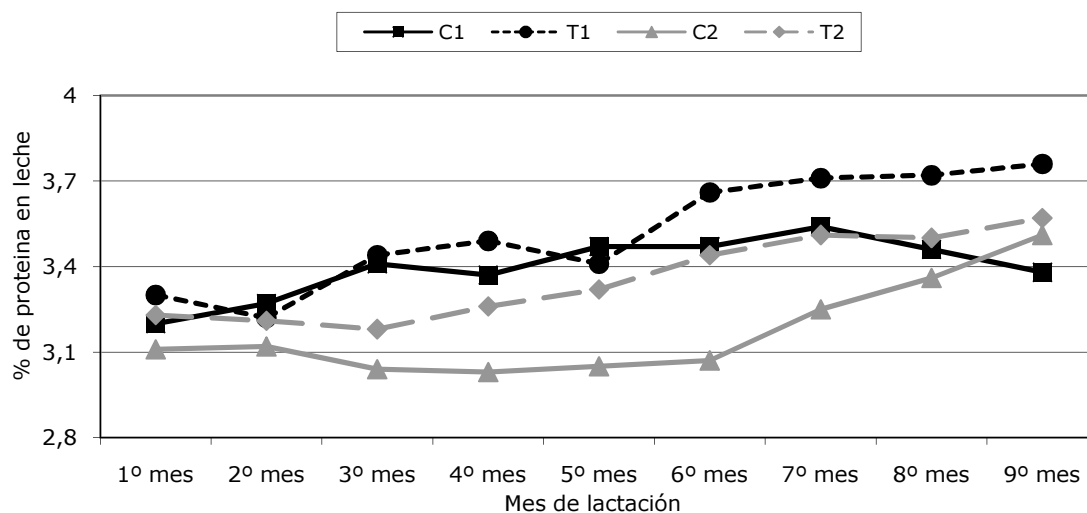
Gráfica 70.- Evolución del porcentaje de proteína en leche en función del grupo de ordeños (ver tabla 21).

Por otra parte, el sistema de alimentación que se les proporcionaba a los animales, también ejerció un efecto significativo sobre el porcentaje de proteína presente en la leche a lo largo de la lactación (Gráfica 71). De tal forma que, los animales alimentados con la dieta 2 producían leche con un menor contenido en proteína.



Gráfica 71.- Evolución del porcentaje de proteína en leche en función de la dieta empleada (ver tabla 21).

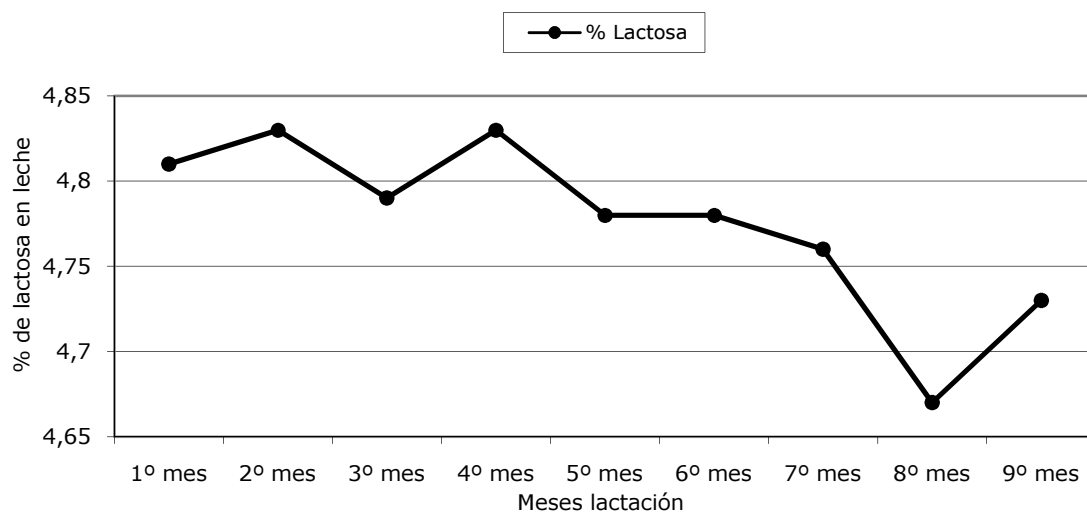
En cuanto a la interacción grupo de ordeño-dieta, no hemos podido demostrar la existencia de ningún tipo de efecto significativo, sobre el porcentaje de proteína presente en la leche a lo largo de la lactación (Gráfica 72).



Gráfica 72.- Evolución del porcentaje de proteína en leche en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 21).

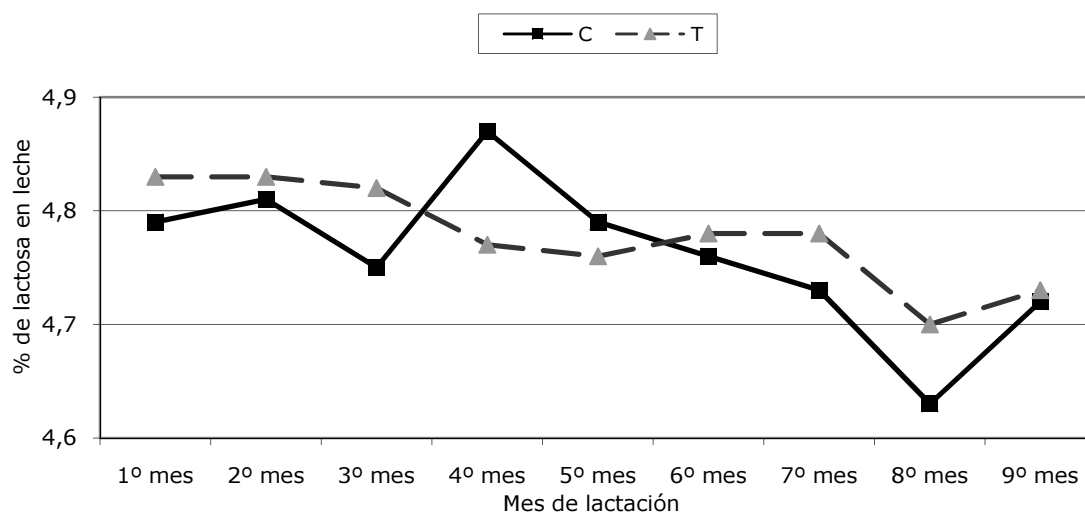
4.- Porcentaje de Lactosa existente en la leche.

Al estudiar la evolución de la lactosa presente en la leche a lo largo de la lactación, comprobamos que ésta muestra un leve descenso, lento pero progresivo a lo largo de toda la lactación (Gráfica 73).



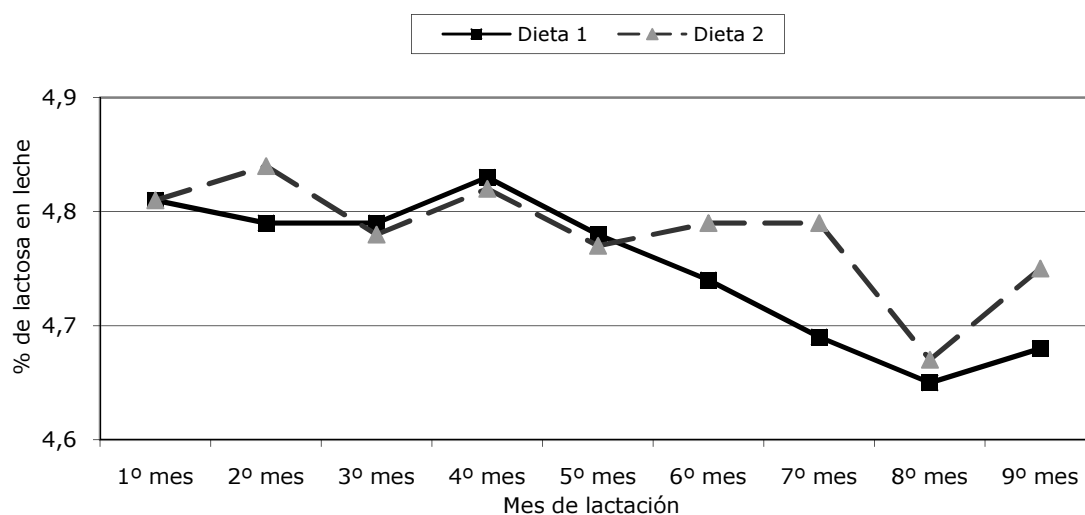
Gráfica 73.- Evolución del porcentaje mensual de lactosa, del total de animales, a lo largo de la lactación (ver tabla 22).

Tras realizar el análisis estadístico, no se demostró ninguna influencia del número de ordeños sobre la evolución de este parámetro a lo largo de la lactación (Gráfica 74).



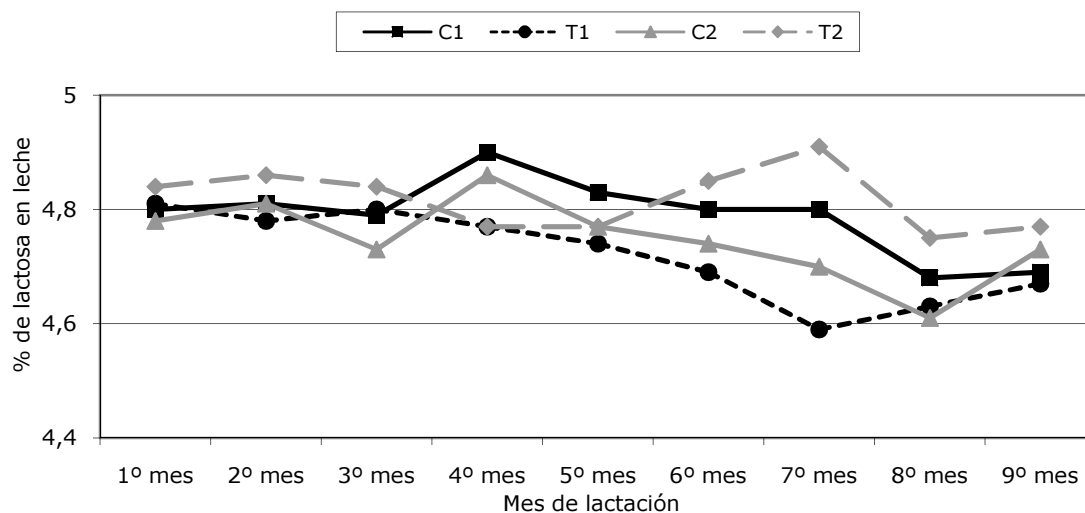
Gráfica 74.- Evolución del porcentaje de lactosa en leche en función del grupo de ordeño (ver tabla 22).

Tampoco se evidenció ninguna influencia del tipo de dieta administrada a los animales sobre la evolución del porcentaje de lactosa a lo largo de la lactación (Gráfica 75)



Gráfica 75.- Evolución del porcentaje de lactosa en leche en función de la dieta empleada (ver tabla 22)

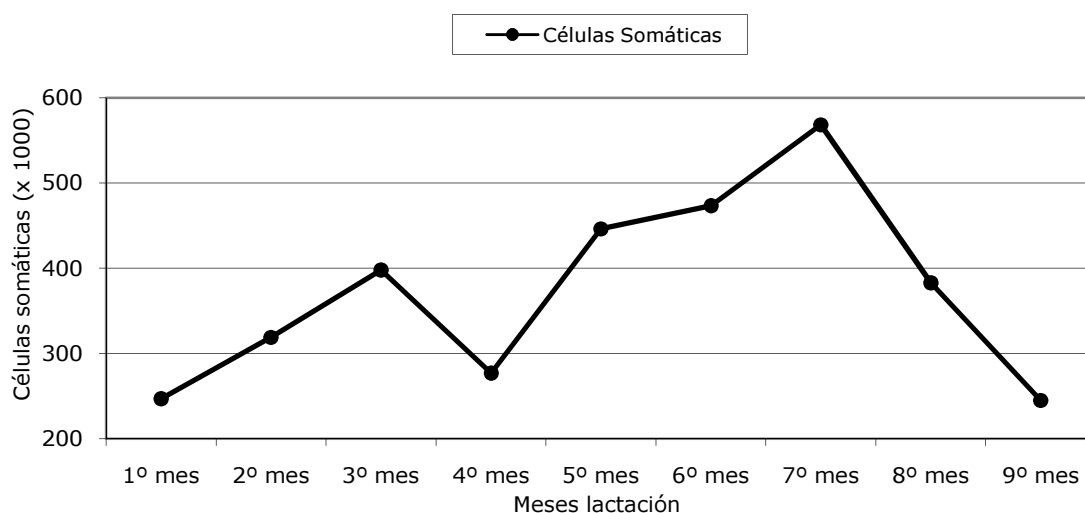
Sin embargo, el análisis estadístico demostró la existencia de un efecto significativo de la interacción grupo de ordeño-dieta sobre la evolución del porcentaje de lactosa a lo largo de la lactación (Gráfica 76). De forma que, los animales que eran alimentados con la dieta 1 presentaban mayor porcentaje de lactosa en la leche si se ordeñaban 2 veces que cuando se ordeñaban 4.



Gráfica 76.- Evolución del porcentaje de lactosa en leche en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 22).

5.- Recuento de Células Somáticas en la leche.

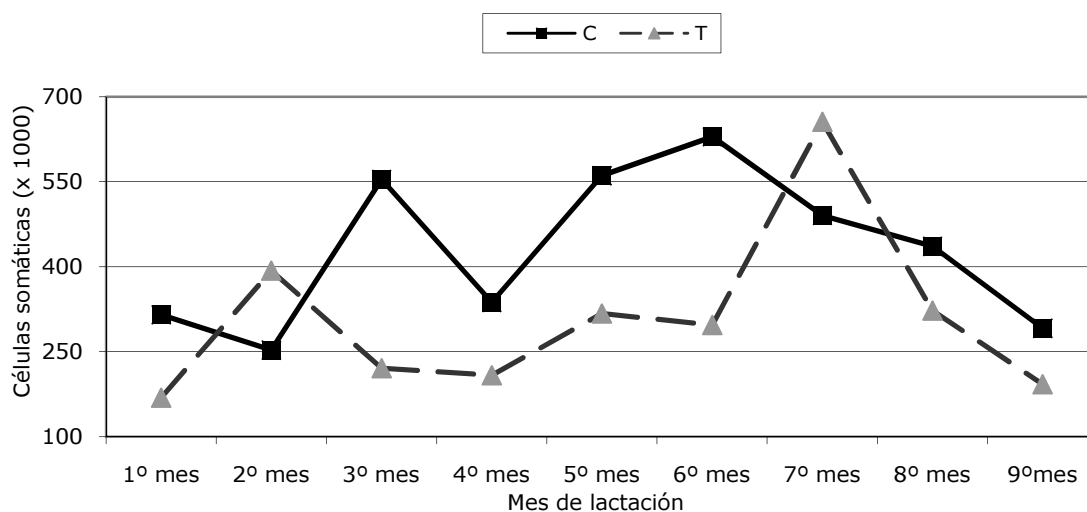
Otro de los parámetros analizados en nuestro estudio dentro de los caracteres de producción y de calidad de la leche, ha sido el recuento del número de células somáticas presentes en la leche. Al estudiar la evolución de este parámetro a lo largo de la lactación comprobamos que éste experimentaba un ligero y progresivo aumento hasta el 7º mes de lactación (salvo un descenso puntual observado en el 4º mes). A partir de ese momento el valor del recuento de células somáticas disminuía hasta situarse en cifras similares a las del inicio de la lactación (Gráfica 77).



Gráfica 77.- Evolución del recuento mensual de células somáticas a lo largo de la lactación (ver tabla 23).

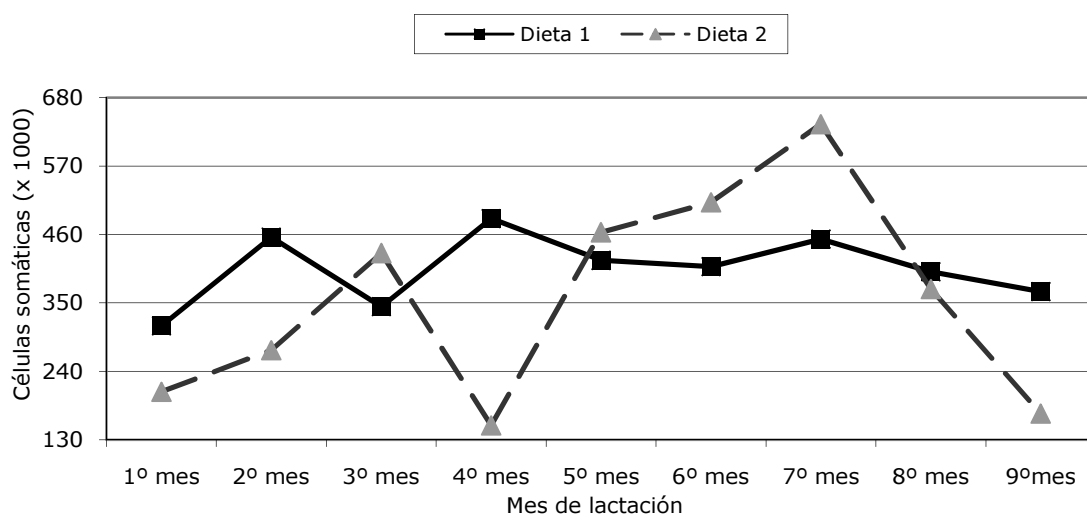
Tratando de evaluar la posible influencia del número de ordeños sobre la evolución de este parámetro, comprobamos que el número de células somáticas

presentes en la leche son independientes del número de ordeños que se les practica a las vacas (Gráfica 78).



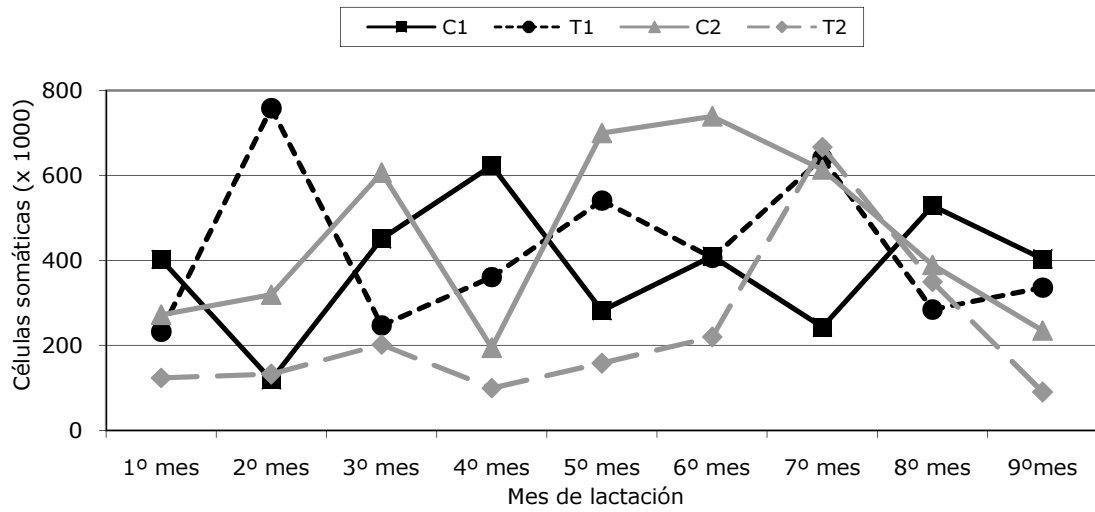
Gráfica 78.- Evolución de los recuentos de células somáticas en función del grupo de ordeño (ver tabla 23).

El tipo de alimentación suministrada a los animales (dieta 1 vs dieta 2) tampoco afectó al número de células somáticas que aparecían en la leche a lo largo de la lactación (Gráfica 79).



Gráfica 79.- Evolución de los recuentos de células somáticas en función de la dieta empleada (ver tabla 23).

Finalmente, tampoco hemos observado ningún tipo de influencia significativa de la interacción grupo de ordeño-dieta, sobre la evolución del número de células somáticas a lo largo de la lactación (Gráfica 80).



Gráfica 80.- Evolución de los recuentos de células somáticas en función de la dieta y del grupo de ordeño (ver tabla 23).

Discusión

Antes de proceder a la discusión detallada de los resultados de nuestro estudio, consideramos necesario realizar una pequeña explicación de cómo ciertas circunstancias del manejo de la explotación, no contempladas en el diseño experimental de los experimentos, condicionaron la alimentación de los animales y, por lo tanto, su situación metabólica.

Al incrementar la frecuencia de ordeño (en la primera de las lactaciones), se pusieron de manifiesto una serie de deficiencias estructurales, tanto en las instalaciones como en el manejo de la granja. Así, las modificaciones introducidas en la frecuencia de ordeño provocaron un notable aumento del tiempo que los animales pasaban en ordeño y en la espera. Esto provocó una reducción de las horas dedicadas a la alimentación y al descanso, incrementando el estrés de los animales y empeorando su estado de bienestar. Este hecho ya había sido puesto de manifiesto por varios autores quienes concluían que el control del manejo y la alimentación eran indispensables a la hora de incrementar la frecuencia de ordeño (Knight, 1994; Armstrong y Daugherty, 1997; Stelwagen, 2001; VanBaale y col., 2005).

Durante la primera lactación se administró a los animales una ración (dieta1) con una elevada concentración de nutrientes, con la intención de cubrir una mayor producción de leche mediante la ingesta voluntaria en pesebre de la ración unifeed. Como consecuencia de la situación descrita en el párrafo anterior, las vacas comenzaron a competir por la comida en pesebre. Los animales dominantes empezaron a comer de un modo selectivo, desequilibrando la ración ingerida (de una manera similar a la descrita por Bach y col., 2003 y Kononoff y col., 2003). De este modo, la ración que quedaba a disposición de los animales menos competitivos era más rica en forraje, pero a su vez, dentro de este grupo, se competía nuevamente por el alimento. Todos estos desequilibrios nutricionales se manifestaron con un elevado número de desplazamientos de abomaso y en un incremento del BEN.

Una vez detectado el problema, y dado que estábamos trabajando con una granja comercial, decidimos replantearnos la estrategia nutricional de cara a la segunda lactación (dieta2). Para solucionar el problema derivado de la dominancia decidimos cubrir una menor producción de leche con la ración unifeed (que sería más rica en forraje) y le prestaríamos especial atención al picado y al tamaño de la partícula para minimizar los fenómenos de selección (Bach y Calsamiglia, 2006) y aumentamos el aporte de pienso de una forma controlada y ajustada a cada animal. De este modo, conseguiríamos un mayor aporte de energía que en teoría ayudaría a reducir la severidad del BEN, mejoraría la salud de los animales y podría

permitir un incremento en la producción de leche. Esto provocó que a pesar de que, desde un punto de vista teórico, la dieta 2 no era nutricionalmente mejor que la dieta 1, en la práctica sí lo era.

I.- Metabolismo

1.- Metabolismo Energético.

A la vista de los resultados obtenidos y realizando un primer análisis global y preliminar, se puede constatar la existencia de un balance energético negativo (BEN), al inicio de la lactación en todos los animales, con independencia del grupo de ordeño y de la dieta que hayan recibido.

A medida que vayamos detallando el comportamiento de los diferentes parámetros englobados dentro de este apartado, comprobaremos la respuesta de los animales a la situación de desequilibrio energético y veremos si la misma se ve o no influenciada por el grupo de ordeño y la dieta.

1.1.- Glucosa.

Las concentraciones séricas obtenidas en nuestro trabajo se encuentran dentro de los rangos considerados como fisiológicos por la mayoría de autores (Rosenberger, 1983; Plonait, 1984; Sato y col., 1988). Sin embargo, su evolución a lo largo del posparto difiere de lo descrito en algunos trabajos anteriores, éstos afirman, que su concentración permanece prácticamente estable a lo largo del posparto y únicamente describen un ligero descenso a su inicio (Rutter y Manns, 1987; Villa-Godoy y col., 1990; Miettinen, 1991). En nuestro caso la concentración de glucosa desciende claramente entre el parto y el primer mes del puerperio para posteriormente recuperarse de forma paulatina. Este mismo tipo de evolución ha sido descrito por Ling y col. (2003). Entendemos que este descenso de la concentración de glucosa es un reflejo de una situación de BEN; coincidimos así, con trabajos que establecen la existencia de una correlación entre la concentración sérica de glucosa y el BEN al inicio del posparto, de tal forma que las concentraciones de glucosa descienden en una situación de BEN (Canfield y Butler 1990; Forshell y col., 1991, Clark y col., 2000; Ling y col., 2003).

Teniendo en cuenta lo anterior, si nos centramos ahora en los efectos del grupo de ordeño, podemos afirmar que la diferencia significativa encontrada, obedece a una mayor severidad del BEN en los animales del grupo de 4 ordeños. De igual modo comprobamos que, con una dieta en la que los animales seleccionaron partes de la ración potenciando una situación de BEN, las diferencias en las concentraciones de glucosa se agudizan entre los 2 grupos de ordeño.

1.2.- Colesterol.

Sus concentraciones séricas se encuentran dentro de los valores considerados como fisiológicos por la bibliografía consultada (Meyer y col., 1992; Bösö y col., 2000). Su evolución marcadamente creciente a lo largo del posparto, como consecuencia de un incremento en la movilización de lípidos y en la síntesis de esteroides, coincide con lo anteriormente descrito por Quintela (1995); Bösö y col. (2000); Pysera y Opalka (2000) y Ling y col. (2003).

Se comprobó que el número de ordeños afectaba de forma significativa a la concentración sérica de este metabolito. De forma que los animales que sólo se ordeñaban dos veces al día tenían valores más altos de colesterol. Esto podría deberse a que las mayores necesidades energéticas de las vacas que tenían aumentada la frecuencia de ordeño se traduciría en una menor concentración sérica de colesterol. En un estudio realizado por Kim y Suh (2003) se afirmaba que las concentraciones de colesterol sérico (durante el primer mes posparto) eran más bajas en las vacas que tenían una marcada pérdida de condición corporal, en respuesta a una mayor demanda energética.

1.3.- Triglicéridos.

Los valores séricos observados en nuestro estudio, tanto en cifras como en evolución a lo largo del posparto, coinciden con los descritos anteriormente por Kim y Suh (2003) y Ling y col. (2003).

El efecto significativo de la dieta sobre este parámetro (mayores concentraciones con la dieta 1, obedecería, sin duda, a la mayor severidad del BEN en este grupo de animales.

Nos gustaría comentar en este punto que autores como Kim y Suh (2003) no encuentran correlación entre las concentraciones de triglicéridos y la demanda energética. Es probable que este hecho condicione el que, en nuestro estudio, no apreciemos diferencias en la concentración de triglicéridos en función del grupo de ordeño.

1.4.- NEFA

Los valores plasmáticos medios de Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA) observados en este estudio se aproximan a los valores de referencia mencionados por Rosenberger (1983). En cuanto a su evolución, observamos un descenso en sus concentraciones entre el parto y el 2º mes posparto para posteriormente recuperarse paulatinamente. Este patrón en la evolución de los valores de NEFA coincide con las observaciones de Holtenius (1989) y Ling y col. (2003), quienes

describen una ligera elevación de sus niveles séricos en las semanas previas al parto, para posteriormente elevarse de forma brusca el día del parto y descender hasta la 6^a-8^o semana del posparto para recuperarse paulatinamente a partir de ese momento. Estos autores justifican esta evolución como consecuencia de las modificaciones hormonales inducidas por el parto, así como por el descenso en la ingesta de energía, posteriormente, y como consecuencia de la recuperación en el equilibrio energético, sus valores se recuperarían. Coincidiendo con esta idea, Marcos y col. (1990) explicaron la presencia de elevados valores de NEFA al inicio de la lactación como consecuencia del incremento en la movilización de reservas corporales al incrementarse las necesidades energéticas.

Otros investigadores difieren en cuanto al momento en el que se dan los mayores niveles circulantes de NEFA. Así, para Cseh y col. (1984) esos valores se alcanzan a las 2 semanas posparto, mientras que para Margolles (1983), los mayores niveles los encuentra durante la gestación y no en la lactación, achacándolo a la alimentación que recibían los animales en su estudio. En un estudio llevado a cabo en Australia (Toharmat y col., 1999) se afirmaba que los valores máximos de NEFA se observaban en el primer día del posparto. Coincidiendo con esta idea, Wathes y col. (2007) ratifican que el pico en la concentración de NEFA se produce inmediatamente después del parto.

En cuanto a los efectos del grupo de ordeño, contrariamente a lo que cabría esperar, vistos los apartados anteriores, encontramos valores más altos de NEFA en el grupo de 2 ordeños. Esta diferencia puede deberse al tipo de dieta empleada. Así, mientras que con la dieta 1 observamos que la concentración de NEFA es mayor (sin ser una diferencia significativa) con 4 ordeños. En el caso de la dieta 2 la relación se invierte llegando a existir una interacción grupo dieta (valores de NEFA más altos con dieta 2 en el grupo de 2 ordeños). Puede que la explicación a este hecho tengamos que buscarla en la mayor producción de leche, al inicio de la lactación, con la dieta 2 y en particular en el grupo C2. Una mayor producción de leche unido a un menor aporte energético en la dieta obligaría a una mayor movilización de grasas elevando la concentración de NEFA circulante

1.5.- Condición corporal/Ganancia de condición corporal.

Con respecto a la condición corporal sus valores medios variaron desde los 2,65 hasta los 3,20 puntos. Su evolución fue la esperada, produciéndose un descenso desde el parto hasta la 2^o semana posparto, para posteriormente recuperarse. Este patrón es similar al descrito por Gallo y col. (1997) y por Bittante y col. (1999). En ambos trabajos se describe la existencia de una correlación entre la condición corporal y el estadio de lactación. Así, describen un descenso en la

condición corporal de los animales desde el momento del parto hasta los 100-120 días de lactación (Gallo y col., 1997; Bittante y col., 1999), para posteriormente recuperarse, mediada la lactación o en su tercio final. En nuestro caso, la recuperación se inicia en torno a la 3^o semana posparto, aproximándose a los resultados observados por Kim y Suh (2003) y Meikle y col. (2004), para los que la recuperación se inicia en torno a la 4^o-5^o semana del posparto. En todos estos trabajos se justifica la evolución de la condición corporal como consecuencia de la movilización de reservas que exige el inicio de la lactación, así como de la restauración del equilibrio energético que se produce a mitad de la lactación, lo que se traduce en una recuperación de la condición corporal.

En cuanto al efecto del grupo de ordeño, se observa claramente como la evolución de la condición corporal es más favorable con 2 ordeños que con 4. Cuando se incrementaba la frecuencia de los ordeños, la pérdida de condición corporal, además de ser más acentuada, se prolongaba hasta la 5^o semana del posparto. Coincidimos en este punto con los resultados descritos por Kim y Suh (2003), quienes indican que los animales que sufren una pérdida de condición corporal más marcada, pierden más condición corporal durante el primer mes posparto, y la recuperan de una forma más lenta, comparándolos con los que tienen una pérdida de condición corporal moderada. Sin embargo, nuestros resultados no coinciden con los de Patton y col. (2006), quienes no encontraron ningún efecto de la frecuencia de ordeño sobre la condición corporal.

En cuanto al efecto del tipo de alimentación, la evolución de la condición corporal es mejor con la dieta 2. Recordemos que la dieta 2 es, a nivel práctico, más energética, que puede ser la razón por la que los animales alimentados con esta dieta experimentaban una mejor evolución en su condición corporal. En este punto discrepamos nuevamente de los resultados de Patton y col. (2006), para quienes no existe una influencia de la concentración de energía sobre la condición corporal.

2.- Metabolismo Proteico

2.1.- Albúmina.

El valor medio de su concentración sérica de este metabolito, se sitúa próximo al que se ha descrito como fisiológico por Holter y col. (1990), y a los valores descritos por Reist (2001).

En cuanto a su evolución, coincidimos con la que describían Aeberhard y col. (2001) y Reist (2001). No obstante, Reist (2001) afirmaba que la recuperación de sus valores séricos se producía a partir de la semana 20 del posparto, mientras

que, en nuestro caso, ésta se recupera antes, en torno al segundo mes posparto. El aumento progresivo de la concentración sérica de la Albúmina es consecuencia del incremento de la síntesis proteica en el hígado, lo que podría ser un reflejo de una mejora en el estatus nutricional y hepático de los animales.

El efecto significativo del grupo de ordeño podría ser consecuencia de la peor situación energética de los animales del grupo de 4 ordeños (si observamos su evolución comprobamos que la diferencia se aprecia sobre todo en los 3 primeros muestreos).

En cuanto al efecto de la dieta, es probable que las diferencias observadas sean simplemente reflejo de los procesos de selección de alimento que se dieron con la dieta 1.

2.2.- Proteínas Totales.

Los valores séricos de este metabolito oscilaron dentro del rango considerado como fisiológicos según (Moore e Ishler, 1997; Knowles y col., 2000).

Con respecto a la evolución de las Proteínas totales en el periparto, observamos que sus valores aumentaban desde el momento del parto. Así, las concentraciones más bajas, observadas en el parto, podrían ser atribuidos al estado de anorexia que esta situación induce en el animal. Esta observación coincide con las afirmaciones de Gadhavé y col. (2000), quienes tras haber realizado un seguimiento del perfil de proteínas séricas durante la última fase de la gestación e inicio del posparto, apreciaron la existencia de un descenso significativo del nivel de proteínas totales y de globulinas el día del parto. Un comportamiento similar fue descrito por Zvorc y col. (2000), realizando un estudio comparativo entre proteinogramas de vacas preñadas y no preñadas. Así, encontraron que las vacas preñadas (9º mes de gestación) presentaban un valor de proteínas totales significativamente más bajo que los animales vacíos.

Por otra parte, el ascenso que se aprecia a partir del parto es comparable al descrito por Quintela (1995). Otros investigadores (Nicoletti y col., 1981; Holter y col., 1990) también han descrito valores de proteínas totales más elevados durante la lactación. Sin embargo, también hemos encontrado estudios (Ghergariu y col., 1984; Macovei 1986; Hernández, 1991) en los que no se han demostrado modificaciones en los valores de proteínas totales, asociados al estado fisiológico del animal.

El hecho de que exista un efecto significativo de la dieta sobre este parámetro (mayores valores de proteínas totales con la dieta 1) podría ser debido nuevamente a la selección de alimento. En el caso del número de ordeños, a pesar

de mostrar una diferencia estadísticamente significativa, esta diferencia es muy pequeña para considerarla relevante.

2.3.- Urea.

Los valores de urea sérica observados en el presente estudio se encuentran dentro del rango considerado como fisiológico (Medway y col., 1980; Roussel y col., 1982 y Plonait, 1984), aunque próximos al límite superior, tal y como se evidencia en otros estudios más recientes Reist (2001), Ling y col. 2003, Wathes y col. (2007).

Son muchos los factores que influyen en las concentraciones séricas de urea en los rumiantes desde las últimas fases de gestación hasta la primera parte de la lactación: El incremento del catabolismo de ácidos grasos en músculo esquelético con el fin de cubrir las necesidades del feto (gestación) y glándula mamaria (lactación) (Bell, 1995; Moore y Varga, 1996). La propia alimentación, así, la cantidad y tipo (según sea o no degradada en el rumen) de proteína en la dieta y su relación con la energía, determinan sus concentraciones séricas; si a esto se le suma una situación de BEN, la concentración de urea puede elevarse (O'Callahan y col. 2001). En nuestro caso entendemos que puede existir una tendencia a maximizar el aporte de proteína, debido a que, de esta forma, los ganaderos incrementan la producción láctea de sus vacas (Grings y col., 1991). Otras posibles explicaciones a este hecho serían la existencia de fallos en la formulación de las raciones, como consecuencia de emplear valores tabulados para predecir los aportes de cada alimento (Calsamiglia, 1998), o la falta de información acerca de las necesidades reales de aminoácidos por parte de los animales, lo que conduciría a incrementar los aportes proteicos de las raciones (Bach, 2002).

En lo que respecta al efecto del número de ordeños, a pesar de no encontrar una diferencia significativa, si nos centramos en la primera parte del posparto, vemos niveles más altos en el grupo de 4 ordeños. Podría ayudarnos a comprender ese hecho, recordar que la situación energética de los animales que tenían la frecuencia de ordeño aumentada (glucosa, colesterol, condición corporal) era peor que el de los animales que sólo se ordeñaban 2 veces al día.

En el caso de la dieta el efecto es más evidente, y creemos que es debido a un desequilibrio energía/proteína en la dieta como consecuencia de la selección de alimento. Como ya hemos mencionado, existe una relación entre energía y proteína. Por una parte, las elevadas concentraciones de urea, debidas a aportes excesivos de proteína bruta en la ración, tienden a incrementar el BEN, como consecuencia del elevado coste energético de la eliminación de la urea (Canfield y col. 1990; Calsamiglia 1998). Además del gasto energético asociado a su

eliminación, el proceso de ureogénesis que se lleva a cabo en el hígado supone también un gasto energético importante, ya que la transformación de 1g de nitrógeno en urea requiere 7.3 kcal. A esto debemos sumar que la ureogénesis compite con la gluconeogénesis por el oxalato, lo que incrementa el estrés metabólico de los animales de alta producción (Bach 2002). Por otra parte, raciones con deficiencias en energía impiden la síntesis de proteína microbiana en rumen, incrementando los niveles de amoníaco y urea en sangre, a pesar de que el aporte proteico de la ración sea el adecuado (Calsamiglia 1998).

3.- Metabolismo Mineral.

3.1.- Calcio.

Las concentraciones séricas de calcio observadas en este estudio se encuentran dentro de los valores de referencia descritos por Boyd (1984). Valores y evolución de calcemias similares han sido descritos por Reist (2001) y Rodríguez y col. (2004). A pesar de no haber realizado un control de este parámetro durante las semanas previas al parto, es muy probable que alrededor de ese momento, se haya producido un descenso en la calcemia como consecuencia de la producción de calostro y del inicio de la lactación. El incremento que observamos en el primer mes posparto es el reflejo de la recuperación en la homeostasis del calcio (Riond y col., 1995; Kamgarpour y col., 1999).

3.2.- Fósforo.

La concentración sérica de este mineral se encuentra dentro del rango considerado como fisiológico (Boyd, 1984; Holter y col. 1990). En cuanto a su evolución, la escasa variabilidad encontrada en nuestro estudio coincide con lo observado por Gómez-Tagle-Zárate (1993) y Reist (2001). Estos estudios no encontraron diferencias significativas en la concentración sérica de fósforo en cuanto al estado reproductivo, edad, número de inseminaciones, número de partos, otros minerales (Gómez-Tagle-Zárate, 1993) o con la concentración energética de la ración (Reist, 2001).

Hemos encontrado un efecto significativo para el factor dieta (valores más bajos de fósforo con la dieta 1). Este resultado no coincide con los resultados del estudio antes mencionado de Reist (2001). Dicho autor concluía que la concentración de fósforo no se veía afectada por la concentración energética de la ración. Debemos de tener en cuenta que, en su estudio, las raciones comparadas eran similares, pero diferían en la cantidad de concentrado, mientras que en nuestro caso la dieta 1 y la 2 están formuladas de manera diferente.

3.3.- Relación Calcio/Fósforo.

Atendiendo a las recomendaciones del NRC (2001), la relación óptima del cociente Ca/P debería situarse alrededor de 2:1. En nuestro caso, observando la grafica de evolución de este parámetro, comprobamos que se sitúa (con excepción de los momentos posteriores al parto) en torno a este valor. En los últimos años, como consecuencia de la creciente preocupación por el medio ambiente, hay una tendencia a adecuar los aportes nutricionales de fósforo y nitrógeno a las necesidades reales de los animales. A esto debemos añadir el hecho de que incrementar los aportes de fósforo por encima de las necesidades no mejora ni la producción de leche, ni el rendimiento reproductivo (López y col. 2004).

El efecto significativo observado para la dieta (la relación es más alta para la dieta 1), probablemente sea debido a la diferente formulación de las mismas.

3.4.- Magnesio.

En nuestro estudio, los valores séricos de este mineral se encuentran del rango fisiológico descrito por Boyd (1984) y Sato y col. (1988). En cuanto a su evolución creciente a lo largo del posparto, coincidimos con los resultados descritos previamente por Riond y col. (1995) y Reist (2001). No obstante, otros investigadores (Mayer y col., 1984; Quintela, 1995) afirman que sus concentraciones permanecen constantes a lo largo del posparto.

II.- Producción y Calidad de la leche.

1.- Producción mensual de leche.

Tras analizar detenidamente la evolución de la producción de leche a lo largo de la lactación y tras haber evaluado el metabolismo energético, proteico y mineral, podemos confirmar la existencia de un efecto significativo tanto del número de ordeños al que sometíamos a los animales, como de la dieta que se les suministraba.

Cuando evaluábamos el efecto del incremento de la frecuencia del ordeño, nuestros resultados contradecían a los del mayoría de investigadores, que afirman que existe un efecto positivo del incremento en el número de ordeños sobre la producción láctea (Amos y col., 1985; Van der Iest y Hilerton, 1989; Barnes y col., 1990; Jurjanz y col., 1993; Erdman y Varner, 1995; Kruip y col., 2000; Hale y col., 2003; Dahl y col., 2004; Wall y McFadden, 2007). No obstante, también existen algunos estudios recientes que no apreciaron ese incremento (Fernades y col., 2004; VanBaale y col., 2005). A la hora de justificar sus resultados, estos 2 estudios coinciden en citar diferencias de diseño y de manejo con estudios previos, en los que si se apreciaba el efecto positivo. Así en el trabajo de VanBaale y col.

(2005) los animales permanecían en una granja comercial, en circunstancias muy similares a las de nuestro trabajo, mientras que en el estudio de Dahl y col. (2004), el manejo y control de los animales se hacía de una forma individual.

A parte de las diferencias en el manejo y en el diseño de los trabajos, otro hecho que justificaría la menor producción de leche en el grupo de 4 ordeños, es su peor situación energética. Los datos aportados por los perfiles bioquímicos y la evolución de la condición corporal indican una situación balance energético negativo más severo y prolongado en el grupo de animales a los que se les había aumentado la frecuencia de ordeños. Esta situación podría explicar el descenso en la producción de leche que se observa en este grupo, ya que se encuentra fuera de toda duda el efecto negativo del BEN sobre la producción del ganado vacuno lechero (Butler y Smith, 1989). Por otra parte, algunos estudios demuestran que una vaca emplea 21 h/día en alimentarse y rumiar (Grant, 2003), al aumentar la frecuencia de ordeño, se reduciría el tiempo disponible para desarrollar estas actividades y el animal podría ser incapaz de satisfacer sus necesidades energéticas, facilitando o potenciando una situación de BEN. Coincidimos así también con lo afirmado por Knight (1994), Armstrong y Daugherty (1997) y Stelwagen (2001), ya que según estos autores los incrementos de producción, asociados al incremento de la frecuencia de ordeño, se consiguen en grado variable, siempre que se parta de una situación donde la alimentación y el manejo sean adecuados y cubran las necesidades del animal, en caso contrario, la respuesta puede no alcanzar las expectativas o incluso descender.

A pesar de no haber encontrado el incremento esperado en la producción de leche, en el tramo final de la lactación, sí que hemos observado una mejora en la persistencia de la lactación tal y como se describe en la bibliografía (Capuco y col., 2003; Hale y col., 2003; Dahl y col., 2004; Dahl, 2006, Wall y McFadden, 2007). En algunos de estos trabajos se afirmaba que al disminuir la frecuencia de ordeño de 4 a 2 veces al día (Hale y col., 2003) o de 6 a 3 veces al día (Dahl y col., 2004), la producción de leche, a pesar de ser menor que la obtenida en las fases anteriores, permanecía en valores mayores que la de los grupos control, lo que sugeriría que el ordeño frecuente y mantenido a lo largo de varios meses, aumentaría la cantidad de parénquima mamario. En nuestro caso, comprobamos que en los últimos meses de lactación la producción era mayor en el grupo en el que se había incrementado la frecuencia de ordeño, porque el descenso en la producción era menos brusco y más sostenido.

El efecto observado en función la dieta (mayor producción con la dieta 2), es consecuencia de la mejor formulación de la misma, y de su mayor aporte de

energía. Hay que recordar que la evolución del balance energético fue mejor en el grupo de animales alimentados con ella, y es de todos conocido que, la mejora en la alimentación es uno de los pilares sobre los que se han asentado los incrementos en la producción de leche durante las últimas décadas. En este sentido, nuestros resultados son similares a los descritos por Ouweltjes y col. (2007). Según este trabajo, la producción de leche se incrementaba de forma significativa si se empleaba una dieta con una alta concentración de energía, coincidiendo con una mejor evolución del balance energético.

2.- Porcentaje de grasa en la leche.

La grasa es el componente de la leche que sufre una mayor variabilidad, en animales en buenas condiciones de salud. Su porcentaje varía entre el 2,8-4,9% (Jenness, 1985). En nuestro caso, el contenido en grasa se mantuvo, en líneas generales, dentro de estos márgenes. La evolución creciente de este parámetro a lo largo de la lactación obedece a su relación inversa con la producción de leche (Österman, 2003).

En cuanto a la influencia del número de ordeños, a pesar de no haberla podido demostrar estadísticamente, observamos que la concentración de grasa es ligeramente superior en el grupo de animales sometidos a 4 ordeños. Esto no coincide con los trabajos en los que se describe un descenso en el porcentaje de grasa en la leche de los animales que se someten a un incremento de la frecuencia de ordeño (Allen y col., 1986; Barnes y col., 1990; Ouweltjes y col. 2007). Sin embargo, otros estudios no observan cambios significativos o, como en nuestro caso, describen pequeños incrementos (Amos y col., 1985; DePeters y col., 1985). La razón de esa mayor concentración de grasa tendríamos que buscarla en la menor producción en este grupo, no obstante, tampoco podríamos descartar la posibilidad de que ese incremento en el porcentaje de grasa, sea debido al aumento en la cantidad de ácidos grasos libres en la leche, al incrementar la frecuencia de ordeño (Ahrne y Biörk, 1985; O'Brian y col., 1999, Weiss y col., 2002).

Las diferencias encontradas en el porcentaje de grasa en función de la alimentación de los animales (mayor porcentaje de grasa con la dieta 1), podría ser debido tanto a su composición (los animales alimentados con la dieta 1 han seleccionado de la ración los elementos más apetecibles lo que ha redundado en un desequilibrio de la misma), como a su concentración energética (Österman, 2003). Se ha observado que los animales que son alimentados con dietas lipogénicas (Van Knegsel y col., 2007), o con una baja concentración energética (Österman, 2003), generan mayores concentraciones de grasa en leche.

3.- Porcentaje de Proteína en la leche.

El porcentaje habitual de proteína en leche de vaca oscila entre un 3% y 3,6% (Jenness, 1985). En nuestro estudio, el porcentaje se situó dentro de estos márgenes. La evolución de este parámetro a lo largo de la lactación es similar a la que se ha descrito para la grasa, aumentando a medida que avanza la lactación (Weiss y col., 2002).

El efecto que observamos cuando incrementamos la frecuencia del ordeño (mayor porcentaje de proteínas en el grupo de 4 ordeños) contradice las afirmaciones de Ouweltjes y col (2007). En este trabajo se afirmaba que el incremento en la frecuencia de ordeño se traduciría en un incremento de la producción de leche y en un descenso en los porcentajes de grasa y proteína. Creemos que el motivo de esta discrepancia podría estar en el hecho que, en nuestro estudio, el incremento de la frecuencia de ordeño no se ha traducido en un incremento de producción (la producción ha sido inferior a la de los grupos control) y, al existir una relación inversa entre la producción y la proteína, ésta última se ha incrementado.

La diferencia significativa descrita en los valores de proteína de la leche en función de la ración suministrada (mayor concentración de proteína en leche con la dieta 1), al ser el porcentaje de proteína en la dieta uno de los factores que condiciona su presencia en la leche (Österman, 2003), el mayor contenido en proteína de la dieta 1, como consecuencia de los fenómenos de selección, justificaría el mayor porcentaje en leche.

4.- Porcentaje de lactosa en la leche.

La lactosa es el principal componente osmótico de la leche, debido a su bajo peso molecular (Weiss y col., 2002). Por ello, encontramos experiencias en las que se apunta que su descenso sea un posible indicador de mamitis (Bansal y col., 2005). Su variabilidad es escasa, por lo que el rango habitual se sitúa entre el 4,6 y el 4,8% (Jenness, 1985), valores dentro de los cuales están los de este estudio. La estabilidad en su concentración es la responsable de que no hayamos encontrado efectos de la dieta y del número de ordeños. No obstante, nos gustaría destacar la interacción grupo-dieta que hemos encontrado (con dieta 1 los valores de lactosa son mayores en 2 ordeños que en 4). Estudios recientes (Schei y col., 2005; Beerda y col., 2007; Ouweltjes y col., 2007) indicaban la existencia de una relación positiva entre el porcentaje de lactosa en leche y el balance energético, y sugieren que podría utilizarse, no solo como un indicador de la salud del ubre, sino que también, como una herramienta de manejo y control energético. En nuestro caso la

dieta 1 y el grupo de 4 ordeños son los que han mostrado un peor comportamiento con respecto a la evolución del balance energético.

5.- Recuento de células somáticas.

No hemos encontrado diferencias significativas en el contenido en células somáticas ni en función de la frecuencia de ordeño, ni de la dieta. Coincidimos así con resultados obtenidos por Kruip y col. (2000, 2002) y Ouweltjes y col., 2007. No apreciamos el empeoramiento en los recuentos celulares que describen otros autores (Justensen y Rasmussen, 2000; Klungel y col., 2000; Pomies y Bony, 2000; Van der Vorst y Hogeveen, 2000; Billon, 2001; Rasmussen y col., 2001). El hecho de no encontrar estas diferencias, podría deberse a que, en nuestro estudio, las vacas se ordeñaban en una sala convencional y a unos intervalos fijos, mientras que en los estudios en los que se indican diferencias fueron realizados en granjas provistas de robot de ordeño, en las que las frecuencias y los intervalos de ordeño eran variables.

III.- Reproducción

1.- Parámetros Reproductivos.

1.1.- Involución Uterina.

La involución uterina es un proceso complejo, que abarca los 30-40 primeros días del posparto y que supone, no sólo la reducción de tamaño del útero, sino también la regeneración del endometrio y la eliminación de la contaminación bacteriana (Lucy 2003). En nuestro caso, su duración en los distintos grupos analizados se situó siempre dentro de este intervalo.

Según nuestros resultados, la duración de la involución uterina no se vio afectada por el número de ordeños. Coincidimos así con las observaciones de Kask (1999) que no apreció ninguna influencia del incremento de la frecuencia de ordeño sobre el contenido bacteriano del útero, su eliminación o la recuperación del tamaño y la actividad del útero.

En el caso de la dieta, si hemos podido comprobar la existencia de un efecto significativo. La involución uterina es más rápida en los animales alimentados con la dieta 2. Creemos que podría ser debido a la evolución más favorable del balance energético en los animales alimentados con esta ración. Se ha demostrado que la involución uterina se retrasa en situaciones graves de BEN, y es más rápida cuanto menor sea la duración y severidad del desequilibrio energético (Butler y Smith, 1989; Bultler 2003, Wathes y col., 2007).

A pesar de que la involución uterina es el paso inicial para el restablecimiento de una fertilidad normal, algunos investigadores consideran que no es el principal factor limitante para la recuperación de la misma, puesto que, la mayoría de vacas suelen inseminarse entre los 40-80 días del posparto (momento en el que se ha completado este proceso). Para estos investigadores, el factor limitante es la recuperación de la funcionalidad ovárica (Lucy 2003).

1.2.- Intervalos Reproductivos.

A pesar de no haber encontrado diferencias significativas (probablemente debido a la elevada desviación de los resultados), la duración de los intervalos reproductivos (parto-celo, parto-1ªIA y parto-gestación), con excepción del intervalo parto-celo, fue mayor en el grupo de animales que se ordeñaban 4 veces al día.

Sin embargo, cuando analizamos del número de IA por gestación, comprobamos que los animales sometidos a un incremento en la frecuencia del ordeño, necesitaban casi una inseminación más para quedar gestantes, que las que sólo eran ordeñadas en dos ocasiones.

A la hora de valorar el efecto de la frecuencia de ordeño existen grandes discrepancias en función de la bibliografía consultada. Así, algunos autores concluyen que el incremento de la frecuencia de ordeño no altera el rendimiento reproductivo o, si lo hace, es en forma muy ligera (Amos y col., 1985; Barnes y col., 1990, Kruij y col., 2000, 2002). Por el contrario, otros (DePeters y col., 1985; Smith y col., 2002 y García-Ispierto y col., 2007) aprecian una reducción de la fertilidad evidente. En el primer grupo de trabajos se habla, a lo sumo, de ligeras pérdidas en eficacia reproductiva que son compensadas por el incremento en la producción de leche. Sin embargo, en nuestro caso ni siquiera se produce un incremento en la producción de leche, sino todo lo contrario, desciende y, además, la elevación de los intervalos y sobre todo, el incremento en el número de IA por gestación, parecen indicarnos la existencia de un efecto severo del aumento de la frecuencia de ordeño sobre la reproducción. De este modo, nuestros resultados se encuentran más en la línea del segundo grupo de autores, concretamente hay grandes coincidencias con el trabajo de Smith y col. (2002). En este estudio se evaluaron los rendimientos reproductivos de más de 30000 granjas durante 3 años consecutivos, llegando a la conclusión de que el incremento en la frecuencia de ordeño, de 2 a 3 veces al día, suponía un incremento del intervalo parto-1ªIA, del número de IA por gestación y del intervalo entre partos. Para estos autores, la explicación al menor rendimiento reproductivo sería consecuencia del incremento en la pérdida de peso corporal, al incrementarse la producción de leche. En nuestro

caso, esta explicación no puede aplicarse, ya que, a pesar de producirse en el grupo de 4 ordeños una considerable pérdida de condición corporal, ésta no obedece a un incremento de la producción de leche.

El trabajo de García-Ispuerto y col. (2007) fue llevado a cabo en la zona noreste de España utilizando datos reproductivos de 4 granjas de leche de alta producción. Una de las conclusiones del estudio fue que el incremento de la frecuencia de ordeño de 2 a 3 veces al día, reducía la probabilidad de gestación. A la hora de explicar este hallazgo, a diferencia del trabajo de Smith y col. (2002), no vinculaban directamente el descenso en la eficacia reproductiva con el incremento en la producción láctea (que también describen en sus resultados). De hecho, en su estudio asociaba la elevada producción de leche en el momento de la IA, con un mejor rendimiento reproductivo, algo que ya había sido descrito previamente por otros investigadores (Pryce y col., 1997; Mayne y col., 2002 y Windig y col., 2005) y que, en nuestro caso, también se cumple, pues los mejores resultados reproductivos los tenemos en el grupo de 2 ordeños (que es a su vez el de mayor producción de leche). García-Ispuerto y col. (2007) planteaban la hipótesis de que ese menor rendimiento reproductivo estuviese vinculado con los efectos luteolíticos de una mayor liberación de oxitocina en las vacas que se ordeñan 3 veces al día (Silvia y col., 1991), y/o al estrés que suponía un ordeño más al día.

Es posible que estos factores también estén implicados en nuestro caso, pero entendemos que el principal factor que media en el rendimiento reproductivo del grupo de 4 ordeños, es su peor situación energética. Las situaciones de BEN suponen una pérdida de condición corporal, alteraciones en los perfiles metabólicos y hormonales, que ejercen una influencia negativa sobre la fertilidad (Pryce y col., 2001; Taylor y col., 2003).

Como hemos visto a lo largo del apartado del metabolismo, los animales del grupo de 4 ordeños presentaban menores concentraciones de glucosa y colesterol, mayores concentraciones de urea y una pérdida más marcada de condición corporal.

Las concentraciones de glucosa y colesterol están implicadas en la síntesis de esteroides en el ovario y en el control de la función luteal (Reist y col., 2003). El incremento en la concentración de glucosa circulante promueve la liberación de LH a través de sus efectos en la secreción de GnRH (Diskin y col., 2003). De este modo, las variaciones de ambos metabolitos pueden condicionar la duración del período comprendido entre el parto y la concepción.

Una elevada concentración de urea unida a una baja disponibilidad de energía, aumenta la probabilidad de que los animales padezcan problemas

reproductivos (Wathes y col., 2007). Los efectos negativos de una elevada concentración de urea sobre la reproducción se centran en 2 puntos: ovario y útero. Sobre el ovario, Sinclair y col. (2000) sugieren la existencia de un efecto negativo sobre el desarrollo del ovocito. En el útero, Butler (2001) postula que una elevada concentración de urea puede modificar el ambiente uterino al elevar su pH, generando una situación hostil tanto para los gametos masculino y femenino como para un embrión. No obstante, estos efectos negativos de la urea pueden reducirse si el estatus energético se controla de una forma adecuada (Laven y col., 2007).

Una marcada pérdida de condición corporal al inicio de la lactación incrementa los riesgos de padecer alteraciones metabólicas y reproductivas (Kim y Suh, 2003). López-Gatius y col. (2002) indicaban que una caída de 1 punto en condición corporal (usando una escala de 1-5 puntos) durante los primeros 30 días del posparto aumentaba la probabilidad de fallo en la concepción, resultados similares fueron descritos por Silke y col. (2002) y Rutigliano y Santos (2005).

En cuanto a la influencia de la dieta sobre los intervalos reproductivos y el número de inseminaciones, no hemos encontrado diferencias significativas. Coincidimos así con los resultados de Patton y col. (2006). No obstante, los datos reproductivos son peores con la dieta 1 (pensamos que las diferencias no llegan a ser significativas debido a la dispersión de los resultados). Como hemos podido ver en el apartado de metabolismo, la evolución del estatus metabólico fue mejor con la dieta 2 que con la 1 (en los párrafos anteriores analizamos como las situaciones de BEN repercutían sobre el rendimiento reproductivo). Es fácil entender que si los animales que recibieron la dieta 1 sufrieron un mayor estrés metabólico, su rendimiento reproductivo este más comprometido.

2.- Reinicio de la actividad ovárica.

La alteración de la actividad ovárica posparto afecta negativamente al rendimiento reproductivo de los animales (Nakao y col., 1992; Lamming y Darwash, 1998). De ahí que, una recuperación temprana de la actividad ovárica cíclica sea crucial. En nuestro trabajo, el porcentaje de reinicio normal de la actividad ovárica fue de un 28,57%, eso supone que más de un 70% de las vacas objeto de estudio (71,43%), padecieron algún tipo de alteración en su funcionalidad ovárica. Coincidimos así con los resultados descritos por Shrestha y col. (2004). En su estudio, más de dos tercios de los animales presentaron este tipo de alteraciones. Tanto nuestro porcentaje de alteraciones en la funcionalidad, como el de Shrestha y col. (2004), son mayores que los descritos en estudios anteriores (Opsomer y col., 1998; Lamming y Darwash., 1998).

En nuestro caso la distribución de los distintos tipos de retraso fue la siguiente: Tipo I 30,36%, Tipo II 33,93%, Tipo III 3,57% y Tipo IV 3,57%.

El retraso Tipo I (la fase lútea prolongada) presentó una distribución muy similar al 31,5% reflejado en el trabajo de Shrestha y col. (2004), siendo éste más elevado que lo descrito en trabajos previos (Opsomer y col., 1998; Lamming y Darwash, 1998; Nakao y col., 1992).

La incidencia del retraso tipo II (retraso en la primera ovulación) fue superior a la observada en trabajos anteriores (Shrestha y col. 2004; Lamming y Darwash, 1998; Nakao y col., 1992).

La frecuencia de presentación de los retrasos Tipos III (fase lútea corta) y IV (cese de la ciclicidad), fue muy similar a la observada por Shrestha y col. (2004) y Opsomer y col. (1998) y sensiblemente menor a la que describen Lamming y Darwash (1998) y Nakao y col. (1992), que los sitúan en torno al 10%. Debemos destacar que en el caso de los estudios de Opsomer y col. (1998) y Lamming y Darwash (1998) el manejo de los animales era de tipo semiextensivo, en el que se combinaba el pastoreo durante el verano y la estabulación permanente a lo largo del invierno. Sin embargo, tanto en nuestro estudio como en el de Shrestha y col. (2004) el manejo fue intensivo. Este tipo de manejo puede considerarse como un factor de riesgo para la aparición de alteraciones en la funcionalidad ovárica, en comparación con el manejo en extensivo (Opsomer y col., 2000). Otro factor de riesgo es la elevada producción de leche (Shrestha y col., 2004). Dado que en nuestro estudio también están presentes estos dos factores de riesgo, es probable que su combinación sea la responsable del elevado número de disfunciones ováricas encontradas.

El retraso en el reinicio de la actividad ovárica cíclica afecta negativamente al intervalo parto-1^oIA y al porcentaje de gestación, aumentando el intervalo parto-gestación. La concentración de progesterona durante la fase lútea de la primera ovulación posparto, es baja, y se incrementa gradualmente durante los 2 o 3 ciclos posteriores (Villa-Godoy y col., 1988; Staples y col., 1990). Los animales que logran quedar gestantes al inicio del postparto tienen mayor concentración de progesterona en el ciclo estral que precede al celo (Folman y col., 1973; Fonseca y col., 1983), e incluso en el ciclo siguiente (Butler y col., 1996), frente aquellos otros que no lo logran. Un reinicio normal de la actividad ovárica permite a la vaca tener 2 o más ciclos antes del celo, lo que aumenta la probabilidad de quedar gestante (Shrestha y col., 2004).

El retraso Tipo I se debe, normalmente, a alteraciones en el proceso de luteólisis. La luteólisis se origina por la liberación de PGF_{2α} generada en el

endometrio. Cualquier circunstancia que prevenga o retrase la liberación de prostaglandinas por parte del útero y su transporte local hacia el ovario, puede detener o ralentizar la luteólisis. Algunos autores sugieren que una insuficiente concentración de estradiol, como consecuencia de una baja secreción por parte de los folículos maduros, o a un incremento de su metabolismo, retrasa o interfiere la activación de los receptores de oxitocina del endometrio uterino, necesarios para la liberación de la $PGF_{2\alpha}$ (Roche y col., 2000; Lucy, 2001). Enlazando con esta hipótesis está el hecho de que, el tamaño de los folículos de vacas que padecen una situación severa de BEN es menor (Lucy y col., 1991; Beam y Butler, 1997) y producen menores cantidades de estradiol.

Otro de los factores que puede interferir una luteólisis normal, es la inflamación del endometrio (Olson y col., 1984). En el caso del trabajo de Shrestha y col. (2004), aceptan este segundo postulado como el principal responsable del elevado porcentaje de retraso Tipo I que observaron. En nuestro caso, a pesar de tener registrado casos de metritis, creemos que tiene un mayor peso el BEN sobre la elevada frecuencia de aparición no sólo del retraso Tipo I, sino también del tipo II.

El balance energético (diferencia entre la energía que se ingiere y la energía utilizada para el mantenimiento y la producción de leche) es muy crítico durante el inicio del posparto y está altamente correlacionado con el intervalo desde el parto hasta la primera ovulación (Lucy y col., 1991; Beam y Butler, 1998). Inmediatamente después del parto se establece e incrementa la producción de leche, aumentando, en consecuencia, la demanda energética. No obstante, su ingesta permanece constante o incluso disminuye. Todo esto conduce a una situación de BEN. La duración y la severidad del BEN en el posparto, afecta a la primera ovulación (Beam y Butler, 1999). Las vacas que padecen un BEN más elevado tienen menores concentraciones periféricas de IGF-I y de LH, estas 2 hormonas actúan de un modo sinérgico, promoviendo el desarrollo folicular (Lucy, 2000). El BEN afecta negativamente al número y tamaño de los folículos ováricos más grandes (Lucy y col., 1991; Beam y Butler, 1997), interfiere con la ovulación (Beam y Butler, 1997) y disminuye las concentraciones de progesterona en plasma (Spicer y col., 1990).

Conclusiones

1.- En este estudio, el incremento en el número de ordeños no supuso un aumento en la producción de las vacas, al contrario, la producción disminuyó en los animales ordeñados 4 veces.

2.- El efecto sobre el contenido en grasa, proteína y lactosa de la leche tan solo varió, según lo esperado, en función de la producción, de forma que los animales que producían menos leche mostraron porcentajes superiores de grasa y proteína.

3.- No hemos encontrado un efecto significativo del incremento del número de ordeños sobre el contenido en células somáticas, lo que indica que no tienen porque producirse más mamitis por ordeñar más veces.

4.- No se ha podido demostrar un efecto negativo del incremento del número de ordeños sobre la involución uterina o el restablecimiento de la actividad ovárica postparto, sin embargo, en este último caso, el porcentaje de animales que han reiniciado la actividad ovárica a los 60 días en el grupo de 4 ordeños es mucho más bajo que en el de 2.

5.- Aunque las diferencias en los intervalos postparto en función del número de ordeños no fueron estadísticamente significativas, si lo fue la diferencia en el número de inseminaciones necesarias para conseguir una gestación, siendo muy superior en el grupo de 4 ordeños.

6.- En las condiciones en las que se desarrolló este estudio, el incremento de 2 a 4 ordeños en los primeros meses del postparto no es rentable, ya que no se incrementa la producción e incluso empeora ligeramente la reproducción. Esta situación se debe a que, sin una adaptación de la granja al nuevo sistema de manejo, los animales están continuamente en actividad, lo que incrementa su estrés y reduce el tiempo del que disponen para alimentarse, todos estos factores se traducen en un mayor balance energético negativo y, como consecuencia, en una reducción de la producción de leche y de la eficacia reproductiva. Esto no quiere decir que, adecuando las instalaciones y la alimentación a la nueva situación, los resultados no puedan ser mejores.

En definitiva, incrementar el número de ordeños sin otros cambios en la explotación puede ser incluso perjudicial para la rentabilidad económica de la granja.

Referencias Bibliográficas

- Aeberhard, K.; Bruckmaier, R.M.; Blum, J.W. (2001). Metabolic, enzymatic and endocrine status in high-yielding dairy cows-Part 2. *Journal of Veterinary Medicine, Series A.* 48(2): 111-127.
- Ahmad, N.; Beam, S. W.; Butler, W. R.; Deaver, D. R.; Duby, R. T.; Elder, D. R.; Fortune, J. E.; Griel, L. C. Jr.; Jones, L. S.; Milvae, R. A.; Pate, J. L.; Revah, I.; Schreiber, D. T. Jr.; Townson, D. H.; Tsang, P. C. W.; Inskip, E. K. (1996). Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. Cooperative regional research project. *J. Anim Sci* 74: 1943-1952.
- Ahmadzadeh, A.; Barnes, M.A.; Pearson, R.E. (1998). Effect of naloxone on serum luteinizing hormone concentration in anovulatory Holstein cows during the early postpartum period. *Domestic Animal Endocrinology.* 15(3): 177-181.
- Ahrne, L.; Björck, L. (1985). Lipolysis and the distribution of lipase activity in bovine milk in relation to stage of lactation and time of milking. *J. Dairy Res.* 52(1): 55-64.
- Allen, D.B.; DePeters, E.J.; Laben, R.C. (1986). Three times a day milking: effects on milk production, reproductive efficiency, and udder health. *J. Dairy Sci.* 69(5): 1441-1446.
- Allen, J.C. (1990). Milk synthesis and secretion rates in cows with milk composition changed by oxytocin. *J. Dairy Sci.* 73(4): 4975-4984.
- Amos, H.E.; Kiser, T.; Loewenstein, M. (1985). Influence of milking frequency on productive and reproductive efficiencies of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68(3): 732-739.
- Andersson, L.; Gustafsson, A.H.; Emanuelson, U. (1991). Effect of hyperketonaemia and feeding on fertility in dairy cows. *Theriogenology* 36: 521-536.
- Andrews, A.H.; Laven, R.; Maisey, I. (1991). Treatment and control of an outbreak of fat cow syndrome in a large dairy herd. *The Veterinary Record.* 129(10): 216-219.
- Armstrong, D.G.; McEvoy, T.G.; Baxter, G.; Robinson, J.J.; Hogg, C.O.; Woad, K.J.; Webb, R.; Sinclair, K.D. (2001). Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: association with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biology of Reproduction.* 64(6): 1624-1632.

- Armstrong, D.V.; Daugherty, L.S. (1997). Milking robots in large dairy farms. *Computers and Electronics in Agriculture*. 17(1): 123-128.
- Austin, E.J.; Mihm, M.; Ryan, M.P.; Williams, D.H.; Roche, J.F. (1999). Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 77: 2219-2226.
- Ayadi, M.; Caja, G.; Such, X.; Knight, C.H. (2003). Effect of omitting one milking weekly on lactation performances and morphological udder changes in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 2352-2358.
- Bach, A. (2002). Adaptación de la alimentación en granjas con ordeño robotizado. *Ganadería*. 13: 22-26.
- Bach, A.; Anglada, A.; Puigvert, X.; Bosch, Ll. (2003). A novel technique to assess particle distribution of rations and forages using digital imaging. *J. Dairy Sci.* 86 (Supl. 1).
- Bach, A.; Calsamiglia, S. (2006). La fibra en los rumiantes: ¿química o física? XXII Curso de especialización FEDNA, Barcelona, 16 y 17 de octubre de 2006.
- Bacskai, B.J.; Friedman, P.A. (1990). Activation of latent Ca²⁺ channels in renal epithelial cells by parathyroid hormone. *Nature*. 347: 388-391.
- Bansal, B.; Hamann, J.; Grabowski, N.Th.; Singh, K.B. (2005). Variations in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitis quarters, and its significance for mastitis diagnosis. *Journal Dairy Research*. 72(2): 144-152.
- Barbano, D.M.; Rasmussen, R.R.; Lynch, J.M. (1991). Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. *J. Dairy Sci.* 74(2): 369-388.
- Barnes, M.A.; Pearson, R.E.; Lukes-Wilson, A.J. (1990). Effects of milking frequency and selection for milk yield on productive efficiency of Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 73(6): 1603-1611.
- Bar-Peled, U.; Maltz, E.; Bruckental, I.; Folman, Y.; Kali, Y.; Gacitua, H.; Lehrer, A.R.; Knight, C.H.; Robinzon, B.; Voet, H. (1995). Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78: 2726-2736.
- Beam, S.W.; Butler, W.R. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction*. 56: 133-142.

- Beam, S.W.; Butler, W.R. (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J. Dairy Sci.* 81(1): 121-131.
- Beam, S.W.; Butler, W.R. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54: 411-424.
- Beerda, B.; Ouweltjes, W.; Sebek, L.B.J.; Windig, J.J.; Veerkamp, R.F. (2007). Effects of genotype by environmental interactions on milk yield, energy balance, and protein balance. *J. Dairy Sci.* 90: 219-228.
- Bell, A.W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73(9): 2804-2819.
- Billon, P. (2001). Les robots de traite en France; impacte sur la qualité du lait en le système de production. In: *Proceedings Il Robot di Mungitura in Lombardia.* Cremona. Italia.
- Bittante, G.; Gallo, L.; Carnier, P.; Mantovani, R.; Schiavon, S.; Cassandro, M. (1999). Change in body condition score (BCS) during lactation in Simmental cows (lactation number – milk yield level). *Zootecnia e Nutrizione Animale.* 25(4-5): 169-176.
- Block, S.S.; Butler, W.R.; Ehrhardt, R.A.; Bell, A.W.; Van Amburgh, M.E.; Boisclair, Y.R. (2001). Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology.* 171: 339-348.
- Blum, J.W. (1992) Physiologische Grundlagen hoher Milchleistung beim Rind. *Schweiz Arch Tierheilk* 134: 213-229.
- Blum, J.W.; Kunz, P.L.; Leuenberger, H.; Gautschi, K.; Keller, M. (1983). Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. *Anim Prod* 36: 93-104.
- Bonczek, R.R.; Young, C.W.; Wheaton, J.E.; Miller, K.P. (1988). Responses of somatotropin, insulin, prolactin, and thyroxine to selection for milk yield in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 71(9): 2470-2479.
- Bösö, A.R.; Saukko, T.M.; Tesfa, A.T.; Lindberg, L.A. (2000). Fat infiltration in liver and activity of lecithin: cholesterol acyltransferase in serum of dry and lactating dairy cows. *Research in Veterinary Science.* 68: 169-173.
- Boyd, H. (1984). Aids to oestrous detection – A review. *Dairy Cow Fertility.* In: *Proceedings of Joint British Veterinarians Association and British Society of Animal Production Conference.* London.

- Bruinenberg, M.H.; van der Honing, Y.; Agnew, R.E.; Yan, T.; van Vuuren, A.M.; Valk, H. (2002). Energy metabolism of dairy cows fed on grass. *Livestock Production Science*. 75(2): 117-128.
- Butler, S.T.; Pelton, S.H.; Butler, W.R. (2006). Energy balance, metabolic status, and the first postpartum ovarian follicle wave in cows administered propylene glycol. *J. Dairy Sci.* 89: 2938-2951
- Butler, W.R. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 449-457.
- Butler, W.R. (2001). Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in post-partum dairy cows. *Anim. Sci.* 26: 133-145.
- Butler, W.R. (2003.). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 83: 211-218.
- Butler, W.R., Calaman, J.J.; Beam, S.W. (1996). Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74(4): 858-865.
- Butler, W.R.; Everett, R.W.; Coppock, C.E. (1981). The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53: 742-748.
- Butler, W.R.; Smith, R.D. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72: 767-783.
- Buxadé, C. (2002). El ordeño en el ganado vacuno: aspectos claves. Editorial Mundi-Prensa. España.
- Caja, G.; Ayadi, M.; Carré, X.; Xifra, M. (2002). Situación actual y prespectivas del ordeño robotizado en España. *Ganadería*. 13: 18-21.
- Calsamiglia, S. (1998). Valoración de los niveles de urea en leche: interpretación e implicaciones prácticas sobre la producción y reproducción. *Producción Animal*. 132: 71-85.
- Cameron, R.E.B.; Dyk, P.B.; Herdt, T.H.; Kaneene, J.B.; Miller, R.; Bucholtz, H.F.; Liesman, J.S.; Vandehaar, M.J.; Emery, R.S. (1998). Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *J. Dairy Sci.* 81(1): 1132-1139.

- Campbell, B.K.; Scaramuzzi, R.J.; Webb, R. (1995). Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement (UK)*. 49: 335-350.
- Campos, M.S.; Wilcox, C.J.; Head, H.H.; Webb, D.W.; Haven, J. (1994). Effects on production of milking three times daily on first lactation Holstein and Jersey in Florida. *J. Dairy Sci.* 77(3): 770-773.
- Canfield, R.W.; Butler, W.R. (1990). Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 7(3): 323-330.
- Canfield, R.W.; Sniffen, C.J.; Butler, W.R. (1990). Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73(9): 2342-2349.
- Capuco, A.V.; Ellis, S.E.; Halle, S.A.; Long, E.; Erdman, R.A.; Zhao, X.; Paape, M.J. (2003). Lactation persistency: insights from mammary cell proliferation studies. *J. Anim. Sci.* 81: 18-31.
- Carnero, J.C.; Busto, I. (2002). Mecanización integral: claves técnicas y su problemática. En: *El ordeño en el ganado vacuno: aspectos claves*. Buxadé, C. (Ed). Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Pp: 469-504.
- Carruthers, V. R., S. R. Davis, A. Bryant, H. V. Henderson, C. A. Morris, and P. J. A. Copeman. (1993). Response of Jersey and Friesian cows to once a day milking and prediction of response based on udder characteristics and milk composition. *J. Dairy Res.* 60:1-11
- Casida, L.E. (1961). Recent advances in reproductive efficiency: present status of the repeat-breeder cow problem. *J. Dairy Sci.* 44(12): 2323-2329.
- Chilliard, Y.; Bocquier, F.; Doreau, M. (1998). Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev* 38: 131-152.
- Claesson, O.; Hansson, A.; Gustafsson, N.; Brannang, E. (1959). Studies on monozygous cattle twins. XVII. Once-a-day milking compared with twice-a-day milking. *Acta Agric. Scand.* 9: 38-58.
- Clark, B.A.; Chagas, P.M.; Gore, B.; Verkerk, G.A. (2000). Prediction of postpartum anovulatory interval in dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production.* 60: 15-18.
- Clark., D.A.; Phyn, C.V.C.; Tong, M.J.; Collis, S.J.; Dalley, D.E. (2006). A systems comparison of once- versus twice-daily milking of pastured dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 1854-1862.

- Copeland, L. (1934). Milk and butter fat yields of Jersey cows as affected by frequency of milking. *J. Dairy Sci.* 17: 815-821.
- Cseh, S.B.; Fay, J.P.; Casaro, A. (1984). Changes in blood composition of pregnant cows during the onset of hypomagnesaemia. *The Veterinary Record.* 115(22): 567-570.
- Cunningham, M.J.; Clifton, D.K.; Steiner, R.A. (1999). Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biology of Reproduction.* 60(2): 216-222.
- Dahl, G.E. (2006). Effect of photoperiod on feed intake and animal performance. In: *Proceeding of the Tri-State Dairy Nutrition Conference.* Pp: 33-36.
- Dahl, G.E.; Elsasser, T.H.; Capuco, A.V.; Erdman, R.A.; Peters, R.R. (1997). Effect of a long daily photoperiod on milk yield and circulating concentrations of insulin-like growth factor-I. *J. Dairy Sci.* 80(11): 2784-2789.
- Dahl, G.E.; Wallace, R.L.; Shanks, R.D.; Lueking, D. (2004). Hot topic: Effects of frequent milking in early lactation: Effects on milk yield and udder health. *J. Dairy Sci.* 87: 882-885.
- Daifotis, A.G.; Weir, E.C.; Dreyer, B.E.; Broadus, A.E. (1992). Stretch-induced parathyroid hormone-related peptide gene expression in the rat uterus. *The Journal of Biological Chemistry.* 267(33): 23455-23458.
- Damario, M.A.; Bogovich, K.; Liu, H.C.; Rosenwaks, Z.; Poretsky, L. (2000). Synergistic effects of insulin-like growth factor-I and human chorionic gonadotropin in the rat ovary. *Metabolism.* 49(3): 314-320.
- Davis, S.R., Farr, V.C.; Henderson, H.V. (1987). Relationship of udder capacity of Friesian and Jersey cows to yield reduction under extended milking intervals. *Proc. 4th AAAP Animal Science Congress.* Hamilton. New Zeland. Pp: 151
- Davis, S.R.; Farr, V.C.; Stelwagen, K. (1999). Regulation of yield loss and milk composition during once-daily milking: a review. *Livestock Production Science.* 59(1): 77-94.
- Davis, S.R.; Hughson, G.A.; Bryant, A.M.; Mackenzie, D.D.S. (1985). A physiological basis of genetic improvement in milk production by Friesian and Jersey cows. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 45: 21-25.
- Decuypere, E., Buys, N., and Onagbesan, O. (1999) A mechanistic approach for understanding nutritional and selection effects on reproductive functioning. In: *Proceedings of the 10th International Congress on Production Diseases in*

- Farm Animals 1998, Utrecht, The Netherlands, pp 173-182. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- Delamaire, E.; Guinard-Flament, J. (2006). Longer milking intervals alter mammary epithelial permeability and the udder's ability to extract nutrients. *J. Dairy Sci.* 89: 2007-2016.
- DePeters, E.J.; Smith, N.E.; Acedo-Rico, J. (1985). Three or two times daily milking of older cows for entire lactations. *J. Dairy Sci.* 68: 123-132.
- De Vries, M.J.; Van der Beek, S.; Kaal-Lansbergen, L.M.T.E.; Ouweltjes, W.; Wilmink, J.B.M. (1999). Modeling of energy balance in early lactation and the effect of energy deficits in early lactation on first detected estrus postpartum in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82(9): 1927-1934.
- De Vries, M.J.; Veerkamp, R.F. (2000). Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* 83: 62-69.
- Dewhurst, R.J.; Knight, C.H. (1992). The response to thrice-daily milking and its relationship to cisternal storage capacity in dairy cows. *Anim. Prod.* 54: 459 (Abstr.).
- De Wit, A.A.C.; Cesar, M.L.F.; Kruip, T.A.M. (2001). Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complex. *J. Dairy Sci.* 84(8): 1800-1804.
- Diskin, M.G.; Mackey, D.R.; Roche, J.F.; Sreenan, J.M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 78(3-4): 345-370.
- Domecq, J.J.; Skidmore, A.L.; Lloyd, J.W.; Kaneene, J.B. (1997). Relationship between body condition scores and milk yield in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80(1): 101-112.
- Drackley, J.K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier. *J. Dairy Sci.* 82(11): 2259-2273.
- Dransfield, M.B.G.; Nebel, R.L.; Pearson, R.E.; Warnick, L.D. (1998). Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 81(7): 1874-1882.
- Edmonson, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71(1): 68-78.
- Edmunds, J. (1977). Multiple suckling of calves. *Dairy Sci. Abstr.* 39: 243-246.

- Ehrhardt, R.A.; Slepatis, R.M.; Siegal-Willott, J.; Van Amburgh, M.E.; Bell, A.W.; Boisclair, Y.R. (2000). Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology*. 166: 519-528.
- Elliot, G.M. (1961). The effect on milk yield of three times a day milking and of increasing the level of residual milk. *J. Dairy Res.* 28: 209-219.
- Elliot, J.M.; Loosli, J.K. (1959). Relationship of milk production efficiency to the relative proportions of the rumen volatile fatty acids. *J. Dairy Sci.* 42(5): 843-848.
- Erdman, R.A.; Varner, M. (1995). Fixed yield responses to increased milking frequency. *J. Dairy Sci.* 78(5): 1199-1203.
- Evertitt, G.C.; Phillips, D.S. (1971). Calf rearing by multiple suckling and the effects on the lactation performance of the cow. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 31: 22-40.
- Fahey, J.; Boland, M.P.; O'Callaghan, D. (2001). The effects of dietary urea on embryo development in superovulated donor ewes and on early embryo survival and development in recipient ewes. *Animal Science*. 72: 395-400.
- Farr, V.C.; Stelwagen, K.; Ken, M.A.; Davis, S.R.; Eichler, S.J. (1995). Effect of once daily milking (ODM) on enzyme activities in the bovine mammary gland. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 55:12.
- Fernandes, A.M.; Oliveira, C.A.F.; Tavolaro, P. (2004). Relationship between somatic cell counts and composition of milk from individual Holstein cows. *Arq. Inst. Biol.* 71(2): 163-166.
- Folman, Y.; Rosenberg, M.; Herz, Z.; Davidson, M. (1973). The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *Journal of Reproduction and Fertility*. 34: 267-278.
- Fonseca, F.A.; Britt, J.H.; McDaniel, B.T.; Wilk, J.C.; Rakes, A.H. (1983). Reproductive traits of Holstein and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection estrus, conception rate, and days open. *J. Dairy Sci.* 66(5): 1128-1147.
- Forshell, K.P.; Andersson, L.; Pehrson, B. (1991). The relationships between the fertility of dairy cows and clinical and biochemical measurements, with

- special reference to plasma glucose and milk acetone. *J. Vet. Med.* 38: 608-616.
- Fricke, P.M.; Wiltbank, M.C. (1999). Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology*. 52: 1133-1143.
- Fulkerson, W.J. (1981). Multiple suckling can benefit the cow and calf. *J. Agric. Tasman.* 52: 32-35.
- Gadhve, R.; Mantri, A.M.; Talvelkar, B.A.; Deshmukh, B.T. (2000). Serum protein profile during gestation and early post-partum period in Gir and crossbred cows. *Indian Veterinary Journal*. 77(2): 114-116.
- Gallo, L.; Mantonvani, R.; Contiero, B. (1997). Change of body condition score (BCS) in lactating Rendena cows (Veneto). *Atti della Associazione Scientifica di Produzione Animale*. 12: 207-208.
- García-Inspuerto, I.; López-Gatius, F.; Bech-Sabat, G.; Santolaria, P.; Yániz, J.L.; Nogareda, C.; De Rensis, F.; López-Bejar, M. (2007). Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology*. 67(8): 1379-1385.
- Garnworthy, P.C.; Jones, G.P. (1987). The influence of body condition at calving and dietary protein supply on voluntary food intake and performance in dairy cows. *Anim. Prod.* 44: 347-353.
- Garnworthy, P.C.; Topps, J.H. (1982). The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim. Prod.* 35: 113-119.
- Garrett, J.E.; Geisert, R.D.; Zavy, M.T.; Morgan, G.L. (1988). Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal Reproduction and Fertility*. 84: 437-446.
- Garrison, E.R.; Turner, C.W. (1936). The effect of udder irrigation and milking interval on milk secretion. *MO Agric. Sta. Res. Bul.* 59.
- Gazal, O.S.; Leshin, L.S.; Stanko, R.L.; Thomas, M.G.; Keisler, D.H.; Anderson, L.L.; Williams, G.L. (1998). Gonadotropin-releasing hormone secretion into third-ventricle cerebrospinal fluid of cattle: correspondence with the tonic and surge release of luteinizing hormone and its tonic inhibition by suckling and neuropeptide Y. *Biology of Reproduction*. 59(3): 676-683.
- Gearhart, M.A.; Curtis, C.R.; Erb, H.N.; Smith, R.D.; Sniffen, C.J.; Chase, L.E.; Cooper, M.D. (1990). Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 73(11): 3132-3140.

- Ghergariu, S.; Rowlands, G.S.; Pop, A.; Danielescu, M.; Moldovan, A. (1984). A comparative study of metabolic profiles obtained in dairy herds in Romania. *Br. Vet. J.* 140 (6): 600-608.
- Gillund, P.; Reksen, O.; Grhn, T.; Karlberg, K. (2001). Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84(6): 1390-1396.
- Gisi, D.D.; DePeters, E.J.; Pelissier, C.L. (1986). Three times daily milking of cows in California dairy herds. *J. Dairy Sci.* 69: 863-868.
- Goff, K.R.; Gaunya, W.S. (1977). Three X daily milking: a study of production and economic gain in six 3 X herds. *Proc. Mtg. N. E. Am. Soc. Anim. Sci. and Am. Dairy Sci. Assoc. Mimeo. Univ. Connecticut, Storrs, CT.*
- Gómez-Tagle-Zárate, R. (1993). Evaluación del contenido mineral sérico y en pelo en vacas Holstein con problemas reproductivos (vacas repetidoras) en explotación intensiva. *Vet. Mex.* 24: 346-347.
- Gong, J.G.; Lee, W.J.; Garnsworthy, P.C.; Webb, R. (2002). Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction.* 123: 419-427.
- Grant, R.J. (2003). Taking advantage of dairy cow behavior: cost of ignoring time budget. In *Proc. 2003 Cornell Nutr. Conf. For Feed Manuf.* October 21-23. Cornell University. Wyndham Syracuse Hotel. Syracuse, NY.
- Grings, E.E.; Roffler, R.E.; Deitelhoff, D.P. (1991). Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diets. *J. Dairy Sci.* 74(8): 2580-2587.
- Hady, P.J.; Domecq, J.J.; Kaneene, J.B. (1994). Frequency and precision of body condition scoring in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 77(6): 1543-1547.
- Halachmi, I. (1999). Design methodology for the robotizing milking barn: modeling, simulation, validation and optimization. PhD. Thesis
- Hale, S.A.; Capuco, A.V.; Erdman, R.A. (2003). Milk yield and mammary growth effects due to increased milking frequency during early lactation. *J. Dairy Sci.* 86: 2061-2071.
- Hammon, D.S.; Wang, S.; Holyoak, G.R. (2000). Ammonia concentration in bovine follicular fluid and its effect during in vitro maturation in subsequent embryo development. *Anim. Reprod. Sci.* 58(1-2): 1-8.

- Hansen, L.B. (2000). Consequences of selection for milk yield from a geneticist's viewpoint. *J. Dairy Sci.* 83(5): 1145-1150.
- Hanson, A.; Bonnier, G. (1947). Studies of monozygus cattle twins. VIII. Amount and composition of the milk as affected by frequency of milking. *Acta Agr. Suec.* II: 211.
- Henry, B.A.; Godin, J.W., Alexander, W.S.; Tilbrook, A.J.; Canny, B.J.; Dunshea, F.; Rao, A.; Mansell, A.; Clarke, I.J. (1999). Central Administration of Leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the Pituitary Gland: Evidence for a dissociation of effects on Appetite and neuroendocrine function. *Endocrinology.* 140(3): 1175-1182.
- Herdt, T.H. (1988). Fatty liver in dairy cows. *The Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice (USA).* 4(2): 269-286.
- Hermas, S.A.; Young, C.W.; Rust, J.W. (1987). Effects of mild inbreeding on productive and reproductive performance of Guernsey cattle. *J. Dairy Sci.* 70: 712-715.
- Hernández, J. (1991). Estudio de distintos parámetros hematológicos y séricos en razas bovinas (*Bos taurus*, Linnaeus 1758) rústicas de Galicia. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- Heuer, C.; Schukken, Y.H.; Dobbelaar, P. (1999). Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 82(2): 295-304.
- Heuer, C.; Schukken, H.; Jonker, L.J.; Wilkinson, J.I.D.; Noordhuizen, J.P.T.M. (2001). Effect of monensin on blood ketone bodies, incidence and recurrence of disease and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84(5): 1085-1097.
- Heuer, C.; van Straalen, W.M.; Schukken, Y.H.; Dirkwager, A.; Noordhuizen, P.T.M. (2000). Prediction of energy balance in a high yielding dairy herd in early lactation: model development and precision. *Livestock Production Science.* 65(1-2): 91-105.
- Hickson, R.E.; López-Villalobos, N.; Dalley, D.E.; Clark, D.A.; Holmes, C.W. (2006). Yields and persistency of lactation in Friesian and Jersey cows milked once daily. *J. Dairy Sci.* 89: 2017-2024.
- Hillerton, J.E.; Knight, C.H.; Turvey, A.; Wheatley, S.D.; Wilde, C.J. (1990). Milk yield and mammary function in dairy cows milked four times daily. *J. Dairy Res.* 57(3): 285-294.

- Hoagland, T.A.; Barnes, M.A. (1984). Serum and milk progesterone in Syncro-Mate B treated postpartum beef cows. *Theriogenology*. 22(3): 247-257.
- Hoffman, B.; Hamburger, R. (1973). Progesterone in milk; determination by radioimmunoassay: relations to corpus luteal function and milk fat concentrations. *Zuchthygiene* 8, 154-162.)
- Hogeveen, H.; Ouweltjes, W.; de Koning, C.J.A.M.; Stelwagen, K. (2001). Milking interval, milk production and milk flow-rate in an automatic milking system. *Livestock Production Science*. 72(1-2): 157-167.
- Holtenius, P. (1989). Plasma lipids in normal cows around partus and in cows with metabolic disorders with and without fatty liver. *Acta Vet. Scand.* 30(4): 441-445.
- Holter, J.B.; Slotnick, M.J.; Hayes, H.H.; Bozak, C.K.; Urban, W.E.; McGilliard, M.L. (1990). Effect of prepartum dietary energy on condition score, postpartum energy, nitrogen partitions, and lactation production responses. *J. Dairy Sci.* 73(12): 3502-3511.
- Houseknecht, K.L.; Baile, C.A.; Matteri, R.L.; Spurlock, M.E. (1998). The biology of leptin: a review. *J. Anim. Sci.* 76(5): 1405-1420.
- Huntington, G.B. (1990). Energy metabolism in the digestive tract and liver of cattle: influence of physiological state and nutrition. *Reprod. Nutr. Dev.* 30: 35-47.
- Huszenicza, G.; Fekete, S.; Molnár, L.; Haraszti, J.; Solti, L.; Bicsérdy, G.; Czabán, L.; Körffy, K.; Bulla, G.; Yaro, A.C. (1987). Influence of the body condition, body mass change and different levels of energy intake on the postpartal ovarian activity of beef cows. *Acta Vet. Hung.* 35(4): 359-372.
- Huszenicza, G. Haraszti, J.; Molnar, L.; Solti, L.; Fekete, S.; Ekes, K.; Yaro, A.C. (1988). Some metabolic characteristics of dairy cows with different post partum ovarian function. *Journal of Veterinary Medicine, Series A.* 35(7): 506-515.
- Ipema, A.H.; Benders, E. (1992). Production, duration of machine-milking and teat quality of dairy cows milked 2, 3 or 4 times daily with variable intervals. In: Ipema, A.I.; Lippus, A.C.; Metz, J.H.M.; Rossing, W, Editors. *Proced. International Symposium on Prospects for Automatic milking. EAAP. The Netherlands. N° 65: 244-252.*

- Jaggi, R.; Marti, A.; Guo, K.; Feng, Z.; Friis, R.R. (1996). Regulation of a physiological apoptosis: mouse mammary involution. *J. Dairy Sci.* 79(6): 1074-1084.
- Jenness, R. (1985). Biochemical and nutritional aspects of milk and colostrums. In: Larson, B.L. (Ed). *Lactation*. The Iowa State University Press. Ames. IA. Pp: 164-197.
- Jorritsma, R. (2003). Negative energy balance in dairy cows as related to fertility. Tesis Doctoral. Utrecht University. Neatherlands.
- Jorritsma, R.; Cesar, M.L.; Hermans, J.T.; Kruitwagen, C.L.J.J.; Vos, P.L.A.M.; Kruip, T.A.M. (2004). Effects of non-esterified fatty acids on bovine granulose cells and developmental potential of oocytes in vitro. *Animal Reproduction Science.* 81(3-4): 225-235.
- Jorritsma, R.; Jorritsma, H.; Schukken, Y.H.; Bartlett, P.C.; Wensing, Th.; Wentink, G.H. (2001). Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in The Netherlands. *Livestock Production Science.* 68(1): 53-60.
- Jorritsma, R.; Jorritsma, H.; Schukken, Y.H.; Wentink, G.H. (2000). Relationships between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. *Theriogenology.* 54(7): 1065-1074.
- Jorritsma, R.; Wensing, T.; Kruip, T.A.M.; Vos, P.L.A.M.; Noordhuizen, J.P.T.M. (2003). Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet. Res.* 34: 11-26.
- Jovov, B.; Lewis, S.A.; Crowe, W.E.; Berg, J. R.; Wills, N.K. (1994). Role of intracellular Ca²⁺ in modulation of tight junction resistance in A6 cells. *Am. J. Physiol.* 266: F775-F784.
- Jurjanz, S.; Laurent, F.; Graupner, M. (1993). Increased milking frequency on milk composition. *Monatshefte fuer Veterinaermedizin.* 48 (11-12): 631-634.
- Justesen, P.; Rasmussen, M.D. (2000). Improvement of milk quality by the Danish AMS self-monitoring program. In: *Proceedings of the International Symposium Robotic Milking*. Leystad. Netherlands. Pp: 83-88.
- Kaartinen, L.; Ali-Vehmas, T.; Sandholm, M. (1990). Effect of frequent milking on milk NAGase, plasmin, trypsin inhibitory capacity and the quality of whey as the growth médium for mastitis pathogens. *J. Vet. Med. Series B.* 37: 337-344.

- Kaddouri, M.; Brassat, N.; Alvinerie, M.; Eeckhoutte, C.; Bonfils, C.; Derancourt, J.; Galtier, P. (1992). Ontogenic development of liver progesterone metabolism in female sheep. Contribution of cytochrome P4502B and P4503A subfamilies. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 42(5): 499-508.
- Kamgarpour, R., Daniel, R.C.W.; Fenwick, D.C.; McGuigan, K.Mc.; Murphy, G. (1999). Post partum subclinical hypocalcaemia and effects on ovarian function and uterine involution in dairy herd. *The Veterinary Journal*. 158(1): 59-67.
- Kask, K. (1999). Postpartum reproductive performance in dairy cows under different managemental systems and in cows with induced parturitions. A clinical, microbiological, morphological, hormonal and granulocyte function study. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*. 61: 42pp.
- Kelly, A.L.; Reid, S.; Joyce, P.; Meaney, W.J.; Foley, J. (1998). Effect of decreased milking frequency of cows in late lactation on milk somatic cell count, polymorphonuclear leucocyte numbers, composition and proteolytic activity. *J. Dairy Res*. 65: 365-373.
- Kim, I.H.; Suh, G.H. (2003). Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology*. 60(8): 1445-1456.
- Kirby, C.J.; Smith, M.F.; Keisler, D.H.; Lucy, M.C. (1997). Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. *J. Dairy Sci*. 80: 273-285.
- Klei, L.R.; Lynch, J.M.; Barbano, D.M.; Oltenacu, P.A.; Lednor, A.J.; Bandler, D.K. (1997). Influence of milking three times a day on milk quality. *J. Dairy Sci*. 80: 427-436.
- Klungel, G.H.; Slaghuis, B.A.; Hogeveen, H. (2000). The effect of the introduction of automatic milking systems on milk quality. *J. Dairy Sci*. 83(9): 1998-2003.
- Knight, C.H. (1994). Short-term oxytocin treatment increases bovine milk yield by enhancing milk removal without any direct action on mammary metabolism. *Journal Endocrinology*. 142: 471-473.
- Knight, C.H.; Dewhurst, R.J. (1994). Once daily milking of dairy cows: relationship between yield loss and cisternal milk storage. *J. Dairy Res*. 61: 441-449.

- Knight, C.H.; Hillerton, J.E.; Kerr, M.A.; Teverson, R.M.; Turvey, A.; Wilde, C.J. (1992). Separate and additive stimulation of bovine milk yield by the local and systemic galactopoietics stimuli of frequent milking and growth hormone. *J. Dairy Res.* 59(3): 243-252.
- Knight, C.H.; Hirst, D.; Dewhurst, R.J. (1994). Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. *J. Dairy Res.* 61: 167-177.
- Knight, C.H.; Peaker, M.; Wilde, C.J. (1998). Local control of mammary development and function. *Rev. Reprod.* 3: 104-112.
- Knight, C.H.; Wilde, C.J. (1987). Mammary growth during lactation: implications for increasing milk yield. *J. Dairy Sci.* 70(9): 1991-2000.
- Knight, C.H.; Wilde, C.J. (1993). Mammary cell changes during pregnancy and lactation. *Livestock Production Science.* 35(1-2): 3-19.
- Knowles, T.G.; Edwards, J.E.; Bazeley, K.J.; Brown, S.N.; Butterworth, A.; Warriss, P.D. (2000). Changes in blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *The Veterinary Record.* 147(21): 593-598.
- Knutson, R.J.; MacKenzie, D.D.S.; Davis, S.R.; McCutcheon, S.N. (1993). The effect of once daily milking on concentrations and yields of plasminogen, plasmin, and other whey proteins. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* 53: 155-158.
- Koning, K. (2002) El ordeño automático: el reto del desarrollo. Jornada Técnica sobre Ordeño Robotizado, 21-22 de febrero de 2002. Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Barcelona).
- Kononoff, P.J.; Heinrichs, A.J.; Lehman, H.A. (2003). The effect of corn silage particle size on eating behavior, chewing activities, and rumen fermentation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 33343-3353.
- Koshi, J.H.; Petersen, W.E. (1954). The effect of the length of intervals between milking on the milk and butterfat production. *J. Dairy Sci.* 37: 299-305.
- Kruip, T.A.M.; Morice, H.; Robert, M.; Ouweltjes, W. (2002). Robotic milking and its effect on fertility and cell counts. *J. Dairy Sci.* 85(10): 2576-2581.
- Kruip, T.A.M.; Stefanowska, J.; Ouweltjes, W. (2000). Robot milking and effect on reproduction in dairy cows: a preliminary study. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 443-447.
- Kruip, T.A.M.; Wensing, T.; Vos, P.L.A.M. (2001). Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. In: Diskin, M.G. (Editor). *Fertility in the high producing dairy cow.* Ocasional Publication Nº 26. British Society of Animal Science. Edinburgh. Pp: 63-79.

- Kunz, P.L.; Blum, J.W.; Hart, I.C.; Bickel, H.; Landis, J. (1985). Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Anim Prod* 40: 219-231.
- Labussière, J.; Coindet, J. (1968). Effet de la suppression de la traite du dimanche soir, chez les bovines de race Française Frisonne Pie Noire. *Ann. Zootech.* 14: 63-126.
- Lamming, G.E.; Bulman, D.C. (1976). The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Br. Vet. J.* 132(5): 507-517.
- Lamming, G.E.; Darwash, A.O. (1998). The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 52(3): 175-190.
- Lamming, G.E.; Wathers, D.C.; Peters, A.R. (1981). Endocrine patterns of the postpartum cow. *J. Reprod. Fertil Suppl.* 30: 155-170.
- Laven, R.A.; Scaramuzzi, R.J.; Wathes, D.C.; Peters, A.R.; Parkinson, T.J. (2007). Recent research on the effects of excess dietary nitrogen on the fertility of dairy cows. *The Veterinary Record.* 160: 359-362.
- Li, M.; Liu, X.; Robinson, G.; Bar-Peled, U.; Wagner, K.; Young, W.S.; Hennighausen, L.; Furth, P.A. (1997). Mammary-derived signals activate programmed cell death during the first stage of mammary gland involution. *P.N.A.S.* 94(7): 3425-3430.
- Lind, O.; Ipema, A.H.; Koning, C. de; Mottram, T.T.; Hermann, H.J. (2000). Automatic milking. *Bulletin of the International Dairy Federation.* 348: 3-14.
- Ling, K.; Jaakson, H.; Samarütel, J.; Leesmäe, A. (2003). Metabolic status and body condition score of Estonian Holstein cows and their relation to some fertility parameters. *Veterinarija ir Zootechnika.* 24(46): 94-100.
- Linzell, J.L.; Peaker, M. (1971). The effects of oxytocin and milk removal on milk secretion in the goat. *J. Physiol.* 261: 717-734.
- Loeffler, S.H.; Vries, M.J.; Schukken, Y.H. (1999). The effects of time disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82(12): 2589-2604.
- López, S.E., López, J.; Junior W.S. (2004). Serous metabolite levels of early lactation dairy cows supplemented with different lipid sources. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal.* 12(3): 96-102.

- López-Gatius, F. (2003). Is fertility declining in dairy cattle?: A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology* 60:89–99
- López-Gatius, F.; Santolaria, P.; Yániz, J.; Rutlland, J.; López-Béjar, M. (2002). Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology*. 57(4): 1251-1261.
- Luci, M.C. (2000). Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J. Dairy Sci.* 83(7): 1635-1647.
- Lucy, M.C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?. *J. Dairy Sci.* 84(6): 1277-1293.
- Lucy, M.C. (2003). Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reprod. Suppl.* 61: 415-427.
- Lucy, M.C.; Staples, C.R.; Michel, F.M.; Thatcher, W.W. (1991). Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74(2): 473-482.
- Lucy, M.C.; Beck, J.; Staples, C.R.; Head, H.H.; de la Sota, R.L.; Thatcher, W.W. (1992a). Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-1) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod. Nutr. Dev.* 32: 331-341.
- Lucy, M.C.; Savio, J.D.; Badinga, L.; de la Sota, R.L.; Thatcher, W.W. (1992b). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.* 70: 3615-3626.
- Lucy, M.C.; Weber, W.J.; Baumgard, L.H.; Seguin, B.S.; Koenigsfeld, A.T.; Hansen, L.B.; Chester-Jones, H.; Crooker, B.A. (1998). Reproductive endocrinology of lactating dairy cows selected for increased milk production. *J. Anim. Sci.* 76(Suppl. 1): 296 (Abstr.).
- Ludwin, I. (1942). The effect of number of daily milkings upon persistency of milk production. *J. Anim. Sci.* 1: 300-308.
- Lumerud, A.C.; Marx, G.D.; Miller, G.E.; Carnolo, E.U.; Donkers, J.D. (1963). The true secretion rates as affected by the length of previous milking intervals, and adequacy of milk ejection. *MN. Agri. Sta. Sci. Series.* Nº 5062.
- Lush, J.L.; Shrode, R.R. (1950). Changes in milk production with age and milking frequency. *J. Dairy Sci.* 33(5): 338-357.

- Lynch, J.M.; Barbano, D.M.; Bauman, D.E.; Hartnell, G.F.; Nemeth, M.A. (1992). Effect of a prolonged-release formulation of N-Methionyl Bovine Somatotropin (Sometribove) on milk fat. *J. Dairy Sci.* 75(7): 1794-1809.
- Macmillan, K.L.; Lean, I.J.; Westwood, C.T. (1996). The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Australian Veterinary Journal.* 73(4): 141-147.
- Macovei, N.; Gricore, C.; Golumbovini, E.; Cristescu, P.; Costea, V.; Magureanu, P.; Voicu, G.; Contota, N. (1986). Valori de referinta ale unor parametri biochemica si hematologici la taurine. *Lucranite Inst. Cercetari Vet. Biopreparate Pasteur.* 17: 73-87.
- Madara, J.L. (1988). Tight junction dynamics: is paracellular transport regulated?. *Cell.* 53(4): 497-498.
- Marcos, E.; Mazur, A.; Cardot, P.; Rayssiguier, Y. (1990). Serum apolipoproteins B and A-I and naturally occurring fatty liver in dairy cows. *Lipids.* 25(9): 575-577.
- Margolles, E. (1983). Blood metabolites in high-producing cows during gestation-lactation under Cuban conditions and their relationship with metabolic disorders. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias.* 14(4): 221-229.
- Marion, G.B.; Gier, H.T. (1968). Factors affecting bovine ovarian activity after parturition. *J. Anim. Sci.* 27: 1621-1626.
- Markusfeld, O.; Galon, N.; Ezra, E. (1997). Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. *The Veterinary Record.* 141(3): 67-72.
- Mayer, H.; Schams, D.; Prokopp, A.; Worstorff, H. (1984). Effects of manual stimulation and delayed milking on secretion of oxytocin and milking characteristics in dairy cows. *Milchwissenschaft.* 39(11): 666-670.
- Mayne, C.S.; Mackey, D.R.; Verner, M.; Caughey, W.J.; Gordon, F.J.; McCoy, M.A.; Lennox, S.D.; Catney, D.C.; Wylie, A.R.G.; Kennedy, B.W.; (2002). Fertility of dairy cows in Northern Ireland. *The Veterinary Record.* 150(23): 707-713.
- McFadden, T.B. (1996). Prospects for improving lactational persistency. Pages 319-339 in *Milk composition, production and biotechnology.* R.A.S. Welch, D.J.W. Burns, S.R. Davis, A.I. Popay, and C.G. Prosser, eds. CAB International, New York
- McFadden, T.B.; Akers, R.M.; Kazmer, G.W. (1987). Alpha-lactalbumin in bovine serum: relationships with udder development and function. *J. Dairy Sci.* 70(2): 259-264.

- McGuire, M.A.; Bauman, D.E.; Dwyer, D.A.; Cohick, W.S. (1995). Nutritional modulation of the somatotropin/insulin-like growth factor system: response to feed deprivation in lactating cows. *J. Nutr.* 125(3): 493-502.
- McGuire, M.A.; Beede, D.K.; Collier, R.J.; Buonomo, F.C.; DeLorenzo, M.A.; Wilcox, C.J.; Huntington, G.B.; Reynolds, C.K. (1991). Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin, insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-II, and thyroid hormones in plasma of lactating Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 69(5): 2050-2056.
- McMeekan, C.P.; Brumby, P.J. (1956). Milk production and interval between milking. *Nature.* 178: 799
- Medway, W.; Prier, J.E.; Wilkinson, J.S. (1980). *Patología clínica veterinaria*. 1ª Ed. Uthea, México.
- Mee, M.O.; Stevenson, J.S.; Minton, J.E. (1991). First postpartum luteal function in dairy cows after ovulation induced by progestogen and gonadotropin-releasing hormone. *J. Dairy Sci.* 74(5): 1573-1581.
- Meikle, A.; Kulcsar, M.; Chilliard, Y.; Febel, H.; Delavaud, C.; Cavestany, D.; Chilibroste, P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction.* 127: 727-737.
- Meyer, D.J.; Coles, E.; Rich, L. (1992). *Veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis*. Ed. Saunders. Philadelphia.
- Miettinen, P.V.A. (1991). Correlation between energy balance and fertility in Finnish dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 32(2): 189-196.
- Moore, D.A.; Ishler, V. (1997). Managing dairy cows during the transition period: focus and ketosis. *Veterinary Medicine.* 92(12): 1061-1072.
- Moore, D.A.; Varga, G. (1996). BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. *The Compendium on continuing education for the Practicing Veterinarian.* 18(6): 712-721.
- Morag, M. (1973). Two and three times-a-day milking of cows. *Acta Agric. Scand.* 23: 252-260.
- Morgan, R.F.; Davis, H.P. (1931). The influence of number of daily milkings on the production of dairy cows. *Nebraska Agricultural Experimental Station Bulletin* 59.

- Morrow, D.A.; Roberts, S.J.; McEntee, K.; Gray, H.G. (1966). Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 149: 1596-1609.
- Moss, R.J.; O'Grady, P. (1978). Effect of multiple suckling on liveweight, milk production and fertility of dairy cows. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 12: 224 (Abstr.).
- Murphy, S.C.; Cranker, K.; Senyk, G.F.; Barbano, D.M. (1989). Influence of bovine mastitis on lipolysis and proteolysis in milk. *J. Dairy Sci.* 72(3): 620-626.
- Nakao, T.; Moriyoshi, M.; Kawata, K. (1992). The effect of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on subsequent reproductive performance in high and medium producing dairy cows. *Theriogenology.* 37(2): 341-349.
- Nakao T, Ono K. (2003). A national survey of artificial insemination technologies and reproductive performance in cattle. *Livestock Artificial Insemination.* 215: 11-38
- Nebel, R.L.; McGilliard, M.L. (1993). Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3257-3268.
- Neijenhuis, F.; Klungel, G.H.; Hogeveen, H. (2001). Recovery of cow teats after milking as determined by ultrasonographic scanning. *J. Dairy Sci.* 84(12): 2599-2606.
- Nicoletti, J.L.M.; Kohatagawa, A.; Gandolfi, W.; Amaguti, P.; Quintanilha, A.M.N.P. (1981). Alguns teores de constituintes séricos e hemograma em vacas da raça Gir, Holandês Preto e Branco e Mestiças (Girolando), na região de Borucatu, SP. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais.* 33 (1): 19-30.
- NRC, 2001. Nutrient requirement for dairy cattle. 7th rev. Ed. National Academy of Science Whashington D.C.
- O'Brien, B.; Dillon, P.; Murphy, J.J.; Mehra, R.K.; Guinee, T.P.; Connolly, J.F.; Kelly, A.; Joyce, P. (1999). Effects of stocking density and concentrate supplementation of grazing dairy cows on milk production, composition and processing characteristics. *Journal of Dairy Research.* 66: 165-176.
- O'Callahan, D.; Lozano, J.M.; Fahey, J.; Gath, V.; Snijders, S.; Boland, M.P. (2001). Relationships between nutrition and fertility in cattle. In: *Fertility in the high-producing dairy cow.* Br. Soc. Anim. Sci. Occasional Publication. Nº 26. Edinburgh. UK. Pp: 147-160.

- Olson, J.D.; Ball, L.; Mortimer, R.G. (1984). Therapy of postpartum uterine infections. Proceedings 17th Annual Convention American Association of Bovine Practitioners. Pp: 85-88.
- Opsomer, G.; Coryn, M.; Deluyker, H.; de Kruif, A. (1998). An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod. Domest. Anim.* 33: 193-204.
- Opsomer, G.; Coryn, M.; de Kruif, A. (1999). Measurement of ovarian cyclicity in the post partum dairy cow by progesterone analysis. *Reprod. Dom. Anim.* 34: 297-300.
- Opsomer, G.; Grohn, Y.T.; Hertl, J.; Coryn, M.; Deluyker, H.; de Kruif, A. (2000). Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology.* 53: 841-857.
- Österman, S. (2003). Extended calving interval and increased milking frequency in dairy cows. Effects on productivity and welfare. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Ouweltjes, W.; Beerda, B.; Windig, J.J.; Calus, M.P.L.; Veerkamp, R.F. (2007). Effects of management and genetics on udder health and milk composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 229-238.
- Patton, J.; Kenny, D.A.; Mee, J.F.; O'Mara, F.P.; Wathes, D.C.; Cook, M.; Murphy, J.J. (2006). Effect of milking frequency and diet on milk production, energy balance, and reproduction in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89: 1478-1487.
- Pearson, R.E.; Fulton, L.A.; Thompson, P.D.; Smith, J.W. (1979). Three times a day milking during first half of lactation. *J. Dairy Sci.* 62: 1941-1950.
- Pelissier, C.L.; Koong, L.J.; Bennett, L.F. (1978). Influence of milking 3 times daily on milk and fat production. *J. Dairy Sci.* 61(Suppl.1): 132 (Abstr.)
- Peters, R.R.; Chapin, L.T.; Emery, R.S.; Tucker, H.A. (1981). Milk yield, feed intake, prolactin, growth hormone, and glucocorticoid response of cows to supplemented light. *J. Dairy Sci.* 64 (8): 1671-1678.
- Philipsson, J.; Banos, G.; Arnason, T. (1994). Present and future uses of selection index methodology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 77: 3252-3261.
- Pieterse, M.C.; Taverne, M.A.; Willemse, A.H. (1990). Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *The Veterinary Record.* 126(22): 552-554.
- Plonait, H. (1984). Elementos de análisis clínico veterinario. Ed. Acribia. Zaragoza.

- Politis, I. (1996). Plasminogen activator system: implications for mammary cell growth and involution. *J. Dairy Sci.* 79(6): 1097-1107.
- Politis, I.; Lachance, E.; Block, E.; Turner, J.D. (1989). Plasmin and plasminogen in bovine milk: a relationship with involution?. *J. Dairy Sci.* 72(4): 4900-4906.
- Pomies, D.; Bony, J. (2000). Comparison of hygienic quality of milk collected with a milking robot vs. with a conventional milking parlor. In: *Proceedings of the International Symposium Robotic Milking*. Lelystad. The Netherlands. Pp: 122-123.
- Poole, D.A. (1982). The effects of milking cows three times daily. *Anim. Prod.* 34: 197-201.
- Poretsky, L.; Kalin, M.F. (1987). The gonadotropic function of insulin. *Endocrine Reviews.* 8(2): 132-141.
- Pryce, J.E.; Coffey, M.P.; Simm, G. (2001). The relationship between body condition score and reproductive performance. *Journal of Dairy Science.* 84(6): 1508-1515.
- Pryce, J.E.; Veerkamp, R.F.; Thompson, R.; Hill, W.G.; Simm, G. (1997). Genetic aspects of common health disorders and measures of fertility in Holstein Friesian dairy cattle. *Animal Science.* 65(3): 353-360.
- Pursley, J.R.; Silcox, R.W.; Wiltbank, M.C. (1998). Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81(8): 2139-2144.
- Pysera, B.; Opalka, A. (2000). The effect of gestation and lactation of dairy cows on lipid and lipoprotein patterns and composition in serum during winter and summer feeding. *Journal of Animal and Feed Sciences.* 9: 411-424.
- Quarrie, L.H.; Addey, C.V.P.; Wilde, C.J. (1994). Local regulation of mammary apoptosis in the lactating goat. *Biochemical Society Transactions.* 22(2): 178S
- Quintela, L.A. (1995). Estudio de la influencia de la composición sérica durante el postparto en las características reproductivas de las hembras bovinas. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela.
- Quintela L.A.; Díaz C.; Herradón P.G.; Peña A.I.; Becerra J.J. (2006). *Ecografía y Reproducción en la Vaca*. Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico. Universidad de Santiago de Compostela.

- Rabiee, A.R.; Lean, I.J.; Gooden, J.M.; Miller, B.G.; Scaramuzzi, R.J. (1997). An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio-venous difference methods in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*. 48(1): 9-25.
- Rabiee, A.R., Macmillan, K.L.; Schwarzenberger, F. (2001). The effect of level of feed intake on progesterone clearance rate by measuring faecal progesterone metabolites in grazing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 67(3-4): 205-214.
- Rabiee, A.R., Macmillan, K.L.; Schwarzenberger, F. (2002). Plasma, milk and faecal progesterone concentrations during the oestrous cycle of lactating dairy cows with different milk yields. *Anim. Reprod. Sci.* 74(3-4): 121-131.
- Rasmussen, M.D.; Blom, J.Y.; Nielsen, L.A.H.; Justesen, P. (2001). Udder health of cows milked automatically. *Livestock Prod. Sc.* 72: 147-156.
- Reist, M. (2001). Characterization of high yielding dairy cows with regard to stability of metabolism and reproduction. Tesis Doctoral. Zürich.
- Reist, M.; Erdin, D.; von Euw, D.; Tschuemperlin, K.; Leuenberger, H.; Dalavaud, C.; Chilliard, Y.; Hammon, H.M.; Kuenzi, N.; Blum, J.W. (2003). Concentrate feeding strategy un lactating dairy cows: metabolic and endocrine changes whit emphasis on Leptin. *J. Dairy Sci.* 86: 1690-1706.
- Reist, M.; Koller, A.; Busato, A.; Kupfer, U.; Blum, J.W. (2000). First ovulation and ketone body status in the early postpartum period of dairy cows. *Theriogenology* 54: 685-701.
- Rhodes, F.M.; Fitzpatrick, L.A.; Entwistle, K.W.; Kinder, J.E. (1995). Pulsatile hormone secretion during the first ovarian follicular wave in *Bos indicus* heifers. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 49: 523-526.
- Riond, J.L.; Kocabagli, N.; Spichiger, U.E.; Wanner, M. (1995). The concentration of ionized magnesium in serum during the periparturient period of non-parectic dairy cows. *Veterinary Research Communications*. 19(3): 195-203.
- Roche, J.F.; Mackey, D.; Diskin, M.D. (2000). Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 703-712.
- Rodríguez, I.; Pérez, C.C.; España, F.; Dorado, J.; Hidalgo, M.; Sanz, J. (2004). Niveles químicos plasmáticos en vacas repetidoras tras I.A. *Arch. Zootec.* 53: 59-68.
- Ronge, H.; Blum, J.W.; Clément, F.; Jans, F.; Leuenberger, H.; Binder, H. (1988) Somatomedin C in dairy cows related to energy and protein supply and to milk production. *Anim Prod* 47: 165-183.

- Rosenberger, G. (1983). Enfermedades de los bovinos. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- Roussel, J.D.; Seybt, S.H.; Toups, G. (1982). Metabolic profile testing for Jersey cows in Louisiana: reference values. *Am. J. Vet. Res.* 43(6): 1075-1077.
- Royal, M.; Mann, G.E.; Flint, A.P.F. (2000). Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *The Veterinary Journal.* 160(1): 53-60.
- Ruegg, P.L.; Milton, R.L. (1995). Body condition scores of Holstein cows on Prince Edwards Island, Canada: Relationships with yield, reproductive performance, and disease. *J. Dairy Sci.* 78(3): 552-564.
- Ruíz-Labourdette, H. (2002). Adaptación de las explotaciones de VLAP a la robotización en el ordeño. En: *El ordeño en el ganado vacuno: aspectos claves.* Buxadé, C. (Ed). Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. Pp: 505-537
- Rukkwamsuk, T.; Wensing, T.; Geelen, M.J.H. (1999a). Effect of fatty liver on hepatic gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 500-505.
- Rukkwamsuk, T.; Wensing, T.; Geelen, M.J.H. (1999b). Effect of overfeeding during the dry period on the rate of esterification in adipose tissue of dairy cows during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 82: 1164-1169.
- Rutigliano, H.M.; Santos, J.E.P. (2005). Interrelationships among parity, body condition score (BCS), milk yield, AI protocol, and cyclicity with embryonic survival in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88(Suppl. 1): 39 (Abstr.)
- Rutter, L.M.; Manns, J.G. (1987). Hypoglycemia alters pulsatile luteinizing hormone secretion in the postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 64: 479-488.
- San Julián, D. (2001). Robots de ordeño. *Navarra Agraria.* Enero-Febrero: 52-64.
- Sahr, S.; Ormiston, E.E. (1966). Effect of 9-15 hour milking intervals on the yield of high producing cows. *J. Dairy Sci.* 49: 283
- Sanders, A.H.; Varner, M.; Erdman, R.A. (2000). The effects of six times a day milking in early lactation on milk yield, milk composition, body condition and reproduction. *J. Dairy Sci.* 83(Suppl. 1): 242 (Abstr.).
- Sangsrivong, S.; Combs, D.K.; Sartori, R.F.; Wiltbank, M.C. (2000). Liver blood flow and steroid metabolism are increased by both acute feeding and hypertrophy of the digestive tract. *J. Anim. Sci.* 78(Suppl. 1): 221 (Abstr.)
- Sartori, R.; Sartor-Bergfelt, R.; Mertens, S.A.; Guenther, J.N.; Parrish, J.J.; Wiltbank, M.C. (2002). Fertilization and early embryonic development in

- heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85(11): 2803-2812.
- Sartori, R.F.; Haughian, G.J.; Rosa, M.; Shaver, R.D., Wiltbank, M.C. (2000). Differences between lactating cows and nulliparous heifers in follicular dynamics, luteal growth, and serum steroid concentrations. *J. Anim. Sci.* 78(Suppl. 1): 212 (Abstr.).
- Sato, H.; Kudo, Y.; Takeshita, K. (1988). Blood metabolite, mineral levels and enzymatic activities in lactating dairy cows on grazing pasture without concentrate feeding. *Japanese Journal of Veterinary Science.* 50(2): 503-508.
- Schei, I.; Volden, H.; Baevre, L. (2005). Effects of energy balance and metabolizable protein level on tissue mobilization and milk performance of dairy cows in early lactation. *Livestock Production Science.* 95(1-2): 35-47.
- Schmidt, G.H.; Trimberger, G.W. (1963). Effect of unequal milking intervals on lactation milk, milk fat, and total solids production of cows. *J. Dairy Sci.* 46(1): 19-21.
- Schmitt, E.J.; Díaz, T.; Drost, M.; Thatcher, W.W. (1996). Use of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74(5): 1084-1091.
- Schneeberger, E.E.; Lynch, R.D. (1992). Structure, function, and regulation of cellular tight junctions. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 262: L647-L661.
- Shrestha, H.K.; Nakao, T.; Higaki, T.; Suzuki, T.; Akita, M. (2004). Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology.* 61(4): 637-649.
- Shorten, P.R.; Vetharanim, I.; Soboleva, T.K.; Wake, G.C.; Davis, S.R. (2002). Influence of milking frequency on mammary gland dynamics. *Journal of Theoretical Biology.* 218(4): 521-530.
- Silke, V.; Diskin, M.G.; Kenny, D.A.; Boland, M.P.; Dillon, P.; Mee, J.F.; Sreenan, J.M. (2002). Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science.* 71(1-2): 1-12.
- Silvia, W.J.; Lewis, G.S.; McCracken, J.A.; Thatcher, W.W.; Wilson, L. (1991). Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F₂ alpha during luteolysis in ruminants. *Biology of Reproduction.* 45(5): 655-663.

- Sinclair, K.D.; Sinclair, L.A.; Robinson, J.J. (2000). Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen. *J. Anim. Sci.* 78(10): 2659-2669.
- Smith, J.F.; Armstrong, D.V.; Gamroth, M.J. (1996). Planning a milker. *Center. Coop. Ext. Ser., Kansas State Univ. Manhattan MF-2165*: 5.
- Smith, J.W.; Ely, L.O.; Graves, W.M.; Gilson, W.D. (2002). Effect of milking frequency on DHI performance measures. *J. Dairy Sci.* 85: 3526-3533.
- Spicer, L.J.; Alonso, J.; Chamberlain, C.S. (2001). Effects of thyroid hormones on bovine granulosa and thecal cell function in vitro: dependence on insulin and gonadotropins. *J Dairy Sci* 84: 1069-1076.
- Spicer, L.J.; Chamberlain, C.S.; Francisco, C.C. (2000). Ovarian action of leptin: effects on insulin-like growth factor-I-stimulated function of granulosa and thecal cells. *Endocrine* 12: 53-59.
- Spicer, L.J.; Echternkamp, S.E. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12: 223-245.
- Spicer, L.J.; Tucker, W.B.; Adams, G.D. (1990). Insulin-like growth factor-1 in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrus behavior. *J. Dairy Sci.* 73: 929-937.
- Stagg, K.; Spicer, L.J.; Sreenan, J.M.; Roche, J.F.; Diskin, M.G. (1998). Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction.* 59(4): 777-783.
- Staples, C.R.; Thatcher, W.W.; Clark, J.H. (1990). Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73: 938-947.
- Stelwagen, K. (2001). Effect of milking frequency on mammary functioning and shape of the lactation curve. *J. Dairy Sci.* 84(E. Suppl.): E204-E211.
- Stelwagen, K.; Davis, S.R.; Farr, V.C.; Prosser, C.G.; Sherlock, R.A. (1994a). Mammary epithelial cell tight junction integrity and mammary blood flow during an extended milking interval in goats. *J. Dairy Sci.* 77(2): 426-432.
- Stelwagen, K.; Farr, V.C.; Davis, S.R.; Prosser, C.G. (1995). EGTA - induced disruption of epithelial cell tight junctions in the lactating caprine mammary gland. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 269: R848-R855.

- Stelwagen, K.; Farr, V.C.; McFadden, H.A.; Prosser, C.G.; Davis, S.R. (1997). Time course of milk accumulation-induced opening of mammary tight junctions, and blood clearance of milk components. *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.* 273: R379-R386.
- Stelwagen, K.; Knight, C. (1997). Effect of unilateral once or twice daily milking of cows on milk yield and udder characteristics in early and late lactation. *Journal of Dairy Research.* 64: 487-494.
- Stelwagen, K.; Lacy-Hulbert, S.J. (1996). Effect of milking frequency on milk somatic cell count characteristics and mammary secretory cell damage in cows. *American Journal of Veterinary Research.* 57(6): 902-905.
- Stelwagen, K.; McFadden, H.A.; Demmer, J. (1999). Prolactin, alone or in combination with glucocorticoids, enhances tight junction formation and expression of the tight junction protein occluding in mammary cells. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 156(1-2): 55-61.
- Stelwagen, K.; Politis, I.; White, J.H.; Zavizion, B.; Prosser, C.G.; Davis, S.R.; Farr, V.C. (1994b). Effect of milking frequency and somatotropin on the activity of plasminogen activator, plasminogen and plasmin in bovine milk. *J. Dairy Sci.* 77: 3577-3583.
- Stelwagen, K.; van Espen, D.C.; Verkerk, G.A.; McFadden, H.A.; Farr, V.C. (1998). Elevated plasma cortisol reduces permeability of mammary tight junctions in the lactating bovine mammary epithelium. *Journal of Endocrinology.* 159(1): 173-178.
- Stevenson, J.S. (2000). Are your cow cycling; if not why? *Hoard's Dairyman.* 145: 202-203.
- Stevenson, J.S.; Kobayashi, Y.; Thompson, K.E. (1999). Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of Gonadotropin-releasing hormone and Prostaglandin F2alfa. *J. Dairy Sci.* 82(3): 506-515.
- Strang, B.D.; Bertics, S.J.; Grummer, R.R.; Armentano, L.E. (1998a). Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81: 728-739.
- Strang, B.D.; Bertics, S.J.; Grummer, R.R.; Armentano, L.E. (1998b). Relationship of triglyceride accumulation to insulin clearance and hormonal responsiveness in bovine hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 81: 740-747.

- Strange, R.; Li, F.; Saurer, S.; Burkhardt, A.; Friis, R.R. (1992). Apoptotic cell death and tissue remodeling during mouse mammary gland involution. *Development*. 115(1): 49-58.
- Suriyasathaporn, W. (2000). Negative energy balance in postpartum dairy cows: its effect on clinical mastitis and reproductive performance. Tesis Doctoral. LWUR (Netherlands).
- Svennersten, K.; Claesson, C.O.; Nelson, L. (1990). Effect of local stimulation of one quarter on milk production and milk components. *J. Dairy Sci.* 73: 970-974.
- Taylor, V.J.; Beever, D.E.; Bryant, M.J.; Wathes, D.C. (2002). Metabolic profiles and progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology*. 59(7): 1661-1677.
- Thiede, M.A. (1989). The mRNA encoding a parathyroid hormone-like peptide is produced in mammary tissue in response to elevations in serum prolactin. *Molecular Endocrinology*. 3(9): 1443-1447.
- Thomas, G.W.; Spiker, S.A.; Mickan, F.J. (1978). Lactational response of Friesian cows suckled in early lactation. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 12: 223 (Abstr.)
- Thomas, M.G.; Gazal, O.S.; Williams, G.L.; Stanko, R.L.; Keisler, D.H. (1999). Injection of neuropeptide Y into the third cerebroventricle differentially influences pituitary secretion of luteinizing hormone and growth hormone in ovariectomized cows. *Domestic Animal Endocrinology*. 16(3): 159-169.
- Thompson, G.E.; Ratcliffe, W.A.; Hughes, S.; Abbas, S.K.; Care, A.D. (1994). Local control of parathyroid hormone-related protein secretion by the mammary gland of the goat. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part. A. Physiology*. 108(4): 485-490.
- Toharmat, T.; Nonaka, I.; Shimizu, M.; Kune, S. (1999). Changes of the blood composition of periparturient cows in relation to time of day. *Asian Aust. J. Anim.* 12: 1111-1115.
- Van Es, A.J.H.; Vermorel, M.; Bickel, H. (1978). Feed evaluation for ruminants: new energy systems in the Netherlands, France and Switzerland general introduction. *Livestock Production Science*. 5(4): 327-330.
- Van der Honing, Y.; Steg, A.; Van Es, J.H. (1977). Feed evaluation for dairy cows: test on the system proposed in the Netherlands. *Livestock Production Science*. 4(1): 57-67.

- Van der Iest, R.; Hillerton, J.E. (1989). Short term effects of frequent milking of dairy cows. *J. Dairy Res.* 56: 587-592.
- Van der Leemput, E. (1998). Final follicular maturation in the cow and its effects on the developmental potential of the oocyte. Tesis Doctoral. Faculty of Veterinary Medicine. Utrecht University. Netherlands. Pp: 13-34.
- Van der Top, A.M.; Wensing, T.; Geelen, M.J.H.; Wentink, G.H.; Van't Kloester, A.T.; Beynen, A.C. (1995). Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacyglyserol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78: 2208-2220.
- Van der Vorst, Y.; Hogeveen, H. (2000). Automatic milking systems and milk quality in the Netherlands. In: *Proceedings of the International Symposium Robotic Milking*. Leystad. The Netherlands. Pp: 73-82.
- Van der Vorst, Y.; Koning, K. (2002). Automatic milking systems and milk quality in three European countries. In: *Proceedings the First North American Conference on Robotic Milking*. Totonto. Canadá. Pp: V1-V12.
- Van Knegsel, A.T.M.; van den Brand, H.; Dijkstra, J.; van Straalen, W.M.; Heetkamp, M.J.W.; Tamminga, S.; Kemp, B. (2007). Dietary energy source in dairy cows in early lactation: energy partitioning and milk composition. *J. Dairy Sci.* 90: 1467-1476.
- Van Raden, P.M.; Wiggans, G.R.; Tassell, C.P.V. (1999). Changes in USDA-DHIA genetic evaluations. Pages 1-4 in *USDA AIPL. Research Report CH13 (2-99)*. USDA, Beltsville MD.
- VanBaale, M.J.; Ledwith, D.R.; Thompson, J.M.; Burgos, R.; Collier, R.J.; Baumgard, L.H. (2005). Effect of increased milking frequency in early lactation with or without recombinant bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.* 88: 3905-3912.
- Veerkamp, R.F. (1998). Selection for economic efficiency of dairy cattle using information on live weight and feed intake: a review. *J. Dairy Sci.* 81(4): 1109-1119.
- Veerkamp, R.F.; Emmans, G.C.; Cromie, A.R.; Simm, G. (1995). Variance components for residual feed intake in dairy cows. *Livestock Production Science.* 41(2): 111-120.
- Vermorel, M. (1978). New energy recommendations. The feed units "milk" (dairy cattle). *Bulletin Technique du Centre de Recherches Zootechniques et Veterinaires de Theix (France)*. Pp: 99-120.

- Veysset, P.; Wallet, P.; Prugnard, E. (2001). Le robot de traite: pour qui? Pourquoi? Caractérisation des exploitations équipées, simulations économiques et éléments de réflexion avant investissement. *INRA Prod. Anim.* 14(1): 51-61.
- Villa-Godoy, A.; Hughes, T.L.; Emery, R.S.; Chapin, L.T.; Fogwell, R.L. (1988). Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71: 1063-1072.
- Villa-Godoy, A.; Hughes, T.L.; Emery, R.S.; Stanisiewski, E.P.; Fogwell, R.L. (1990). Influence of energy balance and body condition on estrus and estrous cycles in Holstein heifers. *J. Dairy Sci.* 73(10): 2759-2765.
- Wagner, J.J.; Lusby, K.S.; Oltjen, J.W.; Rakestraw, J.; Wetteman, R.P.; Walters, L.E. (1988). Carcass composition in mature Hereford cows: estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66: 603-612.
- Walker, N.I.; Bennett, R.E.; Kerr, J.F.R. (1989). Cell death by apoptosis during involution of the lactating breast in mice and rats. *American Journal of Anatomy.* 185(1): 19-32.
- Wall, E.H.; McFadden, T.B. (2007). The milk yield response to frequent milking in early lactation of dairy cows is locally regulated. (2007). *J. Dairy Sci.* 90: 716-720.
- Wall, E.H.; McFadden, T.B. (2008). Use it or lose it: Enhancing milk production efficiency by frequent milking of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 86(Suppl. 1): 27-36.
- Wauters, E.; Mathijs E. (2004) The economic implications of automatic milking: a simulation analysis for Belgium, Denmark, Germany and the Netherlands. Pages 68-74 in *Automatic milking. A better understanding.* A. Meijering, H. Hogeveen, and C. J. A. M. de Koning, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.)
- Wathes, D.C.; Bourne, N.; Cheng, Z.; Mann, G.E.; Taylor, V.J.; Coffey, M.P. (2007). Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 90: 1310-1325.
- Weiss, D.; Hilger, M.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M. (2002). Variable milking intervals and milk composition. *Milchwissenschaft.* 57(5): 246-249.
- Wilde, C.; Peaker, M. (1990). Autocrine control in milk secretion. *J. Agric. Sci.* 114: 235-238.

- Wilde, C.J.; Addey, C.V.; Boddy, L.M.; Peaker, M. (1995). Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. *Biochem. J.* 305: 51-58.
- Wilde, C.J.; Henderson, A.J.; Knight, C.H.; Blatchford, D.R.; Faulkner, A.; Vernon, R.G. (1987). Effect of long-term thrice-daily milking on mammary enzyme activity, cell population and milk yield in the goat. *J. Anim. Sci.* 64: 533-539.
- Wilde, C.J.; Hendrson, A.J.K.C.H. (1985). Lipogenic enzyme activities in goat mammary gland: changes with stage of pregnancy and lactation and frequency of milking. *Biochem. Soc. Trans.* 13: 877-878.
- Wilde, C.J.; Knight, C.H. (1990). Milk yield and mammary function in goats during and after once-daily milking. *J. Dairy Res.* 57(4): 441-447.
- Wilde, C.J.; Quarrie, L.H.; Tonner, E.; Flint, D.J.; Peaker, M. (1997). Mammary apoptosis. *Livestock Production Science.* 50(1-2): 29-37.
- Wildman, E.E.; Jones, G.M.; Wagner, P.E.; Boman, R.L. (1982). A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.* 65(3): 495-501.
- Windig, J.J.; Calus, M.P.L.; Veerkamp, R.F. (2005). Influence of herd environment on health and fertility and their relationship with milk production. *J. Dairy Sci.* 88: 335-347.
- Yamamoto, M.; Fisher, J.E.; Thiede, M.A.; Caulfield, M.P.; Rosenblatt, M.; Duong, L.T. (1992). Concentrations of parathyroid hormone-related protein in rat milk change with duration of lactation and interval from previous suckling, but not with milk calcium. *Endocrinology.* 130: 741-747.
- Yoshida, C.; Nakao, T. (2005). Some Characteristics of Primary and Secondary Oestrous Signs in High-producing Dairy Cows. *Reprod Dom Anim.* 40: 150-155.
- Yung, M.C.; VandeHaar, M.J.; Fogwell, R.L.; Sharma, B.K. (1996). Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor I in serum and on weight and progesterone of corpus luteum in heifers. *J. Anim. Sci.* 74(9): 2239-2244.
- Zhu, L.H.; Armentano, L.E.; Bremmer, D.R.; Grummer, R.R.; Bertics, S.J. (2000). Plasma concentration of urea, ammonia, glutamine around calving, and the relation of hepatic triglyceride, to plasma ammonia removal and blood acid-base balance. *J. Dairy Sci.* 83: 734-740.

- Ziesack, J.; Michel, G.; Ebendorff, W.; Metzloff, U. (1986). Untersuchungen zum einfluss eines unterlassens des nachmelkens auf eutermasse und euterhistologie bei kühen. Mh. Vet.-Med. 41: 196-198.
- Zdunczyk, S.; Mwaanga, E.S.; Melecki-Tepicht, J.; Baranski, W.; Janowski, T. (2002). Plasma progesterone levels and clinical findings in dairy cows with post-partum anoestrus. Bull. Vet. Inst. Pulaway. 46: 79-86.
- Zurek, E.; Foxcrot, G.; Kennelly, J. (1995). Metabolic status and first ovulation in postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 78: 1909-1920.
- Zvorc, Z.; Matijatko, V.; Beer, B.; Forseck, J.; Bedrica, L.; Kucer, N. (2000). Blood serum proteinograms in pregnant and non-pregnant cows. Veterinarski Arhiv. 29(1): 21-30.

Anexo: Tablas

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	56,39 \pm 12,08	11
		2	54,55 \pm 14,63	21
		Total	55,36 \pm 13,66	32
	4 Ordeños	1	40,62 \pm 13,17	10
		2	48,75 \pm 15,51	14
		Total	45,36 \pm 14,85	24
	Total	1	49,16 \pm 14,85	21
		2	52,23 \pm 15,04	35
		Total	51,08 \pm 14,91	56
1º Mes	2 Ordeños	1	50,03 \pm 7,65	11
		2	48,70 \pm 6,38	21
		Total	49,16 \pm 6,75	32
	4 Ordeños	1	41,43 \pm 10,54	10
		2	47,29 \pm 9,66	14
		Total	44,85 \pm 10,25	24
	Total	1	45,93 \pm 9,93	21
		2	48,14 \pm 7,75	35
		Total	47,31 \pm 8,61	56
2º Mes	2 Ordeños	1	57,94 \pm 7,05	11
		2	52,45 \pm 6,90	21
		Total	54,34 \pm 7,33	32
	4 Ordeños	1	47,40 \pm 11,78	10
		2	44,82 \pm 7,89	14
		Total	45,90 \pm 9,55	24
	Total	1	52,93 \pm 10,79	21
		2	49,40 \pm 8,14	35
		Total	50,72 \pm 9,28	56
3º Mes	2 Ordeños	1	59,29 \pm 4,04	11
		2	61,44 \pm 9,96	21
		Total	60,70 \pm 8,38	32
	4 Ordeños	1	43,98 \pm 11,20	10
		2	42,65 \pm 4,81	14
		Total	43,20 \pm 7,91	24
	Total	1	52,00 \pm 11,22	21
		2	53,92 \pm 12,43	35
		Total	53,20 \pm 11,92	56
4º Mes	2 Ordeños	1	67,30 \pm 8,41	11
		2	56,81 \pm 6,14	21
		Total	60,41 \pm 8,53	32
	4 Ordeños	1	55,44 \pm 8,46	10
		2	52,56 \pm 6,10	14
		Total	53,76 \pm 7,15	24
	Total	1	61,65 \pm 10,21	21
		2	55,11 \pm 6,39	35
		Total	57,56 \pm 8,75	56
5º Mes	2 Ordeños	1	59,25 \pm 3,39	11
		2	55,98 \pm 6,71	21
		Total	57,10 \pm 5,93	32
	4 Ordeños	1	48,11 \pm 8,25	10
		2	59,77 \pm 8,42	14
		Total	54,91 \pm 10,06	24
	Total	1	53,94 \pm 8,30	21
		2	57,50 \pm 7,56	35
		Total	56,16 \pm 7,96	56

Tabla 6.- Concentraciones de glucosa (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	131,94 \pm 28,02	11
		2	79,12 \pm 29,57	21
		Total	97,28 \pm 38,30	32
	4 Ordeños	1	113,29 \pm 22,73	10
		2	73,95 \pm 15,01	14
		Total	90,34 \pm 26,87	24
	Total	1	123,06 \pm 26,76	21
		2	77,05 \pm 24,64	35
		Total	94,31 \pm 33,77	56
1º Mes	2 Ordeños	1	180,51 \pm 35,39	11
		2	162,57 \pm 35,13	21
		Total	168,74 \pm 35,71	32
	4 Ordeños	1	171,13 \pm 35,77	10
		2	126,87 \pm 26,09	14
		Total	145,31 \pm 37,18	24
	Total	1	176,05 \pm 35,00	21
		2	148,29 \pm 36,07	35
		Total	158,70 \pm 37,86	56
2º Mes	2 Ordeños	1	247,81 \pm 36,26	11
		2	171,11 \pm 80,08	21
		Total	197,47 \pm 77,02	32
	4 Ordeños	1	211,70 \pm 39,51	10
		2	170,99 \pm 37,13	14
		Total	187,95 \pm 42,55	24
	Total	1	230,61 \pm 41,25	21
		2	171,06 \pm 65,57	35
		Total	193,39 \pm 64,21	56
3º Mes	2 Ordeños	1	271,27 \pm 40,26	11
		2	213,72 \pm 51,77	21
		Total	233,50 \pm 54,99	32
	4 Ordeños	1	265,10 \pm 51,88	10
		2	198,19 \pm 51,29	14
		Total	226,07 \pm 60,62	24
	Total	1	268,33 \pm 45,07	21
		2	207,51 \pm 51,40	35
		Total	230,32 \pm 57,05	56
4º Mes	2 Ordeños	1	217,27 \pm 77,87	11
		2	256,59 \pm 46,10	21
		Total	243,07 \pm 60,72	32
	4 Ordeños	1	234,58 \pm 24,42	10
		2	192,76 \pm 50,41	14
		Total	210,19 \pm 45,97	24
	Total	1	225,51 \pm 58,13	21
		2	231,06 \pm 56,81	35
		Total	228,98 \pm 56,84	56
5º Mes	2 Ordeños	1	229,87 \pm 55,72	11
		2	261,10 \pm 75,26	21
		Total	250,37 \pm 69,88	32
	4 Ordeños	1	240,33 \pm 42,64	10
		2	204,79 \pm 49,66	14
		Total	219,60 \pm 49,25	24
	Total	1	234,85 \pm 48,98	21
		2	238,58 \pm 71,12	35
		Total	237,18 \pm 63,27	56

Tabla 7.- Concentraciones de colesterol (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	23,57 \pm 10,40	11
		2	18,34 \pm 8,10	21
		Total	20,14 \pm 9,14	32
	4 Ordeños	1	36,43 \pm 26,42	10
		2	16,71 \pm 6,35	14
		Total	24,92 \pm 19,86	24
	Total	1	29,69 \pm 20,28	21
		2	17,69 \pm 7,39	35
		Total	22,19 \pm 14,76	56
1º Mes	2 Ordeños	1	15,25 \pm 7,78	11
		2	8,44 \pm 7,10	21
		Total	10,78 \pm 7,93	32
	4 Ordeños	1	14,87 \pm 6,02	10
		2	8,22 \pm 4,27	14
		Total	10,99 \pm 5,98	24
	Total	1	15,07 \pm 6,83	21
		2	8,35 \pm 6,05	35
		Total	10,87 \pm 7,10	56
2º Mes	2 Ordeños	1	20,12 \pm 8,87	11
		2	10,44 \pm 10,42	21
		Total	13,77 \pm 10,83	32
	4 Ordeños	1	20,62 \pm 10,54	10
		2	9,12 \pm 7,78	14
		Total	13,91 \pm 10,54	24
	Total	1	20,36 \pm 9,45	21
		2	9,91 \pm 9,35	35
		Total	13,83 \pm 10,61	56
3º Mes	2 Ordeños	1	13,77 \pm 3,82	11
		2	12,54 \pm 9,10	21
		Total	12,97 \pm 7,65	32
	4 Ordeños	1	10,80 \pm 4,83	10
		2	15,07 \pm 3,37	14
		Total	13,29 \pm 4,49	24
	Total	1	12,36 \pm 4,48	21
		2	13,55 \pm 7,39	35
		Total	13,11 \pm 6,43	56
4º Mes	2 Ordeños	1	24,52 \pm 19,55	11
		2	15,99 \pm 11,97	21
		Total	18,92 \pm 15,25	32
	4 Ordeños	1	14,09 \pm 7,46	10
		2	15,42 \pm 6,41	14
		Total	14,86 \pm 6,74	24
	Total	1	19,55 \pm 15,64	21
		2	15,76 \pm 10,00	35
		Total	17,18 \pm 12,42	56
5º Mes	2 Ordeños	1	12,72 \pm 5,80	11
		2	13,56 \pm 10,92	21
		Total	13,27 \pm 9,38	32
	4 Ordeños	1	19,91 \pm 6,33	10
		2	6,02 \pm 3,53	14
		Total	11,80 \pm 8,46	24
	Total	1	16,14 \pm 6,95	21
		2	10,54 \pm 9,43	35
		Total	12,64 \pm 8,95	56

Tabla 8.- Concentraciones de triglicéridos (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	0,80 \pm 0,15	11
		2	0,94 \pm 0,67	21
		Total	0,89 \pm 0,55	32
	4 Ordeños	1	0,88 \pm 0,20	10
		2	0,53 \pm 0,39	14
		Total	0,68 \pm 0,37	24
	Total	1	0,84 \pm 0,18	21
		2	0,78 \pm 0,60	35
		Total	0,80 \pm 0,49	56
1º Mes	2 Ordeños	1	0,58 \pm 0,73	11
		2	0,49 \pm 0,35	21
		Total	0,52 \pm 0,29	32
	4 Ordeños	1	0,60 \pm 0,10	10
		2	0,32 \pm 0,20	14
		Total	0,44 \pm 0,22	24
	Total	1	0,59 \pm 0,89	21
		2	0,42 \pm 0,31	35
		Total	0,48 \pm 0,26	56
2º Mes	2 Ordeños	1	0,48 \pm 0,04	11
		2	0,30 \pm 0,21	21
		Total	0,36 \pm 0,19	32
	4 Ordeños	1	0,50 \pm 0,03	10
		2	0,27 \pm 0,22	14
		Total	0,37 \pm 0,20	24
	Total	1	0,49 \pm 0,03	21
		2	0,29 \pm 0,21	35
		Total	0,37 \pm 0,19	56
3º Mes	2 Ordeños	1	0,46 \pm 0,02	11
		2	0,72 \pm 0,69	21
		Total	0,63 \pm 0,57	32
	4 Ordeños	1	0,49 \pm 0,05	10
		2	0,30 \pm 0,26	14
		Total	0,38 \pm 0,22	24
	Total	1	0,47 \pm 0,04	21
		2	0,55 \pm 0,59	35
		Total	0,52 \pm 0,47	56
4º Mes	2 Ordeños	1	0,45 \pm 0,05	11
		2	0,52 \pm 0,69	21
		Total	0,49 \pm 0,55	32
	4 Ordeños	1	0,48 \pm 0,03	10
		2	0,27 \pm 0,27	14
		Total	0,36 \pm 0,23	24
	Total	1	0,46 \pm 0,46	21
		2	0,42 \pm 0,57	35
		Total	0,43 \pm 0,45	56
5º Mes	2 Ordeños	1	0,37 \pm 0,02	11
		2	0,59 \pm 0,79	21
		Total	0,52 \pm 0,64	32
	4 Ordeños	1	0,41 \pm 0,06	10
		2	0,33 \pm 0,27	14
		Total	0,36 \pm 0,21	24
	Total	1	0,39 \pm 0,05	21
		2	0,49 \pm 0,64	35
		Total	0,45 \pm 0,51	56

Tabla 9.- Concentraciones de NEFA (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	32,61 \pm 8,53	11
		2	31,48 \pm 10,85	21
		Total	31,87 \pm 9,99	32
	4 Ordeños	1	32,83 \pm 5,72	10
		2	26,98 \pm 5,10	14
		Total	29,42 \pm 6,01	24
	Total	1	32,71 \pm 7,15	21
		2	29,68 \pm 9,17	35
		Total	30,82 \pm 8,53	56
1º Mes	2 Ordeños	1	37,97 \pm 8,27	11
		2	20,04 \pm 13,73	21
		Total	26,20 \pm 14,78	32
	4 Ordeños	1	43,20 \pm 7,38	10
		2	26,11 \pm 4,10	14
		Total	33,25 \pm 10,25	24
	Total	1	40,48 \pm 8,12	21
		2	22,47 \pm 11,24	35
		Total	29,22 \pm 13,40	56
2º Mes	2 Ordeños	1	28,39 \pm 6,26	11
		2	21,38 \pm 9,25	21
		Total	23,79 \pm 8,91	32
	4 Ordeños	1	26,67 \pm 6,67	10
		2	31,30 \pm 5,64	14
		Total	29,37 \pm 6,39	24
	Total	1	27,57 \pm 6,35	21
		2	25,35 \pm 9,32	35
		Total	26,18 \pm 8,34	56
3º Mes	2 Ordeños	1	33,45 \pm 5,88	11
		2	31,11 \pm 7,59	21
		Total	31,91 \pm 7,04	32
	4 Ordeños	1	39,92 \pm 4,60	10
		2	19,75 \pm 5,24	14
		Total	28,15 \pm 11,27	24
	Total	1	36,53 \pm 6,15	21
		2	26,56 \pm 8,73	35
		Total	30,30 \pm 9,20	56
4º Mes	2 Ordeños	1	37,36 \pm 10,91	11
		2	25,19 \pm 6,54	21
		Total	29,37 \pm 10,02	32
	4 Ordeños	1	30,54 \pm 6,66	10
		2	27,60 \pm 10,53	14
		Total	28,83 \pm 9,07	24
	Total	1	34,11 \pm 9,58	21
		2	26,15 \pm 8,30	35
		Total	29,14 \pm 9,54	56
5º Mes	2 Ordeños	1	22,58 \pm 3,78	11
		2	29,81 \pm 6,50	21
		Total	27,33 \pm 6,64	32
	4 Ordeños	1	24,81 \pm 6,03	10
		2	18,75 \pm 7,18	14
		Total	21,27 \pm 7,26	24
	Total	1	23,64 \pm 4,98	21
		2	25,39 \pm 8,65	35
		Total	24,73 \pm 7,48	56

Tabla 10.- Concentraciones de urea (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	40,48 \pm 2,08	11
		2	39,48 \pm 10,56	21
		Total	39,83 \pm 8,65	32
	4 Ordeños	1	39,95 \pm 2,36	10
		2	30,96 \pm 2,59	14
		Total	34,70 \pm 5,14	24
	Total	1	40,23 \pm 2,18	21
		2	36,07 \pm 9,34	35
		Total	37,63 \pm 7,73	56
1º Mes	2 Ordeños	1	37,51 \pm 2,25	11
		2	33,78 \pm 5,83	21
		Total	35,06 \pm 5,18	32
	4 Ordeños	1	36,24 \pm 3,23	10
		2	31,72 \pm 6,25	14
		Total	33,60 \pm 5,60	24
	Total	1	36,91 \pm 2,76	21
		2	32,95 \pm 6,00	35
		Total	34,44 \pm 5,36	56
2º Mes	2 Ordeños	1	35,49 \pm 2,42	11
		2	33,52 \pm 2,14	21
		Total	34,20 \pm 2,40	32
	4 Ordeños	1	35,82 \pm 2,30	10
		2	32,28 \pm 4,36	14
		Total	33,75 \pm 4,00	24
	Total	1	35,65 \pm 2,31	21
		2	33,02 \pm 3,22	35
		Total	34,01 \pm 3,16	56
3º Mes	2 Ordeños	1	38,17 \pm 2,99	11
		2	35,10 \pm 4,47	21
		Total	36,15 \pm 4,24	32
	4 Ordeños	1	36,92 \pm 1,84	10
		2	35,21 \pm 2,90	14
		Total	35,93 \pm 2,61	24
	Total	1	37,57 \pm 2,53	21
		2	35,14 \pm 3,87	35
		Total	36,06 \pm 3,61	56
4º Mes	2 Ordeños	1	41,03 \pm 2,95	11
		2	37,10 \pm 5,33	21
		Total	38,45 \pm 4,97	32
	4 Ordeños	1	41,29 \pm 1,30	10
		2	33,96 \pm 3,12	14
		Total	37,01 \pm 4,45	24
	Total	1	41,15 \pm 2,26	21
		2	35,84 \pm 4,78	35
		Total	37,83 \pm 4,77	56
5º Mes	2 Ordeños	1	42,53 \pm 4,83	11
		2	34,52 \pm 4,18	21
		Total	37,27 \pm 5,80	32
	4 Ordeños	1	40,84 \pm 2,70	10
		2	35,90 \pm 3,02	14
		Total	37,96 \pm 3,77	24
	Total	1	41,72 \pm 3,96	21
		2	35,07 \pm 3,77	35
		Total	37,57 \pm 5,00	56

Tabla 11.- Concentraciones de albúmina (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	8,73 \pm 0,50	11
		2	5,24 \pm 0,49	21
		Total	6,44 \pm 1,75	32
	4 Ordeños	1	8,14 \pm 0,65	10
		2	5,18 \pm 0,37	14
		Total	6,41 \pm 1,56	24
	Total	1	8,45 \pm 0,64	21
		2	5,22 \pm 0,44	35
		Total	6,43 \pm 1,66	56
1º Mes	2 Ordeños	1	9,93 \pm 0,47	11
		2	5,85 \pm 0,61	21
		Total	7,25 \pm 2,04	32
	4 Ordeños	1	9,53 \pm 0,34	10
		2	6,08 \pm 0,53	14
		Total	7,52 \pm 1,79	24
	Total	1	9,74 \pm 0,45	21
		2	5,94 \pm 0,58	35
		Total	7,36 \pm 1,93	56
2º Mes	2 Ordeños	1	10,18 \pm 0,47	11
		2	6,43 \pm 0,28	21
		Total	7,72 \pm 1,84	32
	4 Ordeños	1	9,75 \pm 0,33	10
		2	6,08 \pm 0,39	14
		Total	7,61 \pm 1,88	24
	Total	1	9,97 \pm 0,45	21
		2	6,29 \pm 0,37	35
		Total	7,67 \pm 1,84	56
3º Mes	2 Ordeños	1	10,25 \pm 0,74	11
		2	6,52 \pm 0,45	21
		Total	7,80 \pm 1,88	32
	4 Ordeños	1	10,27 \pm 0,54	10
		2	6,18 \pm 0,51	14
		Total	7,88 \pm 2,12	24
	Total	1	10,26 \pm 0,64	21
		2	6,38 \pm 0,50	35
		Total	7,84 \pm 1,97	56
4º Mes	2 Ordeños	1	10,27 \pm 0,80	11
		2	6,69 \pm 0,47	21
		Total	7,92 \pm 1,82	32
	4 Ordeños	1	10,19 \pm 0,42	10
		2	6,52 \pm 0,46	14
		Total	8,05 \pm 1,89	24
	Total	1	10,23 \pm 0,64	21
		2	6,62 \pm 0,47	35
		Total	7,97 \pm 1,84	56
5º Mes	2 Ordeños	1	10,13 \pm 0,75	11
		2	6,51 \pm 0,48	21
		Total	7,75 \pm 1,84	32
	4 Ordeños	1	9,96 \pm 0,31	10
		2	6,35 \pm 0,52	14
		Total	7,85 \pm 1,86	24
	Total	1	10,05 \pm 0,58	21
		2	6,45 \pm 0,49	35
		Total	7,80 \pm 1,83	56

Tabla 12.- Concentraciones de proteínas totales (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	8,97 \pm 0,22	11
		2	7,17 \pm 2,01	21
		Total	7,79 \pm 1,83	32
	4 Ordeños	1	9,05 \pm 0,29	10
		2	7,96 \pm 1,34	14
		Total	8,41 \pm 1,16	24
	Total	1	9,01 \pm 0,25	21
		2	7,49 \pm 1,79	35
		Total	8,06 \pm 1,60	56
1º Mes	2 Ordeños	1	9,70 \pm 0,19	11
		2	9,57 \pm 1,15	21
		Total	9,62 \pm 0,93	32
	4 Ordeños	1	9,71 \pm 0,21	10
		2	8,71 \pm 0,90	14
		Total	9,13 \pm 0,85	24
	Total	1	9,71 \pm 0,19	21
		2	9,23 \pm 1,13	35
		Total	9,41 \pm 0,92	56
2º Mes	2 Ordeños	1	9,56 \pm 0,22	11
		2	9,14 \pm 1,26	21
		Total	9,28 \pm 1,04	32
	4 Ordeños	1	9,59 \pm 0,31	10
		2	9,75 \pm 0,66	14
		Total	9,68 \pm 0,54	24
	Total	1	9,57 \pm 0,26	21
		2	9,38 \pm 1,09	35
		Total	9,45 \pm 0,88	56
3º Mes	2 Ordeños	1	9,34 \pm 0,17	11
		2	8,89 \pm 1,00	21
		Total	9,05 \pm 0,83	32
	4 Ordeños	1	9,23 \pm 0,22	10
		2	8,40 \pm 0,68	14
		Total	8,74 \pm 0,67	24
	Total	1	9,29 \pm 0,20	21
		2	8,69 \pm 0,91	35
		Total	8,92 \pm 0,78	56
4º Mes	2 Ordeños	1	10,02 \pm 0,28	11
		2	8,37 \pm 0,80	21
		Total	8,94 \pm 1,04	32
	4 Ordeños	1	9,94 \pm 0,27	10
		2	9,15 \pm 0,73	14
		Total	9,48 \pm 0,70	24
	Total	1	9,98 \pm 0,27	21
		2	8,68 \pm 0,86	35
		Total	9,17 \pm 0,94	56
5º Mes	2 Ordeños	1	9,66 \pm 0,23	11
		2	9,72 \pm 2,31	21
		Total	9,70 \pm 1,86	32
	4 Ordeños	1	9,58 \pm 0,21	10
		2	8,17 \pm 0,74	14
		Total	8,76 \pm 0,91	24
	Total	1	9,62 \pm 0,22	21
		2	9,10 \pm 1,98	35
		Total	9,30 \pm 1,58	56

Tabla 13.- concentraciones de calcio (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	4,37 \pm 0,67	11
		2	5,85 \pm 1,69	21
		Total	5,34 \pm 1,58	32
	4 Ordeños	1	4,30 \pm 0,30	10
		2	4,90 \pm 0,60	14
		Total	4,65 \pm 0,57	24
	Total	1	4,33 \pm 0,51	21
		2	5,47 \pm 1,42	35
		Total	5,04 \pm 1,29	56
1º Mes	2 Ordeños	1	4,26 \pm 0,28	11
		2	5,75 \pm 0,63	21
		Total	5,24 \pm 0,89	32
	4 Ordeños	1	4,24 \pm 0,31	10
		2	5,22 \pm 0,31	14
		Total	4,81 \pm 0,58	24
	Total	1	4,25 \pm 0,29	21
		2	5,54 \pm 0,58	35
		Total	5,05 \pm 0,80	56
2º Mes	2 Ordeños	1	4,01 \pm 0,30	11
		2	5,11 \pm 0,33	21
		Total	4,73 \pm 0,61	32
	4 Ordeños	1	4,19 \pm 0,20	10
		2	5,34 \pm 0,29	14
		Total	4,86 \pm 0,63	24
	Total	1	4,10 \pm 0,27	21
		2	5,02 \pm 0,33	35
		Total	4,79 \pm 0,61	56
3º Mes	2 Ordeños	1	4,14 \pm 0,16	11
		2	6,02 \pm 0,65	21
		Total	5,38 \pm 1,05	32
	4 Ordeños	1	4,36 \pm 0,18	10
		2	5,44 \pm 0,35	14
		Total	4,99 \pm 0,61	24
	Total	1	4,25 \pm 0,20	21
		2	5,79 \pm 0,62	35
		Total	5,21 \pm 0,90	56
4º Mes	2 Ordeños	1	4,31 \pm 0,25	11
		2	4,80 \pm 1,32	21
		Total	4,63 \pm 1,09	32
	4 Ordeños	1	4,01 \pm 0,42	10
		2	5,09 \pm 0,41	14
		Total	4,64 \pm 0,67	24
	Total	1	4,17 \pm 0,36	21
		2	4,92 \pm 1,05	35
		Total	4,64 \pm 0,93	56
5º Mes	2 Ordeños	1	4,34 \pm 0,14	11
		2	5,21 \pm 0,37	21
		Total	4,91 \pm 0,52	32
	4 Ordeños	1	4,41 \pm 0,21	10
		2	5,18 \pm 0,33	14
		Total	4,86 \pm 0,48	24
	Total	1	4,37 \pm 0,17	21
		2	5,20 \pm 0,35	35
		Total	4,89 \pm 0,50	56

Tabla 14.- Concentraciones de fósforo (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	2,09 \pm 0,31	11
		2	1,28 \pm 0,42	21
		Total	1,56 \pm 0,55	32
	4 Ordeños	1	2,11 \pm 0,17	10
		2	1,64 \pm 0,35	14
		Total	1,84 \pm 0,37	24
	Total	1	2,10 \pm 0,24	21
		2	1,42 \pm 0,43	35
		Total	1,68 \pm 0,49	56
1º Mes	2 Ordeños	1	2,28 \pm 0,18	11
		2	1,68 \pm 0,25	21
		Total	1,88 \pm 0,37	32
	4 Ordeños	1	2,30 \pm 0,17	10
		2	1,67 \pm 0,18	14
		Total	1,93 \pm 0,36	24
	Total	1	2,29 \pm 0,17	21
		2	1,67 \pm 0,22	35
		Total	1,90 \pm 0,36	56
2º Mes	2 Ordeños	1	2,39 \pm 0,17	11
		2	1,79 \pm 0,26	21
		Total	1,99 \pm 0,37	32
	4 Ordeños	1	2,28 \pm 0,14	10
		2	1,89 \pm 0,14	14
		Total	2,02 \pm 0,27	24
	Total	1	2,34 \pm 0,16	21
		2	1,80 \pm 0,22	35
		Total	2,00 \pm 0,33	56
3º Mes	2 Ordeños	1	2,25 \pm 0,10	11
		2	1,48 \pm 0,18	21
		Total	1,75 \pm 0,40	32
	4 Ordeños	1	2,11 \pm 0,10	10
		2	1,55 \pm 0,16	14
		Total	1,78 \pm 0,31	24
	Total	1	2,19 \pm 0,12	21
		2	1,51 \pm 0,18	35
		Total	1,76 \pm 0,36	56
4º Mes	2 Ordeños	1	2,33 \pm 0,17	11
		2	1,87 \pm 0,52	21
		Total	2,03 \pm 0,48	32
	4 Ordeños	1	2,50 \pm 0,30	10
		2	1,80 \pm 0,23	14
		Total	2,09 \pm 0,43	24
	Total	1	2,41 \pm 0,25	21
		2	1,84 \pm 0,42	35
		Total	2,05 \pm 0,46	56
5º Mes	2 Ordeños	1	2,22 \pm 0,79	11
		2	1,87 \pm 0,44	21
		Total	1,99 \pm 0,40	32
	4 Ordeños	1	2,17 \pm 0,13	10
		2	1,58 \pm 0,19	14
		Total	1,83 \pm 0,34	24
	Total	1	2,20 \pm 0,10	21
		2	1,75 \pm 0,39	35
		Total	1,92 \pm 0,38	56

Tabla 15.- Valores de la relación Ca/P (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
Parto	2 Ordeños	1	1,76 \pm 0,08	11
		2	1,49 \pm 0,69	21
		Total	1,59 \pm 0,57	32
	4 Ordeños	1	1,73 \pm 0,07	10
		2	2,16 \pm 1,24	14
		Total	1,98 \pm 0,96	24
	Total	1	1,75 \pm 0,07	21
		2	1,76 \pm 0,99	35
		Total	1,75 \pm 0,78	56
1º Mes	2 Ordeños	1	1,94 \pm 0,05	11
		2	1,99 \pm 0,41	21
		Total	1,98 \pm 0,33	32
	4 Ordeños	1	1,96 \pm 0,04	10
		2	1,89 \pm 0,35	14
		Total	1,92 \pm 0,27	24
	Total	1	1,95 \pm 0,05	21
		2	1,95 \pm 0,39	35
		Total	1,95 \pm 0,31	56
2º Mes	2 Ordeños	1	1,97 \pm 0,05	11
		2	2,19 \pm 0,38	21
		Total	2,12 \pm 0,33	32
	4 Ordeños	1	1,94 \pm 0,05	10
		2	1,94 \pm 0,39	14
		Total	1,94 \pm 0,30	24
	Total	1	1,96 \pm 0,05	21
		2	2,09 \pm 0,40	35
		Total	2,04 \pm 0,32	56
3º Mes	2 Ordeños	1	2,07 \pm 0,06	11
		2	2,10 \pm 0,43	21
		Total	2,09 \pm 0,35	32
	4 Ordeños	1	2,06 \pm 0,05	10
		2	1,95 \pm 0,53	14
		Total	1,99 \pm 0,40	24
	Total	1	2,06 \pm 0,05	21
		2	2,04 \pm 0,47	35
		Total	2,05 \pm 0,37	56
4º Mes	2 Ordeños	1	2,00 \pm 0,05	11
		2	1,76 \pm 0,61	21
		Total	1,84 \pm 0,50	32
	4 Ordeños	1	1,95 \pm 0,05	10
		2	2,13 \pm 0,56	14
		Total	2,05 \pm 0,43	24
	Total	1	1,98 \pm 0,05	21
		2	1,91 \pm 0,61	35
		Total	1,93 \pm 0,48	56
5º Mes	2 Ordeños	1	2,04 \pm 0,04	11
		2	2,36 \pm 0,76	21
		Total	2,25 \pm 0,63	32
	4 Ordeños	1	2,01 \pm 0,05	10
		2	1,92 \pm 0,24	14
		Total	1,96 \pm 0,19	24
	Total	1	2,02 \pm 0,05	21
		2	2,19 \pm 0,64	35
		Total	2,13 \pm 0,51	56

Tabla 16.- Concentraciones de magnesio (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
1° Mes	2 Ordeños	1	0,04 \pm 0,18	11
		2	-0,03 \pm 0,19	21
		Total	-0,07 \pm 0,19	32
	4 Ordeños	1	-0,15 \pm 0,24	10
		2	-0,17 \pm 0,20	14
		Total	-0,16 \pm 0,21	24
	Total	1	-0,04 \pm 0,23	21
		2	-0,09 \pm 0,21	35
		Total	-0,07 \pm 0,21	56
2° Mes	2 Ordeños	1	0,02 \pm 0,20	11
		2	0,04 \pm 0,24	21
		Total	0,03 \pm 0,22	32
	4 Ordeños	1	0,10 \pm 0,29	10
		2	-0,16 \pm 0,25	14
		Total	-0,05 \pm 0,29	24
	Total	1	0,05 \pm 0,24	21
		2	-0,03 \pm 0,26	35
		Total	0,00 \pm 0,26	56
3° Mes	2 Ordeños	1	0,09 \pm 0,20	11
		2	0,10 \pm 0,18	21
		Total	0,10 \pm 0,18	32
	4 Ordeños	1	0,25 \pm 0,23	10
		2	0,08 \pm 0,23	14
		Total	0,15 \pm 0,24	24
	Total	1	0,16 \pm 0,22	21
		2	0,10 \pm 0,20	35
		Total	0,12 \pm 0,21	56
4° Mes	2 Ordeños	1	0,09 \pm 0,20	11
		2	0,15 \pm 0,20	21
		Total	0,13 \pm 0,20	32
	4 Ordeños	1	0,27 \pm 0,24	10
		2	0,05 \pm 0,26	14
		Total	0,14 \pm 0,27	24
	Total	1	0,17 \pm 0,23	21
		2	0,11 \pm 0,22	35
		Total	0,13 \pm 0,23	56
5° Mes	2 Ordeños	1	0,20 \pm 0,21	11
		2	0,14 \pm 0,21	21
		Total	0,16 \pm 0,21	32
	4 Ordeños	1	0,32 \pm 0,28	10
		2	0,16 \pm 0,21	14
		Total	0,22 \pm 0,25	24
	Total	1	0,26 \pm 0,25	21
		2	0,15 \pm 0,21	35
		Total	0,19 \pm 0,23	56

Tabla 17.- Ganancia de condición corporal (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
1º Semana	2 Ordeños	1	2,95 \pm 0,15	11
		2	3,02 \pm 0,20	21
		Total	3,00 \pm 0,19	32
	4 Ordeños	1	2,80 \pm 0,25	10
		2	3,08 \pm 0,27	14
		Total	2,96 \pm 0,29	24
	Total	1	2,88 \pm 0,21	21
		2	3,05 \pm 0,23	35
		Total	2,98 \pm 0,24	56
2º Semana	2 Ordeños	1	2,93 \pm 0,19	11
		2	2,97 \pm 0,17	21
		Total	2,96 \pm 0,18	32
	4 Ordeños	1	2,60 \pm 0,29	10
		2	2,96 \pm 0,29	14
		Total	2,81 \pm 0,33	24
	Total	1	2,77 \pm 0,29	21
		2	2,97 \pm 0,22	35
		Total	2,89 \pm 0,26	56
3º Semana	2 Ordeños	1	2,97 \pm 0,13	11
		2	2,97 \pm 0,19	21
		Total	2,97 \pm 0,17	32
	4 Ordeños	1	2,62 \pm 0,29	10
		2	2,94 \pm 0,26	14
		Total	2,81 \pm 0,31	24
	Total	1	2,80 \pm 0,28	21
		2	2,96 \pm 0,21	35
		Total	2,90 \pm 0,25	56
4º Semana	2 Ordeños	1	3,00 \pm 0,11	11
		2	2,98 \pm 0,16	21
		Total	2,99 \pm 0,14	32
	4 Ordeños	1	2,65 \pm 0,31	10
		2	2,91 \pm 0,25	14
		Total	2,80 \pm 0,30	24
	Total	1	2,83 \pm 0,28	21
		2	2,95 \pm 0,20	35
		Total	2,91 \pm 0,24	56
5º Semana	2 Ordeños	1	3,00 \pm 0,11	11
		2	3,00 \pm 0,17	21
		Total	3,00 \pm 0,15	32
	4 Ordeños	1	2,65 \pm 0,26	10
		2	2,87 \pm 0,21	14
		Total	2,78 \pm 0,25	24
	Total	1	2,83 \pm 0,26	21
		2	2,95 \pm 0,19	35
		Total	2,90 \pm 0,23	56
6º Semana	2 Ordeños	1	2,97 \pm 0,07	11
		2	2,98 \pm 0,16	21
		Total	2,98 \pm 0,14	32
	4 Ordeños	1	2,85 \pm 0,17	10
		2	2,89 \pm 0,18	14
		Total	2,87 \pm 0,18	24
	Total	1	2,91 \pm 0,14	21
		2	2,95 \pm 0,17	35
		Total	2,93 \pm 0,16	56
7º Semana	2 Ordeños	1	2,97 \pm 0,07	11
		2	3,05 \pm 0,19	21
		Total	3,03 \pm 0,16	32
	4 Ordeños	1	2,90 \pm 0,17	10
		2	2,89 \pm 0,16	14
		Total	2,89 \pm 0,16	24
	Total	1	2,94 \pm 0,13	21
		2	2,99 \pm 0,19	35
		Total	2,97 \pm 0,17	56

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
8º Semana	2 Ordeños	1	2,97 \pm 0,13	11
		2	3,07 \pm 0,22	21
		Total	3,03 \pm 0,20	32
	4 Ordeños	1	2,90 \pm 0,21	10
		2	2,92 \pm 0,20	14
		Total	2,91 \pm 0,20	24
	Total	1	2,94 \pm 0,17	21
		2	3,01 \pm 0,22	35
		Total	2,98 \pm 0,21	56
9º Semana	2 Ordeños	1	3,02 \pm 0,07	11
		2	3,03 \pm 0,19	21
		Total	3,03 \pm 0,16	32
	4 Ordeños	1	2,87 \pm 0,21	10
		2	2,96 \pm 0,21	14
		Total	2,92 \pm 0,21	24
	Total	1	2,95 \pm 0,16	21
		2	3,00 \pm 0,20	35
		Total	2,98 \pm 0,19	56
10º Semana	2 Ordeños	1	3,02 \pm 0,07	11
		2	3,05 \pm 0,17	21
		Total	3,04 \pm 0,14	32
	4 Ordeños	1	2,90 \pm 0,17	10
		2	3,01 \pm 0,18	14
		Total	2,96 \pm 0,18	24
	Total	1	2,96 \pm 0,14	21
		2	3,04 \pm 0,17	35
		Total	3,01 \pm 0,16	56
3º Mes	2 Ordeños	1	3,04 \pm 0,10	11
		2	3,13 \pm 0,15	21
		Total	3,10 \pm 0,13	32
	4 Ordeños	1	3,05 \pm 0,19	10
		2	3,17 \pm 0,15	14
		Total	3,12 \pm 0,18	24
	Total	1	3,04 \pm 0,15	21
		2	3,15 \pm 0,15	35
		Total	3,11 \pm 0,15	56
4º Mes	2 Ordeños	1	3,04 \pm 0,15	11
		2	3,17 \pm 0,19	21
		Total	3,13 \pm 0,19	32
	4 Ordeños	1	3,07 \pm 0,23	10
		2	3,14 \pm 0,18	14
		Total	3,11 \pm 0,20	24
	Total	1	3,05 \pm 0,19	21
		2	3,16 \pm 0,19	35
		Total	3,12 \pm 0,19	56
5º Mes	2 Ordeños	1	3,15 \pm 0,12	11
		2	3,16 \pm 0,21	21
		Total	3,16 \pm 0,18	32
	4 Ordeños	1	3,12 \pm 0,21	10
		2	3,25 \pm 0,16	14
		Total	3,19 \pm 0,19	24
	Total	1	3,14 \pm 0,16	21
		2	3,20 \pm 0,19	35
		Total	3,17 \pm 0,18	56

Tabla 18.- Valores de condición corporal (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
1° Mes	2 Ordeños	1	665,31 \pm 354,66	9
		2	840,67 \pm 378,47	18
		Total	782,21 \pm 373,44	27
	4 Ordeños	1	592,53 \pm 163,54	10
		2	575,47 \pm 390,53	14
		Total	582,58 \pm 311,04	24
	Total	1	627,00 \pm 265,84	19
		2	724,65 \pm 400,47	32
		Total	688,27 \pm 356,58	51
2° Mes	2 Ordeños	1	1146,71 \pm 159,36	9
		2	1333,27 \pm 231,76	18
		Total	1271,08 \pm 225,76	27
	4 Ordeños	1	1147,12 \pm 209,85	10
		2	1179,07 \pm 170,14	14
		Total	1165,76 \pm 183,99	24
	Total	1	1146,92 \pm 182,50	19
		2	1265,81 \pm 218,26	32
		Total	1221,52 \pm 211,88	51
3° Mes	2 Ordeños	1	1122,75 \pm 195,59	9
		2	1243,82 \pm 258,11	18
		Total	1203,47 \pm 242,31	27
	4 Ordeños	1	1162,34 \pm 197,43	10
		2	1143,31 \pm 155,31	14
		Total	1151,24 \pm 170,23	24
	Total	1	1143,58 \pm 192,10	19
		2	1199,85 \pm 221,85	32
		Total	1178,89 \pm 211,08	51
4° Mes	2 Ordeños	1	1075,76 \pm 99,98	9
		2	1164,82 \pm 234,06	18
		Total	1135,14 \pm 201,81	27
	4 Ordeños	1	905,88 \pm 124,59	10
		2	1118,31 \pm 142,30	14
		Total	1029,80 \pm 170,19	24
	Total	1	986,35 \pm 140,71	19
		2	1144,47 \pm 197,70	32
		Total	1085,56 \pm 193,19	51
5° Mes	2 Ordeños	1	1107,97 \pm 218,76	9
		2	1144,00 \pm 233,09	18
		Total	1131,99 \pm 224,83	27
	4 Ordeños	1	982,85 \pm 199,10	10
		2	1181,52 \pm 212,72	14
		Total	1098,74 \pm 226,05	24
	Total	1	1042,12 \pm 212,63	19
		2	1160,41 \pm 221,65	32
		Total	1116,34 \pm 223,77	51
6° Mes	2 Ordeños	1	999,35 \pm 160,16	9
		2	1087,22 \pm 196,83	18
		Total	1057,93 \pm 187,10	27
	4 Ordeños	1	992,36 \pm 136,34	10
		2	1144,73 \pm 227,85	14
		Total	1081,24 \pm 206,17	24
	Total	1	995,67 \pm 143,90	19
		2	1112,38 \pm 209,42	32
		Total	1068,90 \pm 194,66	51

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
7° Mes	2 Ordeños	1	884,15 \pm 85,77	9
		2	1119,55 \pm 165,65	18
		Total	1041,08 \pm 181,63	27
	4 Ordeños	1	871,49 \pm 127,88	10
		2	1066,32 \pm 79,63	14
		Total	985,14 \pm 140,04	24
	Total	1	877,48 \pm 107,19	19
		2	1096,26 \pm 135,74	32
		Total	1014,76 \pm 164,23	51
8° Mes	2 Ordeños	1	841,48 \pm 101,18	9
		2	938,80 \pm 209,79	18
		Total	906,36 \pm 184,69	27
	4 Ordeños	1	944,05 \pm 185,40	10
		2	885,20 \pm 118,70	14
		Total	909,72 \pm 149,30	24
	Total	1	895,46 \pm 156,54	19
		2	915,35 \pm 175,42	32
		Total	907,94 \pm 167,32	51
9° Mes	2 Ordeños	1	792,05 \pm 74,89	9
		2	797,33 \pm 172,13	18
		Total	795,57 \pm 145,27	27
	4 Ordeños	1	889,73 \pm 135,77	10
		2	841,21 \pm 152,14	14
		Total	861,42 \pm 144,54	24
	Total	1	843,46 \pm 119,25	19
		2	816,53 \pm 162,61	32
		Total	826,56 \pm 147,26	51

Tabla 19.- Producción mensual de leche (media \pm sd) y valores n en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
1° Mes	2 Ordeños	1	3,89 \pm 0,58	9
		2	3,48 \pm 0,56	18
		Total	3,62 \pm 0,59	27
	4 Ordeños	1	3,66 \pm 0,94	10
		2	3,47 \pm 1,02	14
		Total	3,55 \pm 0,97	24
	Total	1	3,77 \pm 0,78	19
		2	3,48 \pm 0,78	32
		Total	3,59 \pm 0,78	51
2° Mes	2 Ordeños	1	3,71 \pm 0,40	9
		2	3,41 \pm 0,63	18
		Total	3,51 \pm 0,57	27
	4 Ordeños	1	3,48 \pm 0,92	10
		2	3,48 \pm 0,91	14
		Total	3,48 \pm 0,89	24
	Total	1	3,59 \pm 0,71	19
		2	3,44 \pm 0,75	32
		Total	3,50 \pm 0,73	51
3° Mes	2 Ordeños	1	4,14 \pm 0,28	9
		2	3,40 \pm 0,80	18
		Total	3,64 \pm 0,75	27
	4 Ordeños	1	4,11 \pm 0,92	10
		2	3,55 \pm 0,92	14
		Total	3,78 \pm 0,94	24
	Total	1	4,12 \pm 0,67	19
		2	3,46 \pm 0,84	32
		Total	3,71 \pm 0,84	51
4° Mes	2 Ordeños	1	4,52 \pm 0,78	9
		2	3,43 \pm 0,65	18
		Total	3,79 \pm 0,86	27
	4 Ordeños	1	3,96 \pm 0,87	10
		2	3,72 \pm 0,76	14
		Total	3,82 \pm 0,80	24
	Total	1	4,23 \pm 0,86	19
		2	3,55 \pm 0,70	32
		Total	3,80 \pm 0,82	51
5° Mes	2 Ordeños	1	4,17 \pm 0,60	9
		2	3,33 \pm 0,96	18
		Total	3,61 \pm 0,93	27
	4 Ordeños	1	4,19 \pm 0,84	10
		2	3,75 \pm 0,77	14
		Total	3,94 \pm 0,81	24
	Total	1	4,18 \pm 0,71	19
		2	3,52 \pm 0,89	32
		Total	3,76 \pm 0,89	51
6° Mes	2 Ordeños	1	4,35 \pm 0,32	9
		2	3,55 \pm 0,75	18
		Total	3,82 \pm 0,74	27
	4 Ordeños	1	4,38 \pm 0,62	10
		2	3,99 \pm 0,50	14
		Total	4,15 \pm 0,57	24
	Total	1	4,36 \pm 0,49	19
		2	3,74 \pm 0,68	32
		Total	3,98 \pm 0,68	51

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
7° Mes	2 Ordeños	1	4,61 \pm 0,62	9
		2	3,94 \pm 0,85	18
		Total	4,16 \pm 0,83	27
	4 Ordeños	1	4,75 \pm 0,63	10
		2	3,98 \pm 0,70	14
		Total	4,30 \pm 0,76	24
	Total	1	4,69 \pm 0,61	19
		2	3,96 \pm 0,77	32
		Total	4,23 \pm 0,79	51
8° Mes	2 Ordeños	1	4,29 \pm 0,68	9
		2	4,29 \pm 0,68	18
		Total	3,58 \pm 0,95	27
	4 Ordeños	1	3,82 \pm 0,92	10
		2	4,39 \pm 0,75	14
		Total	3,80 \pm 0,96	24
	Total	1	4,34 \pm 0,70	19
		2	3,68 \pm 0,94	32
		Total	3,93 \pm 0,91	51
9° Mes	2 Ordeños	1	4,26 \pm 0,47	9
		2	4,02 \pm 0,72	18
		Total	4,10 \pm 0,64	27
	4 Ordeños	1	4,96 \pm 0,55	10
		2	4,30 \pm 0,92	14
		Total	4,57 \pm 0,84	24
	Total	1	4,63 \pm 0,61	19
		2	4,14 \pm 0,81	32
		Total	4,32 \pm 0,77	51

Tabla 20.- Porcentaje de grasa en leche (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd.	N
1° Mes	2 Ordeños	1	3,20 \pm 0,39	9
		2	3,11 \pm 0,24	18
		Total	3,14 \pm 0,29	27
	4 Ordeños	1	3,30 \pm 0,10	10
		2	3,23 \pm 0,34	14
		Total	3,26 \pm 0,26	24
	Total	1	3,25 \pm 0,27	19
		2	3,16 \pm 0,29	32
		Total	3,19 \pm 0,28	51
2° Mes	2 Ordeños	1	3,27 \pm 0,40	9
		2	3,12 \pm 0,28	18
		Total	3,17 \pm 0,32	27
	4 Ordeños	1	3,22 \pm 0,21	10
		2	3,21 \pm 0,33	14
		Total	3,22 \pm 0,28	24
	Total	1	3,24 \pm 0,30	19
		2	3,16 \pm 0,30	32
		Total	3,19 \pm 0,30	51
3° Mes	2 Ordeños	1	3,41 \pm 0,18	9
		2	3,04 \pm 0,48	18
		Total	3,16 \pm 0,43	27
	4 Ordeños	1	3,44 \pm 0,16	10
		2	3,18 \pm 0,30	14
		Total	3,29 \pm 0,28	24
	Total	1	3,42 \pm 0,17	19
		2	3,10 \pm 0,41	32
		Total	3,22 \pm 0,37	51
4° Mes	2 Ordeños	1	3,37 \pm 0,26	9
		2	3,03 \pm 0,27	18
		Total	3,15 \pm 0,31	27
	4 Ordeños	1	3,49 \pm 0,15	10
		2	3,26 \pm 0,28	14
		Total	3,35 \pm 0,26	24
	Total	1	3,43 \pm 0,21	19
		2	3,13 \pm 0,29	32
		Total	3,24 \pm 0,30	51
5° Mes	2 Ordeños	1	3,47 \pm 0,34	9
		2	3,05 \pm 0,29	18
		Total	3,19 \pm 0,36	27
	4 Ordeños	1	3,41 \pm 0,38	10
		2	3,27 \pm 0,25	14
		Total	3,36 \pm 0,31	24
	Total	1	3,44 \pm 0,36	19
		2	3,17 \pm 0,30	32
		Total	3,27 \pm 0,34	51
6° Mes	2 Ordeños	1	3,47 \pm 0,33	9
		2	3,07 \pm 0,28	18
		Total	3,20 \pm 0,35	27
	4 Ordeños	1	3,66 \pm 0,33	10
		2	3,44 \pm 0,14	14
		Total	3,53 \pm 0,26	24
	Total	1	3,57 \pm 0,34	19
		2	3,23 \pm 0,29	32
		Total	3,36 \pm 0,35	51

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
7° Mes	2 Ordeños	1	3,54 \pm 0,75	9
		2	3,25 \pm 0,29	18
		Total	3,35 \pm 0,50	27
	4 Ordeños	1	3,71 \pm 0,44	10
		2	3,51 \pm 0,36	14
		Total	3,59 \pm 0,40	24
	Total	1	3,63 \pm 0,60	19
		2	3,36 \pm 0,35	32
		Total	3,46 \pm 0,47	51
8° Mes	2 Ordeños	1	3,46 \pm 0,30	9
		2	3,36 \pm 0,27	18
		Total	3,39 \pm 0,28	27
	4 Ordeños	1	3,72 \pm 0,35	10
		2	3,50 \pm 0,40	14
		Total	3,59 \pm 0,39	24
	Total	1	3,60 \pm 0,35	19
		2	3,42 \pm 0,33	32
		Total	3,48 \pm 0,35	51
9° Mes	2 Ordeños	1	3,38 \pm 0,17	9
		2	3,51 \pm 0,36	18
		Total	3,46 \pm 0,31	27
	4 Ordeños	1	3,76 \pm 0,32	10
		2	3,57 \pm 0,29	14
		Total	3,65 \pm 0,31	24
	Total	1	3,58 \pm 0,32	19
		2	3,54 \pm 0,33	32
		Total	3,55 \pm 0,32	51

Tabla 21.- Porcentaje de proteína en leche (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
1° Mes	2 Ordeños	1	4,80 \pm 0,16	9
		2	4,78 \pm 0,20	18
		Total	4,79 \pm 0,18	27
	4 Ordeños	1	4,81 \pm 0,18	10
		2	4,84 \pm 0,14	14
		Total	4,83 \pm 0,16	24
	Total	1	4,81 \pm 0,17	19
		2	4,81 \pm 0,18	32
		Total	4,81 \pm 0,17	51
2° Mes	2 Ordeños	1	4,81 \pm 0,06	9
		2	4,81 \pm 0,19	18
		Total	4,81 \pm 0,16	27
	4 Ordeños	1	4,78 \pm 0,13	10
		2	4,86 \pm 0,10	14
		Total	4,83 \pm 0,12	24
	Total	1	4,79 \pm 0,10	19
		2	4,84 \pm 0,16	32
		Total	4,82 \pm 0,14	51
3° Mes	2 Ordeños	1	4,79 \pm 0,10	9
		2	4,73 \pm 0,27	18
		Total	4,75 \pm 0,23	27
	4 Ordeños	1	4,80 \pm 0,16	10
		2	4,84 \pm 0,15	14
		Total	4,82 \pm 0,15	24
	Total	1	4,79 \pm 0,13	19
		2	4,78 \pm 0,23	32
		Total	4,78 \pm 0,20	51
4° Mes	2 Ordeños	1	4,90 \pm 0,20	9
		2	4,86 \pm 0,21	18
		Total	4,87 \pm 0,21	27
	4 Ordeños	1	4,77 \pm 0,11	10
		2	4,77 \pm 0,16	14
		Total	4,77 \pm 0,14	24
	Total	1	4,83 \pm 0,17	19
		2	4,82 \pm 0,19	32
		Total	4,82 \pm 0,18	51
5° Mes	2 Ordeños	1	4,83 \pm 0,24	9
		2	4,77 \pm 0,18	18
		Total	4,79 \pm 0,20	27
	4 Ordeños	1	4,74 \pm 0,12	10
		2	4,77 \pm 0,17	14
		Total	4,76 \pm 0,15	24
	Total	1	4,78 \pm 0,19	19
		2	4,77 \pm 0,17	32
		Total	4,77 \pm 0,18	51
6° Mes	2 Ordeños	1	4,80 \pm 0,13	9
		2	4,74 \pm 0,16	18
		Total	4,76 \pm 0,15	27
	4 Ordeños	1	4,69 \pm 0,28	10
		2	4,85 \pm 0,16	14
		Total	4,78 \pm 0,23	24
	Total	1	4,74 \pm 0,22	19
		2	4,79 \pm 0,17	32
		Total	4,77 \pm 0,19	51

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
7° Mes	2 Ordeños	1	4,80 \pm 0,17	9
		2	4,70 \pm 0,30	18
		Total	4,73 \pm 0,27	27
	4 Ordeños	1	4,59 \pm 0,21	10
		2	4,91 \pm 0,21	14
		Total	4,78 \pm 0,26	24
	Total	1	4,69 \pm 0,21	19
		2	4,79 \pm 0,28	32
		Total	4,75 \pm 0,26	51
8° Mes	2 Ordeños	1	4,68 \pm 0,11	9
		2	4,61 \pm 0,28	18
		Total	4,63 \pm 0,23	27
	4 Ordeños	1	4,63 \pm 0,12	10
		2	4,75 \pm 0,22	14
		Total	4,70 \pm 0,19	24
	Total	1	4,65 \pm 0,12	19
		2	4,67 \pm 0,26	32
		Total	4,66 \pm 0,22	51
9° Mes	2 Ordeños	1	4,69 \pm 0,15	9
		2	4,73 \pm 0,29	18
		Total	4,72 \pm 0,25	27
	4 Ordeños	1	4,67 \pm 0,24	10
		2	4,77 \pm 0,27	14
		Total	4,73 \pm 0,26	24
	Total	1	4,68 \pm 0,19	19
		2	4,75 \pm 0,28	32
		Total	4,72 \pm 0,25	51

Tabla 22.- Porcentaje de lactosa en leche (media \pm sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media ± sd	N
1° Mes	2 Ordeños	1	402,56±886,78	9
		2	272,00±554,86	18
		Total	315,52±668,73	27
	4 Ordeños	1	232,80±379,50	10
		2	124,00±155,48	14
		Total	169,33±270,22	24
	Total	1	313,21±655,05	19
		2	207,25±429,57	32
		Total	246,73±521,11	51
2° Mes	2 Ordeños	1	119,56±166,40	9
		2	319,78±558,36	18
		Total	253,04±470,76	27
	4 Ordeños	1	758,60±1632,17	10
		2	132,64±170,82	14
		Total	393,46±1076,24	24
	Total	1	455,89±1204,89	19
		2	237,91±438,29	32
		Total	319,12±808,12	51
3° Mes	2 Ordeños	1	451,11±1073,82	9
		2	606,39±1775,06	18
		Total	554,63±1555,80	27
	4 Ordeños	1	247,40±362,55	10
		2	202,50±381,69	14
		Total	221,21±366,46	24
	Total	1	343,89±767,54	19
		2	429,69±1352,93	32
		Total	397,73±1161,33	51
4° Mes	2 Ordeños	1	623,44±1747,80	9
		2	194,28±466,72	18
		Total	337,33±1060,60	27
	4 Ordeños	1	361,30±431,91	10
		2	99,79±81,88	14
		Total	208,75±306,81	24
	Total	1	485,47±1212,04	19
		2	152,94±352,89	32
		Total	276,82±795,26	51
5° Mes	2 Ordeños	1	282,33±507,51	9
		2	700,33±2093,83	18
		Total	561,00±1728,04	27
	4 Ordeños	1	541,00±636,54	10
		2	158,29±247,61	14
		Total	317,75±479,95	24
	Total	1	418,47±578,51	19
		2	463,19±1582,58	32
		Total	446,53±1293,75	51
6° Mes	2 Ordeños	1	410,33±601,25	9
		2	739,00±2082,43	18
		Total	629,44±1723,83	27
	4 Ordeños	1	406,50±788,11	10
		2	219,86±311,19	14
		Total	297,63±553,73	24
	Total	1	408,32±686,46	19
		2	511,88±1577,07	32
		Total	473,29±1309,29	51

	Grupo	Dieta	Media ± sd	N
7° Mes	2 Ordeños	1	243,44±223,54	9
		2	614,50±1492,32	18
		Total	490,81±1226,08	27
	4 Ordeños	1	640,90±1245,09	10
		2	666,86±1507,02	14
		Total	656,04±1374,94	24
	Total	1	452,63±915,92	19
		2	637,41±1474,57	32
		Total	586,57±1287,73	51
8° Mes	2 Ordeños	1	528,67±913,15	9
		2	390,00±645,68	18
		Total	436,22±730,47	27
	4 Ordeños	1	284,70±370,57	10
		2	349,93±620,34	14
		Total	322,75±521,85	24
	Total	1	400,26±674,48	19
		2	372,47±624,83	32
		Total	382,82±637,192	51
9° Mes	2 Ordeños	1	403,67±352,36	9
		2	235,50±286,48	18
		Total	291,56±313,67	27
	4 Ordeños	1	336,40±380,85	10
		2	90,43±66,86	14
		Total	192,92±273,18	24
	Total	1	368,26±359,02	19
		2	172,03±228,53	32
		Total	245,14±296,59	51

Tabla 23.- Recuentos de células somáticas (media ± sd) y valores n en los diferentes momentos del muestreo en función de la dieta y del número de ordeños.

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
1° Semana	2 Ordeños	1	88,41 \pm 58,48	11
		2	208,00 \pm 34,45	16
		Total	159,28 \pm 74,73	27
	4 Ordeños	1	91,54 \pm 59,61	10
		2	217,84 \pm 29,76	14
		Total	165,23 \pm 77,06	24
	Total	1	89,90 \pm 57,55	21
		2	212,60 \pm 32,19	30
		Total	162,08 \pm 75,13	51
2° Semana	2 Ordeños	1	207,73 \pm 31,70	11
		2	263,35 \pm 39,77	16
		Total	240,69 \pm 45,55	27
	4 Ordeños	1	210,08 \pm 37,04	10
		2	252,43 \pm 44,33	14
		Total	234,78 \pm 45,85	24
	Total	1	208,85 \pm 33,49	21
		2	258,26 \pm 41,59	30
		Total	237,91 \pm 45,33	51
3° Semana	2 Ordeños	1	237,30 \pm 23,13	11
		2	286,63 \pm 23,92	16
		Total	266,53 \pm 33,85	27
	4 Ordeños	1	241,95 \pm 30,61	10
		2	251,40 \pm 54,54	14
		Total	247,46 \pm 45,50	24
	Total	1	239,51 \pm 26,36	21
		2	270,19 \pm 44,15	30
		Total	257,56 \pm 40,51	51
4° Semana	2 Ordeños	1	245,64 \pm 20,92	11
		2	288,33 \pm 31,33	16
		Total	270,94 \pm 34,52	27
	4 Ordeños	1	245,37 \pm 28,15	10
		2	257,65 \pm 43,41	14
		Total	252,53 \pm 37,60	24
	Total	1	245,51 \pm 23,99	21
		2	274,02 \pm 39,94	30
		Total	262,28 \pm 36,82	51
5° Semana	2 Ordeños	1	250,16 \pm 20,33	11
		2	291,90 \pm 34,75	16
		Total	274,90 \pm 35,95	27
	4 Ordeños	1	258,35 \pm 29,60	10
		2	266,79 \pm 43,87	14
		Total	263,27 \pm 38,06	24
	Total	1	254,06 \pm 24,87	21
		2	280,18 \pm 40,62	30
		Total	269,42 \pm 37,05	51
6° Semana	2 Ordeños	1	259,05 \pm 15,71	11
		2	298,56 \pm 32,61	16
		Total	282,46 \pm 33,16	27
	4 Ordeños	1	261,03 \pm 42,95	10
		2	274,11 \pm 33,06	14
		Total	268,66 \pm 37,18	24
	Total	1	259,99 \pm 30,89	21
		2	287,15 \pm 34,55	30
		Total	275,97 \pm 35,44	51

	Grupo	Dieta	Media \pm sd	N
7° Semana	2 Ordeños	1	262,98 \pm 17,71	11
		2	297,34 \pm 30,42	16
		Total	283,34 \pm 30,83	27
	4 Ordeños	1	252,39 \pm 28,86	10
		2	274,22 \pm 22,43	14
		Total	265,12 \pm 27,04	24
	Total	1	257,93 \pm 23,69	21
		2	286,55 \pm 29,01	30
		Total	274,77 \pm 30,25	51
8° Semana	2 Ordeños	1	256,70 \pm 23,94	11
		2	302,50 \pm 33,88	16
		Total	283,84 \pm 37,53	27
	4 Ordeños	1	256,25 \pm 35,72	10
		2	265,32 \pm 19,45	14
		Total	261,54 \pm 27,09	24
	Total	1	256,48 \pm 29,34	21
		2	285,15 \pm 33,45	30
		Total	273,34 \pm 34,59	51

Tabla 24.- Producción semanal de leche (media \pm sd) y valores n en función de la dieta y del número de ordeños.

Resumen

El principal objetivo de este trabajo ha sido comprobar el efecto del incremento del número de ordeños de 2 a 4, en una explotación con un tamaño importante (100 animales en ordeño), sala de ordeño convencional y manejo habitual, en la que se emplearon 2 raciones con diferente concentración de energía, sobre la producción y calidad de la leche y el rendimiento reproductivo.

El diseño experimental consistió en seleccionar a 4 grupos de animales con unas características productivas y reproductivas similares, alimentándolos con 2 raciones distintas (ración 1 -menos concentración energética-, ración 2 -mayor concentración energética-). A dos de los grupos se le incrementó la frecuencia de ordeño de 2 a 4 veces al día, grupos tratamiento (T1 -alimentado con ración 1-, T2 -alimentado con ración 2) y los otros dos actuaron como controles (C1 y C2). Cada animal fue sometido a una pauta concreta de muestreos (sangre, leche, condición corporal y datos reproductivos) con el fin de determinar la evolución de sus perfiles metabólicos en el posparto, el reinicio de la actividad ovárica cíclica y la producción y calidad de la leche. Una vez finalizado el estudio disponíamos de los perfiles metabólicos y datos reproductivos de 66 animales y de las cifras de producción y calidad de leche de 51.

Tras el análisis estadístico de los resultados comprobamos que las situaciones de balance energético negativo se agudizaban en los animales sometidos a 4 ordeños repercutiendo negativamente en su producción de leche y rendimiento reproductivo. La explicación a este hecho hay que buscarla en el manejo de los animales. Si la granja, como fue nuestro caso, no adapta el manejo al incremento en la frecuencia de ordeño se incrementa la actividad de los animales y se reduce el tiempo del que disponen para alimentarse y descansar, aumentando su estrés.

En las condiciones en las que se desarrolló este estudio, el incremento de 2 a 4 ordeños en los primeros meses del postparto no es rentable, ya que no se incrementa la producción e incluso empeora ligeramente la reproducción. No obstante, adecuando las instalaciones, el manejo y la alimentación los resultados podrían mejorar.

Summary

The main objective of this study was to assess the effect of increasing the number of milking from 2 to 4, on a farm with a significant size (100 animals in milk), conventional parlor and current management, which were used 2 rations with different energy concentration on production and milk quality and reproductive performance.

The experimental design was to select 4 groups of animals with characteristics similar to productive and reproductive, feeding with 2 different rations (ration 1-least-energy density, ration 2-higher energy-). Two of the groups was increased milking frequency from 2 to 4 times per day treatment groups (T1-fed ration 1 -, T2-fed ration 2) and the other two acted as controls (C1 and C2). Each animal was subjected to a specific pattern of samples (blood, milk, body condition and reproductive data) to determine the evolution of metabolic profiles in postpartum resumption of cyclic ovarian activity and the production and quality milk. Once the study had end access to the metabolic profiles and reproductive data from 66 animals and production figures and quality of milk from 51.

The statistical analysis of the results we see that the situation became more acute negative energy balance in animals subjected to 4 orders a negative impact on milk production and reproductive performance. The explanation for this fact is to be found in the handling of animals. If the farm, as was our case, adjusting the management to increased milking frequency increases animal activity and reduces the time available to feed and rest, increasing stress.

Under the conditions that developed in this study, an increase of 2 to 4 orders in the first months after delivery is not profitable, as production is not increased and even slightly worse playback. However, adapting the facilities, food handling and the results could be improved.