UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

FACULTAD DE VETERINARIA DE LUGO

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

CAMBIOS METABÓLICOS ASOCIADOS AL SISTEMA DE EXPLOTACIÓN DEL VACUNO LECHERO.

Memoria presentada por el Licenciado en Veterinaria D. José Antonio Fernández García para optar al grado de Doctor en Veterinaria

Lugo, a 3 de febrero de 2014

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL
Facultad de Veterinaria
Campus universitario s/n
27002 LUGO (España)

D. José Luís Benedito Castellote, Dña. Cristina Castillo Rodríguez y D. Joaquín Hernández Bermúdez, Profesores titulares del Departamento de Patología Animal de la Universidad de Santiago de Compostela

INFORMAN

Que la Tesis Doctoral titulada CAMBIOS METABÓLICOS ASOCIADOS AL SISTEMA DE EXPLOTACIÓN DEL VACUNO LECHERO., y de la que es autor el Licenciado en Veterinaria D. José Antonio Fernández García, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Departamento de Patología Animal de la Universidad de Santiago de Compostela y, en opinión de los abajo firmantes, reúne las condiciones legales para optar al título de Doctor en Veterinaria.

Para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente informe en Lugo, a nueve de enero de dos mil catorce.

Fdo. Dr. Benedito Castellote

Fdo. Dra. Castillo Rodríguez

Fdo. Dr. Hernández Bermúdez

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada dentro del Proyecto de Investigación titulado: CARACTERIZACIÓN METABÓLICA E PRODUCTIVA NA VACA LEITEIRA NA FASE DE TRANSICIÓN: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O SISTEMA INTENSIVO E ECOLÓXICO (10MRU261004PR), así como por por el PROGRAMA DE CONSOLIDACIÓN DE UNIDADES DE INVESTIGACIÓN COMPETITIVAS DO SUG, financiados por la Xunta de Galicia y desarrollado en el Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidade de Santiago de Compostela.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

A mi esposa, Mary, que en situaciones de flaqueza y desesperanza ha sido siempre mi firme apoyo para recuperar fuerza y seguir adelante.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado en la realización de este trabajo, y muy especialmente a…

D. José Luis Benedito Castellote, profesor titular, Dña. Cristina Castillo Rodríguez, profesora titular y D. Joaquín Hernández Bermúdez, profesor titular, pertenecientes al Departamento de Patología Animal de la Universidad de Santiago de Compostela y directores de la presente Tesis Doctoral, por depositar su confianza en mí.´

A la técnico de laboratorio del Departamento de Patología Animal, Lucía Casanova Iglesias, por su ayuda en el procesamiento de las muestras obtenidas. Asimismo a los restantes miembros del grupo de investigación Metanimal GI-1705 (las profesoras Marta López Alonso, Marta Miranda Castañón, el profesor Víctor Pereira Lestayo y el licenciado en Veterinaria Angel Abuelo Sebio) por su apoyo durante este tiempo.

La granja Arqueixal de Palas de Rey y la granja Maruxa de Monterroso por la amabilidad y buena disposición a colaborar poniéndome a mi disposición cuantos animales precisase para la toma de muestras.

Mis amigos y mis diferentes compañeros de trabajo por cada una de las frases y gestos de ánimo para que siguiese adelante con esta Tesis Doctoral.

Mi esposa y mi hijo por su constante apoyo y ánimo en todos y cada uno de los trabajos que he llevado a cabo.

…a todos y a todas muchas gracias.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

1. INTRODUCCIÓN OBJETIVOS 15

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SISTEMA GANADERO ECOLÓGICO EN EL GANADO VACUNO GALLEGO 23

2.1.1. PRODUCTIVIDAD DE LAS EXPLOTACIONES ECOLÓGICAS DE VACUNO LECHERO 30

2.2. CAMBIOS FÍSICOS Y METABÓLICOS QUE TIENEN LUGAR DURANTE EL PERIODO DE TRANSICIÓN DE LA VACA LECHERA.

2.2.1. CAMBIOS METABÓLICOS 51

2.2.2. CAMBIOS ENDOCRINOS 53

2.2.3. EL BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO (BEN) 57

2.2.4. CAMBIOS EN EL SISTEMA INMUNE 60

2.2.5. IMPORTANCIA DE LA CONDICIÓN CORPORAL AL PARTO 61

2.3. PARÁMETROS PRODUCTIVOS, SÉRICOS Y HEMATOLÓGICOS

2.3.1. PARÁMETROS PRODUCTIVOS

2.3.1.1. CONDICIÓN CORPORAL 63

2.3.1.2. PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

2.3.1.2.A. LITROS DE LECHE 71

2.3.1.2.B.CONTENIDO EN GRASA 74

2.3.1.2.C. PROTEÍNAS DE LA LECHE 76

2.3.1.2.D. RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS 78

2.3.1.2.E. INDICE DE CETOSIS 80

2.3.2. PARÁMETROS SANGUÍNEOS

2.3.2.1. METABOLISMO ENERGÉTICO

2.3.2.1.A. GLUCOSA 85

2.3.2.1.B. ACIDOS GRASOS LIBRES 91

2.3.2.1.C. B-HIDROXIBUTIRATO 95

2.3.2.2. Metabolismo proteico

2.3.2.2.A. Urea 101

2.3.2.2.B. Creatinina. 106

2.3.2.2.C. Proteinas totales sericas 107

2.3.2.3. Enzimología clínica

2.3.2.3.A. Aspartato amino transferasa 119

2.3.2.3.B. Gamma glutamil transferasa. 122

2.3.2.3.C. Creatin kinasa 124

2.3.3. Parámetros hematologicos

2.3.3.A. La serie roja 127

2.3.3.B. La serie blanca total 134

2.3.3.C. Plaquetas 136

3. Material y Métodos

3.1. Selección de los Animales de Estudio 139

3.2. Descripción del Alojamiento 140

3.3. Manejo Nutricional 143

3.4. Historial Clínico 146

3.5. Protocolo de Recogida de Muestras

3.5.1. Grupos de Estudio 147

3.5.2. Temporalización 148

3.5.3. Recogida y Conservación de las Muestras 148

3.6. Determinaciones analíticas

3.6.1. Composición Fisico-Química de la Ración 149

3.6.2. Parámetros Productivos 151

3.6.3. Parámetros Sanguíneos 153

3.7. Análisis estadístico 158

4. Resultados y Discusión

4.1. Parámetros Productivos

4.1.1. Condición Corporal 159

4.1.2. Producción y Calidad de la Leche

4.1.2.A. Litros de leche 163

4.1.2.B. Contenido en Grasa 164

4.1.2.C.Proteínas de la Leche 167

4.1.2.D. Recuento de Células Somáticas 170

4.1.2.E. Indice de Cetosis 172

4.2. Parámetros Sanguíneos

4.2.1. Metabolismo Energético

4.2.1.A. Glucosa 175

4.2.1.B. Acidos Grasos Libres 178

4.2.1.C. b-Hidroxibutirato 183

4.2.2. Metabolismo Proteico

4.2.2.A. Urea 189

4.2.2.B. Creatinina 193

4.2.2.C. Proteínas Totales Séricas 195

4.2.3. Enzimología Clínica

4.2.3.A. Aspartato Amino Transferasa 207

4.2.3.B. Gamma Glutamil Transferasa 210

4.2.3.C. Creatin Kinasa 212

4.2.4. Parámetros Hematológicos

4.2.4.A. La Serie Roja 217

4.2.4.B. La Serie Blanca Total 222

4.2.4.C. Plaquetas 225

5. CONCLUSIONES 227

6. RESUMEN / RESUMO / SUMMARY 229

7. BIBLIOGRAFÍA 241

La ganadería ecológica en el sector lechero es una alternativa zootécnica de desarrollo sostenible frente a los actuales sistema de producción intensiva, y está estrictamente regulada a nivel autonómico, nacional y europeo (Reglamento CEE nº 834/2007 que deroga el reglamento anterior CEE nº 2092/91), legislada en cada uno de los estados miembros y controlada por distintos organismos públicos o privados de control y certificación.

> En el caso de Galicia, este organismo es CRAEGA (Centro Regulador de Agricultura Ecolóxica de Galicia). Hay que tener en cuenta que para la obtención del certificado oficial tienen que pasar, como media, un mínimo de un año, tanto en el período de conversión de explotaciones ya existentes, como en nuevas (el periodo puede oscilar entre uno o dos años, dependiendo del manejo que previamente ha tenido la explotación). Todos estos requisitos de producción, control y certificación de los productos ecológicos se encuentran recogidos en el Reglamento CEE nº 2092/91 y en el Reglamento (CE) nº 807/2007 de la comisión de 10 de junio de 2007, que supone la más exigente norma de calidad existente y la única definida a través de este máximo rango legislativo, lo que da idea de su importancia.
>
> Además, todas las explotaciones, así como las industrias que elaboran o manipulan estos productos, deben estar inscritas en unos registros habilitados por los diferentes consejos reguladores y sometidas a un régimen de control por los organismos a tal fin autorizados, al objeto de garantizar el cumplimiento de la normativa reguladora de esta actividad.

Se trata de una actividad que cuenta cada año con más respaldo social, ya que entre sus principales objetivos se hallan 1) la obtención de alimentos de calidad diferenciada (realmente saludables); 2) la conservación de los recursos naturales al tiempo que la diversidad biológica; 3) el freno a la contaminación mediambiental y el efecto invernadero; 4) la recuperación de los valores tradicionales y culturales del medio rural, mejorando, con nuevas técnicas y herramientas, los sistemas de cría, como punto de partida para estimular la recuperación demográfica del campo gallego; en la actualidad muy debilitado por los sistemas agro-ganaderos vigentes, escasamente competitivos, y con un alto coste medioambiental y social que no satisfacen las expectativas futuras de los agricultores y ganaderos, para que las

generaciones venideras continúen participando activamente en el medio agrario donde les vieron nacer (Blanco *et al*., 2006).

> Entre las empresas registradas, hay que diferenciar entre:
>
> *Explotaciones ganaderas* (o productores): Se centran en la obtención de la materia prima. El producto final no es sometido a ningún proceso de transformación antes de dirigirse a la clientela.
>
> *Actividades industriales* (o empresas de elaboración/transformación). Se centran en la transformación o preparación de la materia prima para su posterior comercialización.

De acuerdo a las bases aportadas por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, en los últimos años la evolución de los sistema ecológicos fue positiva, creciendo la actividad entre el 10-20%, incrementándose las granjas pecuarias ecológicas desde el año 2001 al 2006 en un 183,8% (García Romero, 2007).

> En este período el número de empresas gallegas de ganadería ecológica se ha incrementado en más de un 100% (Plan de Desenvolvemento Integral de Ferrol, Eume y Ortegal, 2008)

Las granjas de ganado vacuno de carne representan algo más de la mitad de las explotaciones de ganadería ecológica en Galicia, con la gran inversión que supone puesto que es necesario contar con un matadero y una sala de despiece.

> Además, la facturación de la actividad, incluyendo la agricultura ecológica, pasó de 3 millones de euros en 2003 a 8 en el año 2006. Este incremento porcentual del 166% ratifica las buenas expectativas de futuro que atribuyen al sector tanto los/as expertos/as como los/ as empresarios/as.

Aun así, la producción de leche ecológica sigue siendo baja en comparación con otros países de Europa, sobre todo nórdicos, debido entre otras razones a la ausencia de datos empíricos que avalen el beneficio de este nuevo sistema sobre el estado de salud de los animales y la calidad de sus producciones, directas (leche) o indirectas (derivados y procesados lácteos).

En lo que se refiere al tipo de animales que pueden o no ser incluidos en este sector, se han de seleccionar razas o estirpes teniendo en cuenta su adaptación al entorno, su vitalidad y su resistencia a las enfermedades, dando preferencia a las razas y estirpes autóctonas por ser las que en principio están más adaptadas a las condiciones locales, y en caso de que no las haya, recurrir a las razas tradicionales de leche que mejor se adapten al entorno agroambiental de la explotación. Los animales que constituyen la ganadería deben proceder de explotaciones ecológicas y haber cumplido las normas desde su nacimiento, aunque se permiten ciertas excepciones si no se dispone de animales ecológicos, con la autorización previa de la autoridad de control:

- Animales que ya estaban presentes en la unidad cuando comenzó su reconversión.
- Animales convencionales que se introduzcan para constituir por primera vez el rebaño o ganadería con un tiempo máximo de vida (6 meses para terneros que cumplan las normas tras el destete)
- Animales convencionales para renovación o reconstitución del rebaño, en caso de elevada mortalidad de animales causada por enfermedad o catástrofe.
- Animales convencionales para reposición (hembras nulíparas de bovino hasta una cantidad máxima anual del 10% del ganado adulto)

Es necesario, desde el sector veterinario la realización de estudios detallados y profundos acerca de cómo este modelo productivo influye sobre el estado de salud del animal, con el fin de contar con un registro básico a partir del cual, y sobre la base de una producción ecológica, abordar las futuras estrategias destinadas a incrementar y optimizar la producción -una producción de calidad- que la haga atractiva al ganadero.

Asímismo, es básico conocer cuál es la incidencia de enfermedades metabólico-nutricionales asociadas a este tipo de explotación y, por ende, de producción, con el propósito de buscar estrategias nutricionales y/o terapéuticas que reúnan los requisitos exigidos para este tipo de explotaciones.

En la actualidad, los clínicos veterinarios se ven con frecuencia obligados a realizar servicios o programar tratamientos no especializados ante la falta de información (Bennedsgaard *et al.*, 2003).

Para el ganado bovino de leche, uno de los momentos más críticos en su vida –en términos sanitarios y productivos- lo constituye el periodo de transición, comprendido entre las 3-4 semanas preparto hasta las 3-4 semanas post-parto (Drackley *et al.*, 2002; Castillo *et al.*, 2005, 2006). En las granjas de régimen intensivo una producción láctea eficiente se logra tratando de conseguir un intervalo entre partos lo más próximo a 365 días. El tránsito desde la fase de preñez/secado a la de plena lactación a menudo supone sobrepasar los límites del fisiologismo (Bell, 1995), condicionando los productos derivados de su explotación (leche/ternero).

> La mayor parte de las enfermedades que afectan al ganado vacuno de leche (cetosis, hipocalcemia, laminitis, mamitis, acidosis ruminal) tienen lugar en este período, suponiendo en conjunto más de la mitad del gasto sanitario de toda su vida productiva; y eso sin contar otros gastos difícilmente cuantificables como son la pérdida de la producción láctea o el descenso en el valor de mercado.
>
> Gran parte de estos trastornos están estrechamente ligados a factores de manejo o nutricionales.

En el ámbito de la ganadería ecológica todos estos aspectos están estrechamente regulados (Reglamento CEE nº 834/2007 sobre Produción Agrícola Ecológica) en busca siempre del bienestar animal. Aún así, es necesario saber cuáles son las necesidades de este tipo de ganado para cada una de las fases productivas.

> En la actualidad, aunque está tipificado cuál debe ser el tipo de alimentación que deben recibir estos animales, no ha sido posible disponer de datos que caractericen los efectos de la misma sobre el estado de salud de la vaca...

Una buena manera de alcanzar este fin es a través de la caracterización de los perfiles metabólicos. Su fin es evaluar la respuesta del organismo frente a las dietas aportadas (en términos de energía, proteínas, carbohidratos, macro y microminerales) e identificar los puntos más débiles del sistema productivo con rapidez y fiabilidad. Son más precisos además que otros parámetros como pueden ser la calidad de la leche, el estado de carnes o los índices de fertilidad a la hora de valorar una ración. Además, se emplean en el momento de valorar la influencia de la alimentación en ciertos procesos metabólicos como la cetosis o hipocalcemia.

Hasta la fecha, este tipo de estudios se han realizado mayoritariamente en otros países europeos, especialmente nórdicos, y en otros contextos temporales, por lo que no existe unanimidad en los resultados obtenidos, contribuyendo a incrementar las lagunas y el desconocimiento acerca de los beneficios reales de este sistema productivo, que creemos puede ser rentable en Galicia a corto-medio plazo.

> Uno de los primeros estudios más profundos realizados en Galicia, lo contituye el análisis de los distintos sistemas productivos en ganado vacuno y realizado por Blanco Penedo en 2008. En ellos ya se dejaba entrever la importancia que adquiriría este sistema de explotación en un corto espacio de tiempo, pero también las debilidades que había que corregir si se quería alcanzar un sistema productivo de la solidez que muestran las explotaciones del Norte de Europa.

Es pues necesario continuar con este tipo de estudios pormenorizados acerca del estado de salud del vacuno lechero acogido al modelo de ganadería ecológica, pues al contrario que lo realizado por Blanco Penedo (2008) quien tomó muestras de sangre en momentos puntuales, nosotros pretendemos hacer un seguimiento pormenorizado de toda la fase productiva.

Un reciente estudio, en el que se analizaban varios aspectos de la ganadería ecológica en el Norte de España, entre los que destacaba la variabilidad

racial y la producción de leche (Rodríguez Bermúdez, 2014) señalaba que la mayoría de las razas utilizadas en las zonas de estudio (Galicia, Asturias, Cantabria y País Vasco) para ganadería ecológica eran las mismas que para el sistema convencional, especialmente la raza Frisona, lo que cuestionaba su capacidad de adaptación al nuevo sistema. Entre sus conclusiones, destacaba la necesidad de estudios específicos en los que se evaluara la capacidad de dicha raza para adaptarse al nuevo sistema, haciendo hincapié no sólo en la producción y reproducción, sino también en la salud de los animales. Ello, a tenor de la autora, permitiría selecionar las características funcionales relacionadas con dicha capacidad de adaptación.

En base pues a todo lo anteriormente señalado, partimos de una HIPOTESIS DE TRABAJO:

> *Creemos que el sistema de producción lechera recogido en el modelo de ganadería ecológica puede proporcionar beneficios tangibles al inversor que decida introducirse en este sistema. Uno de estos beneficios se reflejarían en el estado de salud del animal, y especialmente, en el momento más crítico de su vida productiva, favoreciendo una más que probable plasticidad metabólica ante enfermedades que acontecen frecuentemente en el modelo intensivo y que son causa, más que probada, de grandes pérdidas económicas. Con todo, son necesarios estudios que demuestren este beneficio.*
>
> *Pretendemos aprovechar el hecho de que el modelo de ganadería ecológica en la producción de leche podría además constituir a corto-medio plazo, una vía sólida y factible cara a la reestructuración de una parte considerable del sistema lechero de Galicia, al fomentar prácticas productivas acordes a la naturaleza del animal.*

En base a esta hipótesis, nos planteamos como OBJETIVO el estudio detallado de los cambios metabólicos y productivos que tienen lugar en este tipo de explotaciones, con especial hincapié en el momento más crítico, en términos sanitarios y productivos, de la vida productiva del animal: el final de la preñez y la lactación, con especial hincapié en la fase de transición. Además, conociendo los posibles modelos de animales capaces de entrar en este sistema productivo este estudio se va a centrar en dos granjas ecológicas de diferente perfil:

1. Explotación A: Granja con animales de cruce Frisona y Pardo Alpina.
2. Explotación B: Granja con animales de raza Frisona.

Por eso nos hemos propuesto una serie de OBJETIVOS CONCRETOS:

1. Estudio comparativo en lo que respecta a los perfiles metabólicos de interés clínico. Tanto los relacionados con el metabolismo energético (glucosa, ácidos grasos libres -AGL o NEFA-, ß-hidroxibutirato, B-HB), como proteico (proteínas totales, albúmina, urea, creatinina) así como las enzimas vinculadas a la funcionalidad del hígado (aspartatoaminotransferasa, ASAT y γ-glutamiltranspeptidasa, GGT).

2. Evaluación comparativa de la hematología completa de ambas explotaciones (eritrocitos, glóbulos blancos, hematocrito, hemoglobina plaquetas)

3. Estudio comparativo en términos productivos entre ambos sistemas de explotación: cantidad (en kilos) y calidad de la leche producida (grasa, proteínas, recuento de células somáticas, índice de cetosis) y valoración del estado de carnes mediante la determinación de la condición corporal.

4. Estudio comparativo en lo que respecta al manejo nutricional y su repercusión sobre los índices productivos y los diferentes parámetros hematológicos y bioquímicos.

5. Registro detallado de las incidencias clínicas que puedan tener lugar durante la fase de estudio con el fin de poder establecer correlaciones entre éstas y las pautas nutricionales y/o de manejo aplicadas. Para ello se realizará un estricto seguimiento del historial clínico de las granjas estudiadas pertenecientes a ambos grupos.

6. Estudio comparativo entre estas granjas, analizando los puntos fuertes y débiles de cada una de las explotaciones ecológicas en términos de nutrición, estado de salud, producción e incidencia y tipo de enfermedades.

Tratamos así de proporcionar unos primeros datos caracterizadores y de entidad clínica, con el fin de que éstos puedan servir como herramienta cara al inicio de futuras actuaciones tecnológicas destinadas a optimizar este tipo de explotación. En la actualidad la mayoría de las referencias proceden de países extranjeros, con escenarios completamente diferentes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL SISTEMA GANADERO ECOLÓGICO EN EL GANADO VACUNO GALLEGO.

La ganadería ecológica, también llamada orgánica o biológica, se define como un sistema cuyo principal objetivo es la obtención de alimentos de máxima calidad, respetando al medio ambiente y conservando la fertilidad de la tierra, mediante la utilización óptima de los recursos naturales, excluyendo el empleo de productos químicos de síntesis (plaguicidas, abonos químicos, etc.) y organismos modificados genéticamente (conocidos como OGM`s transgénicos), a la vez que busca un desarrollo agrario y ganadero sostenible (García Romero, 2009; Domínguez *et al.*, 2013)

> La agricultura ecológica es conocida como el **cuatro NO**: NO a los fertilizantes sintéticos, NO a los pesticidas químicos, NO a los aditivos sintéticos en los alimentos y NO al uso de vegetales genéticamente modificados (Oudshoorn *et al.*, 2011).

Se trata de trabajar con los procesos naturales, no intentar dominarlos, como suele ocurrir en los sistemas intensivos, y minimizar al máximo el uso de los recursos naturales no renovables tales como el carburante fósil usado en la fabricación de fertilizantes.

> Tanto Galicia como España, principalmente la cornisa cantábrica, reúnen unas condiciones especiales para el desarrollo de este tipo de ganadería, principalmente por la favorable climatología y su tradicional explotación de los recursos ganaderos.

En la ganadería moderna se busca la obtención de productos de calidad y saludables para el consumidor, mediante el empleo de prácticas agropecuarias respetuosas con el medio ambiente. Debe fomentarse, por tanto, la utilización de métodos que, teniendo en cuenta las exigencias de la sociedad, la rentabilidad de la explotación y la protección del medio ambiente, disminuyan el uso de productos químicos y permitan obtener producciones agrícolas de alta calidad. Existe además la necesidad de incrementar el valor añadido de los productos ganaderos en los mercados,

diferenciándolos mediante el uso de etiquetas o marcas que garanticen sus características e informen al consumidor sobre sus cualidades.

> El sistema ecológico, tal y como señala García Romero (2009) es una demanda social reglamentada consecuente a la crisis alimentaria y medio ambiental, que en París consolidó posiciones en torno a una organización internacional fundada en 1972 llamada IFOAM (International Federation of Organic Agricultural Movements), cuya finalidad básica es el desarrollo y difusión de los procesos de producción ecológica por todo el mundo.

En España, la práctica de la agricultura ecológica comenzó a finales de los años 80; inicialmente el crecimiento del sector fue exponencial, y más recientemente se ha producido una creciente desaceleración en su desarrollo.

> En la década de los 90, se planteó la necesidad de priorizar un desarrollo sustentable antepuesto a la productividad, impulsado por una preocupación social derivada de los efectos de la intensificación sobre la salud humana y el medio ambiente (Sorensen *et al.* 1992). Así, surgió la ganadería ecológica como una forma alternativa de competir produciendo alimentos de calidad certificada, siguiendo modelos de producción respetuosos con el medio ambiente (Mata, 2001). El sobreprecio y la percepción de mayores subsidios ocasionaron un rápido crecimiento en el número de lecherías ecológicas, especialmente en las zonas tradicionalmente lecheras del Norte Peninsular (Guzmán *et al.* 2009).

Ahora en España tiende a consolidarse, de hecho su superficie superaba las 800 mil hectáreas en 2005, con un crecimiento del 11,3% respecto a 2003, con lo que ocupa el octavo (8º) puesto mundial y el cuarto (4º) en Europa.

> La última estadística aportada por el Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino en el año 2010, muestra una duplicación de las hectáreas, superando el millón y medio de hectáreas.

En el año 2002 el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación reguló por RD 1201/2002, de 20 de noviembre, *un sistema de producción alternativo a la producción ecológica* y al cual muchas explotaciones ganaderas gallegas y españolas se han ido acogiendo y que resulta menos restrictivo que el ecológico. En Galicia, este sistema se encuentra regulado por la Orden de 25

de enero de 2008 por la que se establecen las ayudas para el fomento de los sistemas de producción agraria sostenibles a través de la implantación del contrato de explotación sustentable.

> La producción integrada en España durante el año 2005 acogió a un total de 14.500 operadores, de los cuales 131 son Agrupaciones de Producción Integrada, dichas agrupaciones cuentan con un total de 13.190 productores. La superficie cultivada en producción integrada ascendió a 299.470 has, y dicho sistema implicó a unas 69 entidades de certificación reconocidas.

Según fuentes del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (2007), las explotaciones de ganado vacuno (primero carne, seguido de producción de leche) agrupan la mayoría de las explotaciones ganaderas ecológicas existentes en Galicia, tal y como refleja la siguiente tabla:

Provincia	Vacuno		Ovino carne	Caprino carne	Avicultura		Apicultura	Otros	Total
	Carne	Leche			Carne	Huevos			
A Coruña	7	4	-	-	1	6	2	2	22
Lugo	41	12	8	2	3	6	10	-	82
Ourense	20	3	1	2	-	-	4	1	31
Pontevedra	6	2	-	-	-	1	1	-	10
Total Galicia	74	21	9	4	4	13	17	3	145

Distribución de las distintas explotaciones de ganadería ecológica en Galicia, 2002-2007 (Fuente: PDIFEU, 2008)

En ella se aprecia que Lugo es la provincia en la que se encuentra un mayor número de explotaciones de ganadería ecológica. El último anuario estadístico elaborado en el año 2010, mantiene esa tendencia, destacando Lugo, seguida de Ourense y a continuación A Coruña, quedando Pontevedra en último lugar en cuanto a vacuno ecológico (leche o carne) se refiere.

En los últimos años el crecimiento de este tipo de explotaciones ha sido heterogéneo: cabe mencionar el crecimiento constante de las explotaciones de vacuno de carne, que se consolidan como las más importantes del sector, en contraste con la evolución del número de granjas de vacuno de leche, que

en los últimos años ha sufrido una variación con tendencia ligeramente ascendente, tal y como se refleja en la tabla adjunta:

	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Vacuno carne	43	54	55	65	72	74
Vacuno leche	12	14	18	17	18	21
Ovino carne	2	3	5	7	8	9
Caprino carne	-	1	1	3	3	4
Porcino	1	1	1	-	-	1
Avicultura carne	1	2	2	3	4	4
Avicultura huevos	6	8	11	14	13	13
Apicultura	3	6	7	17	18	17
Otros	-	1	1	1	2	2
Total	68	90	101	127	138	145

Evolución en el número de explotaciones de ganadería ecológica en Galicia, 2002-2007 (Fuente: PDIFEU, 2008)

Las actividades industriales también han evolucionado debido, principalmente, a que cada vez más empresarios/as son conscientes de que la elaboración y envasado del producto le otorga un gran valor añadido. Por lo que se refiere a las características de las empresas de producción ganadera, cabe destacar que la forma jurídica predominante es la de autónomo, que es adoptada por cerca del 90% de las explotaciones ganaderas (Plan de Desenvolvemento Integral de Ferrol, Eume y Ortegal, 2008, ver Tabla 3):

	Autónomo	Sociedad limitada	Sociedad anónima	Sociedad civil	Cooperativa	Sociedad agraria de transformación	Otras (Asociaciones)
Explotaciones ganaderas	86,52	4,26	0	2,84	2,13	2,13	2,13
Actividades Industriales	17,39	39,13	13,04	4,35	21,74	4,35	0
Total empresas	76,83	9,15	1,83	3,05	4,88	2,44	1,83

Distribución (%) de las empresas de ganadería ecológica según condición jurídica en Galicia (Fuente: CREAGA, 2006)

Centrándonos en la provincia de Lugo, es interesante destacar la sólida implantación de este tipo de actividad en comparación con el resto de las provincias gallegas (Tabla 4), tal y como señalan fuentes del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (2007).

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
GALICIA	40	68	90	101	127	138	145
A Coruña	5	16	13	14	20	22	22
Lugo	29	38	50	58	73	78	82
Ourense	4	11	20	22	26	30	31
Pontevedra	2	3	7	7	8	8	10

Evolución de explotaciones de ganadería ecológica en Galicia, 2001-2007 (unidades, %) (Fuente: PDIFEU, 2008)

Perfilando en base al sector productivo, Lugo es de nuevo, la provincia que se consolida en el sector bovino (ver Tabla 5)

	GALICIA	A CORUÑA	%	LUGO	%	OURENSE	%	PONTEVEDRA	%
Vacuno de carne	74	7	9,46	41	55,41	20	27,03	6	8,11
Vacuno de leche	21	4	19,05	12	57,14	3	14,29	2	9,52
Ovino de carne	9			8	88,89	1	11,11		
Porcino	1	1	100						
Avicultura de carne	4	1	25	3	75				
Avicultura de huevos	13	6	46,15	6	46,15			1	7,69
Apicultura	17	2	11,76	10	58,82	4	23,53	1	5,88
Caprino carne	4			2	50	2	50		
Otros	2	1	50			1	50		
TOTALES	145	22	15,17	82	56,55	31	21,38	10	6,90

Distribución provincial y por segmentos de explotaciones ecológicas en Galicia, 2007 (unidades y %) (Fuente: PDIFEU, 2008)

La mayor parte de la producción se comercializa de forma directa y al mercado interior. Si bien es cierto que el número de explotaciones productoras de ganadería ecológica sigue una tendencia creciente, la industria transformadora de productos ecológicos se ha incorporado con cierto retraso al mercado, lo que provoca la paradoja de que algunos de los productos que ahora se comercializan, no lo hagan como producto ecológico sino como un producto convencional de alta calidad.

> Hace unos años, la principal razón por la que los ganaderos se convertían a la producción ecológica era la concienciación con el medio ambiente y los beneficios ecológicos que esto aportaba a sus esfuerzos personales; en la actualidad la conversión a ecológico se mira también desde la perspectiva de los beneficios económicos y la posibilidad de subsistir en un mercado competitivo. El rendimiento por vaca en sistemas de producción ecológica es menor que en el convencional, y lo mismo ocurre con el rendimiento forrajero de los campos. En términos generales existen varias áreas en las cuales la agricultura ecológica reduce los gastos, como son fertilizantes y pesticidas, medicamentos y costes de reproducción, mano de obra y maquinaria… Sin embargo varios tipos de gastos son mayores, fundamentalmente gastos relacionados con la producción y compra de alimentos (Morisset y Gilbert, 2000)

El futuro de este modelo producción es prometedor tanto para Galicia como para el resto del territorio español, ya que resulta básica para competir en los mercados europeos y para atender la creciente demanda social de productos de calidad obtenidos por procesos productivos respetuosos con el medio ambiente.

En el período de programación 2007-2013, la base jurídica de la política de desarrollo rural ha sido el Reglamento (CE) 1698/2005, que en sus Directrices Estratégicas establece como prioridades para el desarrollo rural sostenible la mejora sustancial de la competitividad, la creación de empleo, el desarrollo sostenible y la integración del medio ambiente en la política de desarrollo rural. En septiembre de 2006, se publicó la Decisión de la Comisión por la que se fijaba el desglose anual por Estado miembro de la

ayuda comunitaria al desarrollo rural. En este reparto, a España le correspondieron 7.214 millones de euros.

> El Reglamento CEE 2092/1991, sobre producción ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios completado por el Reglamento CEE 1804/1999, por el que se fijaron las normas comunitarias relativas a la producción de productos ecológicos de origen animal, conforman el marco legal de este modelo, que se inscribe dentro de la política de calidad alimentaria.
>
> En la actualidad, los productores están sujetos al Reglamento CEE nº 834/2007 que deroga el el Reglamento CEE 2092/1991.

En la Unión Europea, casi 6 millones de hectáreas son gestionadas por más de 140.000 explotaciones para agricultura ecológica. El vacuno lechero ecológico abarca al 15% de explotaciones en Austria, 10% en Suiza, 7% en Dinamarca y 4,3% en Suecia y el consumo en Austria llega al 20% del volumen total de leche comercializada.

> El aumento de la producción de leche por vaca sigue siendo un objetivo importante para la mayoría de los productores, siendo aceptado por algunos autores que la producción de leche ecológica no debe implicar una reducción de la producción de leche y que se pueden obtener hasta 8.000 kg/vaca siguiendo las normas ecológicas, siempre que se maximice la producción a partir de los forrajes existentes en la propia explotación.

No obstante, de acuerdo con algunas experiencias realizadas por varios autores y en diferentes países parece un hecho constatado que el uso de un 5% menos de concentrados supone un descenso en la producción de alrededor del 11%. La reducción de la producción de leche y de la carga ganadera podría justificar el sobreprecio de la leche ecológica y de las ayudas a este tipo de producción. Como consecuencia, se constata el hecho de que el margen y los ingresos resulten superiores en la producción ecológica que en la convencional.

> Es importante señalar que una mejor economía de estas explotaciones se debe a un alto uso de los recursos propios existentes en la explotación, que en la mayor parte de los casos (aunque no siempre) se encuentra unida a su situación ecológica (www.infoagro.com)

Las perspectivas para la producción en el vacuno de leche en general, y especialmente con relación al mercado de la leche líquida en particular, son prometedoras si se tiene en cuenta que la demanda de productos lácteos continúa creciendo en la UE, la oferta es limitada y aún no parece haberse alcanzado una situación de estabilidad.

> Un seguimiento realizado durante 7 años en 8 granjas de producción de leche en el Reino Unido concluyó que la toma de decisión de los ganaderos en la conversión hacia la producción de leche ecológica depende de un conjunto de variables socioeconómicas y no exclusivamente del deseo de maximizar el beneficio obtenido (www.infoagro.com)

Pero, tal como señala Rivas (2011) los cambios en el sector lácteo de la Unión Europea (EU) como la eliminación de la cuota de producción de leche para el 2015 podría resultar en una considerable disminución del número de explotaciones orgánicas, debido a una pérdida en la competitividad de este modelo de producción dentro del sector, siendo el reto ahondar en el conocimiento del desempeño técnico-financiero de este modelo de producción (Breustedt *et al.*, 2011), considerando el valor económico que implicaría el beneficio de promover el mercado interno y los objetivos de la biodiversidad y valor estético del medio ambiente (Cederberg y Mattsson, 2000).

2.1.1. PRODUCTIVIDAD DE LAS EXPLOTACIONES ECOLÓGICAS DE VACUNO LECHERO.

Masera *et al.* (1999) definen la *productividad* como la capacidad del sistema para proveer el nivel requerido de bienes y servicios. El estudio llevado a cabo por Mata (2011) acerca de la productividad en las explotaciones de vacuno lechero ecológico en el Noroeste de España, muestran que, en términos generales, la productividad media del sistema convencional es del 76,75%, mientras que los sistemas ecológicos muestran niveles significativamente más bajos (media de 59.14%).

> Salvo en el consumo de concentrado, que fue más favorable en el sistema ecológico, los demás indicadores técnicos (ej.: producción (l/vaca); terneros/vaca; Resultado Neto (€/l); Resultado Neto (€/vaca), entre otros) no se diferenciaron entre sistemas. El principal riesgo productivo del sistema ecológico es su bajo rendimiento económico respecto al sistema convencional.

En los últimos años se han llevado a cabo diversos estudios que comparan costes y resultados en explotaciones lecheras ecológicas frente a las convencionales, la mayoría de estos estudios comparativos se han centrado en las diferencias en productividad y eficiencia técnica (Kumbhakar *et al.*, 2009). La investigación en el desempeño financiero de la producción de leche ecológica es escasa y generalmente consiste en estudios de casos. Berentsen *et al.* (1998) estudian en Holanda la conversión de ganaderías según el sistema de explotación inicial, concluyendo que, desde el punto de vista económico, el sistema extensivo sale ganando con la conversión, mientras que el intensivo se ve perjudicado.

> Las ganaderías orgánicas presentan costes más reducidos en áreas como el uso de fertilizantes y pesticidas, alimentación comprada para el ganado, y gastos sanitarios (sanidad y reproducción); sin embargo, soportan mayores costes en la producción de alimentos en la ganadería, así como por el empleo de más mano de obra contratada (Rivas, 2011).

No obstante, el objetivo de este proyecto de Tesis Doctoral es ahondar en aspectos relativos a la producción pero desde el punto de vista clínico.

La producción como factor económico en una explotación de vacuno de leche ecológico

En los últimos años se observa un interés creciente por el estudio económico de la producción y comercialización de leche ecológica de vacuno. En el ámbito de la producción existen análisis sobre el proceso de conversión como los de Lampkin y Padel (1994), Haggar y Padel (1996), Midmore *et al.* (2001) y Howlett *et al.* (2002); otros estudios comparan costes y resultados de ganaderías convencionales y ecológicas, como los de Berentsen *et al.* (1998),

Morisset y Gilbert (2000), Stonehouse *et al.* (2001), Byström *et al.* (2002) y Butler (2002). Con respecto a la comercialización de la leche ecológica destacan los trabajos de Brandl (2000), Glaser y Thompson (2000), Bagenal (2001) y Cowal y Ni Ghraith (2002).

El estudio llevado a cabo por Pérez y Alvarez (2008) relativo al análisis económico de la producción de leche ecológica de vacuno en el Norte de España (Cornisa Cantábrica), contrastando los resultados de investigaciones realizadas en otros países de la UE, concluye varios aspectos interesantes en relación a su productividad, tales como:

- Que la ganadería ecológica permite la puesta en marcha de una estrategia de diferenciación en busca de un incremento en los precios percibidos que se refleja en una mayor renta de los ganaderos. Los costes de conversión van a depender de la situación de partida de la ganadería.
- La conversión a ganadería ecológica será más sencilla y menos costosa en explotaciones extensivas con una alimentación basada mayoritariamente en los forrajes producidos internamente; de aquellas explotaciones basadas en un proceso de intensificación y de mayor dependencia de los alimentos externos y con una base territorial limitada, tendrán mayores dificultades para una transición al sistema ecológico.
- Los estudios empíricos demuestran la viabilidad económica del sistema ecológico, que se fundamenta principalmente en el sobreprecio con relación a la producción convencional. No obstante, en determinados países se han detectado recientemente excesos de oferta de leche ecológica, por lo que es necesario prestar atención a las acciones de promoción y difusión de información entre los consumidores acerca de la producción ecológica, para que la misma sea valorada convenientemente y la demanda sea suficiente para absorber la oferta.

- El análisis empírico de su trabajo demuestra que las primas percibidas por la leche ecológica, al igual que los mayores ingresos por ganado en este sistema, permiten cubrir unos costes de producción más altos y alcanzar mayores márgenes y niveles de renta que en caso de las unidades convencionales. No obstante, en lo relativo a los costes de la producción ecológica, se hace precisa la puesta en marcha de planes de investigación y de marketing encaminados a buscar las mejores prácticas y a lograr que los productores hagan un uso eficiente de las mismas.

El proceso de conversión supone llevar la producción a un límite razonable. En un sentido puramente ecológico, la producción es la que, de forma sostenible en el tiempo, puede generar la tierra disponible, a través de los animales. Esta idea, con producciones mucho más bajas de las habituales en el sistema convencional, es poco viable mientras los productos lácteos ecológicos no tengan suficiente valor añadido (García Barrero, 2009).

La disminución de los niveles de producción en el cambio de sistema no se tiene que ver como una consecuencia negativa, sino como una regulación hacia un equilibrio estable y buscado. Así, la pérdida aparente de ingresos consecuencia de esta disminución productiva se tiene que compensar con la calidad del producto, la reducción de los costes de alimentación, la disminución de la prevalencia de enfermedades y la mejora de la fertilidad y longevidad de las vacas.

> Según García Barrero (2009), después del proceso de cambio de intensivo a ecológico, partiendo del modelo más habitual -vacas de raza Frisona alimentadas con un alto porcentaje de concentrados-, las producciones medias tienen que ser próximas a los 20 litros por vaca y día.

Los principios en los que se basa este tipo de producción radican en su gran proyección sostenible en el medio rural, sin impacto medioambiental, con muy bajo coste social y energético, que responde en sus premisas a un comercio mas ético y justo, junto a un consumo responsable, que potencia el

territorio, la dignidad de sus gentes, las razas autóctonas locales y nacionales, y una demografía más especializada, cualificada, autosuficiente, ofreciendo un valor añadido a muchos espacios agrarios infrautilizados, con rentas bajas, de nuestra realidad española (García Romero, 2009).

La ganadería ecológica va íntimamente ligada a la tierra, ya que se debe alimentar al ganado con pastos y obtener alimentos de una zona agrícola o forrajera. Esas zonas de pastoreo también deben estar inscritas en un organismo de certificación, ya que el alimento que el ganado coma debe provenir de las producciones ecológicas, y aún más, la alimentación de los rebaños hay que basarla en el aprovechamiento de los recursos naturales de la finca y de los cultivos que se produzcan en ella.

> La utilización de estos pastos supone que los animales deberán desplazarse de un lugar a otro, aprovechando racionalmente los recursos que nos da la finca. Igualmente, los animales a la vez que buscan su alimento, van estercolando las distintas parcelas donde se encuentran, aportando materia orgánica para una regeneración natural del pasto o un próximo cultivo.

Esto implica que la ganadería ecológica es básicamente una ganadería extensiva, donde los animales deben disponer de una superficie mínima donde desarrollarse como individuo y relacionarse con los demás miembros del rebaño.

Para evitar la necesidad de adquirir alimentos del exterior se debe planificar los cultivos a sembrar en la explotación para asegurar la alimentación del rebaño, teniendo en cuenta también la disponibilidad de pastos y recursos naturales de los que dispone en la finca (Centro de Formación de la Asociación CAAE, 2006). En caso de necesitar de piensos, éstos han de ser también ecológicos.

> Para que la producción de leche pueda considerarse ecológica, la base territorial de la granja tiene que sustentar la alimentación de las vacas. Hay que tener presente que uno de los objetivos de la producción ecológica es cerrar el ciclo energético, por lo que es importante incrementar la eficiencia de la alimentación. Por ello, la ganadería ecológica no se concibe en granjas sin base territorial.

> Al menos el 60% de la materia seca de la ración diaria de las vacas será a base de pastos y forrajes, por lo que los alimentos concentrados no pueden superar el 40%, salvo en los tres meses iniciales de la lactación que pueden incrementarse hasta el 50%. (Reglamento 223/2003 y 1452/2003). Todas las materias primas utilizadas deben proceder de agricultura ecológica, no modificadas genéticamente y no extractadas por métodos químicos. Además el uso de aditivos y suplementos está también regulado por la normativa ecológica. Si es posible, se debe intentar que los alimentos externos provengan de agricultores ecológicos cercanos a la explotación (Mata, 2011)

Si hay buena disponibilidad de forrajes propios y, sobre todo, de pasto natural, el objetivo de producción podría ser más bajo, y se trataría de un sistema óptimo de manejo ecológico, con disminución de la productividad individual, pero con un aumento de la productividad global. Otro factor fundamental relacionado con la modificación de los objetivos de producción es el proyecto comercial. En este sentido, los objetivos tienen que ser diferentes en función de si la producción se vende como leche fresca en industrias o en el proyecto de la granja está integrada la transformación y comercialización de productos lácteos. En este último caso, la diversificación de tareas y la preservación del valor añadido permiten trabajar con objetivos de producción más bajos, pero más viables (García Barrero, 2009).

> Sin embargo, tal y como señala el estudio de Mata (2011) la reducción del consumo concentrado en producción ecológica no se refleja en los costes medios variables, debido principalmente al elevado coste del pienso ecológico, lo que genera menor competitividad de la producción ecológica.
>
> El precio del pienso ecológico fluctúa, con un valor medio de 0,39 €/kg. Al compararlo con el precio del pienso convencional se observa que prácticamente se duplica (179%). Al comparar los costes medios fijos de ambos sistemas de producción, se observa que son superiores en el vacuno ecológico en más del 200%. Estos valores se deben principalmente a la escasa dimensión de las explotaciones lecheras ecológicas y, en consecuencia, la ausencia de fenómenos de economía de escala que permitan reducir los costes medios fijos

El papel de la alimentación en el sistema vacuno lechero ecológico

Tal y como señalan Roca y González (2010) en la producción ecológica, el ganado rumiante comparte con los pastos un relevante papel en la mayoría de las granjas, tanto con praderas permanentes como en las que se combinan praderas temporales con cultivos anuales. Las praderas de gramínea/ leguminosa o el cultivo de leguminosas como el guisante o la veza-avena, tras el maíz forrajero, son importantes particularmente en lo relacionado con el aporte de nitrógeno al suelo a través de la fijación biológica de este elemento, y con el contenido en materia orgánica, la estructura y la actividad biológica del suelo, pero también en minimizar aspectos negativos del sistema de producción animal, como la emisión de nitrógeno al ambiente. Estas praderas actúan como un factor limitante para la acumulación en el suelo tanto de semillas de malas hierbas de los cultivos como en la transmisión de enfermedades provocadas por los hongos del suelo.

> Un suelo con una buena estructura y bien oxigenado suele tener un elevado grado de actividad biológica y niveles altos de mineralización del nitrógeno orgánico.
>
> La cantidad de nitrógeno fijado es difícil de medir con precisión, pero se acepta que depende principalmente del contenido de trébol en el pasto, Así, se puede determinar (incluso visualmente) el recubrimiento del suelo por el trébol, como un índice más fácil de estimar en la granja que el contenido de la materia seca en trébol de una pradera.

Además de contribuir al crecimiento de la hierba, una parte del nitrógeno atmosférico fijado es almacenado por las raíces, o queda inmovilizado en la materia orgánica del suelo, es decir, contribuye a la formación de la materia orgánica y de una reserva de nitrógeno en el suelo. Simultáneamente, una proporción del nitrógeno de la reserva orgánica se mineraliza y se convierte en disponible para las plantas de la pradera.

> La leguminosa pratense forrajera más apropiada y la más utilizada en los sistemas de agricultura ecológica en climas marítimo-templados (como Galicia) es el *trébol blanco* debido a su adaptabilidad a una amplia variedad de condiciones de manejo y

de fertilidad del suelo. El trébol violeta es también poco exigente desde el punto de vista de las condiciones del suelo y es altamente productivo, pero no es tan persistente como el trébol blanco y se siembra principalmente más en mezclas temporales.

Con respecto a las gramíneas en condiciones de climas marítimo-templados, el *raigrás inglés* aunque parece más apropiado para sistemas intensivos con altas dosis de nitrógeno lo es también para sistemas ecológicos con escasos inconvenientes, dada su facilidad de establecimiento, su gran potencial productivo, su persistencia y sus características cualitativas.

En condiciones ecológicas, al no poder utilizar abonos nitrogenados de síntesis, la normativa destaca el papel primordial de las leguminosas por su capacidad de fijar el nitrógeno del aire y proporcionar este nutriente al sistema de producción. Se ha visto que en las explotaciones gallegas el trébol blanco es el componente más importante de las praderas de larga duración, siempre que se adopten sistemas de manejo, como el pastoreo o defoliación frecuente, que lo favorezcan (González *et al.,* 2007). Se han estudiado también rotaciones del cultivo del maíz con leguminosas de invierno, como el guisante o la veza avena, para aporte de nitrógeno al suelo y como la mejor fuente de nutrientes de calidad en ensilado, cuando no hay forraje fresco, para los sistemas sostenibles.

Galicia por sus condiciones climáticas posee una gran capacidad para producir pastos ya que representan el 12% de la superficie total y el 44% de su superficie agraria útil, con un 37% de esta superficie dedicada a praderas. Con pastoreo se pueden conseguir altas producciones de leche con mínimos consumos de concentrados en momentos críticos de lactación (González *et al.,* 2007). Según trabajos llevados a cabo en el Centro de Investigación Agraria de Mabegondo (CIAM), es recomendable incrementar la carga ganadera para conseguir una mejor utilización del pasto y mejorar la calidad de la biomasa producida (Roca *et al.,* 2008).

Recientes estudios (Argamentería *et al.*, 2012) muestran cambios en la composición botánica de la pradera dependiendo del manejo, como

consecuencia de que la fertilización mineral en el manejo convencional limita significativamente el crecimiento de las leguminosas. Se observa, que con manejo ecológico se obtiene menor cantidad de pasto en oferta, pero de mejor calidad desde el punto de vista botánico y nutricional, con menor cantidad de materia muerta y una mayor concentración de proteína y energía.

La composición de la ración depende en gran medida del nivel de producción que se defina. Las cuestiones que se plantean son si deben los criterios referirse a requerimientos nutricionales para animales de alta producción, media o baja, o incluso referirse a requerimientos del animal de manera individual.

> Esto se hace más importante si se considera que el costo alimenticio incide por lo menos en un 50% del costo total del litro de leche. Por otra parte, una buena alimentación permite una mejoría en la producción de leche, sanidad y reproducción del ganado lechero (Vélez de Villa, 2011).

Cuidando la alimentación del ganado se pretende asegurar la calidad de la producción más que una producción máxima, para ello es necesario conocer los requerimientos del ganado en cada una de las fases del desarrollo, empleando productos de la propia granja (Hermansen, 2003).

Existen particularidades para los animales dependiendo de la fase productiva en el caso del vacuno de leche, aunque por lo general, la alimentación del ganado vacuno lechero está supeditada a la misma normativa que se ha establecido en las granjas de carne (Blanco Penedo, 2008).

- *Fase adulta/reproductiva*: en cuanto al ganado reproductor, es imprescindible una buena adaptación del ganado a la disponibilidad de pastos y forrajes de la granja, completando la dieta con un mínimo porcentaje de concentrado (Caballero Luna *et al.,* 2003). Se ha demostrado que la eficacia reproductiva de las granjas ecológicas se descompensa en la época de invierno de forma significativa. Esta

situación de desequilibrio podría producirse por una falta de conocimiento de las necesidades energéticas de las vacas en comparación con las granjas convencionales (Sundrum, 2001).

- *Fase de cría-lactación:* durante la fase de cría-lactación es necesario respetar un tiempo mínimo de lactación de tres meses, siendo el calostro y la leche materna insustituibles. Es deseable prolongar todo lo posible la lactación ya que los terneros desarrollan menos enfermedades y favorecen el crecimiento. Si además cuentan con alimentos complementarios alcanzarán un buen peso al destete y su flora digestiva se irá desarrollando con el uso de prebióticos que estén autorizados (Caballero Luna *et al.,* 2003). Largos periodos de alimentación con calostro y leche maternal, influyen en el desarrollo del organismo joven, jugando un papel muy importante. A mayores es recomendable la suplementación con extractos vegetales de origen natural, que afectan positivamente a la salud del animal, particularmente durante periodos de elevado riesgo de morbilidad (García Romero *et al.,* 2003). Estas sustancias biológicamente activas ayudarían en la evolución de procesos digestivos y, por otro lado, estimulan el sistema inmune mediante mecanismos de resistencia natural (García Romero *et al.*, 2003).

El efecto de las condiciones climáticas

Uno de los factores más estudiados es el efecto de la temperatura, se sabe con certeza que tiene efecto sobre el consumo de alimento, consumo de agua, producción y composición de la leche, tasa de concepción y otros. La máxima producción de leche se logra con una temperatura que oscila entre 4-21ºC (Vélez de Villa, 2013).

Cuando la temperatura ambiental es de 24 ºC o superior, se reduce el consumo de alimento con disminución de la producción láctea. Por otro lado,

aproximadamente a 27 ºC, aumenta el consumo de alimento y disminuye la producción de leche.

La temperatura es el factor climático más importante en estas condiciones, por su doble acción sobre el pasto y los animales. Los fenómenos meteorológicos que influyen en el consumo son: temperatura, humedad, viento, radiación, lluvia y altitud. Los efectos del clima sobre la producción animal son directos e indirectos (Vélez de Villa, 2013):

- Directos porque afectan las necesidades energéticas de los animales.
- Indirectos dado que influyen sobre la disponibilidad de forraje.

El principal problema climático lo constituye el efecto combinado de lluvia y viento, todos los productores lecheros conocen que cuando existe lluvia y viento los animales dejan de comer, lo que implica que bajarán la producción de leche; dada esta situación, es aconsejable que durante el invierno los animales permanezcan estabulados durante todo el día, o al menos, durante la noche. La producción de calor del cuerpo y la hora de alimentación durante todo el día, se ve afectado principalmente por el momento del día en que se alimenta el ganado y no por la temperatura ambiental, cuando la alimentación se proporciona por las tardes se incrementa la temperatura corporal (Brosh *et al*., 1998).

Al aumentar la humedad del aire se reduce notablemente la tasa de pérdida de calor del animal, el enfriamiento por evaporación a través de la piel y del tracto respiratorio (Hafez, 2000).

El estrés calórico en los animales, cuantificado como el impacto en la producción de leche, afecta los mecanismos de termorregulación animal afectando su zona de confort o termoneutralidad (5-25ºC), lo que a su vez altera el consumo de alimento, las concentraciones hormonales y el metabolismo. Entre las condiciones ambientales que se relacionan con la productividad láctea, se citan la temperatura ambiental, la humedad

relativa, la radiación solar, la velocidad del viento, el efecto de la duración del día y la precipitación diaria (WingChing-Jones y Pérez, 2008).

El manejo y la reproducción en los sistemas de vacuno de leche ecológica.

Tal y como señala Mata (2011) la ganadería ecológica introduce nuevos factores en el manejo que deben considerarse de cara a la consecución de los objetivos productivos de la explotación. Se trata de garantizar condiciones de bienestar, que también van a favorecer la salud del rebaño y su productividad. Como norma general, los animales deber ser criados en libertad y con acceso a áreas de pastos y ejercicio. Se prohíbe atar a los animales y el descornado, salvo en caso de que favorezcan la salud, el bienestar o la higiene. En estos casos el organismo de certificación debe autorizarlo. La reproducción del rebaño debe basarse en métodos naturales, aunque se permite la utilización de inseminación artificial. El uso de hormonas, transferencia de embriones y demás formas o prácticas de reproducción asistida quedan prohibidos. Para un ganadero convencional podría parecer muy difícil obtener índices reproductivos adecuados y no incrementar la tasa de descarte.

La producción ecológica se basa en la potenciación de los ciclos productivos fisiológicos, por lo que el animal produce a un ritmo dentro de los límites de la salud. En estas condiciones de bienestar, los animales desarrollan su actividad reproductiva con mayor eficiencia y además su vida útil se incrementa porque no son sometidos al desgaste fisiológico que requieren los sistemas intensivos.

> De hecho, bajo las condiciones de alimentación en pastoreo, la forma de la curva de lactación de las vacas está en gran parte determinada por el nivel nutritivo del pasto y la época en que tiene lugar el parto. Por tal motivo, resulta difícil hablar de una curva de lactación estándar ya que puede adquirir distintas formas (Bavera, 2005).

Aunque la inseminación artificial se autorice, la mejor forma de conseguir concentrar la paridera es utilizar un toro durante el verano. El toro se coloca con las vacas durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre y se desechan en invierno las vacas que no han quedado preñadas.

> El ganadero responsable de los partos deberá tener experiencia y ser competente en las técnicas a aplicar, prestando especial atención a la higiene, sobre todo en caso de tratarse de partos asistidos. Debe asegurarse de que la vaca pueda lamer al becerro inmediatamente tras el parto.
>
> En caso de preverse dificultades es importante haber avisado al veterinario con tiempo suficiente. En cualquier caso se recomienda evitar el uso de ayudas mecánicas en el parto diferentes a las cadenas o cuerdas empleadas manualmente. Aún así, estas ayudas mecánicas podrán emplearse en casos excepcionales, siempre y cuando lleven un mecanismo de liberación rápido y sean usadas por una persona experimentada. En caso de que el parto manual no fuese posible sin riesgos graves para la salud de la vaca o el ternero, podrá requerirse la asistencia del veterinario, siendo él quien efectúe la cesárea (Fernández y Cantalapiedra, 2013).

La calidad de la leche en los sistemas de vacuno ecológico.

Los ganaderos saben que buena parte de su éxito como productores de leche ecológica depende del manejo y de la productividad del pastizal. La calidad de los suelos y la climatología de la "España húmeda" permite cultivar forrajes durante casi todo el año y la mejor estrategia de aprovechamiento es el pastoreo rotacional. Además resulta esencial mantener una reserva de forraje en verano, que suele ser ensilado, para la alimentación durante el periodo de estabulación invernal de noviembre a febrero. En cuanto a la composición botánica de los pastizales, varían en cada explotación y dependen en gran medida de la experiencia del ganadero y de la zona. En general, las variedades de tréboles constituyen las leguminosas forrajeras más utilizadas, debido a su persistencia, adaptabilidad y calidad nutricional (Mata 2011).

El término *calidad* en referencia a la leche abarca aspectos tales como el aroma, el sabor y la cantidad de células somáticas presentes en la leche, reflejo del estado de salud de la ubre, y por tanto de la vaca. Este concepto es aplicable tanto a granjas convencionales como sostenibles; no obstante los granjeros de éstas últimas añaden como valor a su producto el hecho de estar libre de residuos, no ser alergénica y ser considerada como un alimento funcional, en términos de nutrición humana (Bloksma *et al.,* 2008).

> Aunque se ha inducido al consumidor a pensar en los lácteos como una fuente de calcio, la leche es un alimento muy complejo con 400 ácidos grasos, 59 enzimas, decenas de fracciones proteicas derivadas de la caseína y derivadas del suero, aminoácidos esenciales y no esenciales, vitaminas, minerales, probióticos… todos y cada uno de ellos con funciones activas y concretas en el organismo.

En estudios laboratoriales en los que se comparaba las propiedades de alimentos orgánicos y convencionales, los primeros mostraron una mayor capacidad antioxidante, antimutagénica e inhibitoria de la proliferación de células cancerígenas. Distintos grupos de investigadores han encontrado sistemáticamente mejoras en la salud de los animales, mostrándo mayores índices de fertilidad y un fortalecimiento del sistema inmune (Huber *et al.*, 2011). Finamore *et al.* (2004) mostraron en ratas alimentadas con comida orgánica, una mayor proliferación de glóbulos blancos respecto a ratas alimentadas con comida no orgánica. Otros estudios (ver revisión de Huber *et al.*, 2011) reflejan cómo en conejos que consumieron una dieta orgánica mostraban -a diferencia de aquellos alimentados con una dieta convencional- mejores índices de fertilidad, mayor número de crías, un incremento en la supervivencia de las mismas al nacer, etc.

También se ha encontrado menores niveles de tejido adiposo, menor nivel de estrés y mayores niveles de inmunoglobulinas G (Lauridsen *et al.*, 2005). Se ha hallado una mejora en el sistema inmune, tanto en el sistema innato como en el adaptativo.

> No obstante, un reciente estudio publicado por el Grupo de Investigación en Medio Ambiente y Salud del Servicio de Toxicología Clínica y Analítica de la Universidad

de Las Palmas de Gran Canaria (Luzardo *et al.,* 2012) ha mostrado que la leche de origen orgánico o sostenible no se ha visto libre de la presencia de contaminantes químicos de alta persistencia ambiental y de conocidos efectos tóxicos, como los pesticidas organoclorados y los bifenilos policlorados, derivados de la actividad agrícola llevada a cabo en las décadas de los 50, 60 y 70.

No obstante, los autores señalan que la presencia de pesticidas organoclorados era superior en la leche convencional mientras que los niveles de bifenilos policlorados eran mayores en la leche ecológica.

Los potenciales atributos de la leche orgánica frente a la convencional se reflejan, no sólo en sus potenciales beneficios atribuibles a la presencia de antioxidantes y/o compuestos fenólicos derivados del consumo de pasto fresco (Castillo *et al.,* 2013), sino analizando sus características fisico-químicas.

En el año 2007, sobre la base de un estudio llevado a cabo en 130 granjas, se mostró diferencias en cuanto a la composición; aunque estas no revestían carácter significativo (Bishop, 2007). Así se halló que la leche de procedencia orgánica -con una menor producción- presentaba mayores niveles de grasa, proteína pero también de recuento de células somáticas (RCS) en comparación con la convencional (3.87 *vs.* 3.83 %; 3.06 *vs.* 3.10 %; 276.000 *vs.* 236.000, para los valores de grasa, proteínas y células somáticas, respectivamente). Dependiendo de la producción media de leche/año/animal (sin distinguir ahora el modelo de explotación), las características fisicoquímicas variaban. Así, para explotaciones que rondaban los 15.000 kg de leche/año/animal, los valores de grasa, proteína y de RCS eran de 4.20%; 3.34% y 411.000 cels/ml, respectivamente. Para las explotaciones con rangos entre 15.001 y 20.000 kg/año/animal, los valores eran de 4.01%; 3.11%; y 247.000 cels/ml; para rangos que iban entre 20.001 y 25.000, los valores eran de 3.89%; 3.09%; y de 251.000 cels/ml. Finalmente, para explotaciones con un marcado carácter intensivo, con producciones que superaban los 25.000 Kg/año/animal los valores recogidos para los mismos parámetros eran de 3.70%; 3.00%; y de 203.000 cels/ml.

Los altos niveles en el RCS, reflejan una realidad constatada en este tipo de explotaciones. La mayor susceptibilidad al padecimiento de procesos mamíticos. Numerosas investigaciones atribuyen esta susceptibilidad más a cuestiones de manejo, por parte del ganadero en la sala de ordeño, que al sistema en sí mismo (Winter y Davis, 2006; Woese *et al.*, 2007; Tikofsky, 2010). Hay que tener en cuenta que las explotaciones ecológicas no suelen utilizar cánulas antibióticas de secado, con lo cual las mamitis subclínicas persisten lactación tras lactación contribuyendo a aumentar el RCS.

> Un estudio llevado a cabo en el año 2004 (Zwald *et al.*, 2004) sobre 99 granjas convencionales frente a 32 en régimen ecológico, mostraron que el 85% de las granjas orgánicas tenían un valor medio de RCS inferior a 400.000 cels/ml; y que el 53% de las mismas no llegaban a las 300.000 cels/ml.
>
> Otro estudio, más reciente (Vélez y Meléndez, 2006) llevadas a cabo en una gran explotación de vacuno lechero ecológico de raza Frisona en Estados Unidos analizó la calidad de la producción lechera en el intervalo de dos años. Los resultados mostraron un valor medio de RCS de 270.525 cels/ml (rango entre 100.000-964.000 cels/ml).
>
> También en Estados Unidos, los estudios de Kersbergen y Schivera (2006) mostraron que esa diferencia dependía del tipo de instalación; así mientras que el valor medio de RCS para las granjas orgánicas era de 283.000 cels/ml; había instalaciones convencionales con menor carga (207.000 cels/ml), pero también otras con mayor nivel (entre 313.000 y 416,000 cels/ml)

En un contexto europeo, los estudios de Bloksma *et al.* (2008), llevados a cabo en Holanda, al comparar la calidad de la leche entre granjas intensivas y ecológicas, observó que si bien el porcentaje de grasa era similar entre los dos tipos de leche, los niveles de ácidos grasos omega-3 eran mayores en las leches procedentes de un sistema sostenible. En cuanto al recuento de células somáticas, éstas volvían a ser superiores en los sistemas sostenibles, siendo atribuibles, como en los estudios americanos, al manejo del animal en términos de ordeño, limpieza y cuidados.

> En términos generales, los autores concluyen que las características organolépticas de ambos tipos de leche fueron muy similares. Destacan la tendencia de la leche

> orgánica a tener un sabor más cremoso y natural que el aportado por la leche convencional, sin que ello implique mayor contenido graso.

Por otro lado, los mayores niveles de ácido linoleico conjugado (ALC) y ácidos grasos omega-3 registrados en las explotaciones ecológicas pueden ser explicados por la relación existente entre la alimentación y su contenido en ácidos grasos (Sait y Brunetti, 2003; Dewhurst *et al*., 2003, Witkowska, 2004).

> Estos mayores valores se relacionan con la ingesta de hierba y ensilado de trébol rojo (Dewhurst *et al*., 2003), así como el menor consumo de concentrado y ensilado de maíz.

Ellis *et al.* (2006) llevaron a cabo un estudio en el que comparaban los factores que afectaban a la composición de la materia grasa de la leche, sobre 17 explotaciones calificadas de orgánicas y 19 calificadas de convencionales. Entre las conclusiones que obtuvieron destaca 1) que la leche de explotaciones convencionales y la de las explotaciones orgánicas no difería en cuanto al contenido de ácidos grasos saturados, sin embargo, las orgánicas tenían una proporción más alta de ácidos grasos poliinsaturados y una proporción más baja de ácidos grasos monoinsaturados; 2) en cuanto a los grupos de ácidos n-3 (omega-3), su contenido era 1,7 veces superior en las orgánicas que en las convencionales.

> Aparte de estas conclusiones destaca en el estudio la influencia de la estación, del manejo de la explotación y de los factores nutricionales. Así, los valores de ácidos grasos saturados para ambos modelos era superior en los meses de otoño e invierno y que las explotaciones con menor nivel productivo eran más ricas en ácidos omega-3

En Asturias, estudios llevados a cabo en el Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA) se evaluaron las características físico-químicas de cinco explotaciones ecológicas acreditadas, considerándose los valores de extracto seco magro (ESM), grasa, proteína y lactosa (Rodríguez *et al.,* 2010). Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre las distintas explotaciones ecológicas y la convencional en cuanto a EMS, grasa, proteína

y lactosa, mostrando la leche convencional valores más elevados que las leches ecológicas. A mayores, el nivel de células somáticas se mantuvo prácticamente constante en la leche convencional a lo largo del período analizado. Sin embargo, las leches ecológicas mostraron notables variaciones en ese período y los niveles de células somáticas detectados siempre fueron más elevados.

Estudios más recientes (Argamentería *et al.,* 2012) señalan también como factor que determina la calidad de la leche el manejo de la pradera donde se alimenta, mostrando que el contenido en grasa de la leche puede descender cuando los animales consumen una hierba muy joven que no es fuente de fibra efectiva. Los autores sugieren, como medida correctiva la suplementación en tales momentos con forraje fibroso. Los valores fisicoquímicos que aportan los autores para la leche recogida en condiciones ecológicas es de 2.76% para la grasa; 3.19% para la proteína; 4.97% para la lactosa y 262 mg/kg de urea, valores muy similares a los obtenidos para la leche convencional (2.72; 3.17; 5.04 y 273, para los mismos parámetros).

Más recientemente, el estudio poblacional llevado a cabo por Rodriguez Bermúdez (2014) sobre ganado vacuno ecológico del Norte de España (Galicia, Asturias, Cantabria y País Vasco) señala que no existen diferencias entre la raza Frisona y los cruces empleados en lo que respecta a la producción de leche y el porcentaje de grasa, pero sí para el de proteína, siendo en este caso mejores los cruces.

El estado de salud en las explotaciones de vacuno lechero ecológico

Existe el consenso general de que la salud del animal juega un rol determinante en la producción de ganado ecológico, pero las opiniones de lo que integra la salud del animal probablemente difieren entre consumidores, ganaderos y también entre veterinarios. No existe una definición exacta del término salud animal (desde la ausencia de enfermedades a una definición

más amplia que implica bienestar físico, fisiológico y psicológico) o clara que permitan valorar de forma satisfactoria la salud y seguridad alimentaria (Blanco Penedo, 2008).

Desde el punto de vista ecopatológico, tal y como señalan Blanco *et al.,* (2006) gran parte de las enfermedades son fruto de desequilibrios consecuentes a un manejo deficiente en la planificación de los sistemas de cría, que favorecen la presentación de parasitosis y ciertas infecciones con capacidad de desarrollo exógeno, o bien en el plano alimentario y reproductivo al vulnerar el sistema inmunológico por la aparición de estrés e incluso por carencias cualitativas en la dieta diaria. Otro factor importante son las prácticas ganaderas y agroambientales incorrectas, que en definitiva predisponen a la aparición de procesos realmente zootécnicos, perfectamente corregibles a través de un manejo sanitario racional e integrado en el sistema productivo; sin la necesidad de aplicaciones terapéuticas que a largo plazo merman la capacidad defensiva y de autorregulación biótica, junto con otras medidas de apoyo y de gran interés en los sistemas ecológicos, como son la lucha biológica y la bioseguridad basadas en planes rigurosos higiénico-sanitarios, a veces olvidados, que constituye el soporte sólido de la medicina preventiva de gran valor para la zootecnia ecológica (Mata Moreno *et al.,* 2003).

La normativa establece unos requerimientos mínimos que se deben aplicar para mantener el estatus de salud y bienestar animal pero que no garantizan que se estén implantando de una forma correcta. La optimización de ciertos servicios (tiempo de trabajo, nutrientes, inversión, etc.) varía de granja a granja, y de país a país: enfatizando así la necesidad de establecer estrategias para equilibrar las exigencias y reforzar las medidas de prevención (Blanco Penedo, 2008)

En este aspecto, los resultados son controvertidos, pues si bien el menor aporte nutricional en la ganadería ecológica podría favorecer la presencia de

enfermedades, otros autores (Sundrum, 2001) describen la ausencia de diferencias significativas entre ambos modelos de granjas lecheras.

Respecto a la incidencia de mastitis (enfermedad de mayor importancia económica en las explotaciones lecheras) los resultados en base a los registros de tratamientos son controvertidos.

> En Inglaterra y Alemania se detectó una mayor incidencia en explotaciones ecológicas (Sundrum, 2001), al contrario que en Noruega y Dinamarca.

Respecto a las enfermedades metabólicas el número de tratamientos por animal es menor en las explotaciones ecológicas (Sundrum, 2001). Por lo general, la incidencia de enfermedades en las explotaciones en régimen ecológico es generalmente aceptable y en algunos casos menor que las que se producen en condiciones intensivas como ocurre con las enfermedades de origen metabólico (Keatinge *et al.,* 2000; Borell y Sorensen, 2004).

En el caso de las hipocalcemias, Domínguez *et al.* (2013) señala que en las explotaciones en régimen ecológico parece más probable encontrar una mayor incidencia de hipocalcemias debido a que las vacas alcanzan mayor número de lactaciones, pero ocurre todo lo contrario de acuerdo a las fuentes consultadas. Según un estudio realizado por Hardeng y Edge, (2001) el riesgo de padecer esta patología aumenta a medida que avanzamos en el número de lactaciones, pero hay un riesgo mucho mayor de que aparezca en el caso de que se trate de explotaciones convencionales.

Por regla general, tal y como señala Blanco Penedo (2008) los problemas de salud en las granjas ecológicas están a menudo relacionados con el manejo en extensivo de los animales: debido al acceso exterior, los animales se ven expuestos a varios virus, bacterias e infestaciones parasitarias. Es por ello que los animales con manejo ecológico presentan una mejor respuesta inmune con resistencias a patógenos en comparación con los animales de granjas convencionales, aunque este hecho no ha sido constatado con precisión.

> La nutrición, está estrechamente relacionada con el nivel de resistencia animal, factor condicionante de su salud y bienestar. Por tanto, la correcta nutrición, acorde con la etapa fisiológica del rebaño en macronutrientes, minerales, oligoelementos y vitaminas, es determinante para dar solidez al complejo inmunológico y/o reforzar los mecanismos de defensa del animal (Mata Moreno *et al.,* 2003).

La producción de ganado ecológico conlleva un aumento o resurgimiento de ciertas enfermedades zoonóticas (por *Campylobacter spp*. y *Toxoplasma* spp.) (Dubey, 2004; Kijlstra *et al.,* 2004; Rodenburg *et al.,* 2004). Para Blanco Penedo (2008) este debería ser considerado un punto crítico de los productos ecológicos más sanos en comparación con los productos convencionales.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.2. CAMBIOS FÍSICOS Y METABÓLICOS QUE TIENEN LUGAR DURANTE EL PERIODO DE TRANSICIÓN EN LA VACA LECHERA

La necesidad de una transición exitosa entre las 3 semanas previas y posteriores al parto ha cobrado relevancia en el campo científico durante la última década, en la medida que investigadores y especialistas continúan reconociendo la importancia de este periodo para asegurar el correcto desarrollo de la unidad feto-placenta en el último tercio de gestación (Goff, 2006), mantener una apropiada condición corporal (Mulligan *et al.*, 2006), preparar la glándula mamaria para la próxima lactancia (LeBlanc *et al.*, 2006) y optimizar la producción de leche (PL) (Douglas *et al.*, 2006).

Sin embargo, tal y como señalan García Casillas y Montiel Ramos (2011), durante este periodo ocurren muchas adaptaciones metabólicas, que de ser ignoradas, determinarán un impacto económico negativo en las unidades de producción lecheras, al incrementar la incidencia de patologías durante el posparto (Duffield *et al.*, 2009).

En general, estas adaptaciones metabólicas son un reflejo de los cambios hormonales que ocurren para facilitar el proceso del parto y la preparación de la glándula mamaria para la síntesis de calostro y posteriormente de la leche (Bauman *et al.*, 2006)

2.2.1. CAMBIOS METABÓLICOS

Durante la *fase de transición*, los animales realizan ajustes metabólicos y una adaptación de su sistema digestivo, con cambios cuantitativa y cualitativamente importantes.

Como señalan García Casillas y Montiel Ramos (2011) en su revisión el tiempo conocido como *periodo seco* es el mismo que se ha considerado como tal desde la Segunda Guerra Mundial, comprendiendo entre 52 y 60 días

antes del parto (Bachman y Schairer, 2003). Este criterio se ha mantenido a lo largo de los años.

> Estudios posteriores llevados a cabo considerando las variaciones en el balance oxidante-antioxidante, han llegado incluso a perfilar más este período crítico, señalando Castillo *et al* (2005 y 2006) que dicho periodo alcanza su punto más crítico en el intervalo comprendido entre la última semana de gestación y primera de lactación.

En cuanto a la necesidad fisiológica o no de que las vacas presenten un periodo seco, Remond *et al*. (1997) establecieron su importancia al identificar que su ausencia ocasiona pérdidas de hasta un 22% en el rendimiento de la lactación sucesiva.

> Para facilitar el estudio del periodo seco, éste se ha dividido en dos etapas de tiempo de acuerdo a los fenómenos fisiológicos y metabólicos que predominan en cada una de ellas, la primera etapa corresponde al *periodo seco fresco* que abarcan las primeras cuatro semanas desde el momento en que la vaca es secada (Kuhn *et al*., 2005); durante este tiempo, con la finalidad de reducir la PL se deja de aportar cereales a la ración, con lo que el perfil y la cantidad de nutrientes absorbidos por el animal cambia drásticamente, lo que implica reajustes en el metabolismo de los animales y en su microflora ruminal, que pasa de ser Gram(+) amilolítica a Gram(–) celulolítica (LeBlanc, 2010). Como consecuencia de lo anterior, las concentraciones de los productos finales de la fermentación ruminal se modifican lo mismo que el pH del rumen, factores determinantes en el crecimiento y desarrollo de las papilas ruminales (Rotger *et al*. 2005).
>
> La segunda etapa es el *periodo seco preparto*, este es quizá la etapa del periodo seco más crítica y comprende las cuatro semanas antes del parto (Kuhn *et al*., 2005). Si durante dicha etapa, se incorpora a la dieta cantidades importantes de cereales de forma repentina se desencadena un incremento en la flora bacteriana amilolítica como *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus spp*., y se produce una gran cantidad de ácido láctico (Reddy *et al.,* 2008).

Durante el posparto temprano, el hecho de pasar de un estado de preñez y sin producir leche a estar vacía y produciendo grandes cantidades de leche, le exigen al animal una elevada capacidad de adaptación a sus nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas (Bachman y Schairer, 2003). Dicha

capacidad de adaptación no basta, por lo que son necesarias prácticas de manejo adecuadas, de lo contrario, la combinación de la producción masiva de ácido láctico, la adaptación lenta de las poblaciones microbianas que utilizan dicho ácido y la reducida capacidad de absorción de la pared ruminal al inicio de la lactación afectarán a la vaca con la aparición de patologías metabólicas (Benedito *et al.*, 1998; Jorritsma *et al.,* 2003).

2.2.2. CAMBIOS ENDOCRINOS

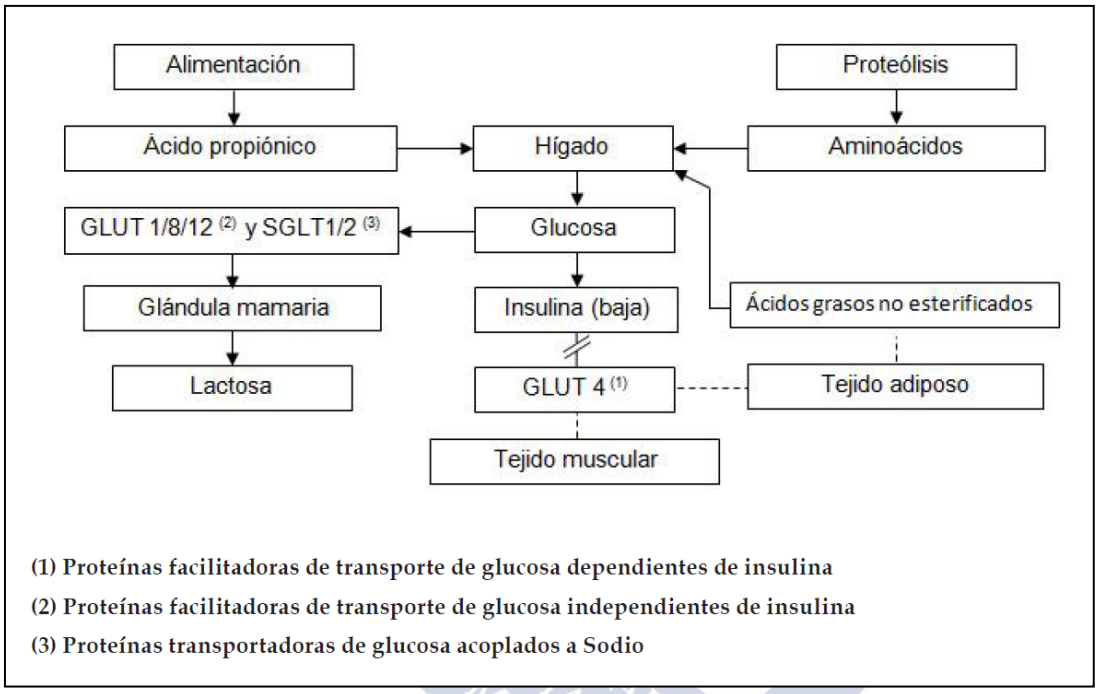
Cambios que afectan al metabolismo energético

El periodo de transición se caracteriza por una disminución fuerte en las concentraciones de glucosa y por lo tanto, la estimulación de las células beta del páncreas para liberar insulina disminuye (Holtenius *et al.,* 2003). La captación intracelular de glucosa en la glándula mamaria se produce por difusión facilitada a través de proteínas facilitadoras de transporte de glucosa (GLUT), de transportadores de glucosa acoplados a sodio Na + / glucosa (SGLT) (Zhao y Keating, 2007). El GLUT-4 es un transportador que se expresa fundamentalmente en tejido muscular estriado, tejido muscular cardíaco y tejido adiposo (Duehlmeier *et al.,* 2010). Por el contrario, la glándula mamaria bovina expresa los transportadores GLUT-1, GLUT-2, GLUT-3, GLUT-4, GLUT-5, GLUT-8, GLUT-12 y transportadores de glucosa acoplados a Sodio SGLT-1 y SGLT-2 en diferentes etapas fisiológicas (Zhao y Keating, 2007).

> Duehlmeier *et al.* (2010) señalan que aunque la insulina no presenta efectos directos sobre lactogénesis, concentraciones bajas de ella en sangre reducen la expresión del transportador GLUT-4 lo que genera una reducción en el consumo metabólico de glucosa por parte del tejido muscular y el tejido adiposo.

Zhao y Keating (2007) indican que durante el periodo de transición, la expresión de los transportadores GLUT-1, GLUT-8, GLUT-12, SGLT-1 y SGLT-2 aumenta de cinco a más de un centenar de veces (ver Figura 1); adaptaciones metabólicas que de acuerdo a Bell (1995) y Drackley (1999) le

permiten a la glándula mamaria captar hasta 97% de toda la energía suministrada por la ración; por tanto es de esperar que las vacas de mayor producción tengan un menor porcentaje de energía disponible para funciones reproductivas en situaciones de balance energético negativo, como ya señalaron Miyoshi *et al.* (2001; ver revisión de García Casillas y Montiel Ramos, 2012).



Prioridad energética durante el post-parto temprano (Tomado de García Casillas y Montiel Ramos, 2011).

Durante el periodo de transición, al igual que en la lactogénesis, la insulina no presenta efectos directos en la proteólisis, sin embargo, concentraciones bajas de ella en sangre inhiben la síntesis de proteínas, de tal manera que se beneficia el catabolismo del músculo esquelético con la consecuente liberación de aminoácidos (Figura 1) susceptibles de ser utilizados por la gluconeogénesis hepática (Bell y Bauman, 1997), beneficiando aún más la disponibilidad de glucosa para la glándula mamaria.

Durante el posparto temprano el eje somatotrófico en la vaca lechera, formado por la hormona del crecimiento (GH), el receptor de la hormona de

crecimiento específico del hígado (GHR ARN mensajero 1A) y el factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I), se encuentra desacoplado, como lo indican Radcliff *et al*. (2003).

> Estos investigadores evaluaron los cambios en el IGF-I así como en la expresión del GHR *ARN mensajero 1A* de 65 vacas frisonas (por medio de biopsia hepática) durante el intervalo comprendido entre los 14 días anteriores y posteriores al parto. Observaron que el GHR *ARN mensajero 1A* se redujo dos días antes del parto, se mantuvo bajo de tres a cuatro días tras el mismo y luego aumentó lentamente, por lo que los niveles de somatotropina en sangre se elevaron. Dicha disminución fue asociada con la disminución de progesterona y el incremento de estradiol, pre-parto.
>
> En cuanto al IGF-I *ARN, mensajero,* éste disminuyó el primer día post-parto, manteniéndose bajo durante 2-5 días, aumentando luego progresivamente.

Wook Kim *et al.* (2004) sugieren que las deficiencias energéticas durante el posparto temprano en la vaca lechera disminuyen la expresión de los genes del receptor GHR *ARN mensajero 1A*, lo que conduce a una disminución tanto de la síntesis del receptor hepático de la somatotropina, como de la producción del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I.

Los niveles elevados de GH en sangre aumentan la PL sin un incremento en la ingesta de alimento al presentar una estimulación directa sobre el tejido muscular y el tejido adiposo, lo que sugiere que la mayor PL se realiza por lipólisis y proteólisis (Okamura *et al.,* 2009).

> De manera sinérgica la somatotropina reduce la capacidad de respuesta a la insulina disminuyendo la expresión del GLUT-4 (Zhao y Keating, 2007). La somatotropina también actúa sobre otros órganos como el páncreas y el intestino, para promover la liberación del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I, la insulina y la leptina (Okamura *et al.*, 2009).

El tejido adiposo secreta adiponectina, cuyos niveles circulantes son inversamente proporcionales al índice de condición corporal (CC) y al porcentaje de grasa corporal (Vernon, 2005).

> Existen dos receptores conocidos para la adiponectina, llamados AdipoR1 y AdipoR2, que se expresan en tejidos sensibles a la insulina, como el tejido muscular y el tejido adiposo. La unión de la adiponectina a sus receptores durante el periodo

de transición favorece la oxidación de ácidos grasos y la formación de glucosa (Tomas *et al*., 2004).

El tejido adiposo también secreta leptina, que puede actuar sobre el hipotálamo para disminuir el consumo de alimentos y aumentar el gasto energético, y que al igual que la adiponectina limita la acumulación de lípidos en músculo y el hígado, aumentando la oxidación de los ácidos grasos (Vernon, 2005).

Todas las adaptaciones endocrinas antes descritas siguen el fin metabólico de dar prioridad a la PL sobre la eficiencia reproductiva. Desde el punto de vista biológico es natural que al principio de la lactación el fisiologismo de la vaca favorezca la PL sobre la fecundidad; no obstante si se incrementa la intensidad de la producción o mismo la duración de la lactación, todas las adaptaciones anteriormente mencionadas pueden desembocar en trastornos reproductivos (Lucy, 2001).

La intensificación del sistema productivo lechero, en busca de una cada vez mayor producción lechera ha conducido a una selección genética de las hembras, favoreciendo incluso la consanguinidad (Vanholder et al., 2006), lo que ha afectado al eje hipotálamo-hipófisis-ovario, siendo esta la causa de la cada ves mayor incidencia de quistes foliculares e intervalos más largos para la primera ovulación en hembras lecheras sometidas a régimen intensivo.

Por su parte Bilodeau-Goeseels (2003) relacionó la selección genética para incrementar el potencial productivo, con una fase lútea anormal y una mayor pérdida embrionaria.

Webb *et al.* (2004) y Vanholder *et al.* (2006) indican que al priorizar la PL sobre la eficiencia reproductiva se alteran las concentraciones circulantes de insulina, del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I, de la somatotropina y la leptina, afectando la expresión del ARN mensajero ováricos.

Cambios que afectan al metabolismo proteico

Las necesidades de proteína para la gestación son relativamente poco importantes hasta los dos últimos meses cuando los requerimientos se incrementaron en forma exponencial.

> Este aumento de requerimientos tiene su origen en el crecimiento del feto y en la síntesis de calostro y posteriormente la síntesis de leche (Cunningham, 2008).

Estas necesidades proteicas se agravan por la disminución de la ingestión de alimentos en las semanas previas al parto. Los efectos de este balance proteico negativo se muestran en el post parto.

> En este m omento, la capacidad de movilizar proteína es mucho mas limitada que la de movilizar energía y pueden agotarse antes o al inicio de la lactación. Una vez agotada las reservas proteicas la falta de proteína limita la producción de leche y las síntesis de inmunoglobulinas por lo que la defensa inmunitaria se ve comprometida. El resultado de ello es una mayor predisposición a a la aparición de patologías post parto y producciones limitadas (Garmedia, 2005)

El organismo, en respuesta a la reducción de la ingesta, moviliza aminoácidos desde los tejidos periféricos y reduce la síntesis proteica en éstos mientras que en el hígado aumenta la síntesis proteica y hay una mayor eficiencia en el uso de los aminoácidos. Ello conduce a un crecimiento hipertrófico e hiperplásico del hígado durante el inicio de la lactación.

> La movilización proteica no se extiende más allá de las tres semanas posparto, mientras que la de grasa puede prolongarse más de setenta días después del parto (Fernández, 2009).

2.2.3. EL BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO (BEN)

La regulación de todas estas adaptaciones implica la participación de dos mecanismos estrechamente relacionados: *homeostasis* y *homeoresis*.

La regulación homeostática implica el funcionamiento de distintos mecanismos con el fin de mantener el equilibrio fisiológico. A lo largo del periodo de transición, se produce una alteración de la respuesta de los

tejidos a los agentes que regulan la homeostasis metabólica como la insulina y los agentes adrenérgicos.

Todos estos cambios están regulados por mecanismos homeoréticos. El concepto de homeoresis fue definido por Bauman y Currie (1980) como "*el conjunto de cambios coordinados en el metabolismo de los tejidos corporales, necesarios para mantener un estado fisiológico*". La regulación homeorética se describe en tres características, y este concepto puede aplicarse al reparto de nutrientes durante el cambio metabólico que supone la transición:

- Se trata de una regulación a largo plazo, es decir, que no se produce inmediatamente. Los cambios metabólicos se inician al final de la gestación y continúan hasta la lactación temprana.
- Actúa simultáneamente sobre tejidos que aparentemente no están relacionados. En la transición, las adaptaciones afectan al tejido adiposo, al músculo esquelético y al hígado.
- Actúa mediante la alteración de la respuesta a las señales homeostáticas. Ejercen influencia sobre las respuestas a la insulina y agentes adrenérgicos.

De acuerdo con Herdt (2000) el *balance energético* se define como la diferencia entre el consumo de energía por parte del animal y la energía requerida para el mantenimiento y la preñez (en la vaca gestante), y el mantenimiento y la lactación (en la vaca lactante).

> Si el gasto de energía es mayor que el consumo, el balance energético es negativo (Heuer *et al.*, 2000) y las vacas ven mermada su condición corporal (CC).

Jorritsma *et al.* (2003) observaron que el balance energético negativo es ocasionado por una inadecuada biosíntesis hepática de glucosa, como lo confirman Wieghart *et al.* (1986) al indicar que la producción hepática de glucosa es directamente proporcional al ácido propiónico biosintetizado en el rumen a partir del ácido pirúvico o del ácido láctico.

> Los mismos autores observaron que durante el periodo de transición las bacterias ruminales, utilizadoras de dichos ácidos, aún no presentan una tasa de crecimiento adecuada, por lo tanto durante esta etapa las vacas lecheras presentan una marcada hipoglucemia.

Bell (1995) señaló que en estas condiciones de hipoglucemia, los mecanismos de regulación homeorrética le dan prioridad a la PL sobre las funciones del organismo y movilizan sus reservas corporales con el fin de salvaguardar la PL y asegurar la nutrición de la cría.

> La selección genética que ha venido realizando el hombre a través del tiempo para aumentar la PL en las vacas de régimen intensivo ha incrementado las diferencias entre el gasto energético y la disponibilidad de energía, elevando la tendencia fisiológica de la vaca de responder a las deficiencias energéticas con el catabolismo y utilización de sus tejidos corporales (García Casillas y Ramos Montiel, 2011).

Estrategias para disminuir el riesgo de BEN

La suplementación de la dieta con grasa no ha logrado disminuir el riesgo de que la vaca, tras el parto entre en un estado de BEN, tal y como mostraron los resultados obtenidos por Drackley *et al.* (2003) y Ruppert *et al.* (2003) sobre vacas frisonas a las que se incrementó el aporte de grasa en la dieta pos-parto.

> En ambos estudios se registraron incrementos en la PL, así como incrementos en los valores de NEFA y una disminución en el contenido graso de la leche, lo que sugiere que la energía extra aportada por la suplementación fue dirigida para incrementar la PL, en vez de reducir el BEN.

Por otro lado, la suplementación de precursores glucogénicos ha demostrado mejores resultados al disminuir el déficit energético, incrementando las concentraciones de glucosa y disminuyendo la esteatosis hepática, como señalaron Bobe *et al.* (2003) al aplicar inyecciones subcutáneas de glucagón a vacas frisonas en el post-parto.

Por su parte Miyoshi *et al.* (2001) concluyen que la aplicación de 500 ml de propilenglicol durante la lactación (desde el día 7 hasta el 42) incrementa los niveles plasmáticos de glucosa e insulina, reduce la concentración de NEFA

y mejora la aparición de la primera ovulación, la tasa de concepción a la primera inseminación y la longitud de la primera fase lútea.

> Estos resultados ponen de manifiesto que el balance energético negativo es en esencia, un equilibrio de glucosa negativo (García Casillas y Montiel Ramos, 2011).

El manejo nutricional durante el periodo de transición tiene implicaciones directas sobre el BEN, obteniendo una mejor respuesta a la insulina, y por ende, bajas tasas de trastornos metabólicos (Overton, 2011).

Por otra parte, los factores ambientales como el alojamiento de vacas en grupos indistintos (vacas y novillas juntas) afecta indirectamente al consumo de materia seca (García Casillas y Montiel Ramos, 2011).

> Para García Casillas y Montiel Ramos (2011) conseguir una alta ingestión de materia seca el principio de la lactación constituye el principal determinante para el manejo exitoso de la fase de transición, toda vez que el balance energético está estrechamente ligado con la reproducción (Butler y Smith, 1989) y con la salud e inmunidad (LeBlanc, 2010).

Dada la complejidad del metabolismo, otra área de oportunidad que resulta interesante y casi indispensable para un mejor manejo del periodo de transición es la utilización de medios para monitorizar el estatus nutricional del rebaño, tal y como señalan Ospina *et al*., (2010) o Castillo y Hernández (2013).

> De acuerdo con estos estudios la evaluación de los niveles sanguíneos de NEFA y ß-hidroxibutirato (BHBA), así como los de albúmina y urea son parámetros imprescindibles para la monitorización del estado energético y proteico del animal, alertándonos de la existencia o no de disturbios metabólicos.

2.2.4. CAMBIOS EN EL SISTEMA INMUNE

Los cambios hormonales que ocurren durante el parto (estrógenos y corticoesteroides) provocan la disminución en la habilidad de los leucocitos de combatir infecciones. Es por esta razón que aumenta la susceptibilidad a mastitis y metritis (García, 2009)

La progesterona, hormona predominante durante la gestación, parece estar implicada en la inmunosupresión que existe durante la misma pues inhibe muchas funciones leucocitarias. Esto se relaciona con la necesidad de evitar el rechazo del feto por parte del organismo materno. De todos modos, es improbable que esta hormona sea responsable de la inmunodepresión durante el periparto ya que sus niveles se reducen al tiempo que la inmunodepresión se instaura (en el día anterior del parto sus niveles son prácticamente indetectables).

Pocas semanas antes del parto, el cortisol fetal estimula la secreción de estrógenos por parte de la placenta que poseen un efecto estimulante sobre la respuesta inmune humoral, mientras que ejercen un efecto supresor sobre la inmunidad mediada por células. Los altos niveles de estrógenos y cortisol que desencadenan el parto son los responsables de la supresión del sistema inmune al parto.

La disminución de la ingestión de materia seca genera deficiencias de energía, proteínas, minerales y vitaminas que resultan en inmunosupresión y una alta incidencia de patologías metabólicas.

2.2.5. IMPORTANCIA DE LA CONDICIÓN CORPORAL AL PARTO.

La ingestión reducida de energía tras del parto afecta sensiblemente la producción de leche, no afectando en el mismo nivel la ingestión de proteínas.

> Vélez de Villa (2013) comprobó que las vacas de tres años que llegaban al parto con un peso promedio de 379 kg, en cinco meses de lactación, por cada 10 kg más de peso produjeron 40 kg más de leche. Es decir, que las hembras con mejor condición corporal produjeron mayor cantidad de leche, tal y como ya señalara Bavera (2005).

Diversos estudios han demostrado que por cada 30 kg de incremento de peso vivo al momento del parto se logran incrementos de 122 kg en la producción de leche, 8 kg de grasa y 4 kg de proteína durante las primeras 20 semanas

de la lactancia (Rearte, 1992). Sin embargo los efectos de la condición corporal sobre los porcentajes de grasa y proteína en la leche son pequeños.

El déficit energético temporal estaría siendo compensado con las reservas corporales, la mayor variación en el balance energético durante el inicio de la lactación está más asociada con ingesta de energía que con producción láctea, por lo que aun las vacas de baja producción láctea se encuentran en BEN.

> Otro aspecto importante es el comportamiento de la condición corporal (CC) en el rebaño, durante el período lluvioso el 86% de los animales tienen una CC entre 3.0 y 3.5; mientras que en el período poco lluvioso solo el 65% de los animales manifiestan ese rango de CC y el 25% de las vacas tuvo una CC de 2.5. (López y Álvarez, 2005).

Estos mismos autores, plantearon que la condición corporal constituye un indicador preciso de las reservas de energía disponible por el animal para enfrentar cualquier proceso productivo, además que es una muestra del plano nutricional al que está expuesto en un período de tiempo dado.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.3. PARAMETROS PRODUCTIVOS, SERICOS Y HEMATOLÓGICOS.

El estado de salud y productividad del ganado lechero depende de un delicado equilibrio entre el metabolismo, la producción, agentes patógenos, tratamientos y factores ambientales. Un desequilibrio nutricional puede hacer que la producción de la explotación sea subóptima. El perfil metabólico es uno de los medios más adecuados para su detección (Bradford-Smith, 2010).

> El perfil metabólico no reemplaza al examen clínico detallado, al análisis de las prácticas de cría y al de las raciones del alimento, pero en ocasiones es muy útil cuando se trata de operaciones a gran escala en las que diversos problemas subclínicos pueden tener en poco tiempo desastrosas consecuencias económicas.

2.3.1. PARÁMETROS PRODUCTIVOS

2.3.1.1. CONDICIÓN CORPORAL

El estado nutricional y la condición física se valoran mediante inspección y palpación. Se debe prestar especial atención a la papada, procesos espinosos de las vértebras torácicas y lumbares, el área del hombro y el área alrededor de las nalgas. De esta manera, la determinación de la condición corporal (CC) permitirá clasificar al animal entre extremadamente emanciado o caquéctico o entre con una CC excesiva (o gordas).

> Asímismo, debe determinarse si la CC es de naturaleza primaria o nutricional, o consecuencia de una enfermedad. Para Bradford-Smith (2010) los procesos patológicos pueden influenciar, o verse influenciados, por la condición corporal del animal. Los animales muy delgados se consideran con desnutrición primaria y también con enfermedad crónica. Las hembras en lactación con anomalías metabólicas secundarias a desplazamientos abomasales mostrarán también signos de pérdida de peso y merma en el índice CC. Los animales con un exceso de CC tienen un mayor riesgo de sufrir una mayor variedad de trastornos relacionados

principalmente con la acumulación de grasa en el hígado y el exceso de almacenamiento de grasa en el omento (Edmonson *et al*., 1989)

La evaluación de la CC en bovinos se realiza por medio de la asignación de un índice en una escala de 1-5 (Houghton *et al*., 1990) o de 1-9 (Wagner *et al*., 1988), donde 1 es un animal emaciado y 5 ó 9 (dependiendo de la escala usada) es una animal obeso, con el fin de estimar las reservas de grasa corporal mediante la observación y palpación de costillas, columna vertebral, huesos de la cadera e inserción de la cola (Edmonson *et al*., 1989; Houghton *et al*., 1990).

En este estudio utilizaremos la escala 1 a 5, la más recogida en la bibliografía consultada.

Clasificación de la condición corporal para bovinos de leche (Radostits et al., 2006; Bradford-Smith, 2010; Kellogg, 2013).

En base a lo anteriormente señalado, podemos establecer una escala del 1 al 5 y que corresponderá a un determinado índice de condición corporal:

- **CC-1**:

  Las apófisis espinosas individuales tienen una cobertura limitada y son prominentes. Los extremos son afilados a la palpación y todos juntos dan a la región del lomo el aspecto de una plataforma saliente. Las vértebras individuales de la espalda, la grupa y el lomo son prominentes y se distinguen bien. Los huesos de la cadera son afilados, sin apenas cobertura de carne y se observan grandes depresiones entre ellos. El área por debajo de la inserción de la cola y entre los huesos de la cadera está muy deprimida, lo que da una apariencia muy afilada a la estructura ósea de la zona. Para esta CC se estima un porcentaje de grasa corporal del 3.77%.



- **CC-2:**

  Las apófisis espinosas individuales son visibles pero no prominentes. Los extremos son afilados a la palpación, aunque tienen una cobertura de carne mayor y ya no dan el aspecto de plataforma saliente. Las vértebras de la espalda, lomo y grupa no se distinguen visualmente pero sí por palpación. Los huesos de la cadera son prominentes pero la depresión entre ellos es menos profunda. El área por debajo de la inserción de la cola y entre los huesos de la cadera está deprimida, pero la estructura ósea no está desprovista de cobertura de carne. Para esta CC se estima un porcentaje de grasa corporal del 11.3%.



- **CC-3:**

  Si se aplica una presión ligera pueden distinguirse las apófisis espinosas. En conjunto, las apófisis son suaves y no se observa el efecto de plataforma saliente. Las vértebras de la espalda, lomo y grupa están redondeadas, así como los huesos de la cadera, que además son suaves. El área entre los huesos de la cadera y alrededor de la inserción de la cola está lisa, sin signos de deposición grasa. Para esta CC se estima un porcentaje de grasa corporal del 18.8%.



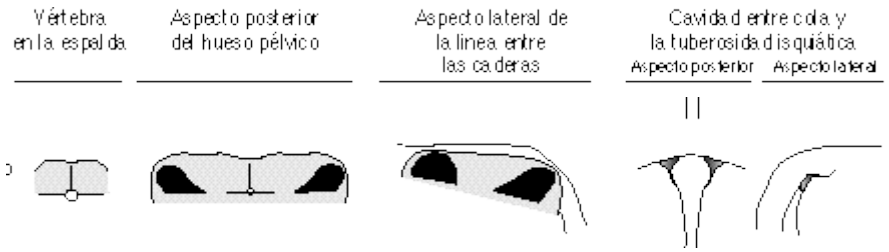
- **CC-4**

  Las apófisis espinosas individuales se detectan sólo mediante presión firme y en su conjunto se muestran lisas o redondeadas, sin el efecto de plataforma saliente. La cresta formada por la columna vertebral en la región de la espalda está redondeada y lisa; lo mismo que el lomo y la grupa. Los huesos ilíacos están redondeados y el hueco entre ellos es plano. El área alrededor de la inserción de la cola y los huesos de la cadera está redondeada, con signos de deposición grasa subcutánea. Para esta CC se estima un porcentaje de grasa corporal del 26.4%.



- **CC-5**

  La estructura ósea de la columna vertebral, las apófisis espinosas y los huesos de la cadera no son aparentes a simple vista y hay evidencias de depósitos de grasa subcutánea. La inserción de la cola parece enterrada bajo tejido adiposo. Para esta CC se estima un porcentaje de grasa corporal del 34%.



Los rangos de CC ideales para cada estadío fisiológico fueron recogidos por Kellogg (2013) y quedan reflejados en la siguiente tabla:

Estado de lactación	***Rango***
Secado	3.5-4.0
Parto (multíparas)	3.5-4.0
1 mes post-parto	2.5-3.0
Mitad de lactación	3.0
Cola de lactación	3.25-3.75
Parto (primíparas)	3.5

Buttchereit *et al*. (2011) señala en la fase de lactación, desde el día 11 hasta el día 180 de producción un índice corporal próximo a 2.95. Y es que en lactación, a medida que disminuye la producción de leche aumenta el valor CC.

> Una vez pasado el pico de lactación comienza a ganar entre 1.5-2 kG de peso, al tiempo que va disminuyendo la cantidad de leche producida (Kellog, 2013).

Significación clínica

La condición corporal es básicamente una medida para estimar la cantidad de tejido graso subcutáneo en ciertos puntos anatómicos, o el grado de pérdida de masa muscular en el caso de vacas flacas con muy poca grasa. Por lo tanto, es un indicador del estado nutricional de la vaca (Correa y Uribe, 2010). Otros autores, definen la condición corporal como un método subjetivo para evaluar las reservas energéticas en vacas lecheras (Edmonson *et al.*, 1989). Buttchereit *et al*. consideran los cambios en la medición de la condición corporal como una evidencia clínica de la movilización de la grasa del animal para compensar un estado de BEN.

> Lo que queda evidente es que para la mayoría de los autores, la pérdida de la CC en los primeros días de lactación es un signo temprano de cetosis (Hanus *et al.*, 2011).

> De hecho, ya en 1999 Heuer *et al*. consideraban que la valoración de la CC post-parto en explotaciones de vacuno lechero era una buena herramienta diagnóstica preventiva para estados cetósicos post-parto. Derivado de todos aquellos estudios se llegó a la conclusión de que vacas lecheras con una CC mayor o igual a 4 al inicio de la lactación tienen una marcada predisposición al padecimiento de cetosis (Gasteiner, 2003).

Para López (2006) la condición corporal además sirve, para determinar la cantidad y tipo de suplemento que requiere la vaca durante la lactancia. A mayores, la determinación de la CC y sus cambios son más fiables como indicadores del estado nutricional que el peso corporal; ya que éste está afectado por la fase de gestación y la cantidad de alimento en el tracto gastrointestinal.

Durante la fase de transición, la condición corporal que presenta el animal, que a menudo es un aspecto poco tenido en cuenta, va a ser esencial para la aparición de dismetabolías como pueda ser la cetosis. En este contexto podemos tener tres posibles escenarios:

1. Cuando la condición corporal es la adecuada (próxima a 3,5 puntos) y tanto las raciones como el manejo son los apropiados; ocurre un desequilibrio fisiológico propio del estadío fisiológico pero controlable por el propio animal.

2. Cuando la condición corporal es menor de lo deseado (< 3 puntos), en este caso las vacas no son capaces de recurrir a sus propias reservas y obtener la energía necesaria, favoreciendo la aparición de un BEN y por tanto de un estado cetósico.

3. En el caso contrario, estarían los animales con una condición corporal mayor (>4 puntos). Igualmente son animales con problemas reproductivos y retraso en su preñez, por lo que están demasiado tiempo en cola de lactación, dando poca leche e ingiriendo más de lo que realmente necesitan. Estaríamos ante animales que tendrían una elevada movilización de AGL y esteatosis hepática.

Pérdida de peso

Se considera un problema clínico que un paciente individual o un colectivo presente pérdida de peso -o merma en la CC- durante un período de tiempo determinado. La gestación tardía, la lactación temprana y el ejercicio intenso son condiciones fisiológicas que se suelen asociar a una pérdida de peso de leve a moderada.

> La gestación tardía puede asociarse a un descenso en la CC sin pérdida de peso real porque se gana peso con la concepción. Durante la gestación y la lactación, la pérdida de CC puede ser leve, lo que da lugar a una CC normal a baja, o incluso grave, lo que amenaza el estado de salud tanto de la madre como del neonato (Bradford-Smith, 2010).

La pérdida de peso en el animal adulto se asocia frecuentemente a una o más de las siguientes circunstancias: 1) anorexia; 2) aumento de la demanda de nutrientes; 3) deficiencias en micronutrientes; 4) parasitosis y 5) malnutrición proteico-calórica.

> La malnutrición proteico-calórica continúa siendo un problema en los animales de abasto. La ingestión inadecuada de energía y proteína provoca una pérdida obvia de peso. Y es que el animal está recibiendo un volumen inadecuado de comida para satisfacer las necesidades nutricionales.
>
> La calidad del alimento, principalmente de los forrajes como el heno y el pasto, es un factor importante. Para Bradford-Smith (2010) es evidente que cuanto menor sea la calidad del forraje (digestibilidad) menor es la ingesta diaria máxima, ya que el alimento de mala calidad debe permanecer en el rumen durante un periodo de tiempo mayor antes de que la digestión sea suficiente como para permitir el paso por el orificio retículo-omasal. Con frecuencia, los forrajes de mala calidad se traducen en un descenso de la CC.

Obesidad

La obesidad es un problema significativo en muchas especies de rumiantes. Los animales obesos están en riesgo de insuficiencias reproductivas o enfermedades metabólicas en la gestación tardía o durante la lactación.

El mecanismo patogénico es, de manera invariable, una ingesta prolongada de energía nutricional total por encima de la necesaria para el mantenimiento y la producción. Con frecuencia el inicio de la obesidad se asocia a un mal rendimiento reproductivo y también es una secuela habitual de esta condición (López, 2006; Correa y Uribe, 2010).

> La administración de alimentos para una elevada producción láctea durante periodos de tiempo prolongados predispone a las vacas estériles a convertirse en obesas. Las vacas secas que tienen acceso a alimentos ricos en energía, también tienen predisposición a padecer el *síndrome de la vaca gorda* (Bradford-Smith, 2010).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

2.3.1.2. PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

2.3.1.2.A. LITROS DE LECHE

El objetivo de toda producción lechera es producir la mayor cantidad de litros de leche de buena calidad por hectárea al menor costo posible, y el modelo de ganadería ecológica, aunque en consonancia con el medio no escapa a este objetivo. (Pérez y Alvarez, 2008)

En condiciones de ganadería ecológica, la alimentación requerida para obtener una producción sostenible ha de basarse en tres premisas: 1) un aporte de los nutrientes e ingredientes activos necesarios; 2) atención a las especificidades fisiológicas de la especie y 3) consideración del comportamiento alimentario característico (cómo se realiza en libertad o, en otros casos, qué alimentos escoge libremente el animal).

> Se ha comprobado que la *conversión* desde una ganadería convencional a otra ecológica afecta negativamente –en términos de producción lechera- más a las vacas que antes eran de alta producción que a las que producían menos (Nauta *et al.*, 2006). Estos mismos autores comprobaron cómo el periodo de adaptación hacia el nuevo sistema implicaba hasta 1000 kg menos de leche. Observaron asimismo que la producción tendía a estabilizarse pasados unos 5 años, aunque nunca llegando a superar los rangos obtenidos con la explotación convencional. Este hecho es atribuido al suministro de un menor aporte de concentrado con la ración, así como a la administración de forrajes de baja calidad, afectando al total de energía y proteína aportados con la alimentación.

Pérez y Alvarez (2008) realizaron un estudio sobre toda la cornisa cantábrica (incluyendo Galicia) buscando la caracterización de las explotaciones ecológicas en base a su producción y rentabilidad. Los autores identificaron dos grupos de explotaciones atendiendo al tamaño, el primero estaba formado por ganaderías ecológicas pequeñas, con una producción media en 2005 de 106.206 litros, quedando el otro grupo para las unidades ecológicas más grandes, siendo su producción media en 2005 de 253.987 litros.

> Compararon estos sistemas con los llamados convencionales, a los que dividieron también en dos grupos: uno de ganaderías pequeñas que producen en el (desde 2003-05) 50.000-150.000 litros (media 105.518 litros), y otro de ganaderías grandes que producían 150.000-400.000 litros (media 259.593 litros).

Entre los valores medios de producción, las granjas pequeñas ecológicas producían una media anual de 4.884 L/vaca; mientras que las convencionales del mismo tipo tenían un valor medio de 6.140 L/vaca. En cuanto a explotaciones de mayor envergadura, las granjas ecológicas mostraron un valor medio de producción lechera de 5.607 L/vaca; mientras que las de tipo convencional arrojaron una media de 7.377 L/animal.

> Para Nauta *et al.* (2006) estos menores índices productivos por parte de las granjas orgánicas son fruto más de un mal manejo nutricional que del sistema de explotación en sí mismo

Al comparar la ingesta de concentrado consumido, se encontraban diferencias significativas en su consumo, siendo menor en las de régimen orgánico. Así, las *ecológicas pequeñas* consumieron una media de 1.623 Kg/vaca mientras que las *pequeñas convencionales*, 2.841 Kg/vaca. En las explotaciones *ecológicas grandes*, la media de concentrado consumido por animal fue de 1.898 Kg, y en las *grandes convencionales* el resultado fue 3.455 Kg. Es evidente que al disminuir el consumo de concentrado en las granjas orgánicas se favorece el aporte de forraje, que contiene un 10% menos de energía/Kg de materia seca (MS, Padel, 2000).

> No obstante, un estudio retrospectivo (Plomp, 2001) llevado a cabo durante 4 años en granjas ecológicas danesas observó que el consumo medio de concentrado en este tipo de explotaciones era de 1.200 Kg/vaca, resultando en una producción media de 6.860 Kg de leche en 305 días de lactación, lo que apoya las tesis de Nauta *et al.* (2006).

Comparando los valores de producción con los obtenidos en otros países, Stonehouse *et al.* (2001) en Canadá encontraron mayores rendimientos (en términos de leche/vaca) en las ganaderías convencionales con respecto a las orgánicas; aunque detectaron mejores resultados económicos en las

explotaciones orgánicas, a causa de unos costes más bajos para casi todos los materiales consumidos.

Butler (2002) estudió ganaderías convencionales y orgánicas en California, encontrando que el coste total de producción por litro fue entre un 10 y un 20 % más alto en la producción ecológica que en la convencional. Entre los factores que explican esta diferencia en costes se encuentran los costes de conversión, los de certificación, los derivados de unos menores rendimientos físicos por vaca, los costes de oportunidad por no usar medicinas convencionales, los mayores costes de alimentación y también de mano de obra.

> Para el autor, el mayor coste de alimentación por litro en la ganadería orgánica se debe al componente de los pastos y forrajes producidos; sin embargo, el coste de concentrados por litro fue inferior en las ganaderías ecológicas ya que, aunque el precio del pienso ecológico era un 34% superior al convencional, existía un menor consumo de concentrados/litro de leche producida.

La evidencia de que las vacas pertenecientes a ganadería ecológicas producen menos cantidad de leche, en comparación con las convencionales, pero que la relación producción/coste es beneficioso, tanto en términos económicos como de salud para el animal es una idea que se ha repetido continuamente en posteriores trabajos publicados (Nicholas *et al.*, 2004; Bloksma *et al.*, 2008).

Significación clínica

La producción de leche dentro de los estándares de la raza y el tipo de producción es una manifestación biológica directa del estado de salud de la hembra,

> La pérdida en la producción de leche en los primeros estadíos de lactación es para Hanus *et al.* (2011) un primer indicador del padecimiento de cetosis subclínica o bien de acidosis ruminal subaguda (Oetzel, 2007).

2.3.1.2.B. CONTENIDO EN GRASA

Por definición, hablamos de la cantidad de materia grasa que forma parte de la composición de la leche, expresada en tanto por ciento en peso, con dos decimales.

> Esta fracción es una gran fuente de ácido linoleico conjugado (ALC, Parodi, 1999) y en la cual el isómero *cis*-9 *trans*-11 constituye el 90% del total de isómeros (Chin *et al.*, 1992). De hecho, en los últimos años los esfuerzos investigadores han ido orientados a incrementar el contenido de este mismo isómero, con el fin de mejorar la calidad de la leche (Bergamo *et al*., 2003).
>
> Pero la grasa contenida en la leche también representa una buena fuente dietética de retinol y ß-carotenos (Panfili *et al*., 1994), con actividad antioxidante (Castillo et al., 2013).

Normalmente, la grasa (o lípido) constituye desde el 3,5 hasta el 6,0% de la leche, variando entre razas de vacas y con las prácticas de alimentación. Una ración demasiado rica en concentrados que no estimula la rumia en la vaca, puede resultar en una caída de un 2,0 a 2,5 puntos en el porcentaje de grasa.

A pesar de la creciente importancia económica y sociológica de los alimentos ecológicos, son pocos los estudios científicos realizados sobre los mismos y, por lo tanto, escasos los datos contrastados que caracterizan la calidad de estos productos con respecto a los de producción convencional (Rodriguez *et al.*, 2010).

> Parte de esta escasez puede atribuirse, tal y como señala Bishop (2007) al destino que sigue cada producto. Así, mientras que el 80% de la leche procedente de granjas ecológicas es sometida básicamente a un proceso de pasteurización; la de granjas convencionales sigue los canales UHT.

Lo que sí es un hecho constatado es que el manejo, en términos de factor humano, condiciona y mucho, tanto la cantidad como la calidad del producto final (Blocksma *et al*., 2008).

Bergamo *et al*. (2003), determina la composición de los elementos que componen la fracción grasa de la leche y la compara en función del sistema

de explotación (orgánica *vs.* convencional). Independientemente de la caracterización de los diferentes lípidos, si registra la ausencia de diferencias significativas en los porcentajes de grasa entre ambos sistemas (8.0±0.5% *vs.* 7.9±0.7%, respectivamente).

> Tras el estudio, los autores concluyeron que la aportación nutricional de la leche obtenida de granjas orgánicas, en términos de vitaminas liposolubles, ALC y antioxidantes era mayor en comparación con la obtenida con los sistemas convencionales.

Toledo-Alonzo (2003) para sistemas de ganado ecológico suecos, aporta valores medios de grasa en leche en torno al 4-4.5%, inferiores a los valores de grasa propios de los sistemas convencionales.

> Lund (1991) ya había señalado que las diferencias en el contenido graso de la leche en vacuno ecológico estaban asociadas a la raza empleada para tal fin. No obstante, siguiendo con los argumentos de Nauta *et al.* (2006), es muy probable que la restricción en el consumo de concentrado propio de estos sistemas afecte al aporte de energía de la ración y, por ende, al contenido graso de la leche. Incluso, dichos autores aprecian que la conversión de un sistema convencional a otro orgánico implica una merma del 0.04% en el aporte graso, incrementándose al cabo de 2 años de adaptación y llegando a alcanzar valores similares a los registrados para las explotaciones convencionales (4.2-4.3 %)

Un estudio comparativo realizado por Bishop (2007) entre granjas de vacuno lechero ecológicas *vs.* convencionales en Estados Unidos, mostraba que los porcentajes de grasa en la leche eran muy similares entre explotaciones (3.83% para convencional; 3.87% para orgánica), en consonancia con lo indicado por Nauta *et al.* (2006) aunque en este caso con menores porcentajes.

Más recientemente, Butler *et al.* (2011) señala diferencias en el total de grasa (básicamente en lo que respecta a la mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados -PUFA- en orgánicas frente a convencionales), así como en las diferentes fracciones que la componen en función de la época del año (básicamente verano *vs.* invierno) y que viene determinada, en criterios del autor a la calidad y tipo de pastos consumidos en cada etapa.

Este mismo estudio señala incluso diferencias en la cantidad de grasa contenida en la leche entre explotaciones de ganado ecológico de los diferentes países europeos. Así, llega a señalar que la leche procedente de explotaciones (orgánicas o convencionales) procedentes del Reino Unido tiene en sí, mayores concentraciones de grasa que aquellas procedentes de otros como Suecia, Dinamarca o Italia.

Significación clínica

La merma en el contenido graso de la leche no sólo ha de verse en el contexto nutricional. Se han registrado descensos en los porcentajes de grasa en situaciones de acidosis ruminal subaguda (SARA), aunque las causas aún no han quedado dilucidadas (Oetzel, 2007).

2.3.1.2.C. PROTEÍNAS DE LA LECHE

Las proteínas lácteas influyen en el comportamiento y las propiedades nutricionales de la leche y sus derivados, siendo la caseína la principal proteína láctea.

La concentración de proteína en la leche varía de 3.0 a 4.0% (30-40 gramos por litro). El porcentaje varía con la raza de la vaca y en relación con la cantidad de grasa en la leche.

Toledo-Alonzo (2003), y estudiando granjas ecológicas en Suecia no encontró diferencias en cuanto al contenido de proteínas de la leche entre el sistema orgánico y convencional (oscilando ambas entre 3-3.5%)

> Para la autora, estos datos estaban en contraposición con estudios anteriores (Lund, 1991) que señalaban mayor contenido proteico en la leche de vacas ecológicas. No obstante otros estudios (Trachsel *et al.*, 2000, Mogensen y Kristensen, 2002) también habían recogido efectos similares a los suyos.

Y es que cada vez son más los estudios que señalan la falta de diferencias significativas en lo que respecta a este componente de la leche y en función

del sistema de explotación (Toledo *et al.*, 2002). Butler *et al.* (2011) tampoco observa diferencia en los contenidos proteicos de la leche entre explotaciones convencionales (3.2 %) y orgánicas (3.2 %). A mayores no registra cambios en base a la estacionalidad, efecto llamativo especialmente en las de régimen ecológico, manteniéndose sus valores estables en torno al 3.2 %.

Sin embargo, ya en España, Rodríguez *et al.* (2010), en un estudio en el que caracterizaba la leche obtenida de granjas ecológicas en Asturias, observó menores concentraciones de proteínas lácteas en comparación con aquellas obtenidas en sistemas convencionales.

Toledo-Alonzo (2003) señala que al igual que acontece con el contenido de grasa, esta diversidad de resultados es fruto de los diferentes sistemas de manejo (incluyendo la nutrición) a la que se someten las diferentes explotaciones, no pudiendo marcar una norma general.

Lo que sí se ha demostrado es que la conversión desde el modelo convencional al ecológico afecta negativamente a la cantidad de proteína de la leche. Se ha registrado hasta un descenso en 0.075 puntos en el porcentaje de proteína, estabilizándose tras un periodo de adaptación (en el estudio, 3 años) aunque sin llegar a alcanzar los rangos obtenidos cuando estaban bajo el sistema convencional (Nauta *et al.*, 2006). De nuevo la restricción de fuentes ricas en proteínas por motivos legislativos que imperan en este tipo de explotación parece ser la causa más probable de este descenso.

> Para Padel (2000) ello no debe suponer ningún problema y que la estabilización en los contenidos de proteína puede lograrse mediante un buen ajuste nutricional.

No se han detectado cambios en el contenido de proteína en función de la estacionalidad (Hanus *et al.*, 2011).

Significación clínica

Al igual que acontece para los restantes parámetros físico-químicos de la leche, una buena producción de proteína es indicativo de un correcto balance nutricional por parte del animal.

El descenso en el porcentaje de este elemento, especialmente al principio de la lactación es atribuible a la presencia de un BEN en este momento (Hanus *et al.,* 2011).

> Estos mismos autores, para leche de ganado ecológico aporta valores de 3.3 ± 0.3% de proteína para la fase de lactación (tomada en conjunto), mientras que para los primeros días de la misma señala como aceptable valores de 3.2 ± 0.3%.

2.3.1.2.D. RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

El contenido de células somáticas (CCS) en la leche está directamente correlacionado con la salud de la ubre y tiene un marcado efecto sobre la producción láctea, su composición y la estabilidad a la hora de ser procesada (Toledo-Alonzo, 2003).

> Bloksma *et al.* (2008) señalan la conveniencia de medir el *índice de estimulación linfocitaria* como un parámetro que señala la capacidad de respuesta de las células defensivas en la leche bovina; de esta manera el número de linfocitos medidos orienta sobre el estado de salud de la vaca: altos niveles linfocitarios indicarán la presencia de una posible inflamación local.

Rodriguez *et al.* (2010), valorando las explotaciones ecológicas en Asturias, registró que mientras el contaje RCS es estable en explotaciones lecheras convencionales (entre 100 y 200 x 10^3/mL) a lo largo del tiempo, esto no ocurre en las explotaciones orgánicas, donde se registran significativas fluctuaciones (entre un mínimo cercano a 200 x 10^3/mL y un máximo de hasta 10.000 x 10^3/mL, no cumpliendo en este extremo el requisito de contenido en células somáticas inferior a 400.000 por mL; (BOE n. 111

9/05/1997), y siempre con medias superiores a las instalaciones convencionales.

> Para los investigadores, semejantes diferencias podrían relacionarse con una posible mayor incidencia de mamitis subclínica en las ganaderías de producción ecológica de leche, atribuible a la prohibición del uso de antibióticos como medida profiláctica.
>
> De hecho, el trabajo hace una reflexión acerca de la mayor incidencia de mamitis por *Staphylococcus aureus*. Alguna de sus cepas producen enterotoxinas termorresistentes, capaces de provocar intoxicaciones alimentarias. La presencia en leche de este patógeno fue significativamente superior en granjas ecológicas que en convencionales.

Pero el mayor contenido en células somáticas de la leche ecológica, con respecto a la convencional, ha sido observado también por otros autores. Nauta *et al.* (2006) encuentra en ganado bovino lechero reconvertido a producción orgánica incrementos en los valores de células somáticas en torno a 50 x 10^3/mL células por año, atribuible a esa falta de medidas profilácticas existentes en las granjas convencionales.

> Los autores vuelven a hacer hincapié en las restricciones al uso preventivo de la antibioterapia, al tiempo que señalan que la mayor susceptibilidad al aumento tiene lugar tras el primer parto.
>
> Asimismo, y en consonancia con lo señalado por otros estudios (Jonkers, 2000, citado por los autores) señalan que incluso el propio ganadero de este tipo de explotaciones tiene una visión menos negativa de lo esperado, ya que consideran este alto número de células en leche una muestra de la capacidad defensiva del propio animal.

No obstante, estudios previos a los realizados por Nauta *et al.* (2006) señalan que este incremento en el CCS se produce en los primeros años de la adaptación, hallándose descensos significativos en explotaciones de mediana-larga duración, como las registradas en Dinamarca (Bennedsgaard *et al.*, 2003) y fruto de una serie de escrupulosas medidas de manejo, como puede ser el ordeño a mano o dejando que los terneros mamen directamente de la madre (Vaarst y Bennedsgaard, 2001).

Años más tarde, Bloksma *et al.* (2008) evaluando el estado sanitario de las granjas de vacuno lechero ecológico en Holanda, llega a las mismas conclusiones en lo que respecta al CCS en este tipo de leche. Al comparar los valores, halla que el término medio de linfocitos en leche en las granjas convencionales fue de 193 x 10^3/mL (140.000-299.000), mientras que en las orgánicas el valor fue superior: 225 x 10^3/mL (140.000-302.000).

Contrariamente a lo señalado por los autores anteriores, Butler et al. (2011) no registra diferencias en el CCS entre explotaciones orgánicas y convencionales en el Reino Unido; así mientras que las primeras muestran unos valores medios de 54 x 10^3/mL (rango entre 4 y 169 x 10^3/mL), las segundas aportan un valor medio de 39 x 10^3/mL (rango 4 y 152 x 10^3/mL). Lo que sí registra es una marcada influencia de la estacionalidad, con aumento de los contajes (para ambos tipos de producción) en verano frente al invierno.

Significación clínica

El CCS dentro de los valores recogidos para la especie y el tipo de producción no hace más que señalar el estado de salud de la mama, pues esta estudiado que el aumento en este parámetro, por encima de sus rangos de referencia, se asocia a agresiones de tipo infeccioso, como mamitis (Toledo-Alonzo, 2003).

2.3.1.2.E. INDICE DE CETOSIS O COCIENTE GRASA/PROTEINA DE LA LECHE (CG/P)

Los disturbios metabólicos asociados a la transición terminan afectando a los componentes físico-químicos de la leche. Por esta razón, además de la determinación de la presencia de cuerpos cetónicos en la orina mediante el empleo de tiras reactivas, ha ido alcanzando más relevancia la

determinación del cociente grasa/proteína en la leche, lo que se llama *índice de cetosis*, como marcador temprano ante situaciones de cetosis subclínicas.

De forma estándar, se establece que las vacas que durante el primer control lechero muestran más de un 4,2 % de grasa en la leche, son sospechosas de cetosis, ya que es probable que necesiten más energía de la que consumen y movilicen los ácidos grasos del organismo.

> Esto implica un mayor porcentaje de grasa en la leche. Por ello en vacas sospechosas de cetosis es interesante monitorizar el contenido en grasa para el diagnóstico de estados subclínicos.

Es importante realizar esta medición ya desde el primer control lechero, pues al contrario de lo que acontece con leches mamíticas, con frecuencia la leche de vacas cetósicas "se cuela" en el tanque con el resto de leche procedente de vacas sanas, y hay evidencias de que la presencia de esta leche alterada puede afectar negativamente a su posterior procesamiento industrial (Hanus *et al*., 2011).

> La leche con un mayor contenido de cuerpos cetónicos ha mostrado tener un sabor más amargo y se quema cuando se le aplica calor.

Hay autores que señalan que el cociente G/P en leche, o *índice de cetosis*, es útil para la monitorización de muestras concretas, no para ser aplicado a colectividades; otros criterios señalan que si en un rebaño, se detecta que más del 40 % del mismo presenta una relación grasa/proteína inferior al 75% en el primer control, se debe sospechar de problemas de cetosis en el posparto. Cejna y Chladek (2006) lo consideran como un índice útil para valorar la eficacia de la ración en un momento tan crítico como es la fase de transición, y aplicable por tanto a colectividades.

> Precisamente, estos autores valoraron la evolución del índice de cetosis en muestras de leche obtenidas de vacas frisonas durante la fase de lactación (días 25, 45, 73, 101, 133, 166, 199, 224, 253 y 280), registrándose por término medio índices de 1.91; 1.45; 1.38; 1.28; 1.22; 1.14; 1.26; 1.21; 1.09; y 1.18, para cada fecha. Los autores registraron los mayores valores en el primer tercio de la fase, lo que sugería la existencia de una deficiencia energética por parte del animal, propio de un BEN.

> Pero otros investigadores, como Oetzel (2007) señalan que hay que ser cautos con la interpretación del CG/P. Las variaciones en este índice no han de ser asociadas únicamente al contenido de grasa, ni tampoco con el de proteína, pues ambos compuestos siguen caminos fisiológicos diferentes. Lo importante es el cociente obtenido, no la valoración aislada del numerador o denominador.

Hanus *et al.* (2011) encontró una estrecha correlación entre los índices de cetosis en leche y la concentración de acetona en la misma, señalándolos como marcadores válidos para el diagnóstico precoz de cetosis subclínicas.

Valores de referencia

Para ganado vacuno de raza Frisona Cejna y Chladek (2006), así como Hanus *et al.* (2011) proponen como aceptable un índice que oscila entre 1.05 y 1.18; para razas mixtas y de doble aptitud, este índice lo amplían desde 1.10 hasta 1.60.

> Para los autores estos valores harían alusión al estado de salud del animal y su capacidad de adaptarse a la nueva situación.

En base al balance energético negativo que caracteriza al primer tercio de la lactación Hanus *et al.* (2011) registran ratios ligeramente superiores (1.21) frente a fases posteriores (1.19).

> Buttchereit *et al.* (2010) ya describió la existencia de una correlación negativa (-0.43) entre el ratio G/P y el BEN para el principio de la lactación (concretamente, los primeros 15 días).

Asímismo, Hanus *et al.* (2011) registran que el índice de cetosis tiende a ser mayor en vacas multíparas que en primíparas, sin registrar variaciones de tipo estacional. Buttchereit *et al.* (2011) aporta una media de cociente G/P de 1.12 para toda la fase de lactación (desde el día 11 hasta el 180).

Significación clínica

A la hora de considerar el significado de los índices de cetosis en leche hay dos posibilidades de interpretación (Oetzel, 2007; Buttchereit *et al.*, 2010; Hanus *et al.*, 2011)

1. Como un *valor individual* que orienta hacia el estado de salud del animal, de manera que índices *por debajo* del valor recomendado sugieren que la ración aporta una escasa cantidad de fibra, favoreciendo el desarrollo de estados de acidosis ruminal. Si los índices están *por encima* del valor de referencia, indican que el animal no tiene la energía adecuada para llevar a cabo la lactación, entrando en un estado de cetosis.

   Oetzel (2007) señala que el CG/P tiende a disminuir en verano y está asociado a un mayor riesgo de padecimiento de acidosis ruminal subclínica, probablemente bajo la influencia del estrés térmico, que consume amortiguadores fisiológicos, como el bicarbonato, así como por los cambios en el patrón alimentario asociado a esta estación, y que básicamente están orientados a minimizar las condiciones estresantes de la temperatura mediante una disminución de aporte de fibra.

2. Pero como *valor de grupo*, la medición del índice de cetosis en el tanque nos da idea de cuál va a ser el comportamiento de la materia prima ante los procesamientos tecnológicos posteriores. Un valor entre 1.1 y 1.2 es lo más apto, desde el punto de vista tecnológico. Por encima o por debajo de estos índices podremos encontrar alteraciones en la calidad y composición del producto final (queso).

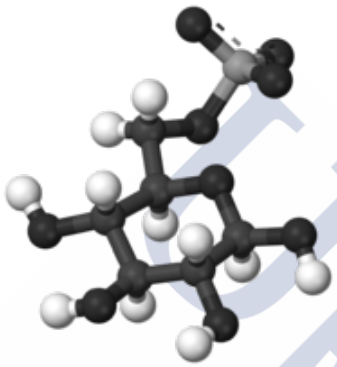
USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2.3.2. PARÁMETROS SÉRICOS

2.3.2.1.METABOLISMO ENERGÉTICO

2.3.2.1.A. GLUCOSA

La glucosa es el primer representante del metabolismo energético. En el organismo animal todos los tejidos requieren de un mínimo de glucosa, pero para otros ésta es imprescindible como el cerebro, eritrocitos y glándula mamaria.



Estructura tridimensional de glucosa

Los primeros antecedentes con relación a la evaluación del metabolismo energético en bovinos hacen referencia a la determinación de la concentración de glucosa en muestras de sangre (Duque *et al.,* 2011)

> En los animales poligástricos, la glucosa es una fuente de energía de forma indirecta, a diferencia de los monogástricos. En el rumen, mediante un proceso de digestión microbiana, se descomponen las moléculas glucídicas en ácidos grasos volátiles (principalmente acetato, butirato y propionato) y gas, siendo los primeros la verdadera fuente energética directa de los rumiantes. La capacidad de los microorganismos ruminales de digerir, parcial o totalmente, todos los compuestos glucídicos, tanto parietales como citoplasmáticos, explican el hecho de que los hidratos de carbono sean la fracción energética predominante en las dietas formuladas para los rumiantes (Duque *et al*., 2011).

En resumen, las funciones metabólicas de la glucosa en rumiantes son la de servir como fuente de energía, pero con poca importancia en el metabolismo general de estos animales, aunque es fundamental para el tejido nervioso y los hematíes. En el metabolismo hepático y muscular, actúa como reserva energética en forma de glucógeno y las necesidades de esta glucosa

almacenada aumentan durante la lactación y al final de la gestación (Bondi, 1988). A pesar de estas diferencias con otros animales, las rutas catabólicas de la glucosa en rumiantes son las mismas que para los restantes animales (Kaneko *et al.*, 2008).

La glicemia es regulada por un complejo y eficiente control endocrino que el organismo mantiene sobre su concentración, lo que permite que se mantenga siempre muy constante, independiente de factores asociados a la dieta. Sin embargo, se pueden encontrar animales hipoglucémicos principalmente en el inicio de la lactación porque los animales pueden no estar aptos para enfrentar el déficit energético que ocurre en este periodo.

Aspectos destacados del metabolismo de la glucosa (Kaneko et al., 2008; Vilariño, 2011)

- La digestión comienza con el contacto inicial de los carbohidratos contenidos en la ración con la secreción salivar. El almidón es escindido entonces en monosacáridos por acción de las enzimas salivares.
- Ya en el rumen, el propionato contribuye en un 70% al total de la glucosa neoformada, convirtiéndose en el precursor más importante. Las fuentes proteicas contribuyen en 30-35% a la síntesis de glucosa. Por otra parte el ácido láctico y el glicerol son una fuente indirecta de glucosa, el primero procede de muchas fermentaciones ruminales (aunque tambien del lactato endógeno de origen muscular), mientras que el segundo es liberado al torrente sanguíneo durante la movilización lipídica (Herdt, 1988). Otros ácidos grasos volátiles como el butirato y acetato también entran en el ciclo de Krebs, pero como acetil-CoA.
- Tras el paso por rumen, los monosacáridos que escapan a la fermentación ruminal son absorbidos a través de la mucosa del

intestino delgado en forma de azúcares libres. La glucosa y galactosa se absorben rápidamente, mientras que la fructosa se absorbe a la mitad de velocidad de la glucosa (incluso en este proceso, parte de la fructosa es transformada en glucosa); otros monosacáridos se absorben más lentamente. En cualquier caso, los azúcares absorbidos van a la circulación portal para ser metabolizados en el hígado.

- El hígado ocupa un papel fundamental en el metabolismo glucídico. De hecho, los hepatocitos son muy permeables a la glucosa, gracias a la presencia de proteínas transportadoras de glucosa a nivel de la membrana plasmática. Una vez en el hepatocito, puede integrarse en varias rutas metabólicas que decidirán su destino. Glucosa, fructosa y galactosa formarán fosfoglucosa, que a su vez podrán ser transformados (y almacenados) en glucógeno, catabolizados a CO_2 y H_2O o bien, como glucosa libre, volver a la circulación general.
- El glucógeno es la principal forma de almacenamiento de carbohidratos (glucogénesis). Está formado únicamente por unidades α-D-glucosa ligadas entre sí. Se localizan fundamentalmente en hígado, seguido del músculo. Se puede transformar rápidamente en glucosa, manteniendo la glucemia en márgenes normales.

  > Ante necesidades glucídicas, el glucógeno almacenado en el hígado es degradado (glucogenolisis) a glucosa, que es conducida al torrente sanguíneo; la degradación del glucógeno muscular genera lactato y piruvato que son transportados al hígado y transformados (sobre todo el lactato) en glucosa (Nelson y Cox, 2000).

- El metabolismo glucídico está regulado de forma endocrina por dos hormonas, la insulina y el glucagón, aunque también intervienen las catecolaminas y los glucocorticoides. Describe Huntington (1997) que el metabolismo de la glucosa está estrechamente ligado al metabolismo de los lípidos y aminoácidos gracias a la acción de las hormonas insulina y glucagón. Así, las concentraciones sanguíneas de glucosa, urea, aminoácidos, NEFA, cuerpos cetónicos y AGV por lo general descienden

en respuesta a elevadas concentraciones de insulina. Estas elevadas concentraciones se vinculan a un descenso en la gluconeogénesis hepática y a una mayor captación de la glucosa por parte de los tejidos periféricos –a excepción de la glándula mamaria- (McGuire *et al.*, 1995). El glucagón contrarresta los efectos de la insulina, aunque se ha observado que las concentraciones de ambas hormonas pueden aumentar o disminuir conjuntamente (Brockman, 1978).

- En rumiantes el papel de la insulina y el glucagón es menos destacado que en las especies que absorben grandes cantidades de glucosa. La insulina reduce la síntesis de glucosa a partir del ácido propiónico y demás precursores de la glucosa, y estimula su utilización por parte de los tejidos periféricos. El glucagón contrarresta los efectos de la insulina y promueve la gluconeogénesis y glucogenolisis hepática. La secreción de insulina o glucagón se estimula en base al nivel de glucemia, aunque hay otros nutrientes, como los aminoácidos o los ácidos grasos, y hormonas que también están involucrados en su secreción. La hormona del crecimiento favorece la gluconeogénesis e inhibe la captación de glucosa por parte de las células sensibles a la insulina.
- Recientes estudios (Hata *et al.*, 2005) muestran que a su vez, la regulación endocrina de la glucemia está condicionada por el tipo de explotación en el que se encuentra éste, registrando en animales de pastoreo mayores niveles de hormona de crecimiento y menores de insulina en comparación con animales de cebo.

  Al favorecerse la lipólisis y síntesis de proteína por acción de la hormona del crecimiento, y disminuir la lipogénesis (inducida por la insulina) el resultado es que estos animales se caracterizan por tener una mayor deposición de proteína y menor de grasa en el músculo (Aoki *et al.*, 1995). Esta peculiaridad posiblemente sea consecuencia de una adaptación endocrina para sacar la máxima rentabilidad energética a las fuentes nutritivas disponibles.

- Asociada al tipo de explotación, la movilidad del animal (o el ejercicio) parece ser que también condiciona los ejes endocrinos que regulan la

glucemia: Bruckmaier y Blum (1992) señalaron que el ejercicio físico genera incrementos en los niveles de hormona del crecimiento y disminuye los de insulina.

Aoki *et al.*, (1996) señalaron que el incremento en las concentraciones de insulina postpandrial era menor si los animales habían estado sometidos a un ejercicio durante un largo periodo, en comparación con aquellos que estaban estabulados. Años más tarde (Aoki *et al.*, 2001) relacionaron este lento incremento postpandrial de la insulina con el consumo de mayores cantidades de forraje por parte de los animales en pastoreo, en comparación con los estabulados.

- Las catecolaminas promueven la glucogenolisis a nivel de los hepatocitos y los miocitos, siendo liberadas en situaciones de estrés y ejercicio muscular aumentando la glucemia. Los glucocorticoides aumentan la glucogenolisis, y promueven la gluconeogénesis. Tienen una función opuesta a la insulina, dificultando la captación de glucosa por parte de los tejidos periféricos

Significación clínica

Huntington (1997) describe la relación positiva entre el estatus energético del animal y la concentración de glucosa. Para realizar una correcta interpretación del mismo es fundamental tener presente que en rumiantes la glucosa informa del perfil energético pero no sirve como indicador del perfil nutricional, ya que muy poca glucosa pasa hacia el intestino. Debido a que los precursores de la glucosa se forman en el hígado, una anormalidad en la concentración de glucosa puede proceder de un fallo hepático y no exclusivamente de una deficiencia en el aporte de energía (Brugère-Puicoux y Brugère, 1987; Payne y Payne, 1987).

No obstante, hay diversos estudios que relacionan la glucemia con el nivel de concentrado en la ración, en el cual, cuando aumenta su cantidad, favorece el escape ruminal de la misma (al aumentar los concentrados aumenta el almidón bypass) facilitando así su absorción intestinal (Rodríguez et *al*, 2004).

En el momento de evaluar la significación de la glucemia, hay que tener en cuenta las condiciones de manejo durante la venopunción, ya que se puede provocar estrés en los animales, con incremento en los niveles de catecolaminas y cortisol circulante y que podría derivar en incremento de los valores (Cunningham y Klein, 2009) de la glucosa sanguínea.

Sin embargo, cada vez son más los investigadores que cuestionan el papel de este metabolito como marcador del balance energético del animal en un momento dado (McNamara *et al.,* 2003; Fall *et al.*, 2008), recomendando recurrir a la determinación de ß-HB como parámetro más fiable.

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

En cuanto a los valores de referencia en régimen ecológico, sólo podemos tomar en consideración aquellos registrados para razas autóctonas, como puede ser la Agrupación de Morenas del Noroeste (Hernández *et al.*, 1997) u otras criadas en similares condiciones a las de nuestro estudio, no pudiendo considerar las vacas productoras de leche en régimen intensivo.

Para ganado vacuno, en términos genéricos, los valores registrados van desde los 40-100 mg/dL recogidos por Latimer *et al.* (2003); los 45-75 mg/dL aportados por Radostits *et al.* (2006); los 57.4±6.8 mg/dl de Kaneko *et al.* (2008) o, más recientemente el rango de 33-66 mg/dL aportados por Bradford-Smith (2010).

Concretando ya en vacas que viven en condiciones similares o iguales a las empleadas en nuestro estudio, los valores de glucemia oscilan entre los 44.06-48.4 mg/dL aportados por Hernández *et al.* (1997) para la agrupación racial Morenas del Noroeste; 49.8±4.4 mg/dL para la raza Rubia Gallega (Hernández *et al.,* 1997) 52.05 mg/dL para vacas mestiza en pastoreo (Razz y Clavero, 2004), 55.7±3.8 (Noro *et al.*, 2006) o 54.8 mg/dL, para vacas frisonas en régimen extensivo (Durango *et al.*, 2010).

Considerando el ganado ecológico ubicado en el Norte de Europa, Fall *et al.* (2008) observa glucemias de 45.04 mg/dL.

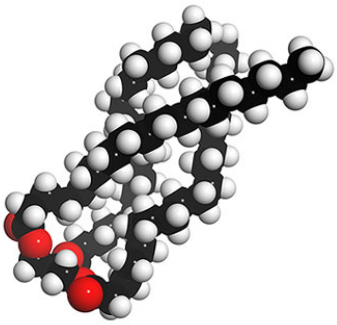
Los valores o rangos anteriormente señalados pueden ser modificados, incrementándose (*hiperglucemia*) o descendiendo (*hipoglucemia*) por diversas causas, tal y como refleja la tabla siguiente (Bradford-Smith, 2010):

Causas de hiperglucemia
Estrés
Excitación
Administración de glucocorticoides

Causas de hipoglucemia
Inapetencia
Insuficiencia hepática
Shock endotóxico
Glucólisis *in vitro*

2.3.2.1.B. ACIDOS GRASOS LIBRES (AGL) O NO ESTERIFICADOS.

Los ácidos grasos no esterificados también llamados ácidos grasos libres o ácidos grasos de cadena larga, son cadenas lineales de doce o más átomos de carbono con un grupo carboxilo (Nelson y Cox, 2000).



Estructura tridimensional de un ácido graso

Los ácidos grasos en general, son ácidos orgánicos monoenoicos que se encuentran presentes en las grasas, raramente libres, y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes. Son

generalmente de cadena lineal y tienen un número par de átomos de carbono (Kaneko *et al*., 2008), debido a que en el metabolismo de los eucariotas, las cadenas de ácido graso se sintetizan y se degradan mediante la adición o eliminación de unidades de acetato.

Aunque, hay ácidos grasos de número impar de átomos de carbono en la leche y en la grasa de los rumiantes, procedentes del metabolismo bacteriano del rumen.

Los ácidos grasos están presentes en todas las células, generalmente en forma esterificada formando triglicéridos y constituyendo, desde un punto de vista cuantitativo, el principal componente de los lípidos. La longitud de la cadena y el grado de saturación de los ácidos grasos que componen el triglicérido determinan sus propiedades físicas y químicas. Los lípidos constituyen la forma más eficaz de acumular energía en el organismo, ya que su estructura carbonada es más reducida que los demás componentes orgánicos (Kaneko *et al*., 2008).

Aspectos destacados del metabolismo de los AGL (Kaneko et al., 2008; Bradford-Smith, 2010)

- Son sintetizados a partir de acetil-CoA en animales y plantas y son degradados por ß-oxidación (Hayes, 2004). La síntesis de ácidos grasos sucede en muchos tejidos, aunque se produce a gran escala en el hígado, tejido adiposo o tejido mamario. Los rumiantes en general tienen menos capacidad para sintetizar ácidos grasos en el hígado. La síntesis tiene lugar en el citosol a partir de acetil-CoA y su precursor, que en el caso de rumiantes es el acetato y en ocasiones el propionato (Kaneko *et al*., 2008).

  El acetil-CoA es la fuente directa de todos los átomos de carbono necesarios para la síntesis, obteniéndose los ácidos grasos mediante la adición secuencial de unidades bicarbonadas a los extremos carboxilo activados de la cadena. La regulación de la

síntesis de AGL la realiza por una parte el glucagón, que la disminuye, y por otra la insulina, que la promueve.

- El transporte de ácidos grasos se realiza a través de sistemas que permitan su disolución en el plasma, debido a que no son hidrosolubles, aunque un pequeño porcentaje puede circular libre. Para ello se unen a la albúmina de forma reversible. En condiciones normales una molécula de albúmina se combina con tres de ácidos grasos, pero cuando se precisa incrementar el transporte de grasas, pueden ser hasta 30 las moléculas de ácidos grasos unidas a una sola molécula de albúmina (Guyton, 2001; Kaneko *et al.*, 2008).
- Los AGL que se encuentran libres en sangre pueden ser utilizados directamente como fuente de energía por muchos tejidos, siendo la principal ruta catabólica la ß-oxidación, aunque una gran parte de los ácidos grasos son tomados por el hígado y tras su catabolización son utilizados para producir cuerpos cetónicos, sobre todo en situaciones de hipoglucemia.
- En el hígado aquellos ácidos grasos que no son oxidados pueden sufrir una esterificación, ya que las altas concentraciones de ácidos grasos son tóxicas para los tejidos, formándose triglicéridos (Herdt, 1988; Cunningham y Klein, 2009).
- Por otra parte, la hidrólisis de triglicéridos, que produce una liberación de ácidos grasos, acontece en base a dos estímulos:
    - Cuando disminuye la disponibilidad de glucosa por parte de la célula, el equilibrio entre la síntesis e hidrólisis de triglicéridos se desplaza hacia la hidrólisis, generando glicerol.
    - En estados postabsortivos se estimula la lipasa por mediación de las hormonas presentes (Guyton, 2001; Cunningham y Klein, 2009)

Significación clínica

Para Margolles (1983) los AGL son la expresión periférica de la movilización de las reservas energéticas, mientras que para Fox *et al.* (1991), Yambayamba *et al.* (1996) y Lapierre *et al.* (2000) son un indicador indirecto de la ingesta de comida por parte de los animales estabulados. Para otros autores, los AGL en rumiantes son un parámetro con gran utilidad para proporcionar información acerca del estado metabólico del animal en situaciones de desequilibrios en el metabolismo lipídico o hidrocarbonado.

Los ácidos grasos proceden de la alimentación o de la movilización del tejido adiposo, pero en rumiantes la dieta tiene poca cantidad de lípidos por lo que la mayoría de estos ácidos grasos proceden del tejido adiposo. Hay dos estímulos en base a los cuales se produce la hidrólisis de triglicéridos, y por tanto la liberación de ácidos grasos, por una parte cuando disminuye la disponibilidad de glucosa por parte de la célula, el equilibrio se desplaza hacia la hidrólisis de triglicéridos, más que hacia su síntesis, generando glicerol, y por otra parte mediante la estimulación de la lipasa, que cataliza esta reacción, sensible a las hormonas en el estado postabsortivo (Guyton, 2001; Cunningham y Klein, 2009).

> Sin embargo, y siempre dentro del contexto de ganadería ecológica, los valores de AGL han de ser contemplados con otra perspectiva, y no ya como un mero indicador del balance energético o de la movilización grasa (Fall *et al.*, 2008). Precisamente, años antes Adewuyi *et al.* (2006) observó que las concentraciones de AGL guardan relación inversa con la actividad física, de manera que a menor movimiento, más elevados los valores de AGL. Este aspecto ha de ser tenido en cuenta en animales bajo un régimen ecológico donde los desplazamientos son habituales, al contrario de los animales siempre estabulados.

Los valores de AGL, al igual que los de glucosa están sujetos a modificaciones derivados del estrés, con aumento de sus valores (Maianti *et al.*, 1990; Grandin, 1997; Uetake *et al.*, 2006; Fall *et al.,* 2008; Leroy *et al.*, 2009) y potencialmente, por la ingesta y los ritmos circadianos (Sutton *et al.*, 1988; Bitman, 1990)

Dentro de este apartado hemos de tener en cuenta que los valores sanguíneos de AGL alcanzan su valor más bajo aproximadamente 4 o 5 horas después de la ingesta, mientras que el valor más alto lo alcanza justo antes de la siguiente comida (Oetzel, 2003). Por lo tanto, el momento de extracción de la muestra puede considerarse un factor muy importante a la hora de evaluar clínicamente los niveles de ácidos grasos libres de cada animal.

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

Los valores medios de AGL para vacas en condiciones de manejo extensivo y/o ecológico oscilan entre los 0.72 mmol/L para las vacas de la agrupación racial Morenas del Noroeste (Hernández *et al.*, 1997); y 0.76 para la raza Rubia Gallega (Hernández *et al.*, 1997).

Para animales en régimen ecológico, Fall *et al.* (2008) describen unos valores que oscilan entre los 0.6 mmol/L al principio de la lactación, estabilizándose pasados 10 días y manteniendo valores que oscilan entre 0.2 y 0.3 mmol/L.

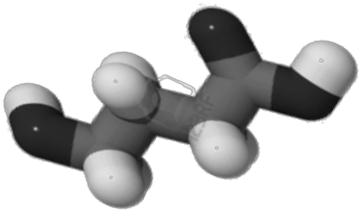
Para los autores, el incremento anteriormente mencionado está asociado básicamente a los cambios hormonales y el estrés asociado al final de la preñez y la reducción de la ingesta; tal y como señalan estudios previos (McNamara *et al.*, 2003).

Blanco-Penedo *et al.* (2012) describe para ganado, también en régimen ecológico, rangos que oscilan entre 0.20±0.025 y 0.34±0.010 mmol/L.

2.3.2.1.C. B-HIDROXIBUTIRATO (BHB)

Se trata de un ácido graso, incluido dentro de los conocidos como cuerpos cetónicos (en realidad, el BHB es el precursor de la acetona y el acetoacetato y constituye más de la mitad del total de cuerpos cetónicos, Kaneko *et al.*, 2008).

Estructura tridimensional del ácido butírico



El BHB se halla en plasma ionizado, y es un ácido más potente que los ácidos grasos volátiles acético, propiónico y butírico (el pKa del BHB es de 4.41 mientras que los AGV tienen un pKa que oscila entre 4.76 y 4.87). Aún así, el BHB es un ácido menos potente que el láctico (con un pKa de 3.86).

> De los tres cuerpos cetónicos, sólo el BHB puede presentar esteroisómeros, con formas L (+) y D (-). Sólo la forma D (-) se produce en estado libre durante el metabolismo intermediario. La forma L (+) existe sólo en forma de tioéster-CoA y es destruida por procesos de ß-oxidación.

Al igual que la acetona, el BHB y sus sales son compuestos relativamente estables

Aspectos destacados del metabolismo de BHB (Kaneko et al., 2008; Cunningham y Klein, 2009; Fransdon et al., 2009)

- Las cetonas son productos derivados del metabolismo intermediario. El substrato lo constituyen los ácidos grasos, tanto los de cadena corta (1 a 4 carbonos), como media (5 a 11 carbonos) o larga (más de 11 carbonos). No obstante, cualquier compuesto que pueda ser transformado metabólicamente en ácido graso (glucosa, lactato, glicerol, aminoácidos, etc) puede ser también fuente de cuerpos cetónicos.

  > La fuente predominante de cuerpos cetónicos en animales sanos lo constituyen los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) liberados durante la lipólisis en el tejido adiposo. Cuando los niveles de insulina aumentan y descienden los de glucagón, los niveles de AMPc aumentan en el tejido graso, con lo cual disminuye la lipólisis y por tanto los cuerpos cetónicos. El hígado tiene una elevada capacidad para extraer AGCL del plasma; una vez desligados de la albúmina difunden a través de la membrana del hepatocito

y se ligan a una proteína específica en el citosol. Aquí, los AGCL son transformados a AGCL-CoA, que mediante un proceso de ß-oxidación, pueden transformarse en acetil-CoA en la mitocondria, que podrá transformarse, en determinadas condiciones en cetonas, en un proceso conocido como *cetogénesis*.

- Pero los cuerpos cetónicos también pueden ser sintetizados a partir de ácidos grasos volátiles (AGV: acético, propiónico y butírico) así como de ácidos grasos de cadena media, siendo los primeros los más estudiados en rumiantes.

  En este sentido, el propionato es el principal precursor glucogénico y no de cuerpos cetónicos; de hecho, el propionato inhibe la cetogénesis en el hígado de los rumiantes (Faulkner and Pollock, 1991, citado por Kaneko *et al*., 2008) por mecanismos enzimáticos complejos.

- En el rumen, el butirato es transformado en 3-hidroxibutirato en el epitelio ruminal.

  Esta producción ruminal de 3-hidroxibutirato es la principal razón por la que las especies rumiantes presentan mayores concentraciones que las monogástricas.

- El 3-hidroxibutirato restante pasa a la circulación portal, llegando al hígado para su metabolización en acetoacetato (mediante oxidación) o AGCL (mediante reducción).

  La excreción tanto del acetato como del 3-hidroxibutirato tiene lugar a través del riñón, ya que son libremente filtrados por el glomérulo.

- La cetogénesis podrá verse estimulada en determinadas condiciones mediadas por ejes endocrinos, en los que está involucrada la insulina o el cortisol.

Significación clínica

La concentración de BHB se encuentra relacionada directamente con la tasa de movilización de reservas lipídicas en momentos de déficit energético, y es

el indicador más usado para determinar dicho balance (Wittwer, 2000). Altas concentraciones de BHB están directamente relacionadas con tasas elevadas de movilización de reservas grasas (Vargas, 2005).

Para Kaneko *et al.* (2008), los cuerpos cetónicos son una forma alternativa de lípidos, comparables a los triglicéridos, AGCL o AGV, y que participan en la generación de energía en el organismo.

> La diferencia entre los cuerpos cetónicos y los AGV es que siendo ambas formas lipídicas hidrosolubles, sólo los primeros se pueden generar en los tejidos (Vilariño, 2011).

De esta manera, los niveles de BHB en sangre han de ser considerados como una vía por la cual el hígado exporta H^+ con poder reductor hacia los tejidos periféricos para su combustión y generación de energía.

Como ya se señaló, el hidroxibutirato es un ácido más potente que los AGV; por tanto la presencia de concentraciones de BHB por encima del rango fisiológico para la especie, aparte de señalar una demanda de energía mayor de lo normal por parte de los tejidos periféricos, tendrá como consecuencia inherente un estado de acidosis metabólica conocida como *cetoacidosis*.

> Valores de BHB por encima del rango de 1.2 mmol/L se han propuesto como marcadores de cetosis clínica (LeBlanc *et al*., 2005).

No hemos de olvidar que condiciones de manejo estresantes pueden incrementar los valores de BHB de forma puntual (Kaneko *et al*., 2008; Cunningham y Klein, 2009).

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

Los valores medios de BHB para el ganado bovino en general, son muy variables. Mientras que Kerr (2002) señala que lo normal es que los valores de BHB no superen 1 mmol/L; otros autores ofrecen rangos o valores más concretos, como es el caso de Radostits *et al.* (2006) quienes señalan un

rango que va entre los 0.35 y 0.47 mmol/L; o Kaneko *et al*., (2008) quienes ofrecen un valor medio de 0.41±0.03 mmol/L.

Para ganado vacuno lechero, en régimen de explotación similar a la de nuestro estudio, Vargas (2005) señala rangos que oscilan entre 0.59-0.86 mmol/L. Wang *et al.* (2009) encuentra por su parte un valor medio de 0.824 mmol/L. Duque *et al*. (2011) describe variaciones en los valores en el periparto, siendo inferiores a 0.5 mmol/L en preparto y menores de 1 mmol/L en lactación.

A mayores, Vargas (2005) refleja para ganado vacuno lechero variaciones en los valores de BHB en función del tipo de ración recibida; de tal manera que si los animales eran alimentados con una ración rica en carbohidratos procedente de cebada mostraban valores inferiores (0.59±0.07 mmol/L) en comparación con una dieta fibrosa (0.82±0.09 mmol/L).

> Para los autores este hecho se explica por el tipo de carbohidratos que participan en la fermentación ruminal, en especial el almidón de cebada, aumentando la proporción molar de propionato en el rumen en perjuicio de butirato y acetoacetato provocando por ende una menor concentración plasmática de BHB por menor disponibilidad y menor absorción de butirato desde el rumen (Aguilera, 2003, Bargo *et al.*, 2003).

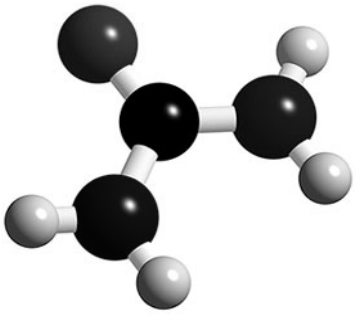
Los autores también señalan que el mejor aporte energético, o la mayor utilización de la energía por parte de las vacas suplementadas con concentrado amiláceo, favorecen el balance energético en comparación con el grupo con dieta fibrosa, razón por lo que disminuiría la movilización de reservas corporales (lipólisis) comparativamente y con ello también disminuiría la fuente de formación de butirato.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2.3.2.2. *METABOLISMO PROTEICO*

2.3.2.2.A. UREA

La urea es un metabolito nitrogenado formado en el hígado como resultado del catabolismo proteico (Kerr, 2002; Kaneko *et al*., 2008).



Estructura tridimensional de urea

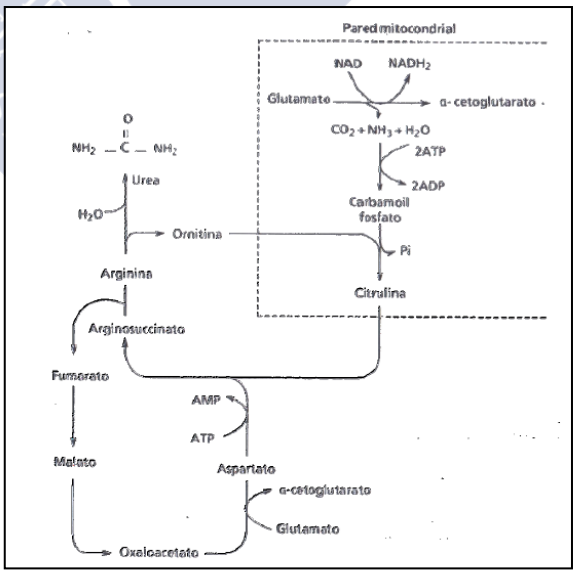
La relación entre la urea sanguínea, amonio y la proteína de la dieta depende de cuatro factores básicos: disponibilidad de nitrógeno no proteico y proteico en la dieta para la degradación microbiana, disponibilidad de energía para la síntesis proteica microbiana, cantidad de aminoácidos absorbidos del intestino en relación a los requerimientos corporales y del pH del rumen (Molina, 2000)

Se ha comprobado en rumiantes que con dietas pobres en proteína su concentración esta disminuida y con dietas ricas en nitrógeno proteico o urea su concentración aumenta, por lo tanto, la concentración de urea sanguínea es un indicador sensible de la ingesta de proteínas (Wittwer *et al*., 1987).

El término nitrógeno ureico en sangre está arraigado en la bibliografía veterinaria a pesar de que la determinación de nitrógeno ureico suele realizarse en muestras de suero o plasma. Ello tiene poca importancia ya que la diferencia real entre las concentraciones de urea en sangre o en suero es más bien pequeña (Bradford-Smith, 2010)

Aspectos destacados del metabolismo de la urea (Kaneko et al., 2008; Bradford-Smith, 2010; Vilariño 2011)

- La urea es un compuesto final de desecho procedente del metabolismo de las proteínas, su síntesis tiene lugar en los hepatocitos, mediante el ciclo de la urea, consiguiéndose así incorporar el ión amonio en moléculas y poder excretar los excesos producidos en el aparato digestivo o en los tejidos (Stockham y Scott, 2002), constituyendo un sistema de excreción de amoníaco.
- Durante los procesos digestivos, las proteínas se escinden en aminoácidos; las bacterias intestinales pueden degradarlos a su vez liberando amonio (NH_4); ambos (aminoácidos y amonio) serán absorbidos y transportados hacia el hígado (en un 75%) vía portal. A partir de aquí se sintetizarán proteínas; aquellos aminoácidos que no se utilicen para este fin tendrán una desaminación por acción de enzimas. De esta manera, se transfieren los grupos amino de aquellos aminoácidos no utilizados (o en exceso) formando urea que a su vez será excretada. Es el ciclo de la urea (Kerr, 2002).



Se toma como ejemplo el ácido glutámico como donador de amonio. Dentro de la mitocondria el glutamato cede por descarboxilación oxidativa un grupo amonio dando lugar a alfacetoglutarato, el amonio con un grupo carbonato forma el carbamilfosfato que se condensa con la ornitina para formar citrulina, ésta pasa al citosol de la célula donde se condensa con el aspartato dando lugar a arginosuccinato. El segundo amonio de la urea procede de otra molécula de glutamato presente en el citosol que por transaminación

cede el grupo amino al oxalacetato dando el aspartato. Desde el argino succinato se forma la arginina y se libera un fumarato que da lugar a malato y éste a su vez al oxalacetato. La arginina da lugar a la ornitina y en este paso se desprende una molécula de urea (Sanz Parejo, 1990).

- La urea sintetizada en hígado es transportada a la circulación general hacia el riñón donde será eliminada con la orina (Kerr, 2002; Gregory, 2003). Otras rutas de eliminación como la formación de ácido úrico o ácidos nucleicos revisten menor relevancia en mamíferos. Gregory (2003) indica que las vías alternativas de excreción aumentan su actividad cuando los niveles de urea en sangre son elevados.

  La cantidad que excretan los rumiantes ha demostrado estar correlacionada positivamente con la digestibilidad de la proteína ingerida (Church, 1993; Huntington *et al.*, 2001).

- Pero en rumiantes la urea puede retornar a la panza para su reutilización, ya sea por difusión directa a través de la pared del órgano y en concentración decreciente, o vía indirecta a través de la saliva. Esta recirculación de la urea, que tiene lugar en los rumiantes, se conoce también como *ciclo de la urea*, pero que se debe diferenciar del que tiene lugar en los hepatocitos.

  En el rumen, la urea sufre la acción de las ureasas microbianas, que la hidrolizan y la utilizan para formar proteínas microbianas. Dichas enzimas degradan aproximadamente el 25% de la urea para obtener amonio y CO_2. La actividad de las ureasas se inhibe cuando existe una excesiva concentración de amoníaco, que se libera en la digestión proteica del rumen (Miettinen y Juvonen, 1990).

  Una parte del ión amonio liberado no es reutilizado por los microorganismos para la síntesis de proteína, y es absorbido por la mucosa ruminal; la mayor parte se dirige al hígado para ser transformado en urea, aunque una pequeña parte se transforma directamente en la pared ruminal (Miettinen y Juvonen, 1990; Church, 1993). La absorción del amoníaco procedente de la hidrólisis ruminal de la urea dietética puede exceder la capacidad del hígado para metabolizarlo. Chalmers *et al.* (1971) y Bartley *et al.* (1981) (citados por

Huntington *et al.,* 2006) señalan que el amoníaco puede pasar directamente a la circulación general y no sufrir la metabolización hepática.

Huntington *et al.* (2006) también afirmaron que es posible el paso de la urea directamente desde el rumen al torrente circulatorio, cuando las concentraciones ruminales son lo suficientemente elevadas como para mantener un gradiente de concentración positivo.

- La urea en sangre también alcanza el intestino por difusión, dónde se transforma en proteína bacteriana y es eliminada con las heces. La urea reciclada hacia el intestino grueso activa la fermentación bacteriana de los elementos nutritivos que han escapado a los procesos digestivos del intestino delgado.

  Un 70 % del nitrógeno ureico que llega al intestino puede estar disponible para su aprovechamiento en procesos anabólicos como componente de productos secundarios microbianos, que son absorbidos posteriormente o bien, eliminados en las heces, según Archibeque *et al.* (2001).

Significación clínica

La urea constituye un índice de funcionalidad renal (Stockham y Scott, 2002; Kaneko *et al*., 2008;), aunque hay diferentes autores que matizan esta afirmación, así Radostits *et al*. (2006) consideran a la urea un parámetro que sirve para estimar la filtración glomerular, ya que su concentración en sangre no se incrementa considerablemente por encima del rango normal hasta que un 60-75% de las nefronas están dañadas. Para Bradford-Smith-Smith (2010) la urea se ve más afectada por factores dietéticos que la creatinina, por lo que esta última es un mejor índice de disfunción renal

Por otra parte, Kaneko *et al*. (2008) señalan que en el caso de los rumiantes, la flora ruminal metaboliza un porcentaje importante de la urea, de tal forma que los valores de uremia no se elevan en situaciones de fallo renal, e

incluso anorexia, pudiendo existir niveles mayores en lesiones prerrenales que en fallos renales, debido a dicha metabolización ruminal.

Otra indicación analítica relevante, que posee la urea en sangre es como señalamos anteriormente, la de valorar el estado de nutrición proteica de los animales (Vilariño, 2011), pero para poder usar la uremia con este fin, se debe considerar el momento del día en que se realiza la medición, debido a que las variaciones están sometidas a un ritmo circadiano (Bitman *et al.*, 1990), siendo más indicativa la medición realizada por la mañana que la hecha por la noche, debido al mayor espacio de tiempo que transcurre entre la comida nocturna y la de la mañana (Miettinen y Juvonen, 1990).

> Estudios previos sugieren que niveles de urea en sangre superiores a 8 mg/dL son índice de una ingesta excesiva de N con la ración (Cole *et al.*, 2003). Russell y Roussel (2007) consideran los niveles de BUN como un índice del exceso de proteína degradable aportado con la ración.
>
> Por otro lado, Blanco Penedo (2008) describe la existencia de una correlación positiva y significativa entre los niveles de proteínas y de urea con la cantidad de concentrado de la ración.

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

Para ganado vacuno, en general, las concentraciones de urea en sangre van desde el rango de 10-25 mg/dL aportado por Latimer *et al.* (2003); el rango de 6.0-27 aportado por Radostits *et al.* (2008); de 20 a 30 mg/dL señalado por Kaneko *et al.* (2008) o, más recientemente, el rango de 8 a 23 mg/dL destacado por Bradford-Smith (2010).

Centrándonos en ganado vacuno lechero sometido a condiciones de régimen ecológico/sostenible o extensivo, observamos que esta variabilidad también se repite. Así, Hernández *et al.* (1997) señala para la agrupación racial Morenas del Noroeste un valor medio de 20.34±6.54 mg/dL y de 27.30±5.02 mg/dL para la raza Rubia Gallega.

Las concentraciones de urea en sangre pueden sufrir diversas variaciones que quedan reflejadas en el cuadro siguiente (Bradford-Smith, 2010):

Causas de aumento de urea sérica
Azotemia prerrenal, renal y posrenal
Descenso perfusión renal
Rotura de vejiga
Hemorragia gastrointestinal
Intoxicación por metales pesados
Hemólisis intravascular con hemoglobinuria
Aumento en la cantidad de proteína en la ración

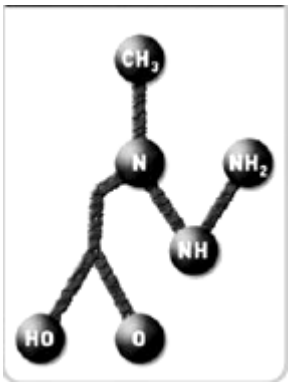
Causas de descenso de urea sérica
Insuficiencia hepática
Dieta baja en proteínas
Administración de esteroides anabolizantes

Los valores de urea en sangre pueden variar en función de la concentración proteica de la dieta administrada así como de su degradabilidad en rumen (Khan *et al.*, 2007; Kaneko *et al.*, 2008)

> El aumento de la proteína bruta en la ración provoca un aumento de las concentraciones de nitrógeno ureico sanguíneo. Gleghorn *et al.* (2004) indican que tiene más influencia la cantidad de proteína administrada en la ración que, incluso, la fuente de la misma.

2.3.2.2.B. CREATININA

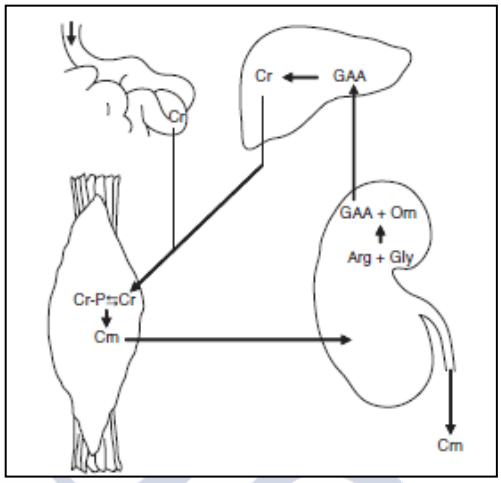
Se trata de un compuesto nitrogenado no proteico presente de forma fisiológica en la sangre de los animales; es el ácido metilguanidinacético y se encuentra principalmente en el músculo esquelético, sobre todo en forma de fosfato de alta energía (Kaneko *et al*., 2008).



Fórmula química de creatinina

Aspectos destacados de su metabolismo (Vilariño, 2011)

- El origen de esta molécula es principalmente endógeno. Es sintetizado a partir de los aminoácidos glicina, arginina y metionina, y el final de este proceso tiene lugar en el hígado, tal y como se muestra en la siguiente figura:



Representación esquemática del metabolismo de creatinina y en el que destacan los siguientes pasos: 1) transaminación de arginina y glicina en el riñón para formar ácido guanidoacético; 2) metilación de éste en el hígado formando creatina; 3) distribución de la creatina hacia las células musculares donde será reversiblemente fosforilada hacia creatin-fosfato por la acción de la enzima creatin-kinasa. La creatinina será el resultado de la deshidratación espontánea, irreversible y no enzimática de la creatina así como de la defosforilación de la creatín-fosfato (Tomado de Kaneko *et al*., 2008)

- La creatinina circula libremente en plasma y su distribución es a través del agua corporal, aunque difunde con mayor lentitud que la urea. Se necesitan aproximadamente unas cuatro horas para que la concentración de creatinina alcance el equilibrio, mientras que la urea lo logra en una hora y media (Latimer *et al.*, 2003).
- La excreción de creatinina puede tener lugar mediante dos vías, la renal y la gastrointestinal (Latimer *et al.*, 2003). Una vez filtrada a nivel glomerular ya no se produce una reabsorción tubular posterior. En todas las especies la creatinina es filtrada libremente a través del glomérulo y aparece en el filtrado glomerular en la misma concentración que en plasma. La excreción por vía digestiva, se produce tras ser degradada por

los microorganismos entéricos, aunque puede existir un pequeño reciclaje.

Esta última vía posee menos importancia que la renal en ganado vacuno.

- La regulación del metabolismo de la creatinina, y por lo tanto sus valores están condicionados por la aptitud del animal (carne o leche) y por la deposición de proteína en el músculo (Istasse *et al*., 1990; Hornick *et al*., 1998), en este sentido Istasse *et al*. (1990) hallaron mayores niveles de creatinina en animales de aptitud cárnica que en aquellos de aptitud lechera, y de acuerdo al mayor desarrollo muscular que alcanzan los primeros. Este hecho fue confirmado año más tarde por Kerr (2002), quien establece que las especies con los mayores rangos de referencia son aquellas que presentan una mayor proporción de músculo en relación a la masa corporal.

Significación clínica

La creatinina se emplea como indicador de la funcionalidad renal en mamíferos, ya que cuando se produce una disminución en el grado de filtración glomerular se alteran sus valores, aunque hay autores que los consideran poco sensible, debido a que pueden estar dañadas un 75% de las nefronas antes de encontrar rangos anormales de creatinina.

Sin embargo, en ganado vacuno los índices de creatinina son un parámetro mucho más fiable que la urea, ya que no sufre ningún proceso de metabolización ruminal. La existencia de un fallo renal se reflejará en la elevación de los niveles de creatinina, mientras que los niveles de urea permanecerán normales hasta fases avanzadas del fallo renal (Latimer *et al*., 2003; Kaneko *et al*., 2008).

La producción de creatinina se puede ver afectada por factores que influyen en la masa muscular, como enfermedades del músculo, incremento del catabolismo proteico o el ejercicio físico que afectan en primer lugar a la cantidad de creatina y consecuentemente a la creatinina (Kaneko *et al*., 2008).

Otras causas, menos frecuentes están asociadas a falsas azotemias, carcinomas de vejiga, así como intoxicación o envenenamiento por metales pesados (Bradford-Smith, 2010).

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

Los valores de creatinina para ganado vacuno, en términos generales, han sido recogidos por diferentes investigadores: Latimer *et al.* (2003) señala para esta especie un rango que va desde 0.5 hasta 2.2 mg/dL; Radostits *et al.* (2006) así como Kaneko *et al.* (2008), un rango que va desde 1.0 hasta 2.0 mg/dL; ya más recientemente Bradford-Smith destaca como rangos fisiológicos para el ganado vacuno aquellos establecidos entre 0.9 y 1.3 mg/dL.

Centrándonos en los animales de nuestro estudio, las concentraciones de este metabolito en suero oscilan entre 1.28±0.6 mg/dL y 1.41±0.4 mg/dL aportados por Hernández *et al.* (1997) para la agrupación racial Morenas del Noroeste; mientras que para la raza Rubia Gallega señala concentraciones de 1.5±0.3 mg/dL.

2.3.2.2.C. PROTEÍNAS TOTALES SÉRICAS

Las proteínas son polímeros de aminoácidos, en concreto se definen como cadenas polipeptídicas. Se entiende por péptido aquella estructura formada por un pequeño número de aminoácidos, cuando éstos son menos de 10 se habla de oligopéptido, si son más de 10 se llama polipéptido, y cuando superan los 50 aminoácidos se trata de una proteína. En algunos casos, las proteínas también poseen otros compuestos químicos como lípidos, hidratos de carbono o ácidos nucleicos (Stockham y Scott, 2002).

Constituyen un 75% de los sólidos de un organismo, y se dividen en diferentes grupos como por ejemplo, proteínas estructurales, enzimas,

nucleoproteínas, proteínas transportadoras de oxígeno, proteínas responsables de la contracción muscular, etc. (Guyton, 2001).

Las proteínas desempeñan una función fundamental en numerosos procesos fisiológicos. No sólo son básicas para la integridad estructural de la mayoría de los tejidos corporales, sino que como hormonas y enzimas, también regulan muchas de las reacciones bioquímicas del organismo. La hemostasia, la resistencia a las infecciones y el equilibrio ácido-básico dependen del metabolismo proteico. Las proteínas plasmáticas actúan asimismo como portadores de otros componentes del plasma, y la albúmina proporciona la presión oncótica que ayuda a mantener un adecuado volumen intravascular y a prevenir el edema. Debido al papel destacado que desempeñan las proteínas en la homeostasis corporal y a la estrecha relación entre proteínas plasmáticas y tisulares, la medida de las proteínas y de sus fracciones –albúmina, globulinas y fibrinógeno- aportan una gran cantidad de información sobre la respuesta del organismo ante la enfermedad (Kaneko *et al*., 2008; Cunningham y Klein, 2009; Bradford-Smith, 2010).

> Eckersall (citado por Kaneko *et al*., 2008) señala que las proteínas son el componente más abundante del plasma: de 6 a 7 g/dL corresponden a proteínas, en comparación con los 0.1 g/dL de la glucosa o los 0.35 g/dL del sodio.

Aspectos destacados de su metabolismo (Kaneko et al., 2008; Bradford-Smith, 2010; Vilariño, 2011).

- Aparte de las inmunoglobulinas, sintetizadas por los linfocitos B, la mayor parte de las proteínas plasmáticas se sintetizan y secretan desde los hepatocitos.

  > Las inmunoglobulinas son producidas por los linfocitos del bazo, nódulos linfáticos y médula ósea, en respuesta a un estímulo antigénico en la circulación o los tejidos.

- El empleo de técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha permitido conocer que existen otros tejidos que

tienen capacidad para sintetizar también proteínas plasmáticas. Así, tejidos tales como el intestinal, pulmonar y adiposo pueden incrementar los niveles sanguíneos de determinadas proteínas como haptoglobina, en determinadas condiciones de inflamación o infección (Eckersall, citado por Kaneko *et al.*, 2008). La proporción de tales proteínas todavía no ha sido determinada. Otro lugar extrahepático de síntesis de proteína es la glándula mamaria; en este caso la proteína sintetizada (por ejemplo en casos de mamitis) es secretada con la leche (Eckersall *et al.*, 2001; Jacobsen *et al.* , 2005)

- La excreción por orina de proteínas es muy limitada, la presencia de una pequeña cantidad puede ser considerada fisiológica, ya que puede ser debida a la filtración a través de los capilares glomerulares, la excreción en los túbulos proximales o a la adición de las mismas al filtrado al pasar por los diferentes tramos del aparato urogenital. En condiciones normales los péptidos y proteínas de bajo peso molecular pasan a través del filtrado glomerular, pero en el túbulo proximal se reabsorben por endocitosis y, tras degradarse a aminoácidos, regresan a la sangre (Cunningham y Klein, 2009).
- Las hormonas tienen efectos anabólicos o catabólicos sobre las proteínas séricas. Así, la testosterona, los estrógenos y la hormona del crecimiento tienen por lo general un efecto anabólico. Por otro lado, la tiroxina tiende a disminuir los niveles de proteínas séricas, dado su efecto catabólico.

Significación clínica

Las proteínas séricas tienen una gran importancia en el metabolismo general, debido a su estrecha relación con el hígado y sus interacciones con las proteínas de otros tejidos. Para Bradford-Smith (2010) son un indicador de la filtración entre los espacios intra y extravascular, de los

requerimientos metabólicos, del equilibrio hormonal, hídrico e incluso del estado nutricional.

> Numerosos autores (Church, 1993; Scott *et al.*, 1994; Kerr, 2000) ya señalaron que los niveles de proteína sérica son un buen indicador de la ingesta dietética de proteína.

La cuantificación es diferente según se realice en suero o en plasma, debido a que el fibrinógeno y algunas proteínas de la coagulación están ausentes en el suero pero se encuentran en el plasma (Stockham y Scott, 2002). Esto supone una variación de aproximadamente el 5% de las proteínas totales al retener el coágulo entre 1 y 4 g/L de las mismas (Bush, 1991).

La valoración de la proteinemia ha de ser también considerada en el contexto de otros parámetros hematológicos, como es el hematocrito, ya que incrementos de la misma, asociados a hemoconcentración será propio de deshidratación, más que de aumento de la síntesis, y viceversa (Stockham y Scott, 2002).

Bradford-Smith (2010) señala que la concentración de las proteínas plasmáticas totales y de sus fracciones varía entre especies. Cuando se sospecha de *disproteinemia* ha de obtenerse la concentración de proteínas totales plasmáticas (o séricas), la relación albúmina/globulina y la concentración de fibrinógeno.

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

En términos generales varios autores han aportado valores o rangos de referencia fisiológicos para el ganado vacuno. Así, Latimer *et al*. (2003) nos señala un rango entre 6.7 y 7.5 g/dL; Radostits *et al*. (2006) aporta otro establecido entre 5.7 y 8.1 g/dL; Kaneko *et al*. (2008) señala un valor medio en torno a 7.1±0.2 g/dL. Finalmente, Bradford-Smith (2010) para ganado bovino registra valores medios que van desde los 6.74 hasta los 7.46 g/dL.

Para ganado vacuno lechero en régimen similares a las de ecológico, recurrimos a los valores aportados por Hernández *et al.* (1997) para la agrupación racial Morenas del Noroeste (7.2±0.8 g/dL) o los 7.2±0.4 g/dL recogidos para la raza Rubia Gallega. Para la raza Pardo-Alpina Prieto Montaña (1975) ya aportaba un valor medio de proteínas totales de 7.22 g/dL. En la fase de transición estos valores disminuían pasando a ser de 6.9 g/dL en los momentos próximos al parto y de 7.1 g/dL una vez transcurrido éste.

Las variaciones que nos podemos encontrar en sus concentraciones pueden ser al alza (*hiperproteinemia*), derivado bien sea de un aumento en la concentración de proteínas plasmáticas (*panhiperproteinemia*) o de un incremento absoluto de las globulinas (*hiperglobulinemia*). El descenso en los valores de proteínas totales (hipoproteinemia) puede ser debido a un descenso del total de proteínas (*panhipoproteinemia*) o bien al descenso en el valor de albúmina (*hipoalbuminemia*). Tal y como se refleja en el siguiente cuadro (Bradford-Smith, 2010):

Panhiperproteinemia-deshidratación

Causas frecuentes
- Acidosis ruminal
- Torsión de abomaso
- Sepsis, toxemia (metritis, mamitis)
- Indigestión vagal
- Toxicidad por sal
- Toxinas
- Diarrea no diferenciada

Causas menos recuentes
- Amiloidosis renal
- Toxemia gestacional
- Rabia

Hiperglobulinemia

Causas frecuentes
- Absceso abdominal
- Neumonía
- Linfosarcoma
- Otros abscesos

Causas menos frecuentes

Parasitismo
Gestación

O mismo en el expuesto a continuación:

Hipoalbuminemia
Causas frecuentes
Malnutrición proteica, inanición
Amiloidosis
Pielonefritis
Glomerulonefritis
Salmonelosis
Infección por *trichostrongylus*
Causas menos recuentes
Insuficiencia hepática crónica
Linfagiectasis intestinal
Linfosarcoma intestinal

Panhipoproteinemia
Causas frecuentes
Fluidoterapia o ingestión de agua excesiva
Pérdida aguda de sangre
Ulcera abomasal
Parasitosis interna
Ulceración gastrointestinal
Causas menos recuentes
Ingestión de cáusticos
Infarto intestinal
Insuficiencia cardíaca congestiva
Pielonefritis
Hematuria

Albúmina

La albúmina representa el 30-35% de la concentración total de las proteínas presentes en el organismo. Se sintetiza en el hígado y es regulada por la interleucina-1 (IL-1) y otras citoquinas.

Latimer *et al.* (2003) señalan que existe una correlación directa entre el recambio de albúmina y el tamaño corporal. Debido a su abundancia y pequeño tamaño la albúmina es responsable del 75% de la actividad

coloidosmótica del plasma, amén de que muchos elementos plasmáticos son trasportados por esta proteína.

Bradford-Smith (2010) indica que la malnutrición, la inanición y los trastornos digestivos interfieren con la digestión y absorción, causando un suministro inadecuado de aminoácidos hacia el hígado para su síntesis.

> A menudo, la hipoalbuminemia antecede a la panhipoproteinemia por carencias proteicas en la dieta. En ciertos casos, dietas que parecen correctas en cuanto al aporte proteico, no lo son en realidad en condiciones de demanda nutricional.

En comparación con lo descrito en humanos y pequeños animales, la vida media de la albúmina en bovinos es mayor, por lo que la hipoalbuminemia es poco frecuente en grandes animales. Cuando se presenta suele ir acompañada de incrementos en la fracción globulínica, en concreto de las ß y γ globulinas.

> El incremento en los requerimientos metabólicos, puede causar un desequilibrio del metabolismo nitrogenado, con una excesiva degradación de la albúmina.
>
> La estimulación antigénica crónica, también es causa potencial de un aumento del catabolismo de la albúmina, que aporta los aminoácidos necesarios para la producción de inmunoglobulinas. Sin embargo, el aumento de este catabolismo no suele ocasionar cambios en la concentración de proteínas plasmáticas totales.

Los valores medios de esta proteína referidos para la especie bovina se sitúan en el rango de 2.5-3.8 aportado por Latimer *et al.* (2003); entre 2.1-3.6 aportado por Radostits *et al.* (2006), o el de 3.0-3.5 descrito por Kaneko *et al.* (2008). Bradford-Smith (2010), por su parte aporta para ganado vacuno valores en torno a 3-4.3 g/dL.

Centrándonos en animales que vivan bajo un régimen de explotación similar al de nuestro estudio, encontramos los 2.7±0.52 g/dL aportados por Hernández *et al.* (1997) para la agrupación racial Morenas del Noroeste, así como los 3.0±0.41 g/dL para la raza Rubia Gallega.

Globulinas

Constituyen el siguiente grupo de proteínas solubles. Electroforéticamente se separan en tres grupos:

1. α y ß globulinas:

   Se sintetiza en su mayoría en el hígado. En este grupo se encuentran las lipoproteínas y las proteínas de fase aguda derivadas de los procesos inflamatorios (Latimer *et al.*, 2003).

2. Γ globulinas:

   Secretadas por los linfocitos B y las células plasmáticas en muchos tejidos, especialmente en los linfoides. El aumento generalizado de esta fracción (*gammopatía policlonal*) es causa de hiperglobulinemia. El aumento anómalo de una sola clase de inmunoglobulinas se conoce como gammopatía monoclonal.

Los valores medios de este grupo de proteínas referidos para la especie bovina se sitúan en el rango de 3.0-3.5 aportados por Latimer *et al.* (2003) y Kaneko *et al.* (2008), o entre 3.6-4.5 aportado por Radostits *et al.* (2006). Bradford-Smith (2010), por su parte aporta para ganado vacuno valores en torno a 3-3.5 g/dL.

Cociente Albúmina/Globulina (A/G)

Este valor calculado se ha empleado para ayudar a la interpretación de los valores de proteínas totales (Latimer *et al.*, 2003). Los cambios en dicha relación son a menudo la primera manifestación de disproteinemia (Bradford-Smith, 2010).

- Así el cociente A/G puede permanecer en el intervalo de referencia si ambas fracciones están alteradas de forma uniforme, como ocurre en en situaciones de hemorragia (descienden ambas fracciones), deshidratación (aumentan ambas fracciones).

- El cociente A/G se altera si predomina una alteración en alguna de las fracciones, como puede ser:
    - La reducción del cociente A/G por proteinuria de origen renal y/o producción de inmunoglobulinas por estimulación antigénica
    - Incremento en el cociente A/G por una falta de producción de inmunoglobulinas en adultos.

Para ganado vacuno, en general, los cocientes A/G oscilan entre 0.6 y 0.9 tal y como señalan Latimer *et al.* (2003) o Kaneko *et al.* (2008). Entre 0.84 y 0.94 es el rango considerado normal para Bradford-Smith (2010).

Para ganado vacuno de aptitud láctea y similares condiciones de manejo que los animales de nuestro estudio, los valores del cociente A/G fisiológico están entre 0.62±0.2 para la agrupación racial Morenas del Noroeste y 0.73±0.2 para la raza Rubia Gallega (Hernández *et al.,* 1997).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

2.3.2.3. ENZIMOLOGÍA CLÍNICA

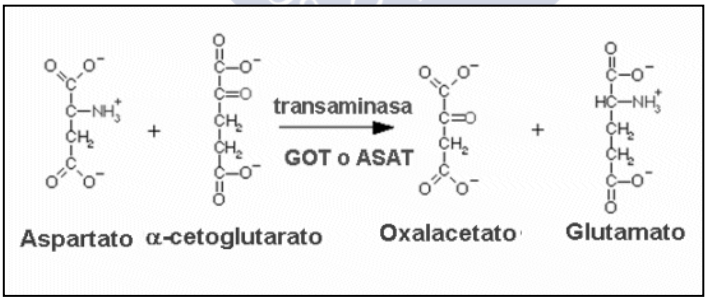
2.3.2.3.A. ASPARTATO AMINO TRANSFERASA (AST)

Como enzima que es, AST (número EC 2.6.1.1) se define como un polímero biológico, del tipo transferasa (enzimas que catalizan la transferencia de grupos metilo o glicosil desde una molécula donante a otra aceptora, Murray *et al*., 2003).

> Las transaminasas representan un conjunto de enzimas de especial importancia en el metabolismo proteico, porque catalizan reacciones vitales en procesos energéticos de biosíntesis de proteínas, en actividades como la gluconeogénesis o degradación oxidativa de los aminoácidos, que intervienen en la formación de productos nitrogenados de excreción (McGilvery y Goldstein, 1988).

La enzima AST cataliza una reacción fundamental en todos los organismos vivos, en la que se transfiere un grupo amino de un esqueleto carbonado a otro, conociéndose este proceso como transaminación. En concreto, AST cataliza la transaminación reversible del aminoácido L-aspartato y el ácido α-cetoglutarato, dando lugar a oxalacetato y al aminoácido glutamato (Bender *et al*., 2003; Kaneko *et al*., 2008).

> Posee pues un papel clave en la gluconeogénesis y la síntesis de urea (Kaneko *et al*., 2008).



Significación clínica

La enzima AST tiene una amplia distribución por diversos tejidos blandos, por lo que es una enzima sensible a daños en esas estructuras y así permite el diagnóstico de muchas patologías. Sobre todo sirve de ayuda para determinar la existencia de alteraciones en tejido muscular, tanto

esquelético como cardíaco, en parénquima hepático y también en riñón y eritrocitos (Kaneko *et al*., 2008; Evans, 2009; Bradford-Smith, 2010).

El incremento de la actividad AST, en ausencia de otros resultados anormales de funcionalidad hepática, nos indica que la causa de elevación se encuentra en el músculo cardíaco o en el esquelético. Sin embargo, cualquier alteración hepática en general, origina un aumento en la actividad de esta transaminasa (Ruiz *et al*., 1989; aunque como bien señala Kerr (2002) nunca debe establecerse el diagnóstico de un proceso hepático sobre la sola base del valor de actividad AST encontrado.

> Para poder diferenciar el origen del aumento de esta enzima deben determinarse junto con AST, enzimas específicos para el hígado y para el músculo. Por esta razón se suele valorar junto con AST, la creatín-kinasa (CK), que es específica de daño muscular. El uso combinado de AST y CK puede ser útil para determinar si el daño muscular continúa o ha cedido, ya que la enzima AST posee la vida media más larga, para Blood *et al*. (1993) permanece elevada de 3 a 10 días más que la enzima CK, mientras que para Smith *et al*. (1994), 21 días. Así se consigue el diagnóstico de daños musculares después de que se haya producido la caída de la creatín-kinasa (Latimer *et al*., 2003; Kaneko *et al*., 2008).

La valoración de AST aporta una gran información sobre la alteración aguda hepatocelular, pero no ocurre lo mismo si es un daño hepático crónico, debido a que su actividad aumenta si se rompen las membranas de células hepáticas, y en el curso crónico no existe tal incremento porque hay pocos hepatocitos dañados al mismo tiempo y la masa hepatocelular está sustancialmente reducida (Ruiz *et al*., 1989; Roussel *et al*., 1998).

> Stuedemann *et al*. (1985) señalaron la posibilidad de que ASAT pueda ser un potencial biomarcador de la necrosis de tejido adiposo. Otros autores como Stoszek *et al*. (1986) y Sprowls (1987) la indicaron como marcadora de anomalías en el metabolismo mineral, como ocurre en determinados procesos de intoxicación.
>
> Durante el curso de la respuesta al estrés puede verse incrementada la actividad de las transaminasas debido a que las catecolaminas liberadas pueden originar cambios en la permeabilidad de las membranas de las fibras musculares apareciendo un reflujo de las enzimas hacia la sangre (Locatelli *et al*., 1988).

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

La actividad AST para ganado bovino se sitúa para Latimer *et al.* (2003) entre 60 y 125 UI/L; para Radostits *et al.* (2006) y Kaneko et al. (2008) entre 78 y 132 UI/L. Finalmente Bradford-Smith (2010), para ganado vacuno en general señalan actividades de que oscilan entre 43 y 127 UI/L.

Para vacuno criado en régimen extensivo, Hernández *et al.* (1997) aporta unos valores de actividad AST de 51.4±18.01 UI/L para la agrupación racial Morenas del Noroeste y de 62.85±6.5 UI/L para la raza Rubia Gallega.

De acuerdo con Bradford-Smith (2010) las causas susceptibles de incrementar la actividad AST quedan reflejadas en el siguiente cuadro (Bradford-Smith, 2010):

Causas de elevación de la actividad AST
Causas frecuentes
Enfermedad muscular
Rabdomiolisis por esfuerzo
Miodegeneración nutricional
Síndrome aplastamiento muscular
Hipertermia maligna
Enfermedad hepática
Insuficiencia hepática
Colangiohepatitis
Colelitiasis
Hemólisis *in vitro*
Causas menos frecuentes
Anemia hemolítica
Miocardiopatía aguda
Esteatosis hepática
Irritación local por inyección intramuscular

La actividad de la AST no se ve modificada por la calidad del forraje que consuma el animal (Cole *et al.*, 2001), sin embargo, la adición de ciertos componentes a la ración pueden afectar a la funcionalidad del hígado:

Así, la adición de semilla de algodón demostró aumentar las actividades ASAT (Coppo y Coppo, 1999; Coppo y Coppo, 2001). En el estudio experimental llevado a cabo por dichos investigadores, se observó que tras los 5 meses de estudio los valores pasaron de 43±4 UI/L al inicio de la experiencia, a 61±9 UI/L al final de la misma. Los animales considerados como grupo control, y que no recibieron la semilla de algodón, mostraron valores que oscilaban entre 39±5 UI/L y 45±7 UI/L. Años después, Koza *et al.* (2009) vuelve a observar similares resultados al comparar sus efectos con respecto a los de la semilla de soja.

2.3.2.3.B. GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA (GGT)

También llamada *gamma-glutamiltranspeptidasa* (número EC 2.3.2.2), es una glicoproteína situada en el límite de la membrana celular. Esta enzima se encuentra fundamentalmente, al igual que la fosfatasa alcalina, asociada a la membrana o microvellosidades de los hepatocitos, células epiteliales de los conductos biliares, de los túbulos renales y de la glándula mamaria (Evans, 2009), aunque también se localiza en el bazo, páncreas, cerebro y corazón.

En general, esta enzima se localiza en células con una elevada actividad absortiva y secretora (Kaneko *et al.*, 2008).

Se trata de una enzima ligada a la membrana celular y que cataliza la transferencia de grupos γ-glutamil procedentes de γ-glutamilpéptidos, tales como glutatión, a otros aminoácidos o péptidos (Kaneko *et al.*, 2008; Evans, 2009)

Según Segade *et al.* (2002), han sido aisladas diversas isoenzimas de GGT y purificadas de diferentes tejidos, pero no se les ha encontrado una aplicación clínica.

Se caracteriza por su extremada sensibilidad, puesto que se ve influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen (Vecillas, 2009).

Significación clínica

A pesar de su amplia distribución por los tejidos del organismo, para numerosos autores como Latimer *et al.* (2003) y Mori *et al.* (2007) o Kaneko *et al.* (2008) o Bradford-Smith (2010), la actividad GGT en rumiantes es un indicador de funcionalidad hepática.

> Y es que, tal y como señala Kaneko *et al.* (2008), la actividad GGT registrada en el suero procede fundamentalmente del hígado, y se localiza básicamente en los canalículos biliares; conductos y de los hepatocitos situados en la región periportal.
>
> Por otro lado, Bradford-Smith (2010) señala que es una molécula bastante estable y que pueden determinarse resultados fiables de la misma en muestras remitidas al laboratorio varios días después de su recogida, siempre que el suero se mantenga debidamente conservado.

La exposición de tipo aguda a estrés oxidativo, incrementa la transcripción de GGT, como respuesta defensiva frente al daño oxidante. Aunque el incremento de la síntesis de la enzima contribuye a elevar la actividad GGT medida en sangre; en caso de colestasis se cree que, el incremento en la actividad GGT registrado obedece a la solubilización o movilización de la enzima desde la membrana, ante la irritación provocada por las sales biliares (Center, 2007).

Ruiz *et al.* (1989) señala que la actividad de la GGT, además de indicar la funcionalidad hepática, también nos informa de la funcionalidad pancreática, mientras que la que se excreta con la orina, y cuyo origen está en el epitelio del túbulo proximal, va a informar de la funcionalidad renal. Por ser una molécula grande, no se reabsorbe a la circulación sistémica y en tales situaciones no encontramos aumento de la actividad GGT en sangre (Bradford-Smith, 2010).

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

La actividades GGT aportadas para ganado vacuno se sitúan entre los 6 y 17.4 de acuerdo a Latimer *et al.* (2003) y Radostits *et al.* (2006); mientras

que Kaneko *et al.* (2008) describe un valor medio de 15.7±4.0 UI/L. Bradford-Smith registra rangos de actividad que van desde los 15 hasta los 39 UI/L, mientras que Kerr (2002) señala como normales valores de actividad GGT quellos que estén por debajo de los 60 UI/L.

Para la agrupación racial Morenas del Noroeste Hernández *et al* (1997) señala una actividad GGT de 2.03±1.8 UI/L, mientras que los mismos autores registran para la raza Rubia Gallega actividades de 4.7 UI/L.

Estas actividades pueden verse modificadas por numerosas causas como quedan reflejadas en el siguiente cuadro de Bradford-Smith (2010):

Causas de elevación de la actividad GGT
Causas frecuentes
Insuficiencia hepática
Toxicidad por alcaloides
Aflatoxicosis
Colangiohepatitis
Colelitiasis
Causas menos recuentes
Animales jóvenes
Esteatosis hepática

2.3.2.3.C. CREATIN-KINASA (CK)

También llamada *creatin fosfoquinasa* (número EC 2.7.3.2) permite que exista trifosfato de adenosina (ATP) disponible para la contracción muscular al catalizar la transferencia de un grupo fosfato con enlace altamente energético de la creatina fosfato a la adenosina fosfato (ADP). Esta enzima también cataliza la reacción inversa cuando el músculo está en reposo (Latimer *et a*l., 2003; Kaneko *et al*., 2008).

> La célula muscular contiene creatina fosfato en una proporción 8 veces mayor que la de ATP, como reserva energética para la contracción.

La actividad CK alcanza su mayor concentración en el músculo esquelético, seguido de tejido cardíaco, diafragma, musculatura lisa y cerebro. Se

encuentra con un nivel de actividad menor en los intestinos, útero, vejiga urinaria, riñón y glándula tiroidea. A nivel hepático su actividad es insignificante. (Latimer *et al.*, 2003).

> En la mayoría de las especies la actividad CK es de 2 a 4 veces superior en músculo esquelético que en cardíaco. La actividad CK en cerebro es un 10% de la empleada en el tejido muscular.

La vida media de actividad CK en sangre es relativamente corta en todas las especies (en torno a 4 horas en ganado vacuno).

> Se ha registrado que aumentos significativos de esta enzima pueden dar paso a valores normales a las 12 o 24 horas de que se haya producido un daño muscular aislado (Bradford-Smith, 2010).

Se trata de una enzima dimérica, con dos subunidades distintas, denominadas B para el cerebro y M para músculo. En ellas existen tres pares de subunidades o tipos de isoenzimas: CK1-BB; CK2-MB y CK3-MM (Kerr, 2002; Latimer *et al.*, 2003; Evans, 2009).

> No obstante en este estudio emplearemos la medición de CK inespecífica, sin entrar a valorar los distintos isoenzimas, ya que en Medicina Veterinaria la valoración de estas isoenzimas no aporta información clínica de interés.

Los eritrocitos contienen muy poca cantidad de actividad CK. En caso de hemólisis estos liberan enzimas y metabolitos que pueden alterar las reacciones del ensayo dando lugar a falsos incrementos.

El mecanismo por el cual esta enzima es retirada de la circulación es desconocido, pero se cree que para que tenga lugar es necesaria la inactivación de los grupos tiol de la enzima. Lo que parece claro es que no se elimina vía renal. (Kaneko *et al.*, 2008).

Significación clínica

La actividad CK es un indicador altamente sensible y específico de lesión muscular en animales domésticos, más asociado a miopatías por ejercicio o trastornos locomotrices que a trastornos cardíacos (Bradford-Smith, 2010).

Aunque las elevaciones importantes de la CK pueden servir para determinar el alcance de una lesión, su breve vida media y el potencial de continuidad de la mionecrosis ejercen una notable influencia en la actividad de la enzima observada en cualquier momento (Bradford-Smith, 2010). Sin embargo, para Kaneko *et al.* (2008) estas mismas debilidades le hacen una herramienta útil para la monitorización, a corto plazo, de los tratamientos aplicados en caso de procesos musculares.

Valores de referencia para ganado vacuno. Causas de variación.

Latimer et al. (2003) marca como actividades normales de CK a todas aquellas que no superen las 350 UI/L; Radostits *et al.* (2006) limita este rango y lo establece entre 35 y 280 UI/L, mientras que para Kaneko *et al.* (2008) los rangos fisiológicos de actividad CK en bovino, son bastante bajos oscilando entre 4.8 y 12.1 UI/L. Finalmente, Bradford-Smith (2010) aporta unas actividades CK que oscilan entre los 105 y 409 UI/L.

En cualquier caso, estas actividades pueden verse modificadas por numerosas causas como quedan reflejadas en el siguiente cuadro (Bradford-Smith, 2010):

Causas de elevación de la actividad CK
Causas frecuentes
Rabdomiolisis de esfuerzo
Miopatía por reserva de polisacáridos
Miodegeneración nutricional
Esfuerzo de resistencia
Síndrome de aplastamiento muscular
Decúbito prolongado
Causas menos frecuentes
Aumento post-esfuerzo
Hemólisis
Miocardiopatía aguda

2.3.3. PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS

2.3.3.A. LA SERIE ROJA: ERITROCITOS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO

Los eritrocitos de los mamíferos, o también llamados glóbulos rojos (GR) son células anucleadas que por lo general circulan durante meses en el torrente sanguíneo a pesar de sus limitadas capacidades sintéticas así como de su constante exposición a todo tipo de agresiones orgánicas, mecánicas o metabólicas (Kaneko *et al*., 2008). Su primera función es el transporte de hemoglobina (Hb), una hemo-proteina que supone más del 90% del total de proteínas contenidas en los eritrocitos (Quigley *et al*., 2004).

> Los beneficios de que la hemoglobina esté contendida en el interior celular, al contrario de la que circula libre por el plasma, es que este hecho le permite tener una mayor vida media (la Hb libre tiene una vida media de pocas horas); pero además este estado facilita que la Hb intraeritrocitaria se mantenga en un estado ferroso funcional, amén de que se puede controlar la fijación del oxígeno a la hemoglobina mediante cambios en las concentraciones de fosfatos orgánicos, especialmente el 2,3-difosfoglicerato (2,3DPG).

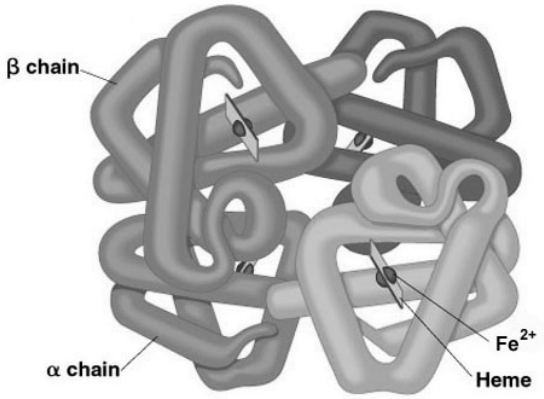
Aspectos destacados del metabolismo eritrocitario

- Es bien sabido que los eritrocitos intervienen en el transporte de oxígeno, de dióxido de carbono y está involucrado en los mecanismos amortiguadores del equilibrio ácido base (Kaneko *et al*., 2008). Cada tetrámero de Hb contenida en los eritrocitos puede ligar cuatro moléculas de O2, cuando está plenamente saturada, formando así *oxihemoglobina* (OxyHb).

  > La Hb contenida en el interior del eritrocito y las condiciones en la que ésta está, hace que la capacidad de transporte del oxígeno sea 70 veces superior a la que tiene la Hb que circula libre por el plasma (West, 1985).

- La hemoglobina es una proteína tetramérica constituida por cuatro cadenas de globina (polipéptido), cada una de las cuales contiene un grupo hemo envuelto en una estructura hidrófoba. En definitiva, la

molécula de hemoglobina consiste en dos cadenas alfa y otras dos cadenas idénticas no-alfa, y que en adultos se les denomina cadenas beta (Kaneko et al., 2008).



Molécula de hemoglobina

- Aproximadamente un 10% del CO_2 se transporta disuelto en sangre; entre un 5 y un 10% es transportado ligado a grupos amino de las proteínas sanguíneas y el 80-85% se transporta en forma de bicarbonato (Hsia, 1998; Jensen, 2004). El ácido carbónico se forma cuando el CO2 disuelto se combina con agua. Esta reacción ocurre sin que medien enzimas, pero se acelera ante la presencia de *anhidrasa carbónica* (AC) presente en los GR. El bicarbonato se forma entonces mediante la rápida y espontánea disociación del ácido carbónico de acuerdo a la siguiente fórmula (Kaneko *et al*., 2008):

$$H_2O + CO_2 \xleftrightarrow{AC} H_2CO_3 \longleftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

La Hb potencia la formación de bicarbonato amortiguando así la presencia de hidrogeniones y desplazando el equilibrio de la reacción hacia la derecha.

- La combinación de CO_2 con los grupos amino terminales de las proteínas da lugar a la formación de grupos carbamino. La globina, proteína que configura la Hb es la proteína de más relevancia en este sentido (Latimer *et al.*, 2003; Kaneko *et al.*, 2008). De esta manera, el transporte de CO2

desde los tejidos hacia los pulmones en forma de grupos carbamino se potencia debido a que la deoxihemoglobina (DeoxiHb) es capaz de captar hasta el doble de moléculas de CO_2. La formación de grupos carbamino seguiría la siguiente fórmula:

$$Hb\text{-}NH_2 + CO_2 \longleftrightarrow Hb\text{-}NHCOOH \longleftrightarrow Hb\text{-}NHCOO^- + H^+$$

Queda claro que la hemoglobina es pues la proteína sanguínea amortiguadora más relevante, dada sus elevadas concentraciones, su bajo peso molecular y el elevado número de residuos de histidina con un pKa cercano a 7.4. Tiene una capacidad amortiguadora hasta 6 veces superior a la que tiene cualquier otra proteína sanguínea.

Kaneko *et al*. (2008) señala que otro factor relevante y que contribuye a la efectividad amortiguadora de la hemoglobina eritrocitaria como amortiguador es el hecho de que la DeoxiHb es un ácido más débil que la OxyHb. Como consecuencia, muchos de los H^+ producidos de forma normal en los tejidos se amortiguan a consecuencia de la captación del H^+ por parte de la DeoxiHb, al tiempo que se libera O_2 en los tejidos.

- La vida media de un eritrocito en circulación varía según la especie; así en bovino es de 160 días, mientras que en gatos es de 70 y en las aves de aproximadamente un mes (Kerr, 2002; Latimer e*t al.,* 2003).

  Por lo tanto, en el frotis sanguíneo de los rumiantes es raro ver reticulocitosis, mientras que el frotis sanguíneo de un ave sana puede contener un 4-5% de reticulocitos. Asímismo, en ciertos estadíos de enfermedad es más probable que los gatos y las aves desarrollen anemia a que lo haga un rumiante, debido al menor tiempo de vida que tienen los primeros.

- La hormona responsable de estimular la eritropoyesis es la eritropoyetina (EPO), una glicoproteína de 60.000-70.000 daltons de peso molecular. Se sintetiza en el riñón, y su producción se estimula ante situaciones de hipoxia (Kerr, 2002).

  No obstante la producción de eritropoyetina también se ve afectada por otros ejes endocrinos. Así, favorecen la síntesis de EPO las siguientes hormonas: andrógenos, cortisol, tiroxina, adrenalina, noradrenalina, angiotensina, prolactina, hormona del

crecimiento (GH), hormona estimulante del tiroides (TSH) y la hormona adrenocorticotropa (ACTH). Disminuyen la síntesis de EPO los estrógenos.

- Durante el envejecimiento de los GR, los cambios que se producen en el contenido enzimático y en la estructura de la membrana celular reducen la capacidad de supervivencia de las células, y las expone a ser eliminadas por el bazo.
- En los animales sanos los eritrocitos envejecidos se eliminan de la circulación por dos vías:
- Fagocitosis por parte de los macrófagos (principal vía)

  Dentro del fagosoma el eritrocito libera la Hb que es desdoblada en hemo y globina
- Una vía minoritaria es la lisis del eritrocito, con liberación de Hb al plasma.

  La Hb libre del plasma se une a la α-2 globulina (haptoglobina). El complejo hemoglobina-haptoglobina es eliminado del plasma por el hígado, evitando la pérdida de hemoglobina por la orina

Valoración de la serie roja. Significación clínica

La valoración de la misma tiene lugar a través tanto del contaje eritrocitario, como de la valoración de la concentración de hemoglobina y del valor hematocrito.

A. El *hematocrito* (Htc) es el porcentaje de sangre compuesto por los eritrocitos., siendo una medida muy precisa con un bajo error intrínseco (Latimer *et al.*, 2003).

   Actualmente los contadores hematológicos calculan el Htc después de determinar el recuento total de GR y el volumen corpuscular medio de la población de hematíes. Para ello emplea la siguiente fórmula: Hct (%) = RGR (µl) x VCM (fl).

B. La concentración de *hemoglobina* es el indicador más directo de la capacidad de transporte de oxigeno de la sangre y puede ser

aproximadamente de un tercio del hematocrito si los eritrocitos son de tamaño normal (Latimer *et al*., 2003).

> Según Latimer *et al.* (2003) la determinación de hemoglobina no aporta ninguna ventaja clínica sobre el valor Htc, pero permite calcular los *índices eritrocitarios de Wintrobe*, como son la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).

C. El *recuento eritrocitari*o realizado mediante contadores hematológicos permiten la obtención de valores precisos. La principal utilidad de este dato es su uso en los índices eritrocitarios de Wintrobe, y especialmente el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpuscupar media (HCM).

Valores de referencia para ganado vacuno. Factores de variación.

En lo que respecta al *total de eritrocitos*, los valores de referencia aportados por los distintos autores vienen a coincidir en un rango medio que se sitúa entre los 5 y 10 millones de GR (x 10^6/µL) (Radostits *et al*., 2006; Bradford-Smith, 2010). Latimer *et al*. (2003), también para esta especie señala rangos que van desde los 6 hasta los 10.4 millones de eritrocitos por microlitro.

Más concreto; Hernández *et al* (1997) aporta un valor medio de 8.11±2.0 (x 10^6/µL) para la agrupación racial Morenas del Noroeste; mientras que para la Rubia Gallega, en régimen extensivo los valores medios son de 7.33±0.8 (x 10^6/ µL). Para la raza Pardo-Alpina señalamos los valores registrados por Prieto Montaña (1975), siendo de 7.2 (x 10^6/ µL) el valor medio. Para hembras próximas al parto este valor desciende hasta los 6.0 (x 10^6/ µL), descendiendo ligeramente una vez transcurrido éste (5.8 x 10^6/ µL).

La *concentración de hemoglobina* en sangre se sitúa entre los 8 y 15 g/dL para todos los autores consultados (Latimer et al., 2003; Radostits *et al*., 2006; Kaneko *et al*., 2008; Bradford-Smith, 2010).

Más concretamente, Hernández *et al.*, para la agrupación racial Morenas del Noroeste indica valores medios de hemoglobina de 14.1±2.2 g/dL, y para la raza Rubia Gallega de 12.5±1.0 g/dL. Prieto Montaña (1975) aporta un valor medio de 9.7 g/dL para la raza Pardo Alpina.

El *valor hematocrito* oscila en función del autor consultado, aunque manteniéndose en rangos similares: 27-43 % si atendemos a Latimer *et al.* (2003) o entre entre 24 y 46 (%) de acuerdo a lo señalado por Radostits *et al.* (2006) o mismo Bradford-Smith (2010).Concretando sobre animales que se explotan en condiciones similares a las de nuestro estudio, volvemos a los datos aportados por Hernández *et al.* (1997), quien para la agrupación racial Morenas del Noroeste señala un valor medio de 47.05±8.4 (%) y para la raza Rubia Gallega otro de 41.3±2.9 %. Para la raza Pardo Alpina aportamos el valor de 28.4 % descrito por Prieto Montaña (1975), aumentando en en las semanas previas al parto (32.6%) y disminuyendo ligeramente una vez transcurrido éste (30.8%).

Funcionalmente, la *anemia* se define como la reducción en la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre (Bradford-Smith, 2010). La indicación laboratorial más precisa es la caída en el hematocrito por debajo de los niveles normales; aunque éste debe interpretarse también teniendo en cuenta el grado de hidratación del animal y su excitación.

Los tres mecanismos fisiopatológicos por los que se desarrolla una anemia son la pérdida de sangre, el aumento en la destrucción de eritrocitos (hemólisis) y la producción inadecuada de los mismos.

> En los dos primeros casos la médula ósea es normal y responde incrementando la eritropoyesis (son las denominadas *anemias regenerativas*, y que se caracterizan en rumiantes por la presencia de eritrocitos inmaduros en sangre periférica). La producción inadecuada de eritrocitos es debido a una anomalía en la médula ósea, y por definición la anemia a la que da lugar es de tipo *no regenerativo*.

En grandes animales la anemia se debe a menudo a una combinación de los tres mecanismos (ver cuadro adjunto, Bradford-Smith, 2010)

Causas de anemia en bovinos

Causas frecuentes

Por pérdida de sangre
- Parasitismo intestinal
- Ectoparásitos
- Ulcera abomasal

Por hemólisis
- Anaplasmosis
- Toxicosis por *Brassica*
- Toxicosis por cebollas
- Homoglobinuria bacilar
- Leptospirosis

Por producción inadecuada de eritrocitos
- Linfosarcoma
- Absceso hepático
- Diarrea vírica bovina crónica
- Neumonía crónica

Causas menos recuentes

Por pérdida de sangre
- Toxicosis por dicumarol
- Absceso pulmonar con trombosis de la cava
- Pielonefritis aguda

Por hemólisis
- Hemoglobinuria post-parto

Por producción inadecuada de eritrocitos
- Insuficiencia renal crónica
- Toxicosis por helecho común
- Toxicosis por radiación

Por otro lado, la *policitemia* o *eritrocitosis* se define como el aumento en el valor hematocrito, el recuento eritrocitario o el aumento en los valores de hemoglobina por encima de los rangos normales (Kerr, 2002; Bradford-Smith, 2010). Puede ser absoluta o relativa y causada por hemoconcentración o contracción esplénica. La eritrocitosis absoluta (primaria o secundaria) es producida por el aumento de la eritropoyesis, originando una mayor masa total de eritrocitos circulantes.

> La *eritrocitosis absoluta primaria* (policitemia vera) es un trastorno mieloproliferativo idiopático, asociado a una ppO2 normal y niveles reducidos de eritropoyetina.
>
> La *eritrocitosis absoluta secundaria*, es en cambio, inducida por niveles altos de eritropoyetina.

En animales domésticos, la eritrocitosis absoluta suele ser consecuencia de patologías crónicas que generan hipoxia tisular. Las causas de cualquier tipo de policitemia quedan reflejadas en el cuadro siguiente (Bradford-Smith, 2010):

Causas de policitemia en bovinos
Eritrocitosis relativa
Deshidratación
Shock endotóxico
Obstrucción intestinal
Salmonelosis
Mastitis séptica
Eritrocitosis absoluta
Causas frecuentes
Enfermedad cardiovascular
Estancia en altitudes elevadas
Causas menos recuentes
Familiar
Hepatopatía crónica
Hemangioma
Nefrosis
Nefrocalcinosis
Leiomioma
Riñones poliquísticos

2.3.3.B. LA SERIE BLANCA TOTAL

El término leucocito incluye a todas las células de la serie blanca (neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos) así como de sus precursores (Kaneko *et al.*, 2008). Utilizan el torrente sanguíneo como medio de desplazamiento desde su lugar de síntesis hasta aquellos tejidos que demandan su presencia, participando en la defensa del organismo, aunque cada uno con funciones independientes (Latimer *et al.*, 2003)

> Por tanto, el número total de leucocitos, o recuento de góbulos blancos (GB), no es más que un mero reflejo del balance entre lo aportado y lo demandado por el organismo, oscilando para la mayoría de los mamíferos entre 5 x 10^9/L y 14 x 10^9/L. Este rango es lo que Kerr (2002) o Bradford-Smith (2010) señalan como *leucocitosis*

fisiológica, y que puede alcanzar el rango superior en condiciones de ejercicio moderado o mismo cuando se pasa de una postura de postración o decúbito al de estación (se produce la "liberación" de formas celulares contenidas en los capilares colapsados por el peso del cuerpo).

El contaje del total de leucocitos es la primera medición a efectuar cuando se quiere evaluar la serie blanca; y en muchas ocasiones puede aportar la suficiente información; de hecho, es un paso imprescindible en caso de que se desee hacer un recuento diferencial (Kerr, 2002).

El recuento automatizado de los GB ofrece mucha mayor precisión y menor rango de acción que los contajes manuales (Latimer *et al.*, 2003). El error intrínseco es del 5%, aunque puede ser mayor si los recuentos celulares son extremadamente altos o bajos.

Aún así, pueden producirse anomalías en el recuento total de GB frutos de diversas circunstancias:

- La presencia de leucocitos aglutinados o frágiles, y que originará resultados anormalmente bajos.
- La presencia de plaquetas anormalmente grandes o agregadas, y que elevará erróneamente el recuento automático de glóbulos blancos.
- Los agentes para lisar los eritrocitos de algunos instrumentos pueden ser demasiado débiles para lisar los eritrocitos animales, dando un recuento leucocitario falsamente elevado.

Significación clínica

El recuento total de leucocitos, como dato numérico, ofrece para Bradford-Smith (2010) un conjunto de datos de gran utilidad siempre que vaya acompañado de la anamnesis, los signos clínicos y los hallazgos físicos. No obstante este mismo autor señala que en procesos crónicos el recuento total de glóbulos blancos no aporta información relevante.

Valores de referencia. Causas de variación.

El valor total de leucocitos en ganado vacuno, más allá de los amplios rangos aportados por Kerr (2002) para los mamíferos, está entre 4 y 12 ($x10^3/\mu L$) (Latimer *et al.*, 2003; Radostits *et al.,* 2006; Bradford-Smith, 2010).

En trabajos más concretos señalamos los valores medios de GB indicados por Hernández et al. (1997) para la agrupación racial Morenas del Noroeste, siendo de 8.01±2.7 ($x10^3/ \mu L$) y de 7.9±2 ($x10^3/ \mu L$) para la raza Rubia Gallega. Para la raza Pardo Alpina, el valor medio aportado por Prieto Montaña (1975) es de 7.5 ($x10^3/ \mu L$).

Las alteraciones en el recuento total de leucocitos pueden ser al alza (*leucocitosis*) o a la baja (*leucopenia*).

La *leucocitosis* consiste en el aumento del recuento total de GB. Se produce por un aumento en cualquiera de las poblaciones leucocitarias; aunque la más frecuente es por neutrofilia (Latimer *et al.*, 2003).

La *leucopenia* es el descenso en el recuento total de GB; suele estar causada por neutropenia (Latimer *et al.,* 2003).

> En ganado vacuno, la enfermedad inflamatoria aguda y la infección (p. ej. metritis y mastitis por coliformes) causan una brusca caída del recuento leucocitario, debida a la migración de los neutrófilos maduros al lugar de la inflamación, a la marginación de los neutrófilos y a la pérdida de linfocitos inducida por estrés (Bradford-Smith, 2010).

2.3.3.C. PLAQUETAS

Las plaquetas (PLT) de los mamíferos son pequeños fragmentos anucleares y discoides de los megacariocitos, pero que aún así contienen varios tipos de orgánulos, como gránulos α, gránulos densos, mitocondrias y lisosomas (Triplett, 2000).

Miden de media entre 3 y 5 µm de diámetro en la mayoría de las especies (Latimer et al., 2003). Tienen una membrana con una bicapa de fosfolípidos

que contiene glucoproteínas y que sirven de receptores para la activación, adhesión y coagulación.

> Las numerosas reacciones que permiten tal función se controlan mediante una red compleja de vías bioquímicas (Levy-Toledano, 1999). Resultados obtenidos in vitro señalan que existen diferencias entre especies en la manera en que las PLT reaccionan ante un mismo agente, y estas diferencias radican a nivel de los receptores de membrana y las vías de activación (Gentry, 2000).

Aspectos destacados del metabolismo plaquetario

- Las plaquetas están producidas por una demarcación citoplasmática de los megacariocitos y se liberan directamente a la sangre (Nagata e*t al*, 2003)
- El tiempo medio de las plaquetas circulantes es de aproximadamente 5-9 días en la mayoría de las especies animales (Kaneko *et al.,* 2008).
- El bazo normalmente contiene hasta el 30-40% de la masa circulante de PLT. La contracción esplénica inducida por epinefrina, excitación, miedo, dolor o ejercicio pueden provocar incrementos en los recuentos plaquetarios. Por el contrario, la congestión esplénica o el hiperesplenismo pueden secuestrar suficientes plaquetas como para provocar trombocitopenia

Significación clínica

Los recuentos plaquetarios por debajo del intervalo de referencia de una especie dada (típicamente < 100.000/µL) indican *trombocitopenia.* Las petequias espontáneas y las hemorragias equimóticas no suelen ocurrir hasta que el recuento de plaquetas es menor de 25.000/µL.

Los recuentos de PLT que exceden el intervalo de referencia (generalmente > 800.000/µL indican trombocitosis. La trombocitosis asociada con inflamación suele ir ligada a un incremento en el riesgo de trombosis.

Valores de referencia en ganado vacuno. Causas de variación

Entre 100.000 y 800.000/ µL es el rango establecido como fisiológico por los distintos autores consultados (Latimer *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2006; Kaneko *et al.*, 2008).

La trombocitopenia, es según Bradford-Smith (2010) el resultado de tres causas: 1) disminución en la producción de PLT; 2) secuestro de las mismas o 3) una vida media reducida.

La *reducción en la producción* es consecuencia de alteraciones en la médula ósea, tales como la infiltración por tejido neoplásico o la anemia aplásica. Ocasionalmente la destrucción inmunomediada de megacariocitos da lugar a una reducción en la producción de plaquetas.

La esplenomegalia que se da en infecciones agudas y crónicas y en trastornos inflamatorios no infecciosos da lugar al *secuestro de plaquetas,* aunque ello no tiene por qué predisponer al animal a padecer hemorragias.

La *disminución de la vida media* plaquetaria es la causa más habitual de trombocitopenia en grandes animales, y se produce en septicemia y endotoxemias graves.

Causas de trombocitopenia en bovinos
Causas frecuentes
Coagulación intravascular diseminada (CID)
Toxicosis por helecho común
Mastitis o metritis sépticas
Causas menos frecuentes
Salmonelosis
Septicemia por Gram -
Linfosarcoma
Mieloma de células plasmáticas
Trombocitopenia inmunomediada

(Fuente: Bradford-Smith, 2010)

3.1. SELECCIÓN DE LOS ANIMALES DE ESTUDIO

Para la realización de este trabajo se emplearon un total de 70 vacas de raza Frisona (Granja A, **GR-A**) y cruce Frisona x Pardo Alpina (Granja B, **GR-B**), procedentes de dos explotaciones ganaderas en régimen ecológico: 35 de ellas pertenecientes a una explotación situada en Palas de Rey, y el resto en otra ubicada en Monterroso; ambos municipios ubicados en la provincia de Lugo (ver imagen adjunta).



Ubicación de las granjas donde se realizó el estudio

Las vacas de raza Frisona eran de aptitud láctea, mientras que las del cruce Frisona x Pardo Alpina eran animales de aptitud mixta (leche y carne) pero con una clara orientación láctea. En ambos casos las vacas se ordeñaban dos veces al día (a las 7:00 y a las 19:00 horas).

3.2 DESCRIPCIÓN DEL ALOJAMIENTO

Cabe destacar que las naves estaban equipadas con grandes bebederos metálicos en los que el agua estaba siempre a libre disposición de los animales.

Las salas de ordeño variaban en función de la explotación a estudiar, aunque todas ellas seguían el modelo más utilizado por su versatilidad: la de espina de pescado (Callejo y Majano, 2011).

> Este tipo de sala de ordeño apareció por primera vez en Australia a principios del siglo XX (1910), se popularizó en Nueva Zelanda a principios de los años 50 de dicho siglo y, una década después, llegó a Europa, donde se popularizó rápidamente. Se ha utilizado como modelo de referencia, por lo que el resto de tipos de salas de ordeño se analizan frecuentemente (respecto a coste, rendimiento, etc.) por comparación con la espina de pescado.
>
> Entre sus principales características destaca su versatilidad esto es, se puede utilizar con rebaños de un número de vacas muy diverso. Así se pueden encontrar salas de ordeño en espina de pescado desde 8 plazas (4 a cada lado del foso) hasta 48 (24 plazas a cada lado del foso).
>
> Las vacas, que entran en la sala de ordeño en tandas, se colocan a ambos lados de un foso, una junto a otra, en un ángulo que viene determinado por la puerta de salida y que es aproximadamente de 30-32° con respecto al eje longitudinal del foso. Las vacas están colocadas durante el ordeño entre un rail trasero y otro delantero. El ordeñador desde el foso puede manejar, de una forma manual o automática, las puertas de entrada y salida de las vacas.
>
> En este sistema, la entrada y salida de ganado se realiza en tandas o grupos de 3, 4, 5, 6…, hasta 24 vacas, número igual al de la mitad de las plazas de ordeño, por lo que es muy complicado realizar un tratamiento individual para cada vaca. El ritmo de trabajo alterna períodos de actividad intensa con otros más "relajados". La vaca que más tarda en ordeñarse es la que marca el ritmo de esa tanda de ordeño. Por ello, con este sistema se consiguen los rendimientos más elevados cuando todas las vacas de cada tanda son de un nivel productivo similar.

Callejo y Majano (2011) señalan como principales ventajas de este sistema:

- Postura cómoda de ordeñador.
- Acceso a la totalidad de la ubre.
- Rendimientos muy altos (hasta 100 vacas por hombre y hora).
- Se puede ampliar muy fácilmente.
- El sistema de herrajes y puertas puede ser muy sencillo.
- Existe la posibilidad de ajustar las barras delanteras cuando las vacas son más pequeñas o son novillas; esto facilita el ordeño.

Pero también señalan inconvenientes:

- No permite el tratamiento individual del ganado.
- El acceso a la ubre es lateral. Es más fácil recibir patadas o golpes del ganado, que en la sala tándem.
- Tiempos muertos más prolongados en instalaciones en línea baja
- La longitud empieza a ser un hándicap a partir de 8 plazas (tuberías más largas, mayores desplazamientos, peor visibilidad de todas las ubres)

En función de la posición de la tubería de leche, hablaremos de salas de ordeño de *linea baja*, *linea media* o *linea alta*.

Palas de Rey (GR-A):

> La sala de ordeño es en *espina de pescado* con 8 plazas y 4 puntos de ordeño; de linea alta con medidores volumétricos. La linea principal de vacío discurre por la mitad superior de la sala; tiene dos pulsadores (dos por cada punto de ordeño).



Sala de ordeño de la explotación de Palas de Rey

Monterroso (GR-B)

La sala de ordeño es una sala en *espina de pescado* con 6 puntos de ordeño y de línea baja.



Sala de ordeño de la explotación de Monterroso

3.3. MANEJO NUTRICIONAL

Varía en función de la explotación considerada:

Explotación de Palas de Rey

En esta explotación cada individuo consumía una media de 15 kg de silo de hierba, 8 kg de silo de maíz, 5 kg de pienso comercial y 8 kg de pasto *ad libitum*, lo que hacía un total de ingesta de 36 kg de alimento/animal/día.



El total de la ración fue analizado en el Instituto de Ganadería de Montaña (IGM), dependiente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de León, obteniéndose la valoración nutricional que viene reflejada en la siguiente tabla:

Parámetro[1]	Valor
Materia Seca (MS %)	43.05
Cenizas (% MS)	5.94
Proteína Bruta (PB, %MS)	11.35
Fibra Neutro Detergente (FND, %MS)	40.15
Fibra Acido Detergente (FAD, %MS)	25.05
Grasa Bruta (GB, %MS)	2.59
Unidad Forrajera de leche (UFL)/kg	0.86
PDIE (g/Kg)	84.00
PDIN (g/Kg)	77.79

1 PDIE: Proteína digestible a nivel intestinal procedente de la energía; PDIN: Proteína digestible a nivel intestinal procedente del nitrógeno

El análisis de cada componente queda reflejado en la siguiente tabla:

Parámetro (Kg)	Silo de hierba	Silo de maíz	Pienso	Pasto *ad libitum*	TOTAL
MS	6.2	3.4	4.6	1.31	15.5
Cenizas	0.37	0.1	0.31	0.14	0.92
PB	0.60	0.24	0.74	0.18	1.76
FND	3.57	1.51	0.48	0.65	6.22
FAD	2.45	0.83	0.18	0.43	3.88
GB	0.12	0.12	0.13	0.02	0.40
UFL	4.34	3.05	4.69	1.23	13.31
PDIE	346.9	214.7	602.6	137.7	1302
PDIN	365.5	135.3	547.4	157.4	1205.7

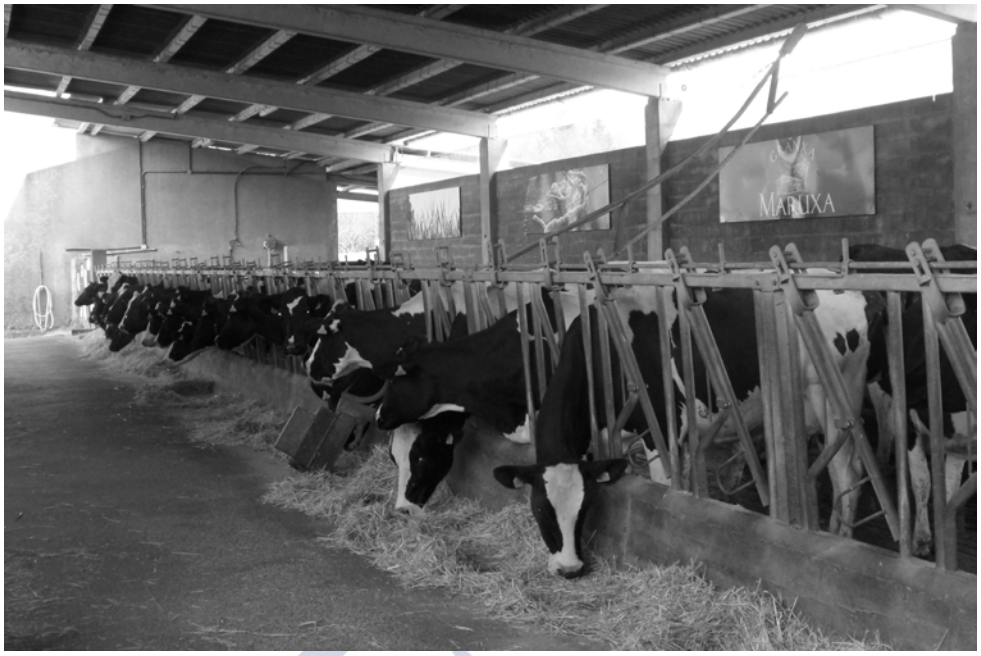
Porcentualmente, quedaría reflejado de la siguiente manera:

Parámetro (% MS)	Silo de hierba	Silo de maíz	Pienso	Pasto *ad libitum*
MS	41.3	42.4	92	16.4
Cenizas	6	2.9	6.75	10.7
PB	9.7	7	16.1	13.8
FND	57.7	44.6	10.5	49.8
FAD	35.9	24.4	3.9	32.7
GB	2	3.5	2.9	2
UFL	0.7	0.9	1.02	0.94
PDIE	56	63.3	131	105
PDIN	59	39.9	119	120
MSI (kg)	*6.2*	*3.4*	*4.6*	*1.31*

Explotación de Monterroso

En esta granja, el consumo de hierba era predominantemente a base de cultivos forrajeros (pastos sembrados) de raygras inglés, híbrido y diversos tipos de leguminosas (trébol violeta, trébol persa, trébol migueliano, etc). También pastoreaban en prados naturales aunque en menor cantidad que en los anteriores.

En esta explotación cada individuo consumía una media de 2 kg de heno, 2 kg de alfalfa/veza de avena, 4 kg de pienso, 2 kg de maíz y 38 kg de pasto. Ello hizo un total de 48 kg de ingesta de materia seca (IMS)/animal/día



El total de la ración, analizado en el mismo sitio que en la explotación anterior presentaba las siguientes características fisico-químicas:

Parámetro[1]	Valor
Materia Seca (MS %)	32.58
Cenizas (% MS)	7.2
Proteína Bruta (PB, %MS)	12.7
Fibra Neutro Detergente (FND, %MS)	38.05
Fibra Acido Detergente (FAD, %MS)	22.95
Grasa Bruta (GB, %MS)	2.97
Unidad Forrajera de leche (UFL)/kg	0.92
PDIE (g/Kg)	87.19
PDIN (g/Kg)	84.34

1 PDIE: Proteína digestible a nivel intestinal procedente de la energía; PDIN: Proteína digestible a nivel intestinal procedente del nitrógeno

El análisis de cada componente queda reflejado en la siguiente tabla:

Parámetro (Kg)	Heno	Alfalfa/veza	Pienso	Maíz	Pasto	TOTAL
MS	1.9	1.9	3.8	1.8	6.2	15.64
Cenizas	0.08	0.14	0.21	0.03	0.70	1.13
PB	0.07	0.27	0.64	0.14	0.90	2.0
FND	1.23	1.03	0.42	0.16	3.10	5.95
FAD	0.55	0.79	0.16	0.05	2.04	3.6
GB	0.04	0.03	0.19	0.07	0.12	0.46
UFL	0.91	1.51	3.86	2.33	5.86	14.5

PDIE	70.3	86.7	537.5	189.3	479.9	1363.7
PDIN	41.8	98.0	450.5	130.5	598.3	1319.1

Porcentualmente, quedaría reflejado de la siguiente manera:

Parámetro (% MS)	Heno	Alfalfa/veza	Pienso	Maíz	Pasto
MS	94.9	94.3	94.7	91.9	16.4
Cenizas	4.2	7.4	5.6	1.5	10.7
PB	3.9	14.2	16.9	7.5	13.8
FND	65.0	54.9	11	8.8	49.8
FAD	28.9	41.8	4.3	2.9	32.7
GB	2	1.8	5.1	4.1	2.0
UFL	0.5	0.8	1.02	1.3	0.9
PDIE	34	46	142	103	77
PDIN	22	52	119	71	96
MSI (kg)	*1.9*	*1.9*	*3.8*	*1.8*	*6.2*

3.4. HISTORIAL CLÍNICO

Para la explotación de Palas de Rey (GR-A), las patologías más frecuentes son las metritis, mamitis y alguna cojera. De hecho durante el periodo de estudio se registraron en el libro de tratamientos 4 metritis, 3 casos de mamitis y una cojera.

> Durante el intervalo de recogida de muestras hubo 10 bajas en un total de 47 vacas.

En lo que respecta a la explotación de Monterroso (GR-B) predominaban las dismetabolías, especialmente cetosis. Por el contrario los procesos mamíticos eran poco frecuentes (sólo 2 casos en el periodo de estudio). Estas vacas no tuvieron problemas para la eliminación de las secundinas, por lo que no tuvimos constancia de metritis.

> Durante el intervalo de recogida de muestras, y según consta en el libro de tratamientos, hubo 13 vacas de descarte, dos de ellas fueron sometidas a eutanasia (una por una mamitis gangrenosa); las otras once fueron descartadas por infertilidad, edad avanzado y/o escasa producción.

3.5. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE MUESTRAS

3.5.1. GRUPOS DE ESTUDIO

Para cada explotación, los animales anteriormente señalados fueron divididos en dos grupos:

- Un primer grupo en el que se incluyeron las vacas que presentaban una menor demanda metabólica. Se escogieron animales gestantes y en lactación pero en un periodo en el que la carga metabólica es menor en comparación con otras fases, tal y como señala Castillo *et al.* (2005). Este es el grupo al que denominaremos *control* (CTRL) y que estaba formado por 15 animales entre el 4º y 6º mes de gestación. Teniendo en cuenta la categorización de las explotaciones tendremos pues dos grupos CTRL: CTRL-A (para Palas de Rey) y CTRL-B (para Monterroso).
- El segundo lote estaba constituido por 20 vacas en las que realizamos el estudio observacional y que consideramos *experimental* (EXP). Estos animales fueron muestreados desde los 62 días previos al parto (o ante-parto, a.p.) hasta los 100 días posteriores al mismo (o post-parto, p.p.). Teniendo en cuenta la categorización de las explotaciones tendremos pues dos grupos EXP: EXP-A (para Palas de Rey) y EXP-B (para Monterroso).

A modo de resumen los grupos de estudio quedan configurados pues de la siguiente manera:

- Explotación de Palas de Rey (GR-A):
  - Lote CTRL-A
  - Lote EXP-A
- Explotación de Monterroso (GR-B):
  - Lote CTRL-B
  - Lote EXP-B

3.5.2. TEMPORALIZACIÓN

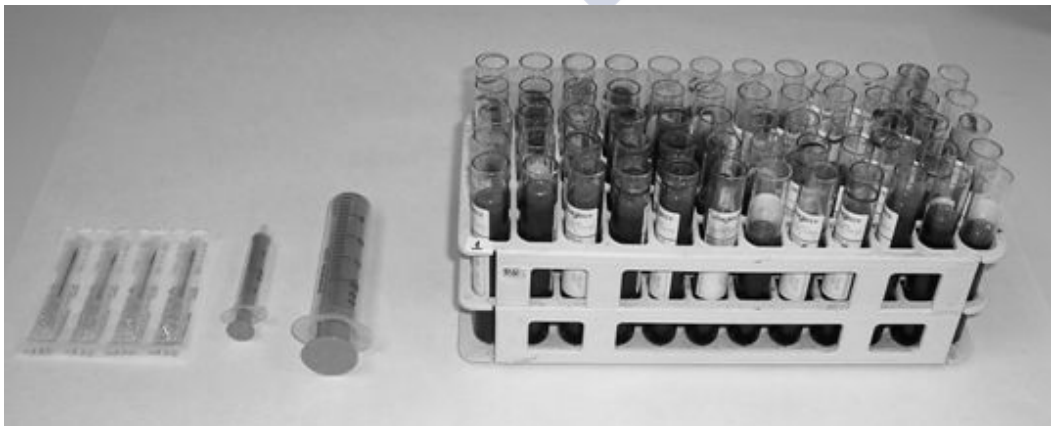
Se realizaron 9 muestreos, tanto para los animales del grupo CTRL como para los del lote EXP en ambas explotaciones. La secuencia temporal para este último lote queda reflejada en la siguiente tabla:

Número de Muestreo	Periodo al que corresponde
1	Desde el día 62 hasta el día 35 a.p.
2	Desde el día 35 a.p. hasta el día 23 a.p.
3	Desde el día 22 a.p. hasta el día 9 a.p.
4	Desde el día 8 a.p. hasta el día 1 a.p.
5	Desde el día 1 p.p. hasta el día 8 p.p.
6	Desde el día 9 hasta el día 22 p.p.
7	Desde el día 23 hasta el día 35 p.p.
8	Desde el día 36 p.p. hasta el día 75 p.p.
9	Desde el día 75 p.p. hasta el día 100 p.p.

3.5.3. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

La sangre analizada fue recogida mediante punción en la vena coccígea empleando para ello agujas estériles 18 G y dispensadas en dos tipos de tubos de plástico (Vacutainer®): sin anticoagulante, para la obtención de suero, y con EDTA como anticoagulante para la determinación hematológica.

Tras ello, las muestras fueron refrigeradas y trasladadas al laboratorio.



En él, las muestras fueron centrifugadas a 2500 r.p.m. durante 20 minutos en una centrífuga refrigerada (Kubota 2700, Kubota Corporation, Tokio) y desueradas. El suero obtenido fue distribuido en alícuotas de tubos Eppendorf con la correspondiente identificación. Tras este proceso se congelaron las alícuotas a -20ºC hasta su posterior análisis.

El procedimiento empleado para este experimental fue realizado de acuerdo a la normativa nacional referente al empleo de animales en estudios de experimentación animal de acuerdo al Real Decreto 1201/2005 sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos (BOE nº 252 de 21 de octubre de 2005).

3.6. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.6.1. COMPOSICIÓN FISICO-QUÍMICA DE LA RACIÓN

Se recogieron muestras de las raciones empleadas y se remitieron al laboratorio situado en el Instituto de Ganadería de Montaña (IGM) dependiente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y la Universidad de León y que está ubicado en la localidad de Grulleros (León).

La determinación de los niveles de FAD y FND se realizó siguiendo el método descrito por Van Soest *et ál.* (1991). Para la determinación de los niveles de extracto etéreo (EE, directiva 98/64/EEC) y cenizas (directiva 81/680/EEC) se emplearon los métodos estándar aconsejados por la Unión Europea. La determinación del contenido de proteína bruta en el pienso se realizó utilizando el método estándar francés (Dumas, N x 6.25: Association Française de Normalisation NF V18-120).

> La determinación de *proteína bruta* (PB) de la ración nos aporta información acerca del contenido en proteína de los piensos a partir del contenido en nitrógeno.
>
> Las *cenizas* aportan información relativa al contenido en elementos esenciales (mayores y traza) y no esenciales.

La cuantificación de la *fibra neutro detergente* (FND) aporta información acerca del contenido en hemicelulosa, celulosa. El mínimo de FND recomendado en las raciones está entre el 25-30% (sobre MS). La *fibra ácido detergente* (FAD) da idea de la cantidad de celulosa, lignina y cutina que contiene la ración. Cuanto mayor sea la fibra de un alimento menor será su digestibilidad, de modo que a mayores niveles de FND menor valor nutritivo, aunque esto está matizado por la propia calidad de la fibra.

El *extracto etéreo* (EE) informa acerca del contenido en materias grasas brutas.

Las *unidades forrajeras de leche* (UFL) orienta sobre la concentración energética de la ración aportada y que la vaca lechera requiere para poder alcanzar una buena producción. El sistema americano (NRC) la expresa en *energía neta leche* (ENL) con la siguiente equivalencia:

1 UFL = 1.730 kcal de ENL = 1,73 Mcal de ENL

La *proteína digestible* (PD): nos informa de la proteína digerida por los animales. La digestibilidad de la proteína varía entre el 45 y el 85% en función del contenido en fibra del alimento. La PD se expresa en gramos por kg de alimento.

PDIE: proteína digestible a nivel intestinal procedente de la energía. Es la suma de la PD alimentaria, más toda la proteína microbiana que podría ser formada si toda la energía disponible para los microorganismos del rumen pudiese ser utilizada para su crecimiento, para ello el aporte de nitrógeno no puede ser limitante.

PDIN: proteína digestible a nivel intestinal procedente del nitrógeno. Es la suma de la PD procedente de los alimentos, más toda la proteína microbiana que podría formarse si todo el nitrógeno liberado en el rumen fuese convertido en proteína, para lo que la energía no podría ser limitante

Cuando se combinan varios alimentos en la ración se suman todos los valores de PDIN y PDIE para obtener el valor global de los mismos. Si el valor de PDIE excede al de PDIN se podría suministar nitrógeno no proteico (NNP) para hacer uso del exceso de energía disponible, y que este fuera

transformado en proteína microbiana, No obstante, en animales de alta producción lechera no se suele añadir urea a las raciones, y en todo caso si se realiza esta adición no debe superar nunca el 1% de la ración total, ya que niveles superiores resultan tóxicos.

Si por el contrario PDIN excede a PDIE se debería equilibrar mejor la dieta añadiendo más energía o retirando compuestos nitrogenados. Pero sin duda lo mejor es que las raciones sean lo más equilibradas posibles en PDIE y PDIN, presentando unos valores lo más igualados posible.

3.6.2. PARÁMETROS PRODUCTIVOS

La estimación de la condición corporal fue efectuada siempre en los días de muestreo y siempre por la misma persona, clasificando a los animales de acuerdo a los criterios señalados en el apartado de Revisión Bibliográfica (Radostits *et al.*, 2006; Bradford-Smith, 2010; Kellogg, 2013).

En nuestro caso empleamos un índice en una escala de 1-5 (Houghton et al., 1990)

De los animales incluidos en el experimento, se obtuvieron los registros productivos oficiales, incluidos dentro do *Programa de Mellora Gandeira de Galicia* (PMGG), programa auspiciado por la Dirección Xeral de Producción, Industrias e Calidade Agroalimentaria, dependiente de la Conselleria do Medio Rural da Xunta de Galicia.

Este programa registra objetiva y sistemáticamente la producción y la calidad de la leche de las hembras de raza frisona de las explotaciones gallegas que colaboran con el programa a fin de estimar el valor genético de la población.

El control lechero recoge de cada vaca los siguientes datos:

- *Producción*: kg de leche.
- *Calidad*: porcentajes de grasa, proteína y lactosa y recuento de células somáticas (RCS).

La recogida mensual de las muestra fue realizada por la empresa Asociacións de Criadores de Frisón para o Control de Rendementos (AFRICOR) de Lugo, legalmente autorizada, la cual anotaba las

producciones del día, de los animales previamente identificados con el código de explotación agraria (CEA), código de identificación bovina (CIB) y el nombre del animal, y la fecha del parto.

Además, para cada animal, se controlaba el número de lactaciones, y el número de controles, aportando también los resultados del control anterior, tanto individual como el acumulado, lo cual ayudaba no sólo a identificar perfectamente al animal, sino que también a conocer su productividad a lo largo de la lactación en curso.

La muestra de leche, así obtenida, era remitida Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (Ligal), que mediante técnicas oficiales, basadas en técnicas de espectroscopia molecular, determinaron la composición fisicoquímica de la leche entera o cruda(grasa, proteínas y extracto seco por espectroscopia infrarroja) así como el número de células somáticas presentes en la leche (por citometría de flujo). Todas las técnicas poseen, para garantizar su fiabilidad y validez, su correspondiente acreditación (Acreditación nº 99/LE 267, Anexo Técnico Rev. 13, con fecha 08/06/12).

De los valores de grasa y proteína se calcularon los cocientes grasa/proteína, también conocidos como *índice de cetosis*.

Dado que el Control lechero se efectúa con periodicidad mensual, los datos productivos anteriormente señalados tienen una temporalización diferente a la de la recogida de sangre, siendo de la siguiente manera:

Número de Control Lechero	Periodo al que corresponde
CL-1	1 mes post-parto
CL-2	2 mes post-parto
CL-3	3 mes post-parto
CL-4	4 mes post-parto

3.6.3. PARÁMETROS SANGUÍNEOS

Bioquímica



Los parámetros que se describen a continuación fueron cuantificados mediante el equipo de diagnóstico Clima MC-15 (RAL, Técnica para el Laboratorio, Barcelona), diseñado para la determinación de la pruebas bioquímicas *in vitro*. Se trata de un espectrofotómetro capaz de efectuar las lecturas de las muestras y procesarlas en base a programas con parámetros introducidos por el mismo usuario. Posee un campo espectral entre 320 y 680 nm.



Parámetros relacionados con el metabolismo energético.

Glucosa

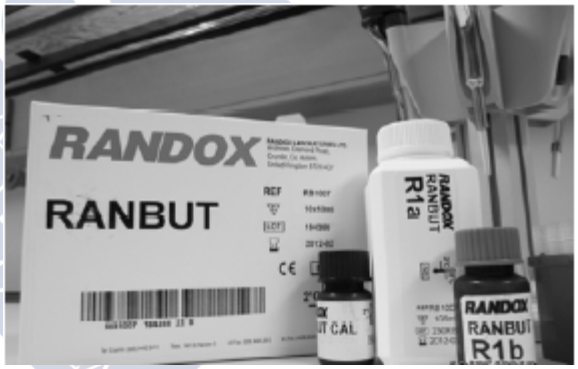
Para su determinación se ha empleado un kit que emplea un método enzimático-colorimétrico estandarizado de la línea de diagnóstico *in vitro* Gernon y fabricado por RAL, S.A. (España). El principio de este método se basa en la reacción de Trinder: oxidación enzimática por medio de la enzima *glucosa oxidasa*, generando H_2O_2 que



reacciona con peroxidasa produciendo quinoaimina, cuya absorbancia (a 500 nm) es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Ácidos grasos no esterificados (NEFA): en su determinación utilizamos un método colorimétrico suministrado por los Laboratorios Wako Chemicals GmbH (Alemania). Esta técnica está basada en una primera reacción de los ácidos grasos libres contenidos en la muestra con ATP y coenzima A y catalizada por la enzima *acilCoA sintetasa* formando acilCoA. Este compuesto es oxidado por la *acilCoA oxidasa* formando H_2O_2, el cual se valora al reaccionar con 3-metil-N-etil-N-(ß-hidroxietil)-anilina formando un producto final púrpura. Finalmente se realiza la lectura de la absorbancia a 546 nm.

ß-Hidroxibutirato (ß-OH): para su determinación empleamos el método enzimático estandarizado por los laboratorios Randox (Reino Unido), y que determina los niveles de D-3-hidroxibutirato (D-3-OHB) en suero. Este método se basa en la oxidación del (D-3-OHB) a acetoacetato por acción de la enzima 3-hidroxibutirato deshidrogenada. Concomitante a esta reacción el cofactor NAD+ es reducido a NADH.

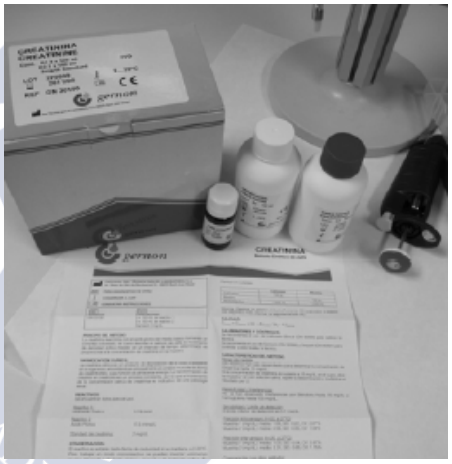


Este cambio de absorbancia, registrado por el espectrofotómetro está directamente correlacionado con la concentración de ß-hidroxibutirato contenido en la muestra. La lectura de las absorbancias se realiza a una longitud de onda de 340 nm.

Parámetros relacionados con el metabolismo proteico.



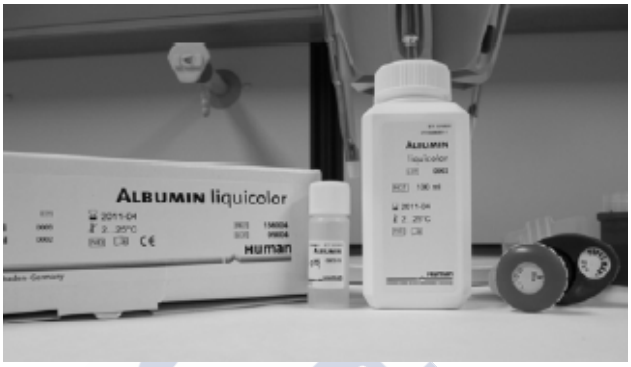
Urea: Su determinación se basa en un kit enzimático estandarizado de la línea de diagnóstico *in vitro* Gernon y fabricado por RAL, S.A. (España). Este kit determina cuantitativamente la concentración de urea en suero mediante el método ureasa GLDH. La disminución de la concentración de NADH es proporcional a la concentración de urea en la muestra y es medida a 340 nm.



Creatinina: para su determinación se ha empleado un kit que emplea un método cinético estandarizado de la línea de diagnóstico in vitro Gernon y fabricado por RAL, S.A. (España). El principio de este método se basa en la reacción de la creatinina con el ácido píprico, obteniéndose como producto final un complejo creatinina-picrato. Medimos la absorbancia de este complejo a una longitud de onda de 500 nm.

Proteínas totales séricas: su determinación también se basa en un kit enzimático-colorimétrico de los Laboratorios Human H® (Alemania), fundamentado en la reacción que sufren los iones de cobre con las proteínas en un medio alcalino que da lugar a un complejo de color violeta. La absorbancia de este complejo (a 546 nm) es proporcional a la concentración de proteína en la sangre.

Albúmina: para su determinación se ha empleado un kit colorimétrico suministrado por los Laboratorios HumanH (Alemania). Esta técnica se basa en la reacción del verde bromocresol con la albúmina en tampón citrato, en la cual se forma un complejo coloreado. A continuación se mide la absorbancia de este complejo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 546 nm.



Globulinas: Se calcularon mediante la diferencia entre los valores obtenidos en las Proteinas totales sericas y los valores de albúmina.

Cociente A/G: Surge de la división entre los valores de albúmina y globulinas.

Enzimología clínica



Aspartato Aminotransferasa (AST): al igual que en el caso de la γ-GT, para la determinación de la ASAT empleamos un kit estandarizado, incluido en la línea de diagnóstico in vitro Gernon y fabricado por RAL, S.A. (España), y que consiste en un test cinético ultravioleta basado en la transformación de oxoglutarato y L-aspartato en oxalacetato y glutamato.

Las absorbancias se miden a una longitud de onda de 340 nm.

Gamma Glutamil Transferasa (γ-GT): para la determinación de esta enzima empleamos un kit de los laboratorios Spinreact (España), basado en un método cinético que se basa en la transferencia de un grupo γ-glutamilo de la γ-glutamil-p-nitroanilida al dipéptido aceptor glicilglicina. La velocidad de formación del producto final (ácido 5-amino-2-nitrobenzoico) es proporcional a la concentración catalítica de γ-GT en la muestra ensayada.

La medición de las absorbancias se realiza a una longitud de onda de 405 nm.

Creatin Kinasa (CK): Empleamos un kit enzimático estandarizado, incluido en la línea de diagnóstico *in vitro* Gernon y fabricado por RAL, S.A. (España). En él, el reactivo CK-NAC de Gernon determina la actividad CK-NAC en suero. Su actividad en la muestra es directamente proporcional a la formación de NADPH que es medida a 340 nm.



Hematología



Las lecturas de los parámetros hematológicos señalados en la presente memoria se hicieron sobre la sangre recogida en tubos con EDTA y empleando un autoanalizador hematológico (MEK-6450) de la casa Nihon Kohden (Japón). Entre sus principales características destaca su diseño multicanal, lo que permite adaptarlo a diferentes especies animales, entre las que se incluye el bovino.

La determinación de los glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas fueron determinados mediante el método de detección por resistencia eléctrica. Los valores de hemoglobina fueron determinados mediante espectrofotometría, midiendo la densidad óptica de la muestra. El hematocrito es calculado por el procesador a raiz de los valores obtenidos en el contaje eritrocitario.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados analíticos obtenidos se procesaron empleando el programa estadístico IBM SPSS Statistics 20 para Windows, licencia concedida a la Universidad de Santiago de Compostela.

Tras verificar al distribución normal de los datos, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, los datos fueron analizados empleando el Método Lineal General (MLG), dentro del cual se utilizó el Análisis de Varianza (ANOVA) de medidas repetidas, en el cual el factor fijo principal considerado fue la granja (*diseño entre sujetos*), y el día del muestreo (*diseño intra sujetos*) como medida repetida. Para los parámetros sanguíneos, se consideraron 10 tomas (una de las cuales correspondía al grupo control), y con relación a los parámetros productivos, el número de tomas fue de 5, una de las cuales fue el grupo control.

El nivel de significación fue considerado para una probabilidad (P) menor o igual al 5 % ($P \leq 0,05$); aquellas probabilidades superiores al 5% e inferiores o iguales al 10% ($0,05 < P \leq 0,1$) fueron consideradas como tendentes a la significación, y por último, las probabilidades superiores al 10% ($P > 0,1$) fueron consideradas como no significativas.

4.1. PARÁMETROS PRODUCTIVOS

4.1.1. CONDICIÓN CORPORAL

Los valores medios para cada explotación fueron de 3.24±0.052 para la explotación situada en Palas de Rey (GR-A) y de 3.21±0.053 para la de Monterroso (GR-B).

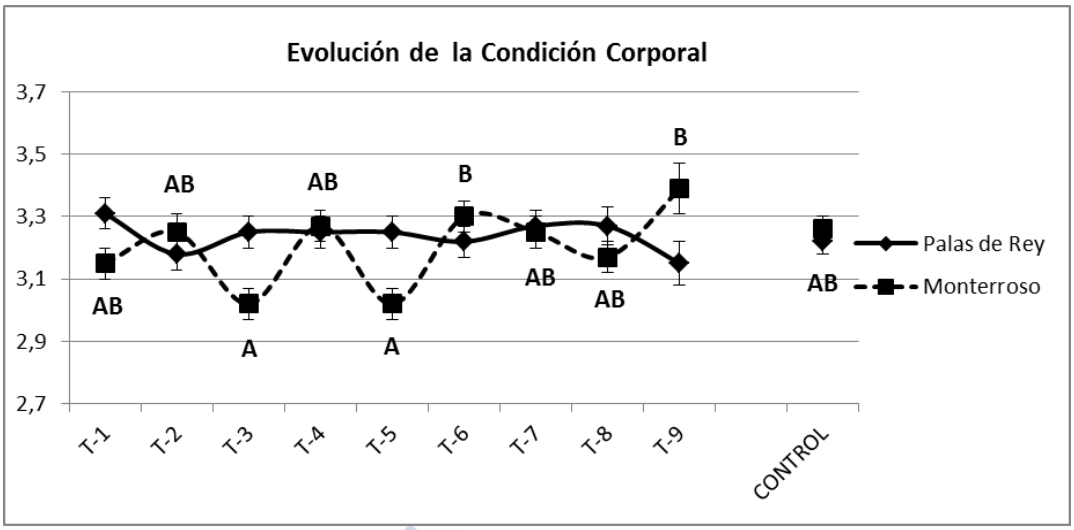
Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una tendencia hacia la significación por parte del efecto toma, y una marcada significación ($P<0.05$) en lo que respecta a la interacción entre los dos factores considerados.

	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	0.243	0.055	0.04

Al analizar gráficamente los resultados a lo largo del estudio encontramos que para la explotación de Palas de Rey no hubo diferencias significativas entre tomas (señal de estabilidad), al contrario de lo que aconteció en la de Monterroso, donde se detectaron fluctuaciones significativas en lo que respecta a la CC.

> Así, y centrándonos en esta última, hay varios momentos destacados: 1) las tomas 3 y 5 (correspondientes al intervalo 22-9 días a.p.; y 1 a 8 pp, respectivamente) que ofrecen los menores índices de CC (3.02); 2) las tomas 6 y 9 (correspondientes al intervalo 9-22 pp y 75 a 100 pp, respectivamente) con los mayores (3.30 y 3.4 para cada una) y 3) las demas fases de estudio que forman una población intermedia, con valores que oscilan entre 3.15 y 3.27.

Es interesante destacar que los animales considerados como controles (CTRL) para cada explotación mantuvieron índices CC similares entre sí (3.22±0.04 para Palas de Rey; 3.26±0.04 para Monterroso), valores éstos que pueden ser considerados como óptimos y que nos indican que para un estado que podríamos llamar basal, tanto las raciones como el manejo fueron apropiados.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Si hay que señalar que a pesar de las fluctuaciones que hemos apreciado, en ningún momento nos hemos encontrado con animales que presenten una CC menor de 2.5 (indicativo de desnutrición) ni por encima de 4 (señal de sobrenutrición).

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada y los rangos de CC ideales para cada estadío fisiológico recogidos por Kellogg (2013), podemos señalar que todas las hembras de nuestro estudio alcanzaron el momento del parto (justo antes de la T-5) con índices CC ligeramente inferiores al 3.5-4.0 recomendados por el autor.

> Dentro de esta situación fueron las vacas de la granja situada en Monterroso las que a su vez llegaron con los menores índices.

Al mes posterior al parto (T-7) todas las vacas presentan índices CC superiores a los 2.5-3.0 recomendados por Kellogg (2013) para este preciso momento, con 3.27±0.05 para la GR-A, y 3.25±0.05 para la GR-B. Sólo al alcanzar la curva de lactación (T-9) encontramos que la granja de Monterroso alcanza valores que quedarían encuadrados dentro de los rangos recomendados (3.25-3.7), quedándose por debajo la de Palas de Rey (3.15±0.09).

Estos datos para lactación distan mucho de los señalados por Buttchereit *et al.* (2011), quien señala desde el día 11 hasta el día 180 de producción un índice corporal próximo a 2.95.

> De acuerdo pues a este autor, todas las vacas de nuestro estudios mostraron índices de CC que podrían ser consideradas como indicativas de sobrenutrición. Por el contrario, la mayoría de los autores consultados indican que a medida que avanza la lactación y disminuye la producción de leche, la CC va incrementándose.

De todos los valores analizados y la evolución de los mismos, destacamos las fluctuaciones en la CC en la granja tipo B, representada por Monterroso y la relativa estabilidad en la condición corporal de las vacas situadas en la explotación de tipo A.

> Destacamos sobre todo los momentos en los que la CC disminuye: la T-3 y T-5. Es evidente que las necesidades que entraña el final de la preñez y el inicio de la lactación obliga a la madre a movilizar sus reservas para obtener la energía necesaria, en detrimento de su CC.

Teniendo en cuenta las interpretaciones clínicas que tiene la medición de la CC: 1) indicador del estado nutricional de la vaca (Correa y Uribe, 2010); 2) método subjetivo para evaluar las reservas energéticas en vacas lecheras (Edmonson *et al.*, 1989); 3) evidencia clínica de la movilización de la grasa del animal para compensar un estado de BEN (Buttchereit *et al.*, 2001; López y Alvarez, 2005), es evidente que las fluctuaciones mostradas por las vacas sitas en Monterroso se debieron a una ración variable con repercusiones evidentes en su estado de carnes. Aunque no podemos hablar de desnutrición, creemos que tales fluctuaciones podrían tener repercusiones en el medio interno y el estado productivo del animal, siendo especialmente relevantes en la fase final de gestación.

> De hecho, es la EXP-B la que manifiesta estas fluctuaciones, al contrario de lo que acontece en la EXP-A, y que para Hanus *et al.* (2011) es un signo temprano de cetosis.

De las posibles causas señaladas por Bradford-Smith (2010) susceptibles de causar este descenso en la CC en un momento tan delicado nos decantamos por la ingestión inadecuada de energía y proteína.

> La calidad del alimento, principalmente de los forrajes como el heno y el pasto, es un factor importante. Para Bradford-Smith (2010) es evidente que cuanto menor sea la calidad del forraje (digestibilidad) menor es la ingesta diaria máxima, ya que el alimento de mala calidad debe permanecer en el rumen durante un periodo de tiempo mayor antes de que la digestión sea suficiente como para permitir el paso por el orificio retículo-omasal. Con frecuencia, los forrajes de mala calidad se traducen en un descenso de la CC.

En lactación, López (2006) señala que la condición corporal sirve además para determinar la cantidad y tipo de suplemento que requiere la vaca durante dicha fase. Tras la recuperación de los animales a partir del momento del parto, volvemos a observar rangos de CC que podríamos considerar óptimos -aunque ligeramente superiores a los 3.0 recomendados por Kellog (2013) para este preciso periodo-, lo que nos indica que tanto las raciones como el manejo fueron apropiados. Las fluctuaciones que podemos apreciar en esta fase, y que no se alejan del rango óptimo pueden atribuirse a los desajustes propios del estadío fisiológico pero controlables por el propio animal.

> De hecho, los animales llegan al pico de lactación con valores que van desde los 3.15 para Palas de Rey, a los 3.40 para Monterroso.

De todo esto podemos concluir que a tenor del estudio de la CC a lo largo del experimental, las vacas de la explotación tipo B muestran que el modelo nutricional seguido fluctúa mucho, suponiendo un riesgo para el estado de salud del animal tras el parto. Es preferible en estos casos, el establecimiento de protocolos que permitan al animal mantener una CC menos fluctuante y que le capacite para afrontar sin riesgo alguno los cambios fisiológicos que tienen lugar.

4.1.2. PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE LA LECHE

4.1.2.A. LITROS DE LECHE

Los valores medios para cada explotación fueron de 18.9±0.63 Kg para la explotación situada en Palas de Rey (GR-A) y de 25.7±1.3 Kg para la de Monterroso (GR-B).

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada significación (P<0.05) en lo que respecta a todos los factores considerados. Esto nos indica la existencia de diferencias entre las diferentes tomas dentro de una misma explotación y entre las explotaciones.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	P<0.001	P<0.001

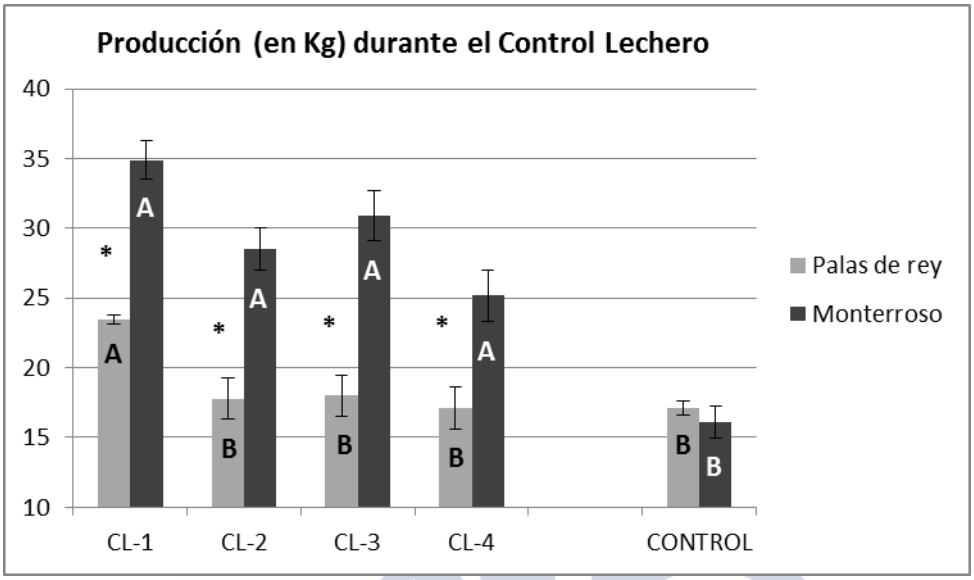
Al analizar gráficamente los resultados se ven claramente dichas diferencias, y de nuevo nos volvemos a encontrar con fluctuaciones marcadas en lo que respecta a la producción en la granja tipo-B. A pesar de ello, durante todo el Control Lechero (en adelante, CL) esta explotación mantuvo siempre niveles significativamente superiores a los de la granja tipo-A.

Las vacas que fueron consideradas CTRL para ambas explotaciones, de nuevo vuelven a presentar valores similares (17.11±0.5 para Palas de Rey, y 16.11±1.15 para Monterroso).

> En términos productivos, parece ser que las diferencias entre los modelos de explotaciones se hacen visibles cuando llega el periodo de lactación, no así en un estado que consideramos basal.

Conectando estos valores con los aportados por la CC anteriormente señalada, encontrábamos que las vacas del modelo tipo B presentaban justo tras el parto una merma, sugestiva del padecimiento de un estado de cetosis (Hanus *et al.*, 2011) e incluso acidosis ruminal subaguda (Oetzel, 2007). Sin embargo al valorar los resultados obtenidos en el primer CL no apreciamos

que la producción se haya resentido, y que se vería afectada negativamente en caso de aparecer esta dismetabolía. Esto nos sugiere que los propios animales fueron capaces de compensar *per se* esta situación a costa de perder condición corporal, sin merma en la producción tal y como se aprecia en los posteriores controles.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

El factor racial (Pardo Alpina vs. Frisona) podría explicar la mayor producción de leche una vez puestos en marcha los mecanismos endocrinos que favorecen esta situación. Aun así, no debemos descartar que los bajos índices de producción lechera registrados en la explotación de Palas de Rey puedan obedecer a un deficiente manejo nutricional (Nauta, 2006) en el que la energía aportada fue escasa (Padel, 2000).

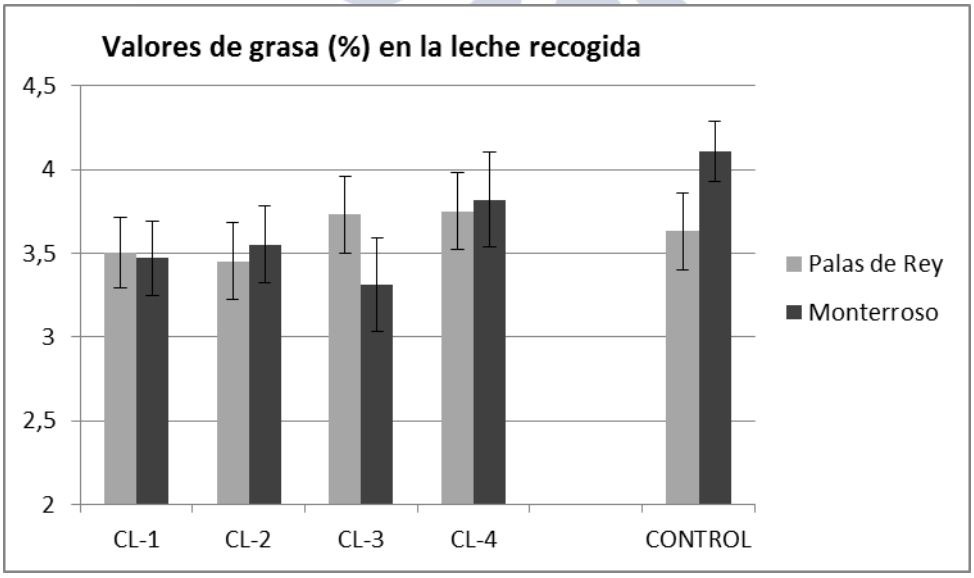
4.1.2.B. CONTENIDO EN GRASA

Los valores medios para cada explotación fueron de 3.61±0.10 % para la explotación situada en Palas de Rey (GR-A) y de 3.72±0.11 % para la de Monterroso (GR-B).

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica la ausencia de diferencias significativas entre ambos modelos de explotación y y a lo largo del tiempo de estudio.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.797	0.269	0.424

La representación gráfica de la evolución del porcentaje de grasa en la leche y en ambas explotaciones ilustra claramente lo anteriormente señalado. Ni siquiera las diferencias aparecieron cuando las vacas estaban en estado basal (CTRL), aportando porcentajes de grasa que oscilan entre el 3.63±0.23% para la explotación de Palas de Rey (Tipo-A) y el 4.11±0.18% para la explotación de Monterroso (Tipo-B).



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Normalmente, la grasa (o lípido) constituye desde el 3,5 hasta el 6,0% de la leche, variando entre razas de vacas y con las prácticas de alimentación. A pesar de la creciente importancia económica y sociológica de los alimentos ecológicos, son pocos los estudios científicos realizados sobre los mismos y, por lo tanto, escasos los datos contrastados que caracterizan la calidad de

estos productos con respecto a los de producción convencional (Rodriguez *et al.*, 2010).

Nuestros resultados están próximos a los aportados por Toledo-Alonzo (2003) para sistemas de ganado ecológico suecos. En su estudio registra valores medios de grasa en leche en torno al 4-4.5%, que considera inferiores a los valores de grasa propios de los sistemas convencionales. Varias pueden ser las razones de estos menores niveles: 1) la raza empleada para tal fin (Lund, 1991) lo que explicaría por qué las vacas de la explotación A (Pardo Alpina) presentaron con frecuencia menores porcentajes que las vacas de la explotación B (Frisona); aunque sin diferencias significativas; 2) la restricción en el consumo de concentrado propio de estos sistemas y que afecta al aporte de energía de la ración y, por ende, al contenido graso de la leche (Nauta, 2006).

> En nuestra opinión, probablemente este segundo punto es el que haya determinado más los valores de grasa registrados en la explotación A, y no tanto el primero, ya que en realidad la energía de la ración (concentrado) afecta a la producción láctea, las raciones con menos energía llevan a menor producción pero mayor porcentaje de grasa, al disminuir el concentrado y aumentar la fibra conlleva a un aumento del acético en el rumen lo cual se traduce en un incremento de la grasa láctea.

Por otro lado, nuestro estudio señala valores que se acercan bastante a los aportados por explotaciones de vacuno lechero orgánico estadounidenses, tal y como señala Bishop (2007).

Conectando los resultados del contenido en grasa, la producción lechera y la CC, parece cada vez más evidente que el descenso en la CC apreciado en las vacas de la GR-B no repercutió, desde un punto de vista productivo ni en la cantidad ni en la calidad de la leche. Asimismo, es llamativo que una explotación como la de Palas de Rey, con una menor producción mantenga unos niveles de grasa similares a los de la explotación de Monterroso, sugiriendo que la ración recibida sí aportaba los nutrientes específicos necesarios para la formación de la grasa láctea (mayor contenido fibroso). De hecho, aunque sin relevancia estadística, es interesante observar como las

vacas lactantes del estudio de Palas de Rey presentan mayores porcentajes de grasa que las del lote CTRL; al contrario de lo que acontece con las vacas de Monterroso.

Es evidente que tal y como señalara Blocksma *et al*. (2008) el manejo, en términos de factor humano, condiciona y mucho, tanto la cantidad como la calidad del producto final.

4.1.2.C. PROTEÍNAS

Los valores medios para cada explotación fueron de 3.14±0.05 % para la explotación situada en Palas de Rey (GR-A) y de 2.95±0.04 % para la de Monterroso (GR-B).

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica diferencias estadísticas entre tomas dentro de una misma explotación.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	0.005	0.183

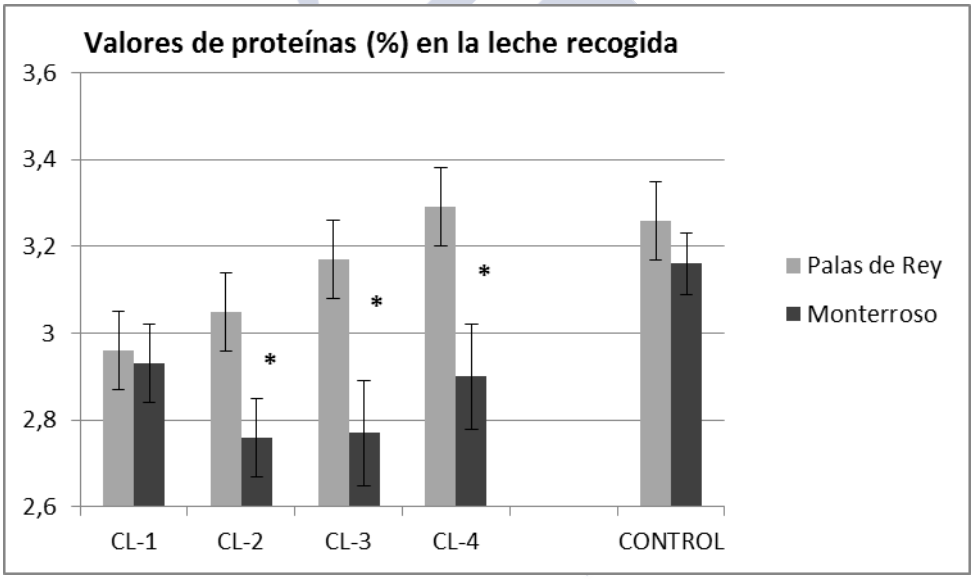
Los valores medios aportados por los animales CTRL de cada granja fueron muy similares desde el punto de vista estadístico, oscilando desde 3.16±0.07 % para la granja de Monterroso hasta 3.26±0.09 % para la de Palas de Rey.

La representación gráfica de los resultados muestra hechos muy claros: mientras que la explotación de Palas de Rey mantiene un ritmo ascendente en lo que respecta al contenido proteico desde el primer CL (desde 2.96±0.09 para CL-1 hasta 3.29±0.09 para CL-4), Monterroso arranca con valores similares a los de Palas (2.93±0.09 para CL-1) pero desciende a continuación no llegando a superar al final del periodo de estudio los porcentajes alcanzados al inicio del mismo. Asimismo, los valores de proteínas

registrados durante todo el CL en Monterroso nunca llegan a superar el porcentaje registrado en las hembras controles.

Sabemos que la concentración de proteína en la leche varía de 3.0 a 4.0% y que este porcentaje depende de la raza y de la cantidad de grasa producida - cuanta más grasa, más proteína (Manrique *et al*., 2006) pero en realidad la grasa depende de la fibra y la proteína de la energía de la ración. El estudio de nuestros datos revela que sólo la explotación de tipo-A ofrece porcentajes que se incluirían en un rango aceptable para la leche de vaca.

> Para esta explotación, los valores alcanzados durante el estudio, así como en los animales del lote CTRL estarían englobados en los rangos señalados por varios autores (Toledo-Alonzo, 2003; Butler *et al*., 2011; Hanus *et al*., 2011) para régimen ecológico.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Por el contrario, la exploración de Monterroso que como vimos en el apartado anterior era la que más porcentaje de grasa tenía, es ahora la que menor porcentaje de proteína presenta. Estos bajos niveles proteicos en ganado frisón ya fue registrado por Rodríguez *et al.* (2010) en ganado ecológico de Asturias. La discrepancia encontrada entre la proporción

grasa/proteína nos hace dudar realmente de cuál es el origen de esa grasa en la leche de las vacas de la explotación B

De forma generalizada, creemos que esta diferencia en el contenido creemos que es fruto, tal y como señalara Toledo-Alonzo (2003) de los diferentes sistemas de manejo (incluyendo la nutrición) a la que se someten las diferentes explotaciones, no pudiendo marcar una norma general.

> Creemos que un escaso aporte de fuentes ricas en proteínas podría ser una causa probable de este menor nivel para la granja de Monterroso. Hecho que se solventa con un buen ajuste nutricional, tal y como señalara Padel (2000).
>
> Si bien la ración de Monterroso es más rica en PB, el problema es que no sabemos el contenido en proteína del forraje pastable, en el cual puede haber mucha variación dependiendo de la composición botánica, nivel de fertilización orgánica, encalado, tipo de suelo, humedad del suelo, manejo y cuidado de los pastos, etc
>
> Creemos que hay un mayor aporte de energía en la ración de Palas lo que explica el mayor contenido en proteina, pero no explica que haya menos producción de leche a no ser que dicha producción se vea limitada por la genética de la raza Pardo Alpina, la cual es menos productora que la Frisona.
>
> Otra cuestión a tener en cuenta es que la explotación de Monterroso, que recibe una ración más rica en energía y en proteína, tiene menos proteína láctea. Puede ser debido a que al ser una explotación de mayor producción láctea precisa más energía, con lo cual deriva parte de los aminoácidos hacia la neoglucogenesis para proporcionar suficiente glucosa a la ubre para la síntesis de lactosa que es la que marca el nivel de producción láctea lo cual viene condicionado por la genética de la raza frisona.

Considerando los niveles de proteínas en leche en un contexto clínico, una buena producción de proteína láctea es indicativo de un correcto balance nutricional. La merma en el porcentaje de proteína ha sido relacionada con la presencia de un BEN en este periodo (Hanus *et al.,* 2011), hecho que sólo puede confirmarse al estudiar el balance energético de las vacas de Monterroso, que es donde hubo más casos de cetosis.

> Es interesante observar que tras el parto estas hembras presentaron una merma en la CC en la primera semana, recuperándose a continuación. Cuando se obtienen los

valores del CL-1 estas vacas tienen una elevada producción y niveles adecuados de grasa y proteína. Es en fechas posteriores cuando encontramos fluctuaciones, atribuibles al manejo nutricional y que claramente aparecen como inferiores en comparación con lo que consideraríamos como un estado basal (CTRL). Esto nos lleva a suponer que en este momento el medio interno del animal esté padeciendo ajustes metabólicos.

4.1.2.D. RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Los valores medios para cada explotación fueron de 834.7±298 x 10^3/ml para la explotación situada en Palas de Rey (GR-A) y de 123.2±74.7 x 10^3/ml para la de Monterroso (GR-B).

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica diferencias significativas ($P<0.05$) en lo que respecta al tipo de granja, pero ausencia de diferencias a lo largo de todo el CL, así como de la interacción entre ambos factores.

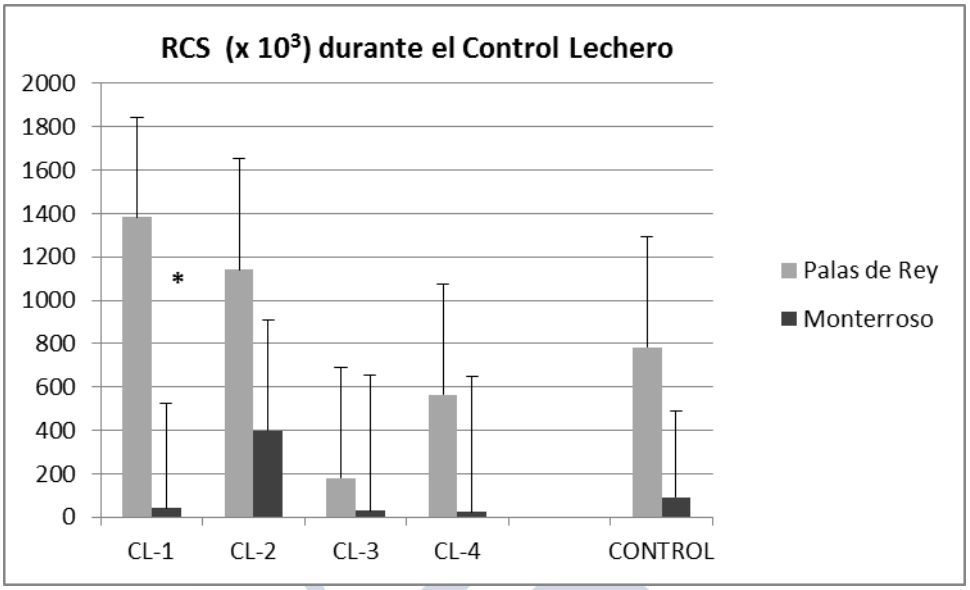
	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.037	0.694	0.840

Del estudio de los datos y de la evolución de los mismos a lo largo del CL se deduce que claramente son las hembras pertenecientes a la GR-A las que durante todo el CL muestran valores superiores. Es más, son las mismas hembras CTRL las que ya presentan diferencias (783.2±509.5 x 10^3/ml para Palas de Rey; 92.07±394.7 x 10^3/ml para Monterroso). Asimismo, la mayor diferencia entre granjas se observa en las primeras fases de lactación (CL-1) donde la explotación tipo A presenta un valor medio de 1384±460.8 x103/mL y la de tipo B, 39.8±483.4 x103/mL

Si es interesante destacar la gran variación individual observada en este parámetro, a tenor de los errores estándar que muestran las medias.

El contenido de células somáticas en la leche está directamente correlacionado con la salud de la ubre y tiene un marcado efecto sobre la

producción láctea, su composición y la estabilidad a la hora de ser procesada (Toledo-Alonzo, 2003).



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Los resultados nos indican claramente que la salud de la ubre estuvo seriamente comprometida en la explotación de Palas de Rey, no ya durante el CL, sino desde el estado basal representada por los animales del lote CTRL.

> Además se observa que el momento más crítico aparece al principio de la lactación (CL-1), descendiendo en los dos controles posteriores y elevándose en el último.

Estas fluctuaciones fueron también recogidas por Rodriguez *et al.* (2010), valorando las explotaciones ecológicas en Asturias. Para los investigadores, semejantes diferencias podrían relacionarse con una posible mayor incidencia de mamitis subclínica en dichas ganaderías y atribuible a la prohibición del uso de antibióticos como medida profiláctica.

Los valores alcanzados en Monterroso también responden a ese comportamiento fluctuante señalado antes, pero muestra menores contajes y que sólo pueden obedecer a las medidas de manejo adoptadas en dicha granja, hecho que ya ha sido constatado en diferentes estudios llevados a

cabo en este tipo de explotaciones (Vaarst y Bennedsgaard, 2001; Nauta *et al.*, 2006; Bloksma *et al.,* 2008).

> Hemos de señalar que en nuestro estudio pudimos comprobar como el manejo en el ordeño era mejor en Monterroso, así como la limpieza y estado de todas las instalaciones (cubículos, comederos, bebederos, sala de espera, sala de ordeño, etc)

4.1.2.E. INDICE DE CETOSIS O COCIENTE GRASA/PROTEINA DE LA LECHE (CG/P)

Los valores medios para cada explotación fueron de 1.15±0.03 para la explotación situada en Palas de Rey (GR-A) y de 1.26±0.03 para la de Monterroso (GR-B).

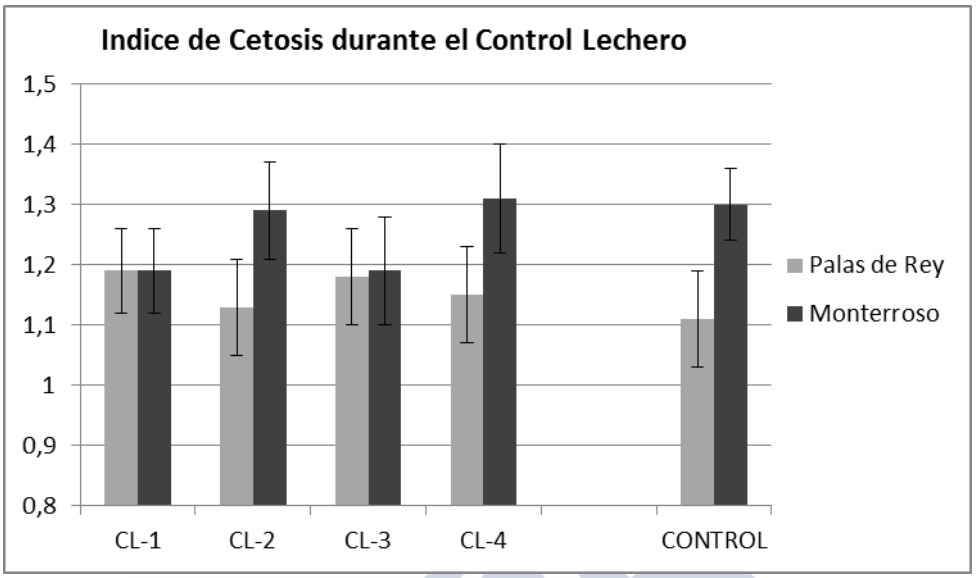
Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica tendencia a la significación (P<0.01) en lo que respecta al tipo de granja, pero ausencia de diferencias a lo largo de todo el control lechero, así como de la interacción entre ambos factores.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.031	0.981	0.599

Es interesante observar que los animales del lote control, para ambas explotaciones mostraron valores que tienden a ser diferentes desde un punto de vista estadístico, con los menores índices para la explotación de Palas de Rey (1.11±0.08) y los máximos para la de Monterroso (1.30±0.06).

> Comparando nuestros datos con los registrados en la bibliografía encontramos que las vacas del lote GR-B manejan índices que han sido considerados como indicativos de un riesgo de cetosis; valores que no se alcanzan en ningún momento en los individuos del lote GR-A. No obstante, estas diferencias sólo tienden a la significación, pero sí son sugerentes de problemas en cuanto al manejo nutricional (desde un punto de vista cualitativo) en la granja de Monterroso.

A la hora de valorar el significado de los índices de cetosis en leche vamos a considerarla como una herramienta de interpretación del estado nutricional del grupo de estudio (Oetzel, 2007; Buttchereit *et al.*, 2010; Hanus *et al.*, 2011).



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Para ganado vacuno de raza Holstein, Cejna y Chladek (2006), así como Hanus *et al.* (2011) proponen como aceptable un índice que oscila entre 1.05 y 1.18; ampliándose hasta 1.60 para razas mixtas y de doble aptitud.

> Para los autores estos valores harían alusión al estado de salud del animal y su capacidad de adaptarse a la nueva situación.

Es pues evidente que el índice CG/P nos muestra que las vacas de la explotación de Monterroso, a pesar de su mayor producción parece estar en un permanente riesgo de BEN durante toda la fase de lactación, con fluctuaciones en la CC, en el porcentaje de grasa y en el de proteínas lácteas que no hacen más que reflejar desequilibrios metabólicos –fruto del manejo nutricional-, susceptibles de desencadenar trastornos metabólicos como la cetosis.

> Este hecho incluso nos podría hacer pensar que los aportes de grasa en la leche de las vacas de Monterroso no son únicamente fruto de la raza y/o el tipo de nutrición

sino una respuesta por parte del animal ante el BEN de manera que se ven obligado a la movilización de ácidos grasos como fuente de energía, repercutiendo en la cantidad de grasa láctea…

A mayor producción láctea más riesgo de BEN con lo cual más riesgo de cetosis. En la cetosis se movilizan las reservas grasas con lo cual aumentan los NEFA en sangre, esto se traduce en un mayor aporte de ácidos grasa de cadena larga a la ubre, con lo cual mayor porcentaje graso de la leche.

Los resultados nos llevan a señalar que granjas ecológicas, similares al modelo descrito para la GR-B precisan de futuros estudios encaminados a estandarizar la ración que reciben con el fin de evitar las fluctuaciones apreciadas en la CC así como en los parámetros físico-químicos de la leche, indicadores del balance energético y del estado de salud del animal.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

4.2. PARÁMETROS SÉRICOS

4.2.1. METABOLISMO ENERGÉTICO

4.2.1.A. GLUCOSA

Los valores medios de glucosa sérico para todas las hembras de la GR-A fueron de 59.12±0.85 mg/dL y para las de la GR-B de 54.15±1.24 mg/dL. Se trata de valores que quedarían encuadrados, en términos genéricos, dentro de los aportados para la especie bovina por Radostits *et al.* (2006); Kaneko *et al.* (2008) o Bradford-Smith-Smith (2010). Considerando el sistema de explotación, son valores similares a los registrados por Razz y Clavero, 2004 para vacas mestizas en pastoreo; por Noro *et al.* (2006) o Durango *et al.* (2010) para vacas frisonas en régimen extensivo.

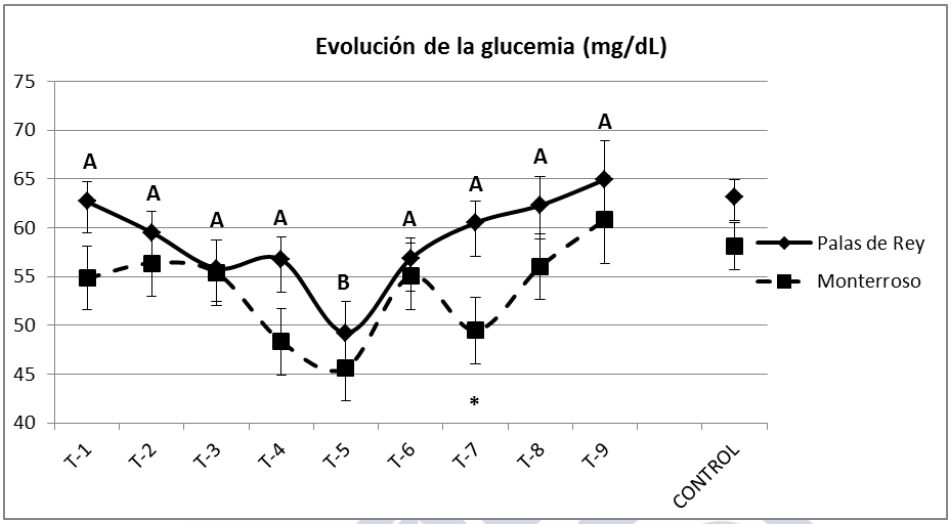
Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada influencia (P<0.001) del factor toma y el factor granja, pero no de la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	P<0.001	0.872

Las hembras del lote CTRL para ambas explotaciones presentan valores que no difieren estadísticamente, aunque las mayores glucemias fueron obtenidas por las vacas situadas en Palas de Rey (GR-A, 63.14±1.82 mg/dL) frente a las de Monterroso (GR-B, 58.12±2.40).

El análisis de los datos a lo largo de las distintas tomas nos muestra varios hechos relevantes: 1) durante todo el periodo de estudio las hembras de Palas de Rey presentaron glucemias superiores a las de Monterroso; 2) ambas explotaciones presentaron descensos en la glucemia en la T-5, correspondiente al post-parto temprano, siendo significativa respecto a las restantes fases para la GR-A, no así para la GR-B; 3) tras el parto tiene lugar una recuperación en la glucemia para ambas granjas, apareciendo

diferencias significativas en la T-7, correspondiente al primer mes de lactación y en la que las vacas de Palas de Rey mostraron concentraciones de glucosa en sangre significativamente superiores a las recogidas para Monterroso (60.51±2.20 mg/dL y 49.49±3.40 mg/dL, respectivamente) que a su vez manifiesta un descenso numérico en las concentraciones en comparación con la fase anterior.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Aunque el papel de la glucosa como marcador del metabolismo energético es cada vez más cuestionado (McNamara *et al*., 2003; Fall *et al*., 2008), no podemos dejar de lado la correlación positiva que presenta con el estatus energético del animal (Huntington, 1997). En base a ello es evidente que las hembras de la explotación de Palas de Rey gozaron durante todo el experimental de un mejor estado energético que las situadas en Monterroso.

Hay estudios que relacionan la glucemia con el nivel de concentrado en la ración, en el cual, cuando aumenta su cantidad, favorece el escape ruminal de la misma, facilitando así su absorción intestinal (Rodríguez *et al*., 2004).

Analizando la ración recibida por los animales observamos que la explotación de Palas de Rey recibió una ración con menor energía que la aportada por Monterroso (0.86 UFL/kg y 0.92 UFL/kg, respectivamente); sin embargo el porcentaje de MS ingerida con la ración fue mayor en Palas que en Monterroso (43.05% y 32.58%,

respectivamente). Desde el punto de vista cualitativo la GR-A consumió alimentos que contenían más precursores glucogénicos que los aportados por la GR-B, y que justificaría nuestros resultados.

No podemos descartar la posibilidad de que la explotación de Monterroso al ser de mayor producción láctea la ubre consuma más glucosa sanguínea y ello conlleve a ese nivel bajo de glucemia (Benedito, 1986; Benedito *et al*., 1998).

Otra causa que podría apoyar los mayores niveles de glucemia en las vacas de la GR-A, radicaría en el perfil de la explotación. Las vacas de Palas de Rey realizan desplazamientos más largos durante el día que las de Monterroso. Bruckmaier y Blum (1992) señalaron que el ejercicio físico genera incrementos en los niveles de hormona del crecimiento y disminuye los de insulina, lo que en última instancia repercute positivamente en la glucemia.

Durante la fase de secado (de T-1 a T-4) la glucemia de todas las vacas tiene un comportamiento descendente, coincidiendo con la disminución en el aporte de concentrado a la ración, con lo que el perfil y la cantidad de nutrientes absorbidos por el animal cambia (Kuhn *et al*., 2005).

De hecho, si durante esta etapa, se incorpora a la dieta cantidades importantes de cereales de forma repentina se desencadena un incremento en la flora bacteriana amilolítica como *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus spp*., y se produce una gran cantidad de ácido láctico (Reddy *et al.,* 2008).

Durante el posparto temprano, el pasar de un estado de preñez sin demanda productiva, a estar vacía y produciendo grandes cantidades de leche, exigen del animal una elevada capacidad de adaptación a sus nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas (Bachman y Schairer, 2003). Así el descenso en la glucemia inmediatamente tras el parto (T-5) no es más que la manifestación de los cambios endocrinos que tienen lugar en este momento y que afectan al metabolismo energético.

Por un lado disminuye la estimulación de las células beta del páncreas para liberar insulina (Holtenius *et al*., 2003) y por otro aumenta la captación intracelular de glucosa en la glándula mamaria (Zhao y Keating, 2007).

Además Duehlmeier *et al.* (2010) señalan que aunque la insulina no presenta efectos directos sobre lactogénesis, concentraciones bajas de ella en sangre genera una reducción en el consumo metabólico de glucosa por parte del tejido muscular y el tejido adiposo.

En definitiva, tal como ya señalaron Bell (1995) y Drackley (1999) en este momento las adaptaciones metabólicas de la hembra en el post-parto más reciente permiten a la glándula mamaria captar hasta el 97% de toda la energía suministrada con la ración. De ahí que sea muy fácil entrar en un estado de BEN si la ración no tiene en cuenta este escenario así como la producción.

Basándonos en ello, así como en el nivel de producción (recordemos más elevado en la granja de Monterroso) lo recomendable sería que la ración de las vacas proporcionase una mayor cantidad de energía en este momento; hecho que parece ser no es suficiente para las vacas de la GR-B.

Teniendo en cuenta la bibliografía consultada (Benedito, 1986; Benedito *et al.*, 1998). nos parece lógico que las vacas de esta explotación tuviesen mayores índices cetósicos así como una mayor propensión al padecimiento de problemas de infertilidad, tal y como recogemos en el Historial Clínico de la explotación.

Tras el parto y a lo largo de la curva de lactación, las hembras de la explotación A mantienen un progresivo incremento de la glucemia mientras que las de la explotación B manifiestan fluctuaciones (se puede pensar que las bajadas se corresponden con los casos de cetosis clínicas o subclínicas). En cualquier caso, al final del estudio (T-9) las glucemias se recuperan y llegan incluso a superar las recogidas al inicio de la fase de secado aunque sin diferencias significativas (62.68±2.0 mg/dL en T-1; 64.94±4.01 mg/dL en T-9 para Palas de Rey; 54.83±3.24 mg/dL en T-1; 60.83±4.39 mg/dL en T-9 para Monterroso).

4.2.1.B. ACIDOS GRASOS LIBRES (AGL) O NO ESTERIFICADOS

Los valores medios de AGL para todas las hembras de la GR-A fueron de 0.360±0.02 mmol/L y para las de la GR-B de 0.435±0.03 mmol/L. Se trata de

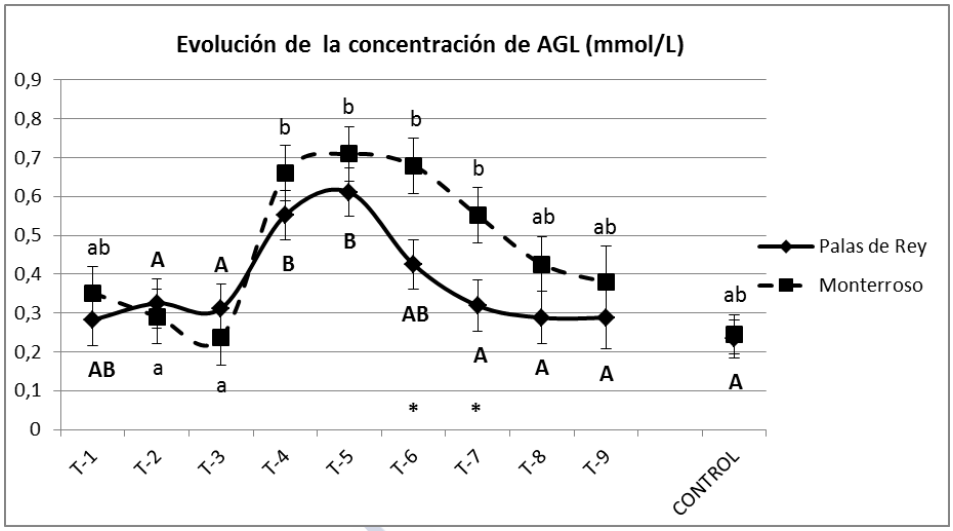
valores inferiores a los recogidos por Hernández *et al.*, (1997) para la Agrupación Racial Morenas del Noroeste, de condiciones de explotación similares a las de nuestro estudio. En términos estrictamente ecológicos, son superiores a los recogidos por Falls *et al.* (2008) o Blanco Penedo *et al.* (2012) y quienes aportan valores que no llegan a superar los 0.35 mmol/L.

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada influencia (P<0.001) del factor toma y el factor granja, pero no de la interacción entre ambos.

	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	P<0.001	P<0.001	0.245

Las hembras del lote CTRL para ambas explotaciones presentan concentraciones similares y sí que quedan encuadrados en los rangos señalados anteriormente para vacuno ecológico (0.234±0.05 mml/L y 0.244±0.05 mmol/L para las hembras de las explotaciones A y B, respectivamente).

La representación gráfica de los datos a lo largo de la experiencia (ver figura adjunta) nos muestra a partir de la T-2 una evolución paralela entre ambas explotaciones y en la que queda patente a partir de la T-4 (la semana previa al parto) que la explotación de Monterroso mostró las mayores concentraciones, alcanzando el pico máximo (0.709±0.07 mmol/L) en la T-5 y que corresponde con el inicio de la lactación (primera semana post-parto). Para esta explotación el intervalo comprendido entre la T-4 y la T-7, esto es, desde la semana previa al parto hasta el día 35 post-parto, constituye una etapa estadísticamente diferenciada de las restantes tomas y donde encontramos los máximos valores.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

A partir de este momento, comienza un progresivo descenso en las concentraciones de AGL hasta llegar a la curva de lactación (T-9) donde encontramos valores de 0.380±0.09 mml/L numéricamente superiores a los de las hembras CTRL-B aunque no diferentes desde el punto de vista estadístico.

En lo que respecta a la explotación sita en Palas de Rey, el comportamiento es similar al mostrado por la otra granja, aunque en este caso con valores inferiores. Para esta población la semana previa y posterior al parto (T-4 y T-5, respectivamente) constituyen los momentos más críticos y en los que aparecen las mayores concentraciones de AGL. A partir de entonces, comienza el progresivo descenso hasta llegar a la toma final (T-9) con valores estadísticamente similares a los del grupo CTRL-A

La significación clínica otorgada a los AGL varía en función del autor consultado, tal y como apreciamos en la Revisión Bibliográfica; en nuestro escenario, teniendo en cuenta la alimentación, el manejo y el sistema de explotación nuestros datos están en consonancia con la opinión vertida por Margolles (1983) para quien los AGL son la expresión periférica de la movilización de las reservas energéticas.

> Además, teniendo en cuenta la evolución de la glucemia en la fase de transición, precisamente los AGL nos proporcionan información acerca del estado metabólico del animal en situaciones de desequilibrios en el metabolismo lipídico o hidrocarbonado (Benedito, 1986; Benedito et al., 1998).

No obstante, dentro del contexto de ganadería ecológica, Adewuyi *et al.* (2006) y Fall *et al.* (2008) consideran que las concentraciones de AGL guardan relación inversa con la actividad física, de manera que a menor movimiento, más elevados los valores de AGL.

> Esta podría ser una causa que, a mayores, contribuyera a los altos niveles de AGL en la granja de Monterroso que tienen menos desplazamientos, aunque en nuestra opinión este parámetro está más condicionado por la alimentación. Ateniéndonos a los animales CTRL, podemos observar que, independientemente del tipo de explotación, ambos lotes muestran concentraciones similares.

Puesto que los valores de AGL, están sujetos a modificaciones derivados del estrés, con aumento de sus valores (Maianti *et al.*, 1990; Grandin, 1997; Uetake *et al.*, 2006; Falls *et al.*, 2008; Leroy *et al.*, 2009), no podemos tampoco minimizar el efecto que el estrés propio de la fase de transición haya podido tener sobre este parámetro. No descartamos tampoco el hecho de que las vacas en Palas estén sometidas a mayor estrés debido al manejo y la mayor actividad humana.

> Teniendo en cuenta la temporalización de los valores de AGL, este argumento podría ser aplicable más a la explotación de Palas de Rey (valores altos la última semana de preñez y primera de lactación) que a la de Monterroso.

En cualquier caso, los altos valores encontrados al principio de lactación coinciden con lo registrado también por Falls *et al.* (2008), y quien muestra concentraciones de hasta 0.6 mmol/L, y que se estabilizan a los 10 días, manteniéndose entre los 0.2-0.3 mmol/L.

> El incremento anteriormente mencionado está asociado básicamente a los cambios hormonales y el estrés asociado al final de la preñez y la reducción de la ingesta; tal y como señalaron estudios previos (McNamara *et al.*, 2003).

Para nosotros estas diferencias, independientemente de factores endocrinos propios del estado o incluso del tipo de explotación, obedecen básicamente a razones nutricionales y en concreto a las características de la dieta aportada para cada explotación.

> Hay que recordar que las vacas de Monterroso, con la mayor producción, eran quienes también presentaban los mayores porcentajes de grasa en la leche, llegando a atribuir ésta a un estado de lipomovilización que conducía al mayor aporte graso.

Es bien sabido que la fase de transición se caracteriza por el descenso en los valores de glucosa, tal y como pudimos apreciar; a consecuencia de ello tenemos un incremento en la actividad lipolítica que se refleja en el ascenso de los AGL encontrados en las T-4 y T-5. En el post-parto temprano, con la recuperación de la glucemia y el inicio de la producción lechera los altos niveles de GH en sangre actúan sobre el tejido muscular y el adiposo, favoreciendo la actividad proteolítica y lipolítica. La falta de aporte energético con la ración, unido a la disminución de la ingesta en esta etapa, potencia esta actividad.

> De nuevo encontramos que el contenido de grasa bruta (GB % MS) en la ración de Palas es menor (2.59) que la aportada para Monterroso (2.97), lo que nos sugiere que son las rutas metabólicas las que, bajo efecto nutricional, entran en juego en este comportamiento (Kaneko *et al.*, 2008; Bradford-Smith, 2010)

La síntesis de ácidos grasos sucede en muchos tejidos, aunque se produce a gran escala en el hígado, tejido adiposo o tejido mamario (y son precisamente las hembras de Monterroso las que más leche producen); por otro lado, los AGL que se encuentran libres en sangre pueden ser utilizados directamente como fuente de energía por muchos tejidos, aunque una gran parte de los ácidos grasos son tomados por el hígado y tras su catabolización son utilizados para producir cuerpos cetónicos, sobre todo en situaciones de hipoglucemia (y no olvidemos que son también las hembras de la explotación de Monterroso las que presentaron los menores valores).

Todo esto nos lleva a señalar que los valores de AGL encontrados en las hembras de nuestro estudio son un indicador del estado energético del

animal en la fase de transición bajo influencia de factores endocrinos propios del estado fisiológico y nutricional.

4.2.1.C. B-HIDROXIBUTIRATO (BHB)

Los valores medios de BHB para todas las hembras de la GR-A fueron de 0.580±0.02 mmol/L y para las de la GR-B de 0.900±0.07 mmol/L. Los valores medios de BHB para el ganado bovino en general, son muy variables. Mientras que Kerr (2002) señala que lo normal es que los valores de BHB no superen 1 mmol/L; otros autores ofrecen rangos o valores más concretos, como es el caso de Radostits *et al.* (2006) quienes señalan un rango que va entre los 0.35 y 0.47 mmol/L; o Kaneko *et al.*, (2008) quienes ofrecen un valor medio de 0.41±0.03 mmol/L.

Centrándonos en ganado vacuno explotado en régimen ecológico Vargas (2005) señala rangos que oscilan entre 0.59-0.86 mmol/L. Wang *et al.* (2009) encuentra por su parte un valor medio de 0.824 mmol/L.

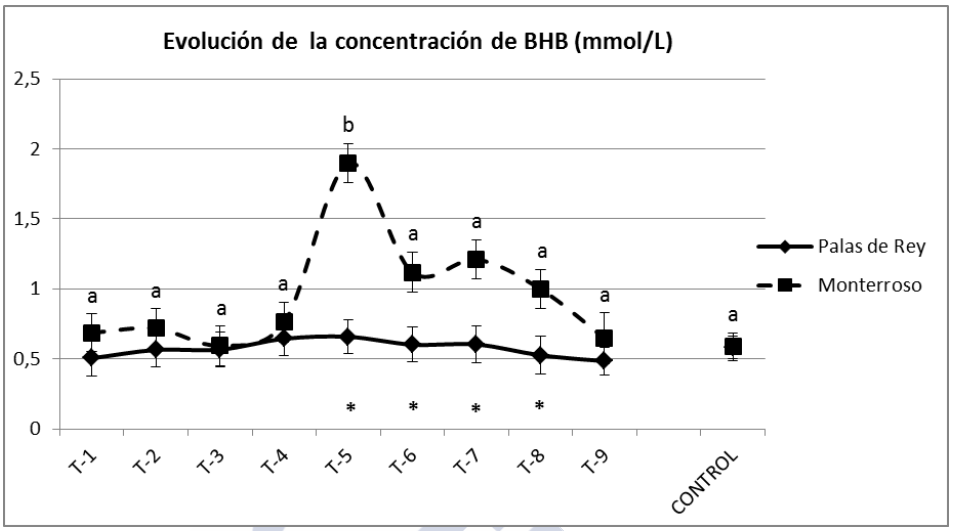
> Es pues evidente que los valores medios encontrados para ambas explotaciones quedan encuadrados en los rangos fisiológicos aportados por la mayor parte de los autores consultados.

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada influencia (P<0.001) de todos los factores considerados así como de la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	P<0.001	P<0.001	P<0.001

Las hembras del lote CTRL para ambas explotaciones presentan valores similares (0.582±0.08 mmol/l para la GR-A, 0.587±0.1 para la GR-B) y a su vez considerados como fisiológicos.

La evolución mostrada por este parámetro a lo largo de la experiencia dependerá del momento fisiológico (fase de transición) combinado con el manejo llevado a cabo en cada explotación.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

La representación gráfica de los resultados nos muestra claramente cómo son las vacas situadas en Monterroso las que presentan en la T-5 (una semana posterior al parto) valores de BHB que claramente superan los límites máximos considerados como fisiológicos (1.9 ± 0.15 mmol/L) y que suponen más del doble de los registrados por la explotación de Palas de Rey (0.66 ± 0.12 mmol/L), quien a su vez también presenta un ligero incremento en las concentraciones de BHB respecto a la fase anterior, pero carente de significación.

Es precisamente desde el post-parto temprano hasta los 75 días pp cuando aparecen las diferencias entre explotaciones. Teniendo en cuenta que en este mismo periodo los valores de AGL son también claramente superiores respecto a fases anteriores (aunque presenten una tendencia decreciente), es evidente que en este periodo las concentraciones de BHB no hacen más que responder a la tasa de movilización de reservas lipídicas a consecuencia de un déficit energético, tal y como pudimos contrastar en la discusión de la glucosa y que es más acusado en la granja de Monterroso.

> De hecho, muchos autores consideran al BHB como el indicador más usado para determinar un BEN (Wittwer, 2000), llegando a señalar que altas concentraciones de BHB están directamente relacionadas con tasas elevadas de movilización de reservas grasas (Vargas, 2005). Este hecho además coincide perfectamente en los animales de la GR-B, pues los mayores valores de BHB coinciden con los menores de glucosa y los máximos de AGL.

El propósito de este incremento ante el estado de BEN en el que parecen encontrarse las vacas de la GR-B, es la de ofrecer una alternativa que participe en la generación de energía en el organismo en un momento de tanta exigencia como es la lactación, tal y como ya señalara Kaneko *et al.*, (2008). Recordemos además que son las más productoras de las dos explotaciones consideradas.

> De esta manera, los niveles de BHB en sangre han de ser considerados como una vía por la cual el hígado exporta H^+ con poder reductor hacia los tejidos periféricos para su combustión y generación de energía.

La presencia de concentraciones de BHB por encima del rango fisiológico para la especie, aparte de señalar una demanda de energía mayor de lo normal por parte de los tejidos periféricos, tendrá como consecuencia inherente un estado de acidosis metabólica conocida como *cetoacidosis*. De hecho, valores de BHB por encima del rango de 1.2 mmol/L se han propuesto como marcadores de cetosis subclínica (LeBlanc *et al*., 2005).

> No obstante, hay que considerar también que condiciones de manejo estresantes pueden incrementar los valores de BHB de forma puntual (Kaneko *et al*., 2008; Cunningham y Klein, 2009).

Considerando ahora cómo afrontan ambos lotes de vacas el periodo de transición, observamos que durante la fase de secado los lotes no se diferencian; tras el parto las hembras de la explotación de Palas de Rey mantienen valores estables que no se diferencian entre sí en ningún momento lo que a tenor de lo anteriormente expuesto nos sugiere que esta explotación no presentó un estado de BEN.

> Duque *et al*. (2011) describe variaciones en los valores en el periparto, siendo inferiores a 0.5 mmol/L en preparto y menores de 1 mmol/L en lactación.

Creemos que en este comportamiento diferenciador ha entrado en juego –aparte de la producción-, la ración recibida por los animales. Así Vargas (2005) señaló que si los animales eran alimentados con una ración rica en carbohidratos procedente de cebada mostraban valores inferiores (0.59±0.07 mmol/L) en comparación con una dieta fibrosa (0.82±0.09 mmol/L), hecho que se explica por el tipo de carbohidratos que participan en la fermentación ruminal, aumentando la proporción molar de propionato en el rumen -al aumentar el precursor de la glucosa hay menos déficit de glucosa-, en perjuicio de butirato y acetoacetato provocando por ende una menor concentración plasmática de BHB por la menor disponibilidad y menor absorción de butirato desde el rumen (Aguilera, 2003, Bargo *et al*., 2003). Hay que tener en cuenta que la mayor parte de los cuerpos cetónicos proceden de la lipomovilización, de esta manera si tenemos más glucosa disponible debido a que hay suficientes precursores neoglucogénicos, propiónico, la lipomovilización va a ser menos , con lo cual baja el nivel de cuerpos cetónicos.

Sin embargo, en nuestro estudio, si bien la la ración de Palas fue menos energética en términos de UFL, si tuvo mayores porcentajes de fibra, tanto neutro como ácido detergente (40.15 para FND; 25.05 para FAD (% de MS) para Palas de Rey; 38.05 para FND; 22.95 para FAD (% de MS) para Monterroso. No descartamos pues la posibilidad de que el aporte fibroso de la ración de Palas fuese más *efectiva*, en términos de dinámica ruminal, que el aporte fibroso recibido con la ración de la GR-B.

Contextualizando con el escenario de este estudio podemos además apuntar otras hipótesis: 1) En Palas de Rey no suele haber mucha diferencia en la ración forrajera (silo sobre todo) entre las vacas secas y en lactación. Por el contario en Monterroso si las hay: en la fase de secado el forraje que reciben es más fibroso; 2) Por otra parte en Palas de Rey no hay tanta producción lechera con lo cual hay menor lipomovilización, de esta manera hay menos AGL y menos cuerpos cetónicos.

A estas hipótesis habría que añadir información referente al tamaño de la partícula del forraje, datos de los que no disponemos. Y es que en función del tamaño de éstas favoreceremos la mayor o menor velocidad de tránsito a nivel del rumen y así, la accesibilidad del forraje por parte de las bacterias ruminales.

No obstante, y haciendo un compendio de todos los parámetros tratados en relación al metabolismo energético no debemos olvidar el factor racial y de aptitud, que lleva implícito modificaciones genéticas en las diferentes rutas metabólicas tal y como ya señalaron Wook Kim *et al.* (2004), Vernon (2005) u Okamura *et al.* (2009)

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.2. METABOLISMO PROTEICO

4.2.2.A. UREA

Los valores medios de urea en suero para todas las hembras de la GR-A fueron de 18.7±0.7 mg/dL y para las de la GR-B de 24.2±0.8 mg/dL. La concentración de urea sanguínea es un indicador sensible de la ingesta de proteínas (Wittwer *et al.*, 1987). Por tanto en primera instancia los niveles globales recogidos nos sugieren que las vacas de la explotación de Monterroso recibieron una ración con mayor contenido proteico que la de Palas de Rey.

> Si nos atenemos a la valoración de las raciones para cada explotación esta afirmación queda asentada al observar los niveles de proteína bruta (PB, % de MS) para cada una: 11.35 % para Palas de Rey; 12.7% para Monterroso.

Para ganado vacuno, en general, las concentraciones de urea en sangre oscilan entre el rango de 10-25 mg/dL aportado por Latimer *et al.* (2003); 6 a-27 aportado por Radostits *et al.* (2008); 20 a 30 mg/dL señalado por Kaneko *et al.* (2008) o, más recientemente el rango de 8 a 23 mg/dL destacado por Bradford-Smith (2010).

> Estudios previos sugieren que niveles de urea en sangre superiores a 8 mg/dL son índice de una ingesta excesiva de N con la ración (Cole *et al.*, 2003).

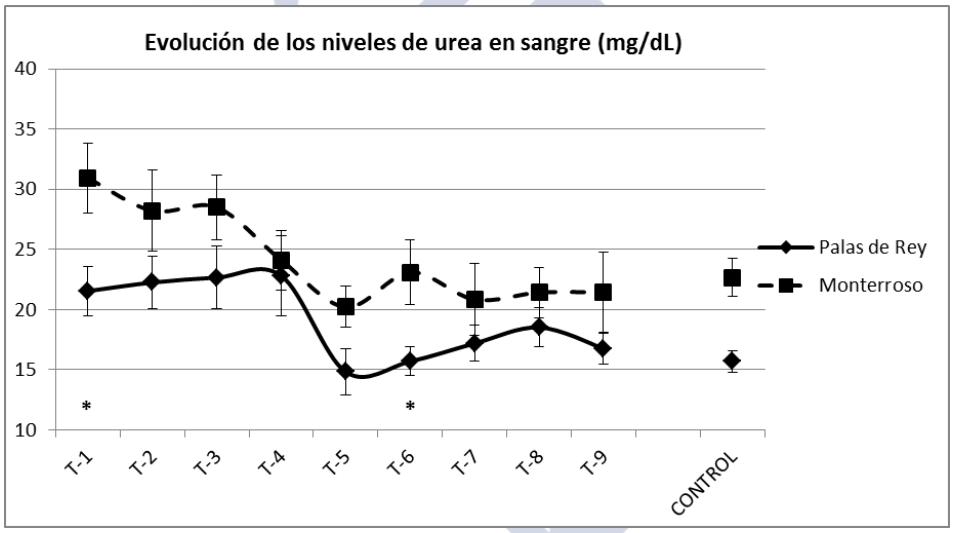
Esta variabilidad es también aplicable al ganado vacuno en régimen ecológico, tal y como podemos observar en los valores medios obtenidos para cada explotación, y por tanto los podemos considerar como encuadrados dentro de los rangos fisiológicos recogidos en la mayor parte de la bibliografía consultada.

Si consideramos los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada influencia (P<0.001) de los factores considerados (explotación y toma) pero no de la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	P<0.001	P<0.001	0.844

Las hembras del lote CTRL para ambas explotaciones presentan valores que difieren estadísticamente y muestran la tendencia grupal señalada anteriormente; así para la GR-A las concentraciones de urea fueron significativamente inferiores (15.7±0.9 mg/dL) que las registradas en la GR-B (22.7±1.6 mg/dL), aunque ambos dentro de rangos fisiológicos.

Al analizar gráficamente los resultados por toma y explotación encontramos dos momentos claramente diferenciados: las correspondientes a la primera (T-1, dos meses previos al parto) y la T-6 (desde el 9 al 22 día pp). La diferencia en la T-1 para nosotros no es más que la continuación de las diferencias encontradas en los grupos CTRL y atribuibles esencialmente al aporte de PB con la ración, superior en la granja de Monterroso.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Lo que nos parece interesante es el descenso que tiene lugar desde entonces, llegando al momento del post-parto temprano (T-5) con los menores valores para las dos granjas (14.8±1.2 mg/dL para GR-A; 20.22±1.74 mg/dL para GR-B), aunque siempre siendo las vacas de la granja de Monterroso las que mantuvieron los mayores niveles, con diferencias significativas sobre todo después del parto.

> Entre las causas del descenso en los niveles de urea sérica, Bradford-Smith (2010) señala la dismunución en el aporte de proteína con la ración y que se pudo aplicar en la fase de secado (se debe tener en cuenta que al disminuir la ingestión de materia seca en torno al periparto disminuye también la proteína ingerida).

La relación entre la urea sanguínea, NH_4 y la proteína de la dieta depende de cuatro factores básicos: disponibilidad de nitrógeno no proteico y proteico en la dieta para la degradación microbiana, disponibilidad de energía para la síntesis proteica microbiana, cantidad de aminoácidos absorbidos del intestino en relación a los requerimientos corporales y del pH del rumen (Molina Hernández, 2000).

> Desde esta perspectiva, cobra especial interés los valores de PDIE y PDIN, valores que nos refieren el nivel de degradabilidad de la proteína a nivel intestinal dependientes de la energía y el nitrógeno aportados con la ración. Las vacas situadas en Monterroso tuvieron una dieta con mayores niveles de UFL y PB, en comparación con Palas de Rey, hechos que favorecieron una mayor digestibilidad proteica, con repercusiones no sólo a nivel sanguíneo.
>
> Se podría entender que la explotación de Monterroso, aunque tenga más proteina y energía en la ración, la mayor producción láctea conlleva una mayor demanda de energía, por lo que queda menos energía para la proteína de la leche (deriva de aminoácidos hacia la glucogenesis), pero el nitrógeno procedente de la desaminación de los aminoácidos derivados hacia la glucogenesis es metabolizado en forma de urea que conlleva menores concentraciones de urea en dicha explotación. De esta forma entendemos el por qué con una ración más rica en proteina y energía tenemos menos proteina láctea.

Tras el parto, la producción de leche demanda el máximo esfuerzo metabólico y que podría justificar hallar en esta fase menores niveles de urea en sangre para esta fase en comparación con el periodo de secado. Aún así, Monterroso sigue presentando valores de urea en suero superiores a los de Palas de Rey.

> No obstante, estas mayores concentraciones no se corresponden con mayores cantidades de proteínas en la leche de las vacas de Monterroso, por lo que en nuestro estudio la nutrición no ha debido de ser el factor determinante a la hora de la producción de este componente de la leche, y sí puede estar más asociado al

estado de BEN que ya fue descrito para esta explotación y que quedaba manifiesto en el índice de cetosis (Hanus et al., 2011).

La proteína de la leche viene determinada por la energía de la ración, pero el problema es que aún teniendo más energía la ración de Monterroso no es suficiente para la mayor producción láctea que genéticamente tienen las vacas frisonas, esto explica el BEN (Benedito *et al*., 1998) y la menor proteína láctea.

La demanda energética que implica la lactación, mayor en hembras productoras de leche como las de Monterroso (raza Frisona) demanda una mayor activación del ciclo de la urea, ya que tal y como señala Kaneko *et al.* (2008) existe un estrecho vínculo entre el ciclo de la urea y el de los ácidos tricarboxílicos. Ante una demanda energética las proteinas también son reclutadas para la obtención de energía, tanto las proteinas corporales como aquellas absorbidas a nivel intestinal que ha escapado de la degradación ruminal, el amoniaco resultante entra en el ciclo de la urea. Esta puede ser reciclada al rumen constituyendo un aporte de nitrógeno no proteico de rápida degradación muy importante para la síntesis de proteina microbiana.

Pero la urea en sangre también puede alcanzar el intestino por difusión, dónde se transforma en proteína bacteriana y es eliminada con las heces. La urea reciclada hacia el intestino grueso activa la fermentación bacteriana de los elementos nutritivos que han escapado a los procesos digestivos del intestino delgado.

Un 70 % del nitrógeno ureico que llega al intestino puede estar disponible para su aprovechamiento en procesos anabólicos como componente de productos secundarios microbianos según Archibeque *et al.* (2001).

Por tanto, creemos que los mayores niveles obtenidos por la GR-B, no sólo son fruto del mayor aporte de la ración sino también de un esfuerzo del organismo para mantener los niveles de energía necesarios para mantener la lactación mediante el catabolismo de las proteinas para obtener energía. Además los valores de digestibilidad de la proteína en términos PDIE y PDIN estuvieron muy próximos en las vacas de Monterroso (y que indica una ración más ajustada en términos de proteína y energia), siendo esto lo

adecuado y más separados (hasta 7 unidades de diferencia) en las de Palas de Rey, sugiriendo que la digestibilidad de la proteína estuvo más determinada por la E suministrada que por el aporte nitrogenado.

> En la explotación de Palas es mayor el PDIN que el PDIE, lo que implica un déficit energético para la síntesis de proteína microbiana. Teniendo en cuenta que la síntesis de proteina microbiana viene condicionada por la energía, estos nos indica que parte del nitrógeno de la ración que no se utiliza en el rumen para la síntesis de proteina.

4.2.2.B. CREATININA

Los valores medios de creatinina en suero para todas las hembras de la GR-A fueron de 1.14±0.01 mg/dL y para las del grupo B de 1.02±0.01 mg/dL. Para Bradford-Smith (2010) la creatinina es un buen índice de disfunción renal, mejor que la urea, que se ve más afectada por factores dietéticos como hemos podido comprobar en el apartado anterior. No obstante, hay autores que la consideran poco sensible, debido a que pueden estar dañadas un 75% de las nefronas antes de encontrar rangos anormales de creatinina.

> Sin embargo, en ganado vacuno los índices de creatinina no sufren ningún proceso de metabolización ruminal, ya que no se recicla hacia el rumen. La existencia de un fallo renal se reflejará en la elevación de sus niveles, mientras que los de urea permanecerán normales hasta fases avanzadas del fallo renal (Latimer *et al.*, 2003; Kaneko *et al*., 2008).

Los valores obtenidos quedarían encuadrados dentro de los rangos de referencia señalados por Latimer *et al.* (2003); Radostits *et al.* (2006); Kaneko *et al.* (2008) o Bradford-Smith (2010), aunque inferiores a los aportados por Hernández *et al.* (1997) para la agrupación Racial Morenas del Noroeste.

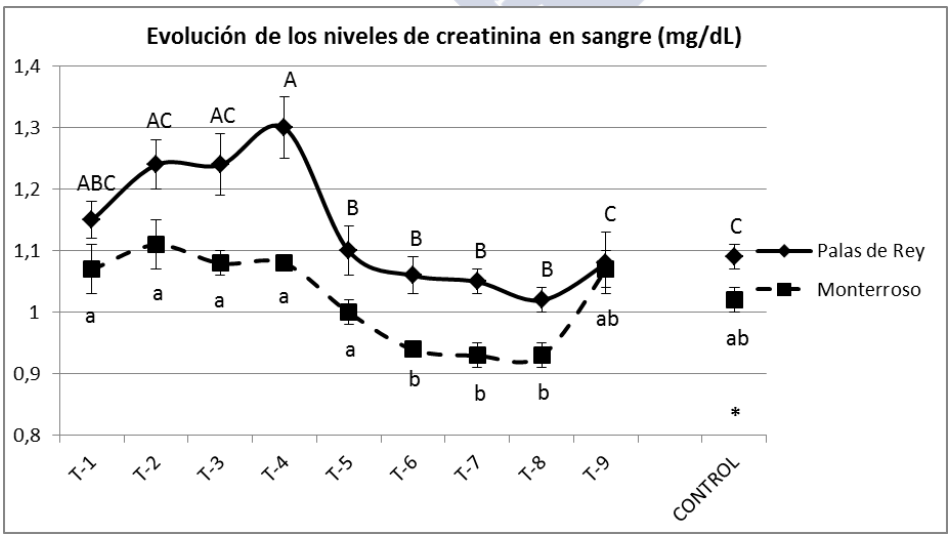
Considerando los datos obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada influencia ($P<0.001$) de los factores considerados (explotación y toma) pero no de la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	P<0.001	0.623

Las hembras de los lotes CTRL presentaron concentraciones de creatinina similares (1.09±0.02 para GR-A; 1.02±0.02 para GR-B).

La representación gráfica de los resultados nos muestra una evolución similar para ambas granjas, y en donde Palas de Rey presenta las mayores concentraciones durante todo el estudio. La evolución en el tiempo recoge fluctuaciones significativas entre tomas para ambas granjas, y en donde destacamos el descenso en ambas en el intervalo comprendido entre las tomas 4 a 8, precisamente entre el inicio y mantenimiento de la lactación (75 días pp) y que es más acusado para la explotación de Palas. Para esta fase, la explotación de Palas mantiene intervalos de creatinina que oscilan entre 1.06 y 1.02 mg/dL, mientras que la de Monterroso está entre 0.93 y 0.94 mg/dL.

Teniendo en cuenta que la creatinina es un indicador de la función renal y que su producción es básicamente endógena a partir de los aminoácidos glicina, arginina y metionina en el hígado (Kaneko *et al*., 2008) el descenso encontrado en esta fase nos sugiere que en lactación las vías metabólicas de este órgano están destinadas a emplear dichos precursores en fuentes energéticas necesarias para la producción de leche.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

De hecho está registrado que la producción de creatinina se puede ver afectada por incremento del catabolismo proteico o el ejercicio físico que afectan en primer lugar a la cantidad de creatina y consecuentemente a la creatinina (Kaneko *et al*., 2008).

> A tenor de la evolución mostrada en este periodo parece que se produjo una disminución del catabolismo proteico, asociado al incremento de proteína con la ración, tal y como muestran las elevaciones de la urea en este mismo periodo.
>
> También se podría señalar que hay una disminución de la deposición de proteina muscular debido a que los aminoácidos van destinados a la obtención de energía para la producción láctea.

Para finalizar, que la explotación de Palas de Rey basado en la raza Pardo Alpina (aptitud mixta carne-leche) tenga mayores niveles de creatinina que la explotación de Monterroso (basada en raza Frisona) no hace más que corresponder a las observaciones realizadas en estudios previos y que señalan que la regulación del metabolismo de la creatinina, y por lo tanto de sus valores están condicionados por la aptitud del animal (carne o leche) y por la deposición de proteína en el músculo (Istasse *et al*., 1990; Hornick *et al*., 1998).

> En este sentido Istasse *et al*. (1990) hallaron mayores niveles de creatinina en animales de aptitud cárnica que en aquellos de aptitud lechera, y de acuerdo al mayor desarrollo muscular que alcanzan los primeros. Este hecho fue confirmado año más tarde por Kerr (2002), quien establece que las especies con los mayores rangos de referencia son aquellas que presentan una mayor proporción de músculo en relación a la masa corporal.

4.2.2.C. PROTEÍNAS TOTALES SÉRICAS

Los niveles medios de proteínas totales séricas obtenidas en las vacas de la granja de Palas de Rey fueron de 8.23±0.1 g/dL, mientras que para las de Monterroso el valor medio fue de 7.6±0.08 g/dL.

En términos generales varios autores han aportado valores o rangos de referencia fisiológicos para el ganado vacuno. Así, Latimer *et al.* (2003) nos

señala un rango entre 6.7 y 7.5 g/dL; Radostits *et al.* (2006) otro establecido entre 5.7 y 8.1 g/dL; Kaneko *et al.* (2008) señala un valor medio en torno a 7.1±0.2 g/dL. Finalmente, Bradford-Smith (2010) para ganado bovino registra valores medios que van desde los 6.74 hasta los 7.46 g/dL.

> Es pues evidente que, en términos generales los animales de nuestro estudio estuvieron dentro de los rangos generales aportados para la especie bovina.

Considerando los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una marcada influencia (P<0.001) de los factores considerados (explotación y toma) pero no de la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	P<0.001	P<0.001	0.275

Las hembras de los lotes CTRL para ambas explotaciones mostraron valores de proteínas séricas similares: 8.53±0.25 g/dL para Palas de Rey y 8.02±0.13 para Monterroso y que no difirieron desde un punto de vista estadístico.

Analizando pormenorizadamente la representación gráfica de los resultados llama la atención el hecho de que es la granja de Palas de Rey la que mantiene las mayores proteinemias durante todo el estudio, siendo numéricamente superiores a las de Monterroso.

> Estas mayores proteinemias para la GR-A coinciden en el tiempo con los mayores niveles de creatinina y menores de urea en suero durante todo el estudio, y en comparación con la explotación de Monterroso. Estos resultados nos hacen discrepar de las observaciones obtenidas por Blanco (2008) quien describió para ganado ecológico de carne la existencia de una correlación positiva y significativa entre los niveles de proteínas y de urea con la cantidad de concentrado de la ración (recordemos que Monterroso recibió mayor cantidad de PB (% MS) en comparación con Palas). Esta discrepancia en los resultados puede atribuirse al hecho de tratarse de poblaciones con edades y aptitudes diferentes, así como al hecho de que en la explotación de Monterroso de mayor producción láctea las proteinas se utilizan más como fuente de energía, justificando así la menor proteinemia, mayor urea y menor creatinina en sangre.

> Asímismo nuestros datos no corroboran lo señalado por autores como Church (1993); Scott *et al.* (1994) o Kerr (2000), quienes señalaron que los niveles de proteína sérica eran un buen indicador de la ingesta dietética de proteína. En nuestra opinión esto será así siempre y cuando la ración tenga suficiente energía para la producción láctea y no precisase aminoácidos como fuente de energía.

Las hormonas tienen efectos anabólicos o catabólicos sobre las proteínas séricas. Durante la gestación las necesidades de proteínas son relativamente escasas hasta los dos últimos meses (justo cuando comienza nuestro estudio), momento en el que los requerimientos se incrementan de forma exponencial.

> Ello tiene su origen en el crecimiento del feto y en la síntesis de calostro (Cunningham, 2008) y que parece ser fue más acusado en las vacas de Monterroso, a pesar de recibir mayores aportes proteicos con la ración. No obstante, carecemos de información relativa a los aportes proteicos de los pastos que pueden ser muy diferentes y podrían haber influido en esta valoración.

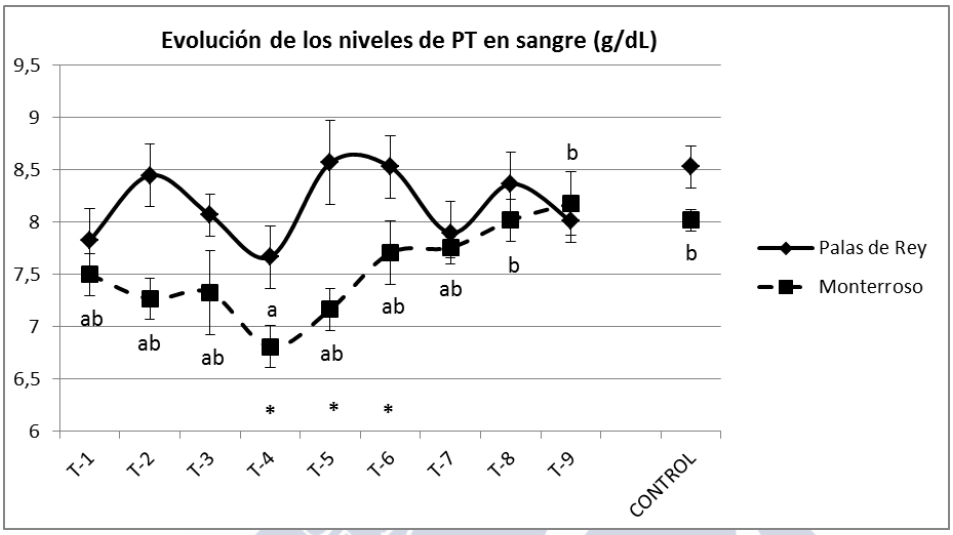
Además estas necesidades proteicas se agravan con la disminución de la ingesta, generando una tendencia hacia el balance proteico negativo previo al parto. Se ha señalado que la capacidad de las hembras para movilizar proteína es más limitada que para movilizar incluso energía (Garmendia, 2005).

> El organismo en respuesta a esta situación moviliza aminoácidos desde los tejidos periféricos y reduce la síntesis proteica en éstos mientras que en el hígado aumenta la síntesis de proteína y hay una mayor eficiencia en el uso de aminoácidos (Fernández, 2009). Este hecho podría estar conectado con las menores concentraciones de creatinina en suero encontradas en las vacas de Monterroso: se trataría pue de un *reciclaje* de aminoácidos como fuente de energía.

La evolución temporal de los datos nos muestra fluctuaciones a lo largo del estudio (aunque siempre dentro del rango fisiológico), siendo significativas para la GR-B y no para la GR-A. En la granja de Monterroso encontramos que los menores valores de proteínas aparecen en la semana previa al parto (T-4) y los máximos a medida que la hembra se acerca a la curva de lactación.

Las proteínas desempeñan una función fundamental en numerosos procesos fisiológicos. No sólo son básicas para la integridad estructural de la mayoría de los tejidos corporales, sino que como hormonas y enzimas, también regulan muchas de las reacciones bioquímicas del organismo.

El progresivo incremento registrado tras el parto obedecería al hecho de que al disponer de más E en la ración en comparación con fases previas, favorecería la síntesis fisiológica de proteínas, no sólo tisulares sino también las proporcionadas a través de la leche.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Este último hecho nos lleva a analizar de nuevo que fueron las vacas de Palas de Rey con mayores niveles de proteínas totales las que también presentaron mayores proteínas lácteas. Sin embargo a la luz de este escenario, es necesario tener en cuenta el metabolismo y las funciones de las diferentes fracciones proteicas:

> Uno de los lugares de síntesis de proteínas es la glándula mamaria. En casos de infección (como puede ser la mamitis) aumenta la síntesis de proteínas de fase aguda que pasan tanto a la sangre como a la leche (Eckersall *et al*., 2001; Jacobsen *et al.*, 2005). Y no olvidemos que fue precisamente la explotación de Palas la que más RCS mostró…

Es pues evidente que las proteínas séricas tienen una gran importancia en el metabolismo general, debido a su estrecha relación con el hígado y sus interacciones con las proteínas de otros tejidos (Coles, 1989).

Albúmina

Los niveles medios de albúmina sérica obtenida en las vacas de la granja de Palas de Rey fueron de 4.02±0.03 g/dL, mientras que para las de Monterroso el valor medio fue de 4.11±0.03 g/dL.

Los valores medios de esta proteína referidos para la especie bovina se sitúan en el rango de 2.5-3.8 g/dL aportado por Latimer *et al.* (2003); 2.1-3.6 g/dL aportado por Radostits *et al.* (2006), o 3.0-3.5 g/dL descritos por Kaneko *et al.* (2008). Bradford-Smith (2010), por su parte aporta para ganado vacuno valores en torno a 3-4.3 g/dL.

> Sólo los rangos aportados por este último autor se ajustan a los valores medios encontrados para las explotaciones de nuestro estudio.

Considerando los valores obtenidos con cada toma y para cada granja el efecto del tratamiento estadístico queda reflejado en la siguiente tabla, que nos indica una significativa influencia de los factores granja (P<0.05) y toma (P<0.001) pero no de la interacción entre ellos.

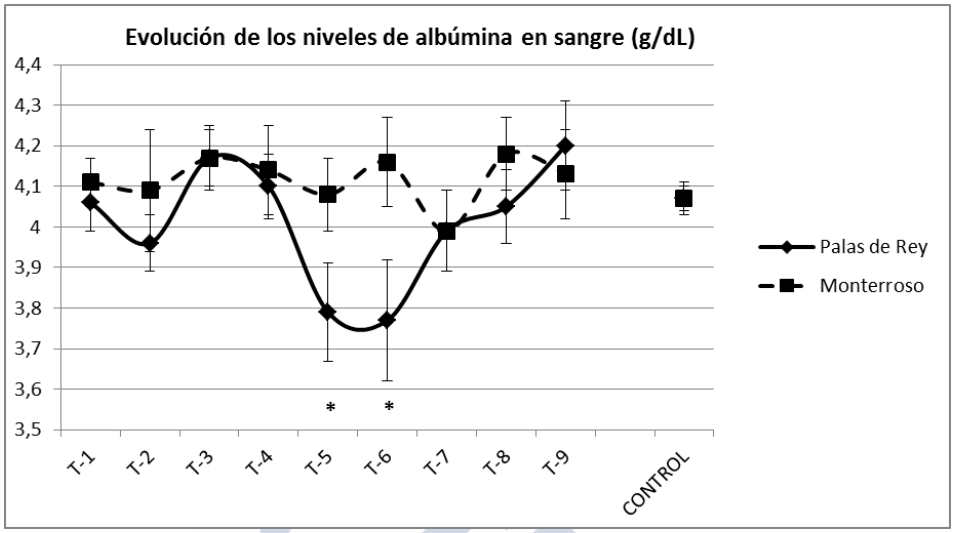
	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	0.034	P<0.001	0.349

Las hembras de los lotes CTRL para ambas explotaciones mostraron valores de albúmina similares: 4.07±0.03 g/dL para Palas de Rey y 4.07±0.04 para Monterroso y que no difieren desde el punto de vista estadístico.

El análisis gráfico de los resultados durante el periodo experimental nos muestra que a pesar de las fluctuaciones observadas estas no revistieron carácter significativo, aunque sí es interesante observar cómo las menores concentraciones de la proteína se obtienen justo después del parto (T-5 y T-6) para la granja de Palas de Rey (3.79 y 3.77 g/dL, respectivamente), con posterior recuperación a lo largo de la lactación.

> Precisamente, en ese mismo periodo alcanzamos los máximos valores en lo que respecta al total de proteínas séricas, siendo este hecho atribuible exclusivamente a la fracción globulínica, y especialmente de las ß y γ globulinas. Sintetizadas en su

mayoría en el hígado, en este grupo se encuentran las proteínas de fase aguda derivadas de los procesos inflamatorios (Latimer *et al.*, 2003) y que caracterizaron a la producción lechera de la explotación de Palas de Rey.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

En lo que respecta a las fluctuaciones (carentes de significación) observadas en la GR-B, son varios los autores los que han señalado que el incremento en los requerimientos metabólicos, puede causar un desequilibrio del metabolismo nitrogenado, y en el que la albúmina no es una excepción, máxime teniendo en cuenta que ésta es sintetizada en el hígado, órgano muy activo durante la fase de transición (Kaneko *et al.*, 2008).

A mayores, Bradford-Smith (2010) indica que los desajustes nutricionales y/o los trastornos digestivos interfieren con la digestión y absorción, causando un suministro inadecuado de aminoácidos hacia el hígado para su síntesis. En ciertos casos, dietas que parecen correctas en cuanto al aporte proteico, no lo son en realidad en condiciones de demanda nutricional.

Creemos que este escenario es el que se ajustaría a las hembras de la explotación de Monterroso, de tal manera que podemos señalar que las variaciones numéricas de las concentraciones de albúmina no son más que un reflejo de las variaciones –en términos cualitativos y cuantitativos- de su ración a lo largo de la experiencia, aunque sin repercusiones de carácter significativo.

Globulinas

Los niveles medios de globulinas en suero obtenidas en las vacas de la granja de Palas de Rey fueron de 4.21±0.11 g/dL, mientras que para las de Monterroso el valor medio fue de 3.49±0.09 g/dL.

Los valores medios de este grupo de proteínas referidos para la especie bovina se sitúan en el rango de 3.0-3.5 g/dL aportados por Latimer *et al.* (2003) y Kaneko *et al.* (2008), o los 3.6-4.5 g/dL de Radostits *et al.* (2006). Bradford-Smith (2010), por su parte aporta para ganado vacuno valores en torno a 3-3.5 g/dL.

> En este contexto, claramente son las vacas situadas en Palas de Rey las que superan los rangos considerados como de referencia; permaneciendo las de Monterroso dentro de los valores fisiológicos.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica una significativa influencia de los factores granja (P<0.001) y toma (P<0.05) pero no de la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	P<0.001	0.014	0.173

Los valores medios para las hembras de los lotes CTRL siguen la tendencia general y así, encontramos mayores concentraciones de globulinas en la GR-A que en la GR-B (4.5±0.3 y 3.9±0.1 g/dL, respectivamente).

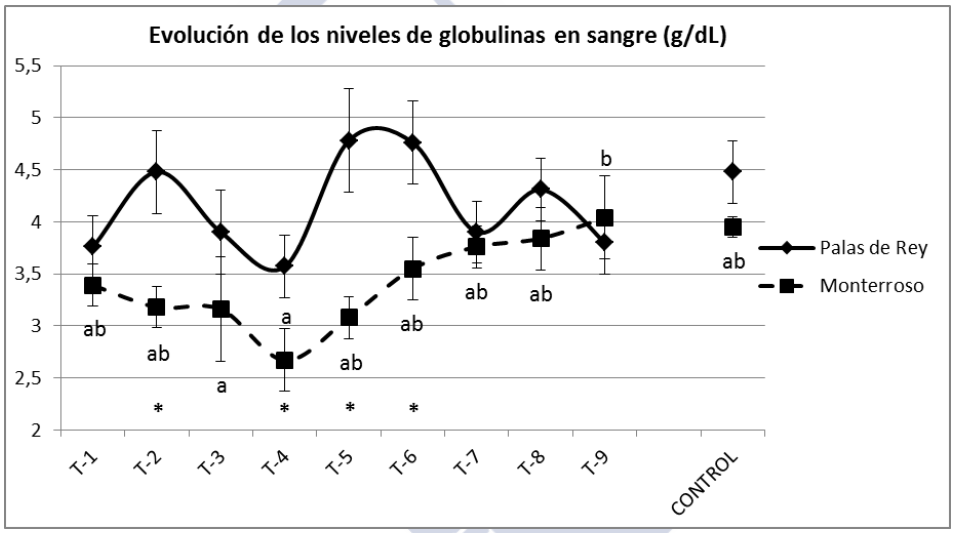
Como señalábamos en el capítulo destinado a la discusión de los resultados obtenidos en las proteínas séricas, éstas no sólo están compuestas por albúmina sino que también están integradas por globulinas, aportando una gran cantidad de información sobre la respuesta del organismo ante la enfermedad (Kaneko *et al.*, 2008; Cunningham y Klein, 2009; Bradford-Smith, 2010).

> Por tanto, que en estado basal, encontremos mayores niveles de globulinas nos orienta hacia el hecho de que las hembras afectadas están permanentemente respondiendo hacia estímulos antigénicos sitos bien en la circulación o –lo más

probable- en el tejido mamario que les hacen incrementar su síntesis. Contextualizando en la población de Palas de Rey, podríamos estar hablando de una situación cronificada.

La representación gráfica de los datos nos muestra una explotación, la de Palas de Rey con valores permanentemente superiores (a excepción de la T-9) a los mostrados por la granja de Monterroso, y que llegan a superar los registrados para el estado basal, especialmente en lo que respecta a las tomas posteriores al parto (T-5 y T-6).

En situaciones tan estresantes como el momento del parto y el inicio de la lactación no es raro encontrarnos con un aumento en la síntesis de proteínas de fase aguda incluidas en la fracción α y β globulínica (Latimer *et al*., 2003).



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Por el contrario, la explotación de Monterroso presenta en la fase de secado un progresivo descenso, alcanzando el mínimo valor en la semana previa al parto (T-4: 2.7±0.3 g/dL), hecho que también ocurre en la granja de Palas de Rey, aunque sin diferenciarse significativamente. A partir de ahí asistimos a una progresiva recuperación de los valores hasta situarse próximos a los del lote CTRL-B

El descenso en los niveles de globulinas sólo puede ser atribuible a la "desviación" de éstas hacia la formación de la síntesis de calostro, siendo más relevante en una raza de aptitud eminentemente láctea como la Frisona, y menos en la de aptitud mixta.

El progresivo incremento tras el parto va asociado a la formación de inmunoglobulinas que serán administradas con el calostro y posteriormente con la leche. De hecho, en el grupo de las α y ß glubulinas encontramos las lipoproteínas que integran la leche (Latimer *et al.*, 2003).

Cociente albúmina/globulinas (A/G)

Los valores medios de cociente A/G obtenidas en las vacas de la granja de Palas de Rey fueron de 1.05±0.03 g/dL, mientras que para las de Monterroso el valor medio fue de 1.3±0.04 g/dL.

Este valor calculado se ha empleado para ayudar a la interpretación de los valores de proteínas totales (Latimer *et al.*, 2003). Los cambios en dicha relación son a menudo la primera manifestación de disproteinemia (Bradford-Smith, 2010).

Para ganado vacuno, en general, los cocientes A/G oscilan entre 0.6 y 0.9 tal y como señalan Latimer *et al.* (2003) o Kaneko *et al.* (2008). Entre 0.84 y 0.94 es el rango considerado normal para Bradford-Smith (2010). Para ganado vacuno de aptitud láctea y similares condiciones de manejo que los animales de nuestro estudio, los valores del cociente A/G fisiológicos están entre 0.62±0.2 para la agrupación racial Morenas del Noroeste y 0.73±0.2 para la raza Rubia Gallega (Hernández *et al.*, 1997).

Es pues evidente que los valores medios anteriormente señalados son superiores a los recogidos en la bibliografía, sugiriendo la alteración en alguna de las fracciones, básicamente por una falta de producción de inmunoglobulinas en las hembras adultas o por un aumento en las concentraciones de albúmina.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica una significativa influencia ($P<0.001$) de los factores

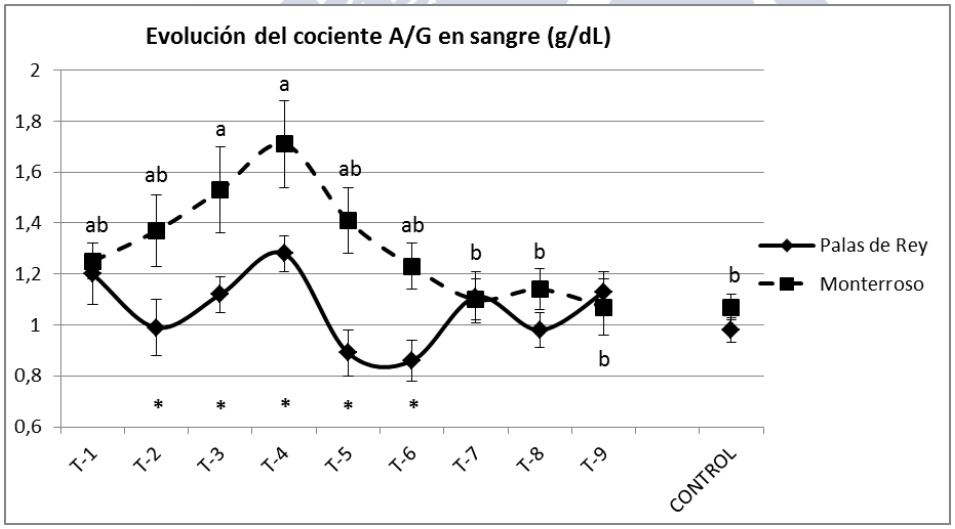
considerados (granja y explotación) así como una tendencia a la significación (P<0.1) en la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	P<0.001	0.059

Las hembras incluidas en los lotes CTRL mostraron cocientes de 0.98±0.05 para la explotación de Palas de Rey y de 1.07±0.05 para Monterroso, aunque sin diferencias entre lotes.

> En este caso, son las hembras de la GR-A las que se encuentran situadas dentro de los rangos fisiológicos marcados por los autores anteriormente mencionados, mientras que las de la GR-B los superan ligeramente.

La visualización gráfica de los resultados nos muestra una población, la de Palas de Rey que manifiesta oscilaciones en los valores a lo largo del estudio, sin que éstos revistan carácter significativo. En ella, el máximo valor lo encontramos en la semana previa al parto (T-4) y el mínimo en la segunda quincena transcurrido éste (T-6).



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Por el contrario, en Monterroso la oscilaciones si revistieron carácter significativo, pudiéndose apreciar un progresivo ascenso en la fase de secado, y que alcanza su máximo valor en la semana previa al parto (T-4,

1.71±0.17), diferenciándose de los valores recogidos para la explotación de Palas. A partir de aquí asistimos a un destacado descenso en el cociente, obteniendo los mínimos valores a partir del primer mes de lactación (T-7). Desde este momento y hasta el final del estudio (T-9), los cocientes A/G constituyen una población estadísticamente diferenciada de las fases previas y similares al cociente registrado para el lote CTRL-B.

El incremento del cociente en esta población, en un momento tan concreto, y especialmente en la T-4, correspondiente a la semana previa al parto sólo puede ser relacionado, para ambas explotaciones (aunque sin relevancia estadística en GR-A) a los altos niveles de albúmina obtenidos y al descenso de las globulinas en sangre y que ya fue abordado en el apartado anterior. De hecho, en el proceso de calostrogenesis las inmunoglobulinas se desvian hacia el calostro disminuyendo su concentración en sangre

> El mayor esfuerzo metabólico intrínseco a una raza de aptitud lechera como es la Frisona creemos que determina el significativo ascenso encontrado desde la T-3 y que culmina la semana previa (T-4). Creemos que ello es la causa que motiva la presencia de diferencias significativas entre lotes.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.3. ENZIMOLOGÍA CLÍNICA

4.2.3.A. ASPARTATO AMINO TRANSFERASA (AST)

Los valores medios globales de actividad AST para cada explotación fueron de 68.3±2.1 UI/L para Palas de Rey, y de 70.6±2.1 UI/L para Monterroso.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica que en sus variaciones no influyó el tipo de explotación (P>0.05), pero sí el momento del muestreo (efecto toma, P<0.001). Asímismo aparece una tendencia a la significación (P<0.1) entre la interacción granja y toma.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.228	P<0.001	0.052

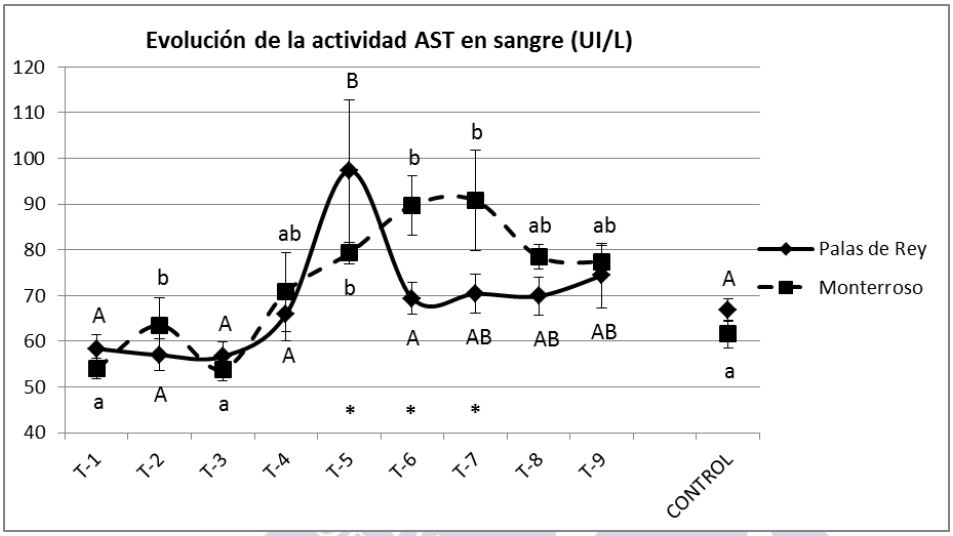
Las hembras incluidas en los lotes CTRL mostraron actividades similares y que oscilan entre las 66.9±2.5 UI/L para la explotación de Palas de Rey y las 61.6±3.1 UI/L para Monterroso, sin diferencias entre explotaciones.

La actividad AST para ganado bovino se sitúa para Latimer *et al.* (2003) entre 60 y 125 UI/L; para Radostits *et al.* (2006) y Kaneko et al. (2008) entre 78 y 132 UI/L. Finalmente Bradford-Smith (2010), para ganado vacuno en general señala actividades de que oscilan entre 43 y 127 UI/L.

> A tenor pues de estos valores podemos señalar que las actividades AST para las hembras CTRL de ambas explotaciones se encontraron dentro de los rangos que pueden considerarse como fisiológicos.

La representación gráfica de los resultados nos muestra que la actividad AST manifestó cambios significativos en ambas explotaciones a lo largo de la fase de estudio. Así para la granja de Palas de Rey podemos señalar que la máxima actividad de la enzima se encuentra en la T-5, correspondiente a la semana post-parto (97.3±15.6 UI/L); las menores actividades las encontramos sobre todo en la fase de secado (deste T-1 hasta T-4), así como en la quincena que sigue al parto (T-6), quedando las demás tomas como un grupo intermedio.

En lo que respecta a la granja de Monterroso destacamos las altas actividades registradas tras el parto y hasta los 35 días posteriores al mismo (T-5, T-6 y T-7, con 79.3±2.4 UI/L; 89.7±6.5 UI/L y 90.8±10.9 UI/L, respectivamente) y que sin implicar actividades que nos hagan hablar de rangos patológicos si suponen un marcado cambio en lo que respecta al comportamiento mostrado en la fase de secado así como al resto de la lactación.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

La actividad AST sirve de ayuda para determinar la existencia de alteraciones en tejido muscular, tanto esquelético como cardíaco, en parénquima hepático y también en riñón y eritrocitos (Kaneko *et al*., 2008; Evans, 2009; Bradford-Smith, 2010).

> Así pues, y en una primera instancia no podemos desvincular los niveles de AST –máximos en Palas de Rey, altos respecto a fases anteriores para Monterroso- del esfuerzo muscular (rabdomiolisis por esfuerzo, Bradford-Smith, 2010) asociado a la actividad física que genera un parto, y que adquirió carácter significativo.
>
> A mayores, durante el curso de la respuesta al estrés (propia de un parto) puede verse incrementada la actividad de las transaminasas debido a que las catecolaminas liberadas pueden originar cambios en la permeabilidad de las membranas de las fibras musculares apareciendo un reflujo de las enzimas hacia la sangre (Locatelli *et al*., 1988).

Pero las transaminasas representan un conjunto de enzimas de especial importancia en el metabolismo proteico, porque catalizan reacciones vitales en procesos energéticos de biosíntesis de proteínas, en actividades como la gluconeogénesis o degradación oxidativa de los aminoácidos, que intervienen en la formación de productos nitrogenados de excreción (McGilvery y Goldstein, 1988).

> Aquí pues hemos de vincular estas variaciones, sobre todo las que tienen lugar en la explotación de Monterroso, con los cambios metabólicos asociados a la fase de transición.
>
> En este punto volvemos a hacer hincapié en anteriores resultados discutidos en apartados previos y que hacen referencia al esfuerzo metabólico llevado a cabo por la GR-B para mantener constante el medio interno: tras el parto, estas vacas presentan en su primer CL una elevada producción de leche y que como señalábamos no tenía su justa correspondencia con la cantidad de E aportada por la ración. Era por esto por lo que apreciábamos cambios significativos en la glucemia y que desembocaban en mayores índices de AGL y de BHB con el consecuente riesgo cetósico; con el fin de seguir obteniendo E para mantener la lactación sugeríamos en estos animales la posibilidad de un *refuerzo* del ciclo de la urea con el fin de mantener la homeostasis proteica y seguir proporcionando E (es decir, un aumento de la proteolisis como medio de proporcionar aminoácidos glucogénicos). Este comportamiento justificaría las diferencias significativas encontradas entre lotes.

De todos los cambios señalados para la explotación de Monterroso en un momento tan crítico como es el parto y el inicio de la lactación no puede ser ajeno el hígado, especialmente si estamos hablando de una raza de aptitud eminentemente lechera como es la Frisona.

> La valoración de AST aporta una gran información sobre la alteración aguda hepatocelular, de ahí que pasado el momento de máximo riesgo las actividades AST comiencen un progresivo descenso a medida que avanza la lactación.

Para una raza de aptitud mixta como es la Pardo Alpina situada en Palas de Rey y con menores requerimientos productivos observamos que los incrementos significativos se restringen a la semana posterior al parto (T-5).

Recordemos que para esta explotación los cambios metabólicos eran menos acusados que para la de Monterroso. Lo que si nos ha llamado la atención es la gran variación individual a la hora de afrontar este preciso momento a tenor de las desviaciones estándar encontradas y que establecen rangos de actividad AST que irían desde 81.7 hasta 113 UI/L.

4.2.3.B. GAMMA GLUTAMIL TRANSFERASA (GGT)

Los valores medios globales de actividad GGT para cada explotación fueron de 21.9±0.4 UI/L para Palas de Rey, y de 25.1±1.3 UI/L para Monterroso.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica que la actividad de esta enzima estuvo fuertemente condicionada por los dos factores considerados (granja y toma) así como por la interacción entre ambos

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	0.002	0.022

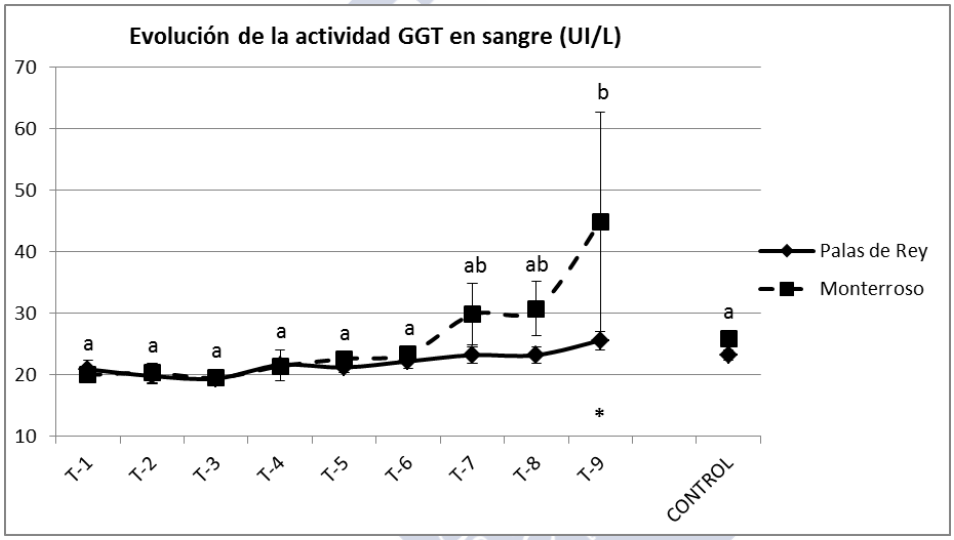
Las hembras incluidas en los lotes CTRL mostraron actividades similares y que oscilan entre las 23.2±0.9 UI/L para la explotación de Palas de Rey y las 25.9±1.1 UI/L para Monterroso lo que justifica la falta de diferencias entre lotes.

A pesar de su amplia distribución por los tejidos del organismo, para numerosos autores como Latimer *et al*. (2003), Mori *et al*. (2007), Kaneko *et al*. (2008) o Bradford-Smith (2010), la actividad GGT en rumiantes es un indicador de funcionalidad hepática.

La actividades GGT aportadas para ganado vacuno se sitúan entre los 6 y 17.4 UI/L de acuerdo a Latimer *et al*. (2003) y Radostits *et al*. (2006); mientras que Kaneko *et al*. (2008) describe un valor medio de 15.7±4.0 UI/L. Bradford-Smith registra rangos de actividad que van desde los 15 hasta los 39 UI/L, mientras que Kerr (2002) señala como normales valores de actividad GGT aquellos que estén por debajo de los 60 UI/L.

Es pues evidente que nuestros datos sólo pueden ser considerados como fisiológicos teniendo en cuenta las referencias aportadas por los dos últimos autores.

Valorando la evolución gráfica de los datos aportados, tal y como refleja la siguiente figura, podemos apreciar que en las vacas correspondientes a la explotación de tipo A (Palas de Rey), esta enzima mantiene actividades constantes a lo largo del estudio, sin diferencias estadísticas entre etapas. Si cabe destacar el ligero ascenso encontrado en la última toma del estudio, llegados ya a la curva de lactación (T-9) y que constituye el máximo valor (25.60±1.5 UI/L), pero que no se diferencia del registrado siquiera para las hembras CTRL de dicha explotación.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Por el contrario, las vacas situadas en la GR-B (Monterroso) manifiestan cambios significativos a medida que transcurre el tiempo, y así es posible observar cómo a partir de la T-4 (la semana previa al parto) asistimos a un progresivo incremento numérico en las actividades séricas de esta enzima, pero que no adquiere carácter significativo hasta la última toma del estudio (T-9: 44.9±17.7 UI/L), correspondiente a la curva de lactación para estos animales. Es también destacable las elevadas variaciones individuales reflejadas en ese mismo momento a través de los errores estándar y que nos sugieren un rango de actividad que iría desde 26.3 hasta 62.6 UI/L. Es

precisamente en este momento cuando aparece la única diferencia significativa entre explotaciones.

Entre las numerosas localizaciones de esta enzima encontramos a la membrana o microvellosidades de los hepatocitos así como de la glándula mamaria (Evans, 2009). En general, esta enzima se localiza en células con una elevada actividad absortiva y secretora (Kaneko *et al.*, 2008).

> Esta localización, aparte de otras que puede tener en el organismo (células epiteliales de los conductos biliares, de los túbulos renales, bazo, páncreas, cerebro y corazón) justifica a nuestro criterio esta progresiva elevación en la semana previa al parto así como en toda la fase de lactación, máxime si tenemos en cuenta que se trata de una explotación con una demanda metabólica más elevada, no siempre ajustada con la ración y de alto carácter productivo.

No obstante, a pesar de su amplia distribución por los tejidos del organismo, para numerosos autores como Latimer *et al*. (2003), Mori *et al*. (2007), Kaneko *et al*. (2008) o Bradford-Smith (2010), la actividad GGT en rumiantes es un indicador de funcionalidad hepática, por lo que ha de atribuirse el comportamiento de esta enzima más al esfuerzo hepático derivado de los ajustes metabólicos que a la propia producción de leche.

4.2.3.C. CREATIN KINASA (CK)

Los valores medios globales de actividad CK para cada explotación fueron de 158.4±12.9 UI/L para Palas de Rey, y de 143.7±14.3 UI/L para la granja de Monterroso.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica que la actividad de esta enzima no estuvo condicionada por los factores considerados (granja y toma) ni por la interacción entre ambos.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.447	0.493	0.376

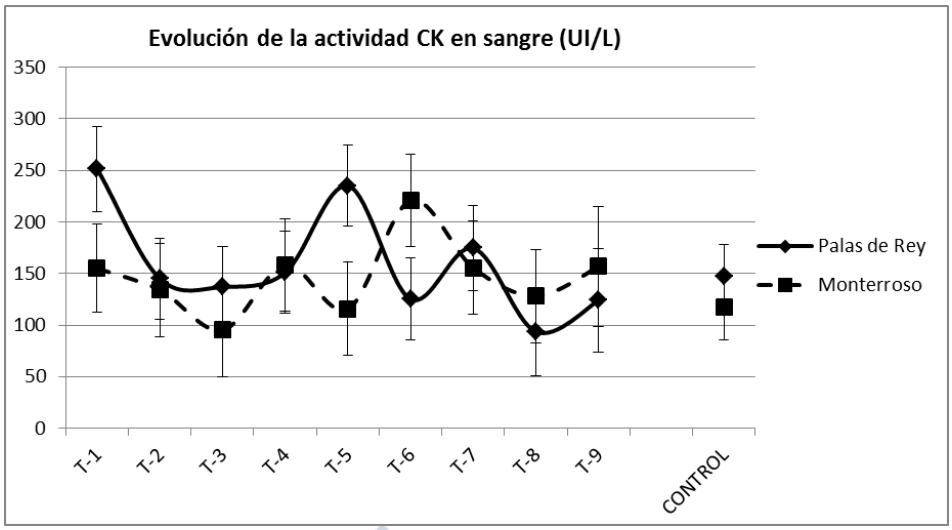
Las hembras incluidas en los lotes CTRL mostraron actividades que oscilan entre las 146.8±31.1 UI/L para la explotación de Palas de Rey y las 117.9±31.9 UI/L para Monterroso, sin que existiese diferencias entre lotes.

La actividad CK alcanza su mayor concentración en el músculo esquelético, seguido de tejido cardíaco, diafragma, musculatura lisa y cerebro. Se encuentra con un nivel de actividad menor en los intestinos, útero, vejiga urinaria, riñón y glándula tiroidea. A nivel hepático su actividad es insignificante. (Latimer *et al.*, 2003).

Latimer *et al.* (2003) marcan como actividades normales de CK todas aquellas que no superen las 350 UI/L; Radostits *et al.* (2006) limita este rango y lo establece entre 35 y 280 UI/L, mientras que para Kaneko *et al.* (2008) los rangos fisiológicos de actividad CK en bovino, son bastante bajos oscilando entre 4.8 y 12.1 UI/L. Finalmente, Bradford-Smith (2010) aporta unas actividades CK que oscilan entre los 105 y 409 UI/L.

> A excepción de los registros aportados por Kaneko *et al.* (2008) las actividades registradas para este estudio entran dentro de lo considerado como fisiológico.

La descripción gráfica de los resultados obtenidos nos muestra fluctuaciones puntuales a lo largo del estudio para ambas explotaciones sin que podamos obtener un comportamiento definido, con ascensos y descensos en momentos concretos y que sólo pueden ser atribuibles a cambios puntuales tal y como muestra la falta de significación estadística. En esta línea encontramos la ausencia de diferencias estadísticas entre explotaciones pudiendo atribuir esos incrementos a momentos puntuales de mayor actividad muscular.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

La actividad CK es un indicador altamente sensible y específico de lesión muscular en animales domésticos, más asociado a miopatías por ejercicio o trastornos locomotrices que a trastornos cardíacos (Bradford-Smith, 2010). En ocasiones, se interpretan conjuntamente las actividades AST y CK para saber si el aumento en esta última es atribuible a daño muscular o de otro órgano (en este caso hígado).

> Además, el uso combinado de AST y CK puede ser útil para determinar si el daño muscular continúa o ha cedido, ya que la enzima AST posee la vida media más larga, para Blood *et al.* (1993) permanece elevada de 3 a 10 días más que la enzima CK, mientras que para Smith *et al.* (1994), 21 días. Así se consigue el diagnóstico de daños musculares después de que se haya producido la caída de la creatín-kinasa (Latimer *et al.*, 2003; Kaneko *et al.*, 2008).

Teniendo en cuenta este hecho, aunque sabiendo que carece de relevancia estadística, el aumento numérico de la actividad CK en la T-5 (post-parto temprano) para las hembras de Palas de Rey es para nosotros claramente atribuible al esfuerzo muscular asociado al parto.

El incremento en las demás tomas, así como las obtenidas para las vacas de Monterroso han de ser consideradas como un efecto del sistema de

explotación, donde la movilidad de los animales es mayor, y por ende, la actividad muscular (Bradford-Smith, 2010).

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

4.2.4. PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS

4.2.4.A. LA SERIE ROJA: ERITROCITOS, HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO

Los valores medios globales de ***eritrocitos*** (expresados en x 10^6/µL) para cada explotación fueron de 5.7±0.06 para Palas de Rey, y de 5.6±0.08 para Monterroso.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica que la evolución de este parámetro sanguíneo se vió influido significativamente tanto por los efectos toma y granja aisladamente, así como por la interacción entre ellos.

	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	P<0.001	0.032	P<0.001

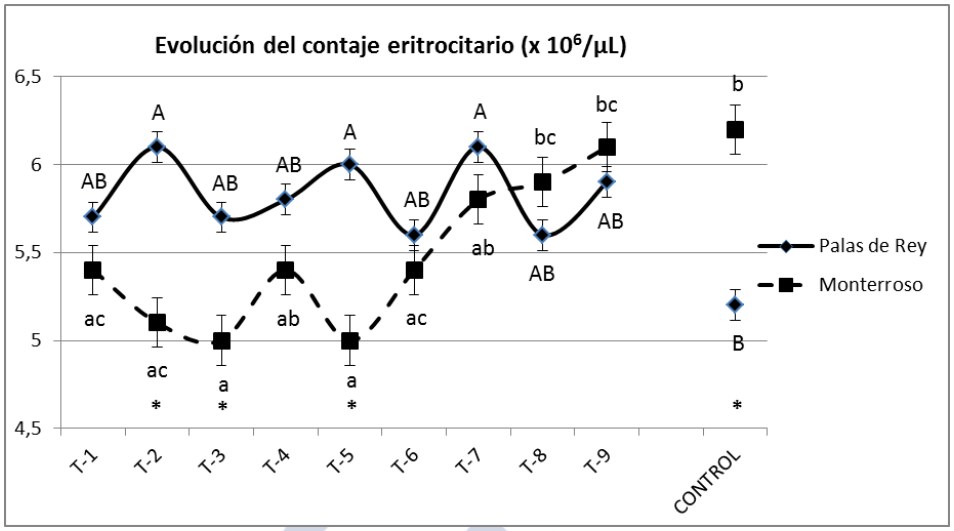
Las hembras incluidas en los lotes CTRL mostraron niveles que oscilan entre los 5.2±0.1 (x 10^6/µL) para la explotación de Palas de Rey y los 6.2±0.1 (x 10^6/µL) para Monterroso, manifestándose diferencias significativas entre lotes.

En lo que respecta al total de eritrocitos, los valores de referencia aportados por los distintos autores vienen a coincidir en un rango medio que se sitúa entre los 5 y 10 millones de GR (Radostits *et al*., 2006; Bradford-Smith, 2010).

> Por tanto, la valoración que vamos a hacer de los registros encontrados habrá de hacerse dentro de un escenario que se mantiene siempre en rangos fisiológicos. Sólo Latimer *et al.* (2003) señala rangos que van desde los 6 hasta los 10.4 millones de eritrocitos por microlitro.

El estudio gráfico de los datos nos muestran diferencias en los valores entre tomas y dentro de una misma explotación. Durante toda la fase de secado y hasta el post-parto temprano (desde T-1 hasta T-5) las hembras de la explotación de Palas de Rey presentaron contajes eritrocitarios superiores a

los de la explotación de Monterroso, con fluctuaciones significativas entre tomas para ambas granjas.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Así, para la GR-A encontramos los máximos valores en las tomas 2, 5 y 7 (6.1±0.2 x 10^6/µL, 6.0±0.2 x 10^6/µL y 6.1±0.2 x 10^6/µL, respectivamente) y el mínimo para el lote CTRL-A, quedando las demás tomas como grupos estadísticamente intermedios. Para la GR-B, las fluctuaciones son estadísticamente más acusadas, y donde destacamos los mínimos valores para las tomas 3 y 5 (5.0±0.2 x 10^6/µL para ambas tomas) y el máximo para el lote CTRL. Precisamente las diferencias entre explotaciones aparecen para las tomas 2, 3 y 5.

Es interesante destacar que a partir del posparto temprano (T-5) asistimos a un progresivo ascenso en los valores sanguíneos en la granja tipo-B (Monterroso), hasta llegar al pico de lactación (T-9) con las mayores concentraciones de toda la experiencia.

En relación a los valores medios de ***hematocrito***, encontramos que las hembras de la GR-A (Palas de Rey) tuvieron porcentajes globales de 27.1±0.2 %, y de 25.1±0.3 % para la GR-B (Monterroso).

El análisis estadístico nos revela que para este parámetro el tipo de explotación influyó significativamente; tendió a la significación (P<0.1) para el caso de la toma efectuada, y sí que influyó la interacción entre ambos parámetros, tal y como se aprecia en la tabla adjunta.

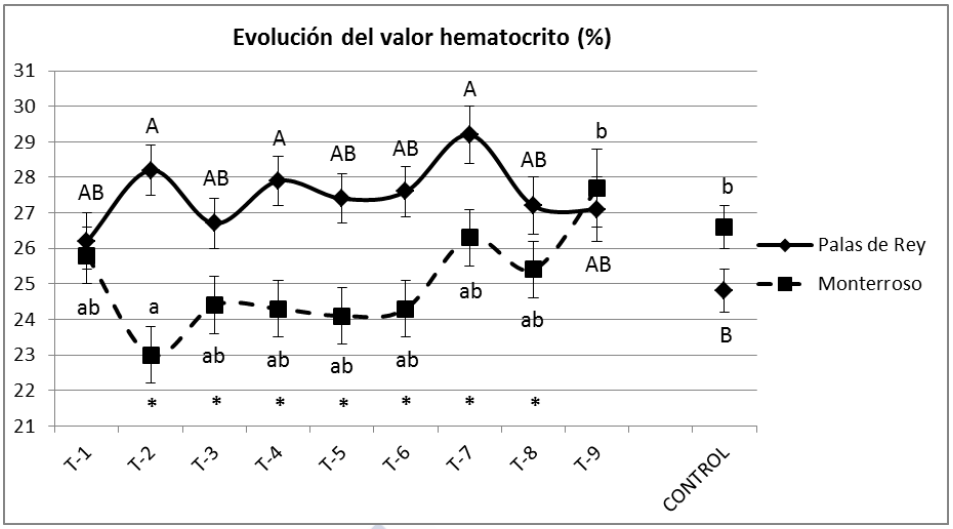
	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	0.010	0.081	P<0.001

Para las hembras de los lotes CTRL, los valores de hematocrito fueron de 24.8±0.6 % para Palas de Rey, y de 26.6±0.6 para Monterroso, sin que aparecieran diferencias entre lotes.

El valor hematocrito oscila en función del autor consultado, aunque manteniéndose en rangos similares: 27-43 % si atendemos a Latimer *et al.* (2003) o entre entre 24 y 46 (%) de acuerdo a lo señalado por Radostits *et al.* (2006) o mismo Bradford-Smith (2010).

> De nuevo, volvemos a señalar que los porcentajes registrados, en términos globales o basales, según se trate, estuvieron encuadrados en rangos fisiológicos.

La descripción gráfica de los resultados nos vuelve a mostrar que son las hembras de la explotación de Palas de Rey las que mantuvieron durante todo el estudio valores claramente superiores a los recogidos por la explotación de Monterroso, a excepción de la última toma correspondiente al pico de lactación.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Las fluctuaciones registradas para cada granja nos permite obtener para Palas de Rey unos valores hematocrito significativamente altos (y diferentes en comparación con Monterroso) para las tomas 2, 4 y 7 (28.2±0.7 %, 27.9±0.7 % y 29.2±0.8 %, respectivamente) y diferentes también a los registrados para el lote CTRL-A que muestra los mínimos valores del estudio, quedando los otros porcentajes como valores intermedios. Para Monterroso, el mínimo, y significativo, valor se alcanza en la T-2 (23.0±0.8 %) y los máximos corresponden a la T-9 (27.7±1.1 %) y al lote CTRL-B

Finalmente, el valor medio global de ***hemoglobina*** para la granja de Palas de Rey fue de 8.9±0.1 mg/dL y para la de Monterroso de 8.5±0.2 mg/dL.

El análisis estadístico refleja el efecto que el tipo de explotación tuvo sobre este parámetro y que no influyó la toma efectuada, aunque sí encontramos tendencia a la significación (P<0.1) en los que respecta a la interacción de los dos factores considerados.

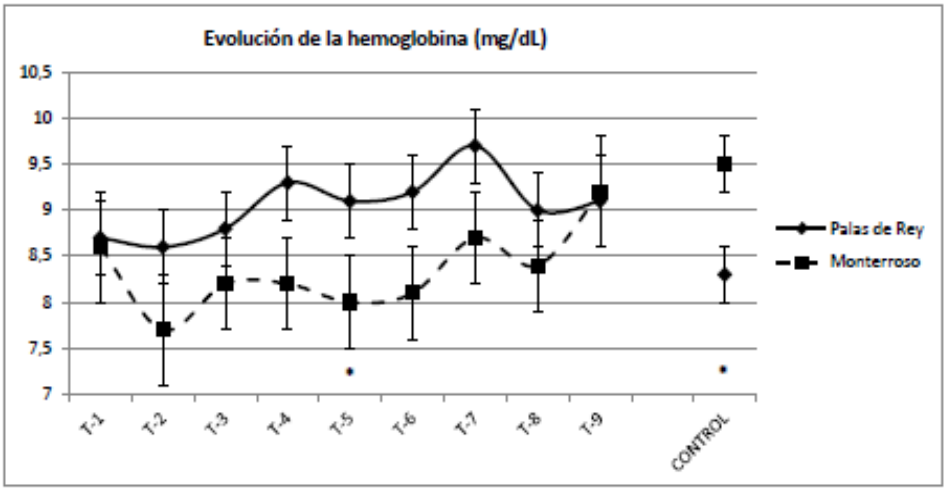
	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.013	0.567	0.057

Las hembras de los lotes CTRL mostraron valores diferentes: 8.3±0.3 mg/dL para Palas de Rey; 9.5±0.3 mg/dL para Monterroso.

La concentración de hemoglobina en sangre se sitúa entre los 8 y 15 mg/dL para todos los autores consultados (Latimer *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2006; Kaneko *et al.*, 2008; Bradford-Smith, 2010).

> Por tanto, una vez más, estaremos hablando de cambios y variaciones que se encontraron dentro de rangos fisiológicos durante toda la fase de estudio.

La descripción gráfica de los resultados nos muestra un parámetro que a pesar de las variaciones que muestra, éstas no revistieron carácter significativo. Llama la atención que desde la T-1 y hasta la T-9, las hembras de la granja de Palas de Rey mantuvieron mayores valores, llegando a ser significativa la diferencia encontrada en la T-5 (post-parto temprano).



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

A la hora de discutir estos resultados lo primero a señalar es que en ningún momento los animales presentaron situaciones de anemia o policitemia que nos harían abordar escenarios patológicos (Kerr, 2002; Bradford-Smith, 2010). Por tanto los cambios o tendencias apreciadas han de ser circunscritas a factores externos (nutrición) así como internos (cambios fisiológicos) inherentes al animal.

Así, los valores de eritrocitos se corresponden lógicamente con los valores de hematocrito para cada población. Dentro de los rangos fisiológicos en que

estamos, el carácter racial (y la aptitud asociada) puede ser causa de estas diferencias, sin que ello implique patología alguna.

> Estas diferencias fueron ya descritas por Hernández *et al.* (1997) al comparar los valores eritrocitarios entre los animales que conformaban la Agrupación Racial Morenas del Noroeste, la raza Rubia Gallega y la raza Frisona.

La valoración del valor hematocrito suele acompañar a la interpretación de la proteinemia, ya que incrementos de la misma, asociados a hemoconcentración será propio de deshidratación, más que de aumento de la síntesis, y viceversa (Stockham y Scott, 2002).

> Dentro del contexto de que estamos manejando escenarios fisiológicos, la mayor proteinemia mostrada por las vacas de Palas de Rey, junto a los mayores valores hematocrito nos sugiere un estado de concentración del medio hidroelectrolítico, sin que ello implique alteración en el estado de salud del animal.

El incremento de la eritrocitemia registrado por las vacas Frisonas de Monterroso durante la lactación a partir del postparto temprano creemos obedece a un mecanismo compensador por parte del organismo ante las demandas tisulares de O_2 que impone la producción de leche así como el esfuerzo metabólico que ésta conlleva (Kerr, 2002).

> La producción de eritropoyetina se ve afectada por diversos ejes endocrinos, entre los que destacamos el cortisol, tiroxina, adrenalina, noradrenalina, angiotensina, prolactina, hormona del crecimiento (GH), hormona estimulante del tiroides (TSH) y la hormona adrenocorticotropa (ACTH).
>
> Estaríamos pues ante lo que Bradford-Smith (2010) define como una *eritrocitosis absoluta secundaria* derivada de una mayor secreción de eritropoyetina y que afecta a las vacas de la explotación tipo-B (Monterroso, las de mayor producción láctea).

4.2.4.B. LA SERIE BLANCA TOTAL

Los valores medios de glóbulos blancos recogidos para la explotación de Palas de Rey fueron de 8.1±0.2 x 10^3/µL, mientras que para la de Monterroso fue de 8.1±0.2 x 10^3/µL.

El análisis estadístico de los resultados nos muestra que ninguno de los factores utilizados (granja o toma) así como la interacción entre ellos influyó en el comportamiento de este componente sanguíneo, tal y como se aprecia en la siguiente tabla:

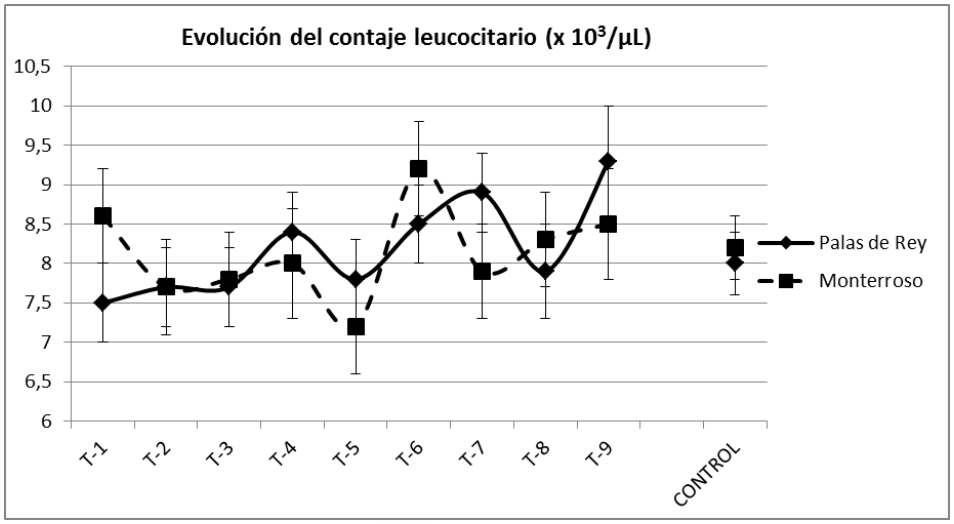
	Explotación (E)	**Toma (T)**	**E x T**
Efecto	0.915	0.292	0.764

Para las hembras de los lotes CTRL, los contajes leucocitarios totales fueron también muy parecidos: 8.0±0.4 x 10^3/µL (GR-A) y 8.2±0.4 x 10^3/µL (GR-B) sin que apreciemos diferencias significativas entre lotes.

El valor total de leucocitos en ganado vacuno, más allá de los amplios rangos aportados por Kerr (2002) para los mamíferos, está entre 4 y 12 (x10^3/µL) (Latimer *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2006; Bradford-Smith, 2010). En trabajos más concretos señalamos los valores medios de GB indicados por Hernández *et al.* (1997) para la agrupación racial Morenas del Noroeste, siendo de 8.01±2.7 (x10^3/ µL) y de 7.9±2 (x10^3/ µL) para la raza Rubia Gallega.

> De nuevo nos volvemos a encontrar con un parámetro que en nuestro estudio se mueve en rangos fisiológicos

En efecto, la representación gráfica de los resultados nos muestra un parámetro que oscila a lo largo del estudio sin que podamos obtener un comportamiento marcado, con grandes variaciones individuales, a tenor de los amplios errores estándar obtenidos y que justifica la pérdida de significación para todos los factores considerados.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

El recuento total de leucocitos, como dato numérico, ofrece para Bradford-Smith (2010) un conjunto de datos de gran utilidad siempre que vaya acompañado de la anamnesis, los signos clínicos y los hallazgos físicos. No obstante este mismo autor señala que en procesos crónicos el recuento total de glóbulos blancos no aporta información relevante.

> Hemos de recordar que las hembras de nuestro estudio fueron seleccionadas en base a su buen estado corporal, sin que presentasen manifestación clínica de enfermedad. Y a lo largo de esta discusión pudimos comprobar cómo el sistema defensivo imperante, especialmente en las vacas de Palas de Rey fue la inmunidad humoral.

A mayores en ganado vacuno, la enfermedad inflamatoria aguda y la infección (p. ej. metritis y mastitis por coliformes) causan una brusca caída del recuento leucocitario, debida a la migración de los neutrófilos maduros al lugar de la inflamación, a la marginación de los neutrófilos y a la pérdida de linfocitos inducida por estrés (Bradford-Smith, 2010).

4.2.4.C. PLAQUETAS

Los valores medios globales de plaquetas (expresados en x 10^3/µL) para cada explotación fueron de 256.6±10.3 para Palas de Rey, y de 266.1±12.2 para Monterroso.

Los efectos del análisis estadístico quedan reflejados en la siguiente tabla, que nos indica la falta de efecto significativo del tipo de explotación o la toma de que se trate, aunque sí de la interacción entre ambos factores.

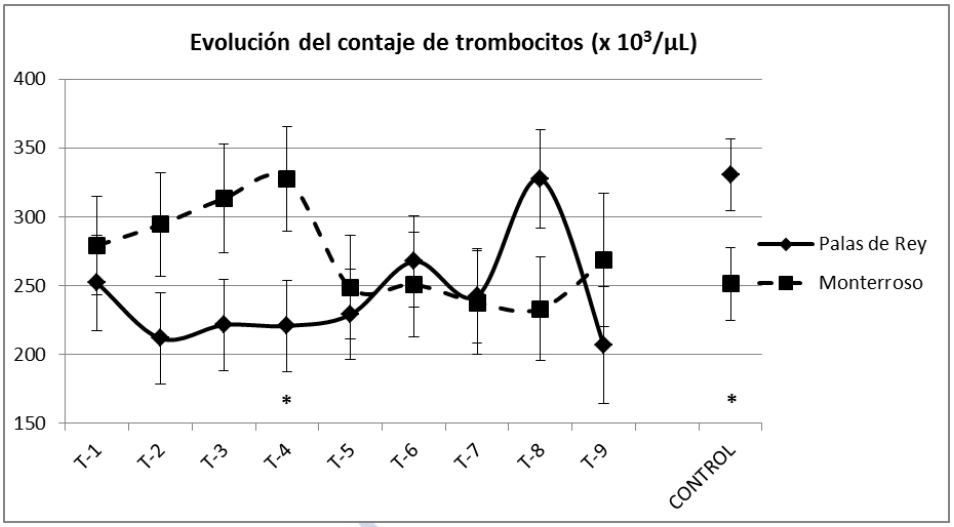
	Explotación (E)	Toma (T)	E x T
Efecto	0.230	0.790	0.028

Las hembras incluidas en los lotes CTRL mostraron niveles que oscilan entre los 330.7±26.0 (x 10^3/µL) para la explotación de Palas de Rey y los 251.5±26.6 (x 10^3/µL) para Monterroso, siendo ambos lotes diferentes desde un punto de vista estadístico.

Entre 100.000 y 800.000/ µL es el rango establecido como fisiológico por los distintos autores consultados (Latimer *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2006; Kaneko *et al.*, 2008).

> Por tanto nuestros valores y para ambas explotaciones vuelven a encontrarse dentro del rango de referencia para la especie bovina.

La descripción gráfica de los resultados nos muestra dos etapas numéricamente diferenciadas para cada explotación, aunque sin relevancia estadística. Para la granja de Palas de Rey los valores de plaquetas descienden desde la T-1 y permanecen relativamente bajos –aunque dentro del rango fisiológico- durante toda la fase de secado y hasta el post-parto e inicio de lactación (T-5 y T-6). Desde ese momento y durante toda la lactación comienza a manifestar oscilaciones, que carecen de relevancia estadística, finalizando esta etapa con valores plaquetarios inferiores a las del inicio e incluso las hembras CTRL-A.



Letras diferentes dentro de una misma explotación significan diferencias entre tomas.
(*) Diferencias (P<0.05) entre explotaciones

Por otro lado, es interesante analizar el comportamiento de la explotación de Monterroso. Aquí es posible observar como los valores plaquetarios se mantienen altos durante la fase de secado, descendiendo en el post-parto temprano, al contrario de lo señalado en la GR-A. Durante la lactación las hembras presentan fluctuaciones en sus valores –también sin relevancia estadística- finalizando no obstante el estudio con niveles que no superan a los de la fase anterior.

Para Bradford-Smith (2010) la disminución en la síntesis de plaquetas es el resultado de tres causas: 1) disminución en la producción; 2) secuestro de las mismas o 3) una vida media reducida.

> Lo cierto es que al estar manejando durante todo el estudio valores y rangos que oscilan entre los límites fisiológicos creemos que hemos de dar a estas variaciones un mero carácter puntual.

Si es curioso observar la diferente forma de actuar de las dos explotaciones y en tiempos concretos y que pueden ser atribuibles a factores raciales.

En base a la hipótesis y objetivos marcados en la presente Tesis Doctoral, podemos CONCLUIR que:

1. En términos productivos, e independientemente de la mayor cantidad y/o calidad de la leche, la producción láctea de las explotaciones analizadas encubre situaciones que comprometen el bienestar animal en lo que respecta a la presencia de mamitis subclínicas (explotación de Palas de Rey) o estados cetósicos (explotación de Monterroso) y que en caso de ser controladas ayudarían significativamente a la optimización en la producción de dichas granjas, tanto en términos cualitativos como cuantitativos.

2. En base al historial clínico y la recogida de datos realizados a los ganaderos y cuidadores de las explotaciones, para nosotros es evidente que el manejo de la explotación, en términos de factor humano, son determinantes a la hora de optimizar y rentabilizar las explotaciones de este tipo.

3. En lo que respecta al metabolismo energético hemos encontrado que la explotación de Monterroso manifiesta intensos desajustes en la fase inmediatamente posterior al parto y que se hicieron extensivo a la fase de lactación. Ello estuvo asociado a un escaso aporte de energía con la ración lo que mantuvo al animal en riesgo latente de cetosis. En este sentido, la homeorhesis energética fue más estable en la explotación de Palas de Rey, lo que nos sugiere que la ración administrada estaba acorde a la demanda fisiológica.

4. Referente al metabolismo proteico, este ha mostrado variar a consecuencia de los desajustes nutricionales y de manejo señalados para cada explotación. Mientras que la granja de Palas de Rey mostró un aumento en la secreción de proteínas con la leche (probablemente proteínas de fase aguda), en la granja de Monterroso estos cambios están básicamente asociados a incrementar la formación de energía con el que mantener la producción lechera.

5. La enzimología clínica, y concretamente las enzimas AST y GGT, reflejan el esfuerzo hepático derivado de los ajustes metabólicos que desarrollaron las vacas de la explotación de Monterroso, para cubrir las demandas derivadas de la producción de leche. Este efecto no se observó en las granjas de Palas de Rey.

6. Respecto a los parámetros hematológicos, los valores se mantuvieron para ambas explotaciones dentro de los rangos fisiológicos para la especie, señalando únicamente a la serie roja (eritrocitos, hemoglobina y hematocrito) como los únicos parámetros que aportaron información de relevancia. Así, las hembras de la explotación de Palas de Rey presentaron valores superiores a los de la granja de Monterroso y que pueden ser atribuibles a factores de índole racial. La falta de significación registrada en lo que respecta a la serie blanca total para las hembras de Palas de Rey nos indican que la respuesta inmune activa en estos animales era de tipo humoral y no tanto celular.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

La ganadería ecológica en el sector lechero es una alternativa zootécnica de desarrollo sostenible frente a los actuales sistema de producción intensiva. Se trata de una actividad que cuenta cada año con más respaldo social, aunque su asentamiento sigue siendo inferior en comparación con otros países de Europa, sobre todo nórdicos, debido entre otras razones a la ausencia de datos empíricos que avalen el beneficio de este nuevo sistema sobre el estado de salud de los animales y la calidad de sus producciones, directas (leche) o indirectas (derivados y procesados lácteos).

Este trabajo pretende cubrir algunas de las lagunas existentes hasta la fecha, y se ha realizado bajo la hipótesis de que creemos que el sistema de producción lechera recogido en el modelo de ganadería ecológica puede proporcionar beneficios tangibles al inversor que decida introducirse en este sistema. Uno de estos beneficios se reflejaría en el estado de salud del animal, y especialmente, en el momento más crítico de su vida productiva, favoreciendo una más que probable plasticidad metabólica ante enfermedades que acontecen frecuentemente en el modelo intensivo y que son causa, más que probada, de grandes pérdidas económicas. Con todo, son necesarios estudios que demuestren este beneficio.

Pretendemos aprovechar el hecho de que el modelo de ganadería ecológica en la producción de leche podría además constituir a corto-medio plazo, una vía sólida y factible cara a la reestructuración de una parte considerable del sistema lechero de Galicia, al fomentar prácticas productivas acordes a la naturaleza del animal.

En base a ello el objetivo principal de la presente Tesis Doctoral fue el estudio detallado de los cambios metabólicos y productivos que tienen lugar en este tipo de explotaciones, con especial hincapié en el momento más crítico, en términos sanitarios y productivos, de la vida productiva del animal: el final de la preñez y la lactación, con especial hincapié en la fase de transición. Dicho estudio se llevó a cabo en dos granjas ecológicas de diferente perfil: 1) Explotación A (Palas de Rey): Granja con animales cruce

de raza Frisona y Pardo Alpina; 2) Explotación B (Monterroso): Granja con animales de raza Frisona.

Los datos analizados en cada explotación fueron 1) datos clínico-productivos: registro de incidencias clínicas antes y durante el estudio; medición de la condición corporal (CC) y tras el parto, la cantidad y calidad de la leche recogida, datos obtenidos a través de los controles lecheros (nivel de grasa, proteínas, recuento de células somáticas e índice de cetosis); 2) datos metabólicos y en concreto 2.1.) metabolismo energético: niveles séricos de glucosa, ácidos grasos libres y ß-hidroxibutirato; 2.2.) metabolismo proteico: urea, creatinina y proteínas totales séricas (albúmina, globulinas, y cociente albúmina/globulinas); 2.3.) enzimología clínica: actividades AST, GGT y CK; finalmente 3) parámetros hematológicos: serie roja (eritrocitos totales, hemoglobina y hematocrito), serie blanca total y plaquetas.

Para ambas explotaciones de estudio los animales se dividieron en dos lotes o grupos de estudio: 1) Un primer grupo (n=15, en el que se incluyeron las vacas que presentaban una menor demanda metabólica formado por 15 animales entre el 4º y 6º mes de gestación (CTRL, A y B, respectivamente); 2) El segundo lote estaba constituido por 20 vacas en las que realizamos el estudio observacional y que consideramos experimental (EXP, A y B, respectivamente). Estos animales fueron muestreados desde los 62 días previos al parto (o ante-parto, a.p.) hasta los 100 días posteriores al mismo (o post-parto, p.p.). Se realizaron 9 muestreos, tanto para los animales del grupo CTRL como para los del lote EXP en ambas explotaciones.

En base al análisis de la ración administrada para cada explotación, los datos analíticos y productivos nuestro estudio concluye que: 1) En términos productivos, e independientemente de la mayor cantidad y/o calidad de la leche, la producción láctea de las explotaciones analizadas encubre situaciones que comprometen el bienestar animal en lo que respecta a la presencia de mamitis subclínicas (explotación de Palas de Rey) o estados cetósicos (explotación de Monterroso) y que en caso de ser controladas

ayudarían significativamente a la optimización en la producción de dichas granjas, tanto en términos cualitativos como cuantitativos; 2) En base al historial clínico y la recogida de datos realizados a los ganaderos y cuidadores de las explotaciones, para nosotros es evidente que el manejo de la explotación, en términos de factor humano, son determinantes a la hora de optimizar y rentabilizar las explotaciones de este tipo; 3) En lo que respecta al metabolismo energético hemos encontrado que la explotación de Monterroso manifiesta intensos desajustes en la fase inmediatamente posterior al parto y que se hicieron extensivo a la fase de lactación. Ello estuvo asociado a un escaso aporte de energía con la ración lo que mantuvo al animal en riesgo latente de cetosis. En este sentido, la homeostasis energética fue más estable en la explotación de Palas de Rey, lo que nos sugiere que la ración administrada estaba acorde a la demanda fisiológica; 4) Referente al metabolismo proteico, este ha mostrado variar a consecuencia de los desajustes nutricionales y de manejo señalados para cada explotación. Mientras que la granja de Palas de Rey mostró un aumento en la secreción de proteínas con la leche (probablemente proteínas de fase aguda), en la granja de Monterroso estos cambios están básicamente asociados a incrementar la formación de energía con el que mantener la producción lechera; 5) La enzimología clínica, y concretamente las enzimas AST y GGT, reflejan el esfuerzo hepático derivado de los ajustes metabólicos que desarrollaron las vacas de la explotación de Monterroso, para cubrir las demandas derivadas de la producción de leche. Este efecto no se observó en las granjas de Palas de Rey; 6) Respecto a los parámetros hematológicos, los valores se mantuvieron para ambas explotaciones dentro de los rangos fisiológicos para la especie, señalando únicamente a la serie roja (eritrocitos, hemoglobina y hematocrito) como los únicos parámetros que aportaron información de relevancia. Así, las hembras de la explotación de Palas de Rey presentaron valores superiores a los de la granja de Monterroso y que pueden ser atribuibles a factores de índole racial. La falta de significación registrada en lo que respecta a la serie blanca total para las hembras de

Palas de Rey nos indican que la respuesta inmune activa en estos animales era de tipo humoral y no tanto celular.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

A gandaría ecolóxica no sector leiteiro é unha alternativa zootécnica de desenvolvemento sostible fronte aos actuais sistema de produción intensiva. Trátase dunha actividade que conta cada ano con máis respaldo social, aínda que o seu asentamento segue sendo inferior en comparación con outros países de Europa, sobre todo nórdicos, debido entre outras razóns á ausencia de datos empíricos que avalen o beneficio deste novo sistema sobre o estado de saúde dos animais e a calidade das súas producións, directas (leite) ou indirectas (derivados e procesados lácteos).

Este traballo pretende cubrir algunhas das lagoas existentes ata a data, e realizouse baixo a hipótese de que cremos que o sistema de produción leiteira recollido no modelo de gandaría ecolóxica pode proporcionar beneficios tanxibles ao investidor que decida introducirse neste sistema. Un destes beneficios reflectiríase no estado de saúde do animal, e especialmente, no momento máis crítico da súa vida produtiva, favorecendo unha máis que probable plasticidade metabólica ante enfermidades que acontecen frecuentemente no modelo intensivo e que son causa, máis que probada, de grandes perdas económicas. Con todo, son necesarios estudos que demostren este beneficio.

Pretendemos aproveitar o feito de que o modelo de gandaría ecolóxica na produción de leite podería ademais constituír a curto-medio prazo, unha vía sólida e factible cara á reestruturación dunha parte considerable do sistema leiteiro de Galicia, ao fomentar prácticas produtivas acordes á natureza do animal.

Sobre a base do anteriormente sinalado o obxectivo principal da presente Tese Doutoral foi o estudo detallado dos cambios metabólicos e produtivos que teñen lugar neste tipo de explotacións, con especial fincapé no momento máis crítico, en termos sanitarios e produtivos, da vida produtiva do animal: o final da preñez e a lactación, con especial fincapé na fase de transición. O devandito estudo levouse a cabo en dúas granxas ecolóxicas de diferente perfil: 1) Explotación A (Pas de Rei): Granxa con animais de raza Frisona e

Pardo Alpina; 2) Explotación B (Monterroso): Granxa con animais de raza Frisona.

Os datos analizados en cada explotación foron 1) datos clínico-produtivos: rexistro de incidencias clínicas antes e durante o estudo; medición da condición corporal (CC) e tras o parto, a cantidade e calidade do leite recollido, datos obtidos a través dos controis leiteiros (nivel de graxa, proteínas, reconto de células somáticas e índice de cetose); 2) datos metabólicos e en concreto 2.1.) metabolismo enerxético: niveis séricos de glicosa, ácidos graxos libres e ß-hidroxibutirato; 2.2.) metabolismo proteico: urea, creatinina e proteínas totais séricas (albumina, globulinas, e cociente albumina/globulinas); 2.3.) encimoloxía clínica: actividades AST, GGT e CK; finalmente 3) parámetros hematolóxicos: serie vermella (eritrocitos totais, hemoglobina e hematocrito), serie branca total e plaquetas.

Para ambas as dúas explotacións de estudo os animais dividíronse en dous lotes ou grupos de estudo: 1) Un primeiro grupo (n=15, no que se incluíron as vacas que presentaban unha menor demanda metabólica formado por 15 animais entre o 4º e 6º mes de xestación (CTRL, A e B, respectivamente); 2) O segundo lote estaba constituído por 20 vacas nas que realizamos o estudo observacional e que consideramos experimental (EXP, A e B, respectivamente). Estes animais foron mostrados dende os 62 días previos ao parto (ou ante-parto, a.p.) ata os 100 días posteriores a este (ou post-parto, p.p.). Realizáronse 9 mostraxes, tanto para os animais do grupo CTRL coma para os do lote EXP en ambas as dúas explotacións.

Sobre a base da análise da porción administrada para cada explotación, os datos analíticos e produtivos o noso estudo conclúe que: 1) En termos produtivos, e independentemente da maior cantidade e/ou calidade do leite, a produción láctea das explotacións analizadas encobre situacións que comprometen o benestar animal no que respecta á presenza de mamites subclínicas (explotación de Palas de Rei) ou estados cetósicos (explotación de Monterroso) e que en caso de ser controladas axudarían significativamente á

optimización na produción das devanditas granxas, tanto en termos cualitativos como cuantitativos; 2) Sobre a base do historial clínico e a recollida de datos realizados aos gandeiros e coidadores das explotacións, para nós é evidente que o manexo da explotación, en termos de factor humano, son determinantes á hora de optimizar e rendibilizar as explotacións deste tipo; 3) No que respecta ao metabolismo enerxético encontramos que a explotación de Monterroso manifesta intensos desaxustes na fase inmediatamente posterior ao parto e que se fixeron extensivo á fase de lactación. Iso estivo asociado a unha escasa achega de enerxía coa porción o que mantivo o animal en risco latente de cetose. Neste sentido, a homeostase enerxética foi máis estable na explotación de Palas de Rei, o que nos suxire que a porción administrada estaba acorde á demanda fisiolóxica; 4) Referente ao metabolismo proteico, este mostrou variar a consecuencia dos desaxustes nutricionais e de manexo sinalados para cada explotación. Mentres que a granxa de Palas de Rei mostrou un aumento na secreción de proteínas co leite (probablemente proteínas de fase aguda), na granxa de Monterroso estes cambios están basicamente asociados a incrementar a formación de enerxía co que manter a produción leiteira; 5) A encimoloxía clínica, e concretamente as encimas AST e GGT, reflicten o esforzo hepático derivado dos axustes metabólicos que desenvolveron as vacas da explotación de Monterroso, para cubrir as demandas derivadas da produción de leite. Este efecto non se observou nas granxas de Palas de Rei; 6) Respecto aos parámetros hematolóxicos, os valores mantivéronse para ambas as dúas explotacións dentro dos rangos fisiolóxicos para a especie, sinalando unicamente á serie vermella (eritrocitos, hemoglobina e hematocrito) como os únicos parámetros que achegaron información de relevancia. Así, as femias da explotación de Palas de Rei presentaron valores superiores aos da granxa de Monterroso e que poden ser atribuíbles a factores de índole racial. A falta de significación rexistrada no que respecta á serie branca total para as femias de Palas de Rei indícannos que

a resposta inmune activa nestes animais era de tipo humoral e non tanto celular.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Organic farming in the dairy sector is an alternative animal husbandry sustainable development against the current system of intensive production. This is an activity that has every year with more social support, although the settlement in Galicia is still lower compared to other European countries, especially Nordic, among others due to the lack of empirical data to support the benefit of this new system on the state of health of animals and indirect quality of its productions, direct (milk) or (derivatives and dairy processed).

This work aims to fill some of the gaps to date, and has been conducted under the assumption that we believe that the system of milk production reflected in the model of organic farming can provide tangible benefits to the investor to decide to enter this system. One of these benefits is reflected in the health status of the animal, and especially in the most critical moment of its life, favoring a more than likely metabolic plasticity to diseases that occur frequently in the intensive model and that cause, rather than proven, large economic losses. However, studies are needed to prove this benefit.

We intend to capitalize on the fact that the model of organic farming in milk production could also be short-medium term, a solid and feasible way to face a considerable restructuring of the dairy system of Galicia, to promote consistent production practices to the nature of the animal.

Based on this, the main goal of this PhD thesis was a detailed study of the metabolic and productive changes that take place in this type of farms, with particular emphasis on the most critical stage in health and productive terms: the end of pregnancy and whole lactation, with particular emphasis on the transition period. This study was carried out in two different ecological farms: 1) Farm A (located in Palas de Rey): Composed by crossbreed Holstein-Frisian x Pardo Alpina cows and 2) Farm B (located in Monterroso): composed by Holstein-Frisian cows.

Data analyzed in each farm were 1) clinical and productive data: recording medical incidents before and during the study, measurement of body condition score (BCS) and after delivery, the quantity and quality of milk, data obtained milking controls (level of fat, protein, somatic cell count and rate of ketosis), 2) metabolic data and specifically 2.1) energy metabolism: serum glucose, free fatty acids and ß-hydroxybutyrate, 2.2). protein metabolism: urea, creatinine and serum total protein (albumin, globulins, and albumin / globulin ratio) 2.3) clinical enzymology. activities AST, GGT and CK, and finally 3) hematological parameters: red series (total erythrocytes, hemoglobin and hematocrit) Total white series and platelets.

For both studied farms animals were divided into two study groups: 1) The first group (in which cows had lower metabolic demands consisting of 15 animals between the 4^{th} and 6^{th} month of pregnancy (CTRL, A and B, respectively), 2) the second group comprised 20 cows in which we conducted the observational study and we consider as experimental (EXP, A and B, respectively). These animals were sampled from 62 days before calving (antepartum or, ap) until 100 days after it (or postpartum pp). Nine samplings were performed for both groups and CTRL group for both farms.

Based on the analysis of the ration given to each farm, analytical data and productive parameters our study concludes that: 1) In terms of production, and regardless of the greater quantity and / or quality of the milk, the dairy farm production conceals analyzed situations that compromise animal welfare in relation to the presence of subclinical mastitis (exploitation of Palas de Rey) or ketotic states (Monterroso farm) and that whose control should significantly help to optimize the production of these farms, both in qualitative and quantitative terms; 2) Based on clinical history and data collection made to farmers and caretakers of farms, for us it is clear that the management of the farm in terms of human factors are determining when optimizing and profitable farms of this type;

3) With respect to energy metabolism we found that the farm of Monterroso manifests imbalances in immediate postpartum phase and were extended to the stage of lactation. This was associated with a low energy intake with the diet that kept the animal in a latent risk of ketosis. In this sense, energy homeostasis was more stable in the exploitation of Palas de Rey, which suggests that the ration was administered according to the physiological demand of the animals; 4) Concerning the protein metabolism, it has shown changes due to nutritional management. While the farm of Palas de Rey showed an increase in the secretion of milk proteins (probably acute phase proteins) in the farm located in Monterroso these changes are mainly associated with the formation of energy necessary to maintain milk production; 5) Clinical enzymology, specifically AST and GGT activities reflect hepatic metabolic effort necessary to adjust the energy demands in Monterroso farm. This effect was not observed in the farm of Palas de Rey; 6) Regarding the hematological parameters, values for both farms were maintained within physiological ranges for bovine, pointing only to the red series (erythrocytes, hemoglobin and hematocrit) as the only parameters that provided important information. Thus, female from Palas de Rey had higher values than Monterroso farm and that may be attributable to racial factors. The lack of significance recorded in relation with white cells in the cows of Palas de Rey indicates that the active immune response in these animals was predominantly humoral more than cellular.

USC
UNIVERSIDADE
DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA

Adewuyi, A.A.; Roelofs, J.B.; Gruys, E.; Toussaint, M.J.M.; van Eerdenburg, F. (2006). Relationship of plasma nonesterified fatty acids and walking activity in postpartum dairy cows. *Journal Dairy Science* 89: 2977-2979.

Aguilera, P. (2003). Efecto de la suplementación con dos tipos diferentes de carbohidratos en el concentrado sobre la respuesta productiva en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Memoria de Titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.

Aoki, Y.; Yamada, A.; Hayasaka, K.; Yamazaki, T. (1996). Effect of chronic exercise on plasma insulin and metabolites levels in growing cattle. *Proceedings of 8th AAAP Animal Science Congress* 2: 572–573.

Aoki, Y.; Yamada, A.; Nakanishi, N.; Yamazaki, T.; Harashima, N.; Nishida, T. (1995). Effects of grazing on plasma concentrations of insulin, glucose, non-esterified fatty acids and triglycerides in reared beef steers. *Bulletin of National Grassland Research Institute* 51: 50-56.

Aoki, Y.; Yamada, A.; Nakanishi, T. (2001). Effects of exercise and concentrate level on metabolism and insulin secretion in beef steers. *Proceedings of 8th Japanese Society of Animal Science Congress* 28-30

Archibeque, S.L.; Burns, J.C.; Huntington, G.B. (2001). Urea flux in beef steers: Effects of forage species and nitrogen fertilization. *Journal of Animal Science* 79: 1937-1943.

Argamentería, A.; Vicente, F.; Morales-Almaráz, E.; Soldado, A.; de la Roza-Delgado, B.; Martínez-Fernández, A. (2012). Pastoreo convencional vs ecológico y producción láctea. *Mundo Ganadero*, 245: 37-41.

Bachman, K.C.; Schairer, M.L. (2003). Invited review: bovine studies on optimal lengths of dry periods. *Journal Dairy Science* 86(10): 3027-3037.

Bagenal, S. (2001). Barriers and Opportunities for the Development of the Organic Milk Market, *Proceedings: Organic Food and Farming*, Disponible en: www.fvm.dk.

Bargo, F.; Muller, L.; Kolver, E.; Delahoy, J. (2003). Invited Review: Production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. Journal Dairy Sciemce 86: 1-42.

Bauman, D.E.; Mather, I.H.; Wall, R.J.; Lock, A.L. (2006). Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal Dairy Science* 89(4): 1235-1243

Bavera, G. (2005). Lactancia y destete definitivo. *Cursos de Producción Bovina de Carne*. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Rio Cuarto (UNRC), Argentina.

Bell, A.W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73: 2804-2819.

Bell, W.; Bauman, D. (1997) Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. en *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 2(3): 265-278.

Bender, S.; Gelfert, C.; Staufenbie, R. (2003). Use of urine samples for monitoring acid-base equilibrium in herd health management of dairy cattle herds. *Tierärztliche Praxis* 31: 132–142.

Benedito Castellote, J.L. (1986). Aportaciones a la cetosis subclínica. *Tesis Doctoral*, Universidad de Murcia.

Benedito, J.L.; Alonso, A.J.; Ayala, I.; Cano, M.J.; Castillo, C.; Cruz, J.M.; Diez, I.; González, J.R.; Guinarte, E.; Gutiérrez, C.; Hernández, J.; López, M.; Miranda, M.; Montes, A.; Pérez, C.C.; Prieto, F. (1998). *Cetosis bovina*. Tratado de Veterinaria práctica BOVIS. Ed. Luzán, Madrid, España.

Bennedsgaard, T.W.; Thamsborg, S.M.; Vaarst, M.; Enevoldsen C. (2003). Eleven years of organic dairy production in Denmark: herd health and production related to time of conversion and compared to conventional production. *Livestock Production Science* 80: 121-131.

Berentsen, P.; Giesen, B.M.; Schneiders, M. (1998). Conversion from Conventional to Biological Dairy Farming Economic and Environmental Consequences at Farm Level. *Biological, Agriculture and Horticulture* 16(3): 311-328.

Bergamo, P.F.; Iannibelli, E.; Marzillo, L.G. (2003) Fat-soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products *Food Chemistry* 82: 625-631.

Bilodeau-Goeseels, S. (2003) Effect of oocyte quality on the relative abundance of specific gene transcripts in bovine mature oocytes and 16-cell embryos. *Canadian Journal Veterinary Research* 67(2): 151-156.

Bishop, R. (2007). Science behind reported benefits of organic milk. Disponible en: http://blogs.das.psu.edu/

Bitman, J.; Wood, D.L.; Lefcourt, A.M. (1990). Rhythms in cholesterol, cholesteryl esters, free fatty acids, and triglycerides in blood of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 73: 948-955.

Blanco Penedo, I. (2008). Situación actual de las granjas ecológicas de ganado vacuno de Galicia. Comparación con los sistemas de explotación tradicional e intensivo. *Tesis Doctoral*, Universidad de Santiago de Compostela, España.

Blanco Penedo, I.; López Alonso, M.; Miranda, M.; García Vaquero, M.; Gutiérrez, B.; Velasco, J.; Hernández, J.; Castillo, C.; Benedito, J.L. (2006). Nuevos retos en la veterinaria de la ganadería ecológica en Galicia. *Actas del XIV Congreso Internacional de la Federación Mediterránea de Sanidad y Producción de Rumiantes (FEMESPRUM)*, Lugo, España.

Blanco-Penedo, I.; Fall, N.; Emanuelson, U. (2012). Effects of turning to 100% organic feed on metabolic status of Swedish organic dairy cows. *Livestock Science* 143: 242-248.

Bloksma, J.; Adriaansen-Tennekes, R.; Huber, M.; van de Vijver, L.P.L.; Baars, T.; de Wit, J. (2008). Comparison of Organic and Conventional Raw Milk Quality in The Netherlands. *Biological Agriculture and Horticulture*, 26: 69–83.

Blood, D.C.; Henderson, J.A.; Radostits, O.M. (1993). *Medicina Veterinaria.* 7ª Ed. Vol. I. Ed. Interamericana. Madrid, España.

Bobe, G.; Ametaj, B.N.; Young, J.W.; Beitz, D.C. (2003). Potential treatment of fatty liver with 14-day sub¬cutaneous injections of glucagon. *Journal Dairy Science* 86(10): 3138-3147.

Bondi, A. (1988). *Nutrición Animal*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Borell, E.; von Sorensen, J.T. (2004). Organic livestock production in Europe: aims, rules, and trends with special emphasis on animal health and welfare. *Livestock Production Science* 90: 3-4.

Bradford, P. (2010). *Medicina interna de grandes animales.* Ed. Elsevier, Barcelona, España.

Brandl, M. (2000). General consumer attitudes to milk, organic dairy products, *Bulletin of the International Dairy Federation* 347: 16-18.

Breustedt, G.; Latacz-Lohmann, U.; Tiedemann, T. (2011). Organic or Conventional? Optimal dairy farming technology under the EU milk quota system and organic subsidies. *Food Policy* 36 (2): 223-229.

Brockman, R.P. (1978). Roles of glucagon and insulin in the regulation of metabolism in ruminants. A review. *Canadian Veterinary Journal* 19(3): 55-62.

Brosh, A.; Aharoni, Y.; Degen, A.A.; Wright, D.; Young, B.A. (1998). Effects of solar radiation, dietary energy, and time of feeding on termoregulatory responses and energy balance in cattle in a hot environment. *Journal of Animal Science* 76: 2671-2677.

Bruckmaier, R.M.; Blum, J.W. (1992). Responses of calves to treadmill exercise during beta-adrenergic agonist administration. *Journal of Animal Science* 70: 2809-2821.

Brugère-Picoux, J.; Brugère, H. (1987). Particularites de la biochimie clinique des ruminants. *Recent Medicine Vèterinarie* 163(1): 1043-1053.

Butler, G.; Stergiadis, S.; Seal, C.; Eyre, M.; Leifert, C. (2011) Fat composition of organic and conventional retail milk in northeast England. Journal Dairy Science 94: 24-36

Butler, L.J. (2002). The economics of organic milk production in California: A comparison with conventional costs. *American Journal of Alternative Agriculture* 17 (2): 83-91.

Butler, R.; Smith, R. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal Dairy Science* 72(3): 767-783.

Buttchereit, N.; Stamer, E.; Junge, W.; Thaller, G. (2010). Evaluation of five lactation curve models fitted for fat-protein ratio of milk and daily energy balance. *Journal Dairy Science* 93: 1702-1712.

Buttchereit, N.; Stamer, E.; Junge, W.; Thaller, G. (2011). Genetic relationships among daily energy balance, feed intake, body condition score, and fat to protein ratio of milk in dairy cows. *Journal Dairy Science* 94: 1586-1591.

Bystrom, S.; Jonsson, S.; Martinsson, K. (2002). Organic versus Conventional Dairy Farming-studies from the Öjebyn Projet. *Proceedings of the UK Organic Research Conference*. Disponible en: www.organicresearchcentre.com/

Caballero Luna, I.; Mata Moreno, C.; García Romero, C.; Díaz Gaona, C.; Arroyo Valverde, F.C.; Fernández Ortiz, E. (2003). Aspectos clave para la planificación y manejo ecológico. *Bovis* 110: 53-77.

Calleja, A.; Majamo, M.A. (2011). Salas de ordeño (2ª Parte). Tipos de instalaciones (II): Salas en espina de pescado. *Frisona Española* 182: 122-127.

Castillo, C.; Hernández, J. (2013). El laboratorio en la monitorización de la oveja gestante. *Ganadería* 83: 45-47.

Castillo, C.; Hernandez, J.; López Alonso, M.; Bravo, A.; Pereira, V.; Benedito, J.L. (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Veterinary Journal* 169: 286-292.

Castillo, C.; Hernández, J.; Valverde, I.; Pereira, V.; Sotillo, J.; López Alonso, M.; Benedito, J.L. (2006). Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 80: 133-139.

Castillo, C.; Pereira, V.; Abuelo, A.; Hernández, J. (2013). Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. *The ScientificWorld Journal* Volume 2013, Article ID 616098.

Cederberg, C.; Mattsson, B. (2000). Life cycle assessment of milk production: comparison of conventional and organic farming. *Journal of Cleaner Production* 8: 49-60.

Čejna, V.; Chádlek, G. (2006). The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. *Journal of the Central European Agriculture* 6(4): 539-546.

Center, S.A. (2007). Interpretation of liver enzymes. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 37: 297-333.

Centro de Formación de la Asociación CAAE (2006). *El ganado bovino en producción ecológica*. Asociación para el Desarrollo Sostenible del Poniente Granadino (ed.).

Chin, S.F.; Liu, W.; Storkson, J.M.; Ha, Y.L.; Pariza, M.W. (1992). Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis* 5: 185-197.

Church, C.C. (1993). *El rumiante: fisiología digestiva y nutrición*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Cole, N.A.; Brown, M.A.; Phillips, W.A. (2001). Genetic environment interactions on blood constituents of Angus, Brahman, and reciprocal-cross cows and calves grazing common bermudagrass or endophyte-infected tall fescue. *Journal of Animal Science* 79: 1151–1161.

Coles, E.H. (1989). *Patología y Diagnóstico Veterinario*. 4ª Ed. Ed. Interamericana. Méjico.

Coppo, J.A.; Coppo, N.B. (1999). Nutritional indicators changes and organic damages in cottonseed supplemented steers. *Facena* 14: 1-6.

Coppo, J.A.; Coppo, N.B. (2001). Efectos de la suplementación con semilla de algodón sobre el enzimograma plasmático de terneros destete. Disponible en: http://www1.unne.edu.ar/cyt/2001/cyt.htm

Cowal, C.; Ni-Ghraith, D. (2002): The market for organic liquid milk in Ireland, *Final Report Project RMIS* 4613, Teagasc.

Cunningham, J.G. (2008). *Fisiología Veterinaria*. 3ª edición. Elsevier-España, Barcelona, España.

Cunningham, J.G.; Klein, B.G. (2009). *Fisiología Veterinaria*. Elsevier, Barcelona, España.

Dewhurst, R.; Fisher, W.J.; Tweed, J.; Wilkins, R.J. (2003). Comparison of grass and legume silages for milk production. *Journal of Dairy Science* 86: 2598-2611.

Domínguez, R.; Hernández, J.; Benedito, J.L.; Fernández, J.A.; Castillo, C. (2013). ¿Existe la paresia puerperal en el ganado ecológico? *Ganadería* (aceptado para su publicación).

Douglas, G.N.; Overton, T.R.; Bateman, H.G.; Dann, H.M.; Drackley, J.K. (2006). Prepartal plane of nutrition, regardless of die¬tary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. *Journal Dairy Science* 89(6): 2141-2157.

Drackley, J. K. (1999). ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal Dairy Science* 82(11): 2259-2273.

Drackley, J.K. (2002). Transition cow management and periparturient metabolic disorders. In: Kaske, M., Scholz, H., Holtershinken, M. (Eds.), R*ecent Developments and Perspectives in Bovine Medicine. Klinik fur Rinderkrankheiten*, Tierarztliche Hochschule, Hannover, pp. 224–235.

Drackley, J.K.; Cicela, T.M.; LaCount, D.W. (2003). Responses of primiparous and multiparous Holstein cows to additional energy from fat or concentrate during summer. *Journal Dairy Science* 86(4): 1306-1314.

Dubey, J.P. (2004). Toxoplasmosis-A waterborne zoonosis. *Veterinary Parasitology* 126: 57-72.

Duehlmeier, R.; Hacker, A.; Widdel-Bigdely, A.; von Engelhardt, W.; Sallmann, H.P. (2010). Insulin stimulates GLUT4 translocation in the semitendinosus muscle of Shetland ponies. *Veterinary Journal* 184(2): 176-181.

Duffield, T.F.; Lissemore, K.D.; McBride, B.W.; Leslie, K.E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal Dairy Science* 92(2): 571-580.

Duque, M.; Olivera, M.; Rosero, R. (2011). Protected fat supplementation and energy metabolism in cows during early lactation. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 24:74-82.

Durango Morales, S.G.; Ruiz Diaz, J.I.; Galvis Góez, R.D. (2010). Efecto del propilenglicol sobre la uremia, glicemia y la producción de componentes de la leche. *Revista de la Facultad Nacional Agrícola de Medellín* 63(2): 5621-5628.

Eckersall, P.D.; Young, F.J.; McComb, C.; Hogarth, C.J.; Safi, S.; Weber, A.; McDonald, T.; Nolan, A.M.; Fitzpatrick, J.L. (2001). Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Record* 148: 35-41.

Edmonson, A.J.; Lean, I.J.; Weaver, L.D.; Farver, T.; Webster, G. (1989). A body condition scoring chart of Holstein dairy cows. *Journal Dairy Science* 72: 68-74.

Ellis, K.A.; Innocent, G.; Grove-White, D.; Cripps, P.; McLean W.G.; Howard, C.V.; Mihm, M. (2006). Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *Journal of Dairy Science* 89:1938-1950.

Evans, G.O. (2009). *Animal Clinical Chemistry*. 2º ed. CRC Press, London, U.K.

Fall, N. (2009). Health and Reproduction in Organic and Conventional Swedish Dairy Cows. *Doctoral Thesis*. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia.

Fall, N.; Gröhn, Y.T.; Forslund, K.; Essen-Gustafsson, B.; Niskanen, R.; Emanuelson, U. (2008). An observational study on early-lactation

metabolic profiles in Swedish organically and conventionally managed dairy cows. *Journal Dairy Science* 91: 3983–3992

Fernández, G. (2009). El periodo de transición en la vaca lechera. Disponible en: http://www.unmsm.edu.pe/veterinaria

Fernández, M.E.; Cantalapiedra, J.J. (2013). *Benestar Animal e Instalacións: Gando vacún leiteiro*. Consellería de Medio Rural e do Mar. Xunta de Galicia.

Finamore, A.; Britti, M.S.; Roselli, M.; Bellovino, D.; Gaetani, S.; Mengheri, E. (2004). Novel approach for food safety evaluation. Results of a pilot experiment to evaluate organic and conventional foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7425–7431.

Fox, M.T.; Gerelli, D.; Pitt, S.R.; Jacobs, D.E. (1991). The relationship between appetite and plasma non esterified fatty acid level in housed calves. *Veterinary Research Communications* 15: 127.

Frandson, R.D.; Wilke, W.L.; Fails, A.D. (2009). Anatomy and physiology of farm animals. Ed. Wiley-Blackwell, Londres, U.K.

García Barrero, O. (2009). Bovino de leche ecológico (I). Adaptación del sistema productivo, instalaciones y manejo zootécnico. Producción Agraria Ecológica, Departament d´Agricultura, Alimentació i Acció Rural, Generalitat de Catalunya. Disponible en: www 20.gencat.cat

García Casillas, A.C.; Montiel Ramos, L.A. (2011). El periodo de transición de la vaca lechera. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente,* 22: 151-172.

García Romero, C. (2009). Problemática actual e importancia del modelo ganadero ecológico (I). *Ganadería*, abril-mayo 09: 58-61.

García Romero, C.; Bidarte Iturre, A.; Caballero Luna, I.; Arroyo Valverde, F.; Díaz Gaona, C.; Fernández Ortiz, E.; Mata Moreno, C. (2003).

Sanidad y Bienestar en las explotaciones bovinas ecológicas. *Bovis* 110: 79-101.

García, A. (2009). Alimentación preventiva de la vaca en transición. *Extensión Extra 4041S Dairy Science*. Disponible en: http://pubstorage.sdstate.edu

Gargallo, S. (2006). Estimación de la degradabilidad ruminal y digestibilidad intestinal de los aminoácidos de suplementos proteicos in vitro. *Tesis Doctoral*. Universidad Autónoma de Barcelona.

Garmedia, J. (2005). Suplementación estratégica de vacas de doble propósito alrededor del parto. *Revista de la Facultad de ciencias veterinarias*, UCV, Maracay. Venezuela.

Gentry, P.A.; Nyarko, K. (2000). Platelet lipids and prostaglandins . In: *Schalm's Veterinary Hematology* (Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C.; eds.) pp. 453-458. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.

Glaser, L.K.; Thompson, G.D. (2000). Demand for organic and conventional beverage milk, *Western Agricultural Economics Association Annual Meetings*. Vancouver, British Columbia, Canada.

Gleghorn, J.F.; Elam, N.A.; Galyean, M.L.; Duff, G.C.; Cole, N.A.; Rivera, J.D. (2004). Effects of crude protein concentration and degradability on performance, carcass characteristics, and serum urea nitrogen concentrations in finishing beef steers. *Journal of Animal Science* 82: 2705-2717.

Goff, J.P. (2006). Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. *Journal Dairy Science* 89(4): 1292-1301.

González, A.; Vazquez, O.P.; López, J. (2007). Presión de pastoreo y concentrado en producción eficiente de leche en zonas húmedas. En: *Los sistemas forrajeros: Entre la producción y el paisaje*. Pinto, M.;

Aldezábal, A.; Aizpurúa, A.; Albizu, I.; Barredo, A.; Mendarte, S.; Ruiz, R. (eds). Ed. Neiker, Victoria-Gasteiz.

Grandin, T. (1997). Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science* 7: 249-257.

Guyton, A.C. (2001). *Tratado de fisiología médica*. 10ª ed. Ed. Interamericana de España

Guzmán, G.; Alonso, A.; García, A.; Perea, J. (2009). *Producción ecológica de caprino lechero. Influencia en el Desarrollo Rural*. Ed. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid. pp. 467-492.

Hafez, E. (2000). *Reproduction in farm animals*. 6ª Ed. Editorial Lea & Febiger, Caracas, Venezuela.

Haggar, R.; Padel, S. (1996). *Conversion to organic milk production*. Institute of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth/University of Wales, Aberystwyth, U.K.

Hanuš, O.; Yong, T.; Kučera, J.; Genčurová, V.; Dufek, A.; Hanušová, K.; Kopec, T. (2011). The predictive value and correlations of two milk indicators in monitoring energy metabolism of two breeds of dairy cows. *Scientia Agriculturae Bohemica* 42 (1): 1-11.

Hardeng, F.; Edget, V.L. (2001). Mastitis, ketosis, and milk fever in 31 organic and 93 conventional norwegian dairy herds. *Journal of Dairy Science* 84 (12): 2673-2679.

Hayes, M.A. (2004). Pathophysiology of the liver. In: *Veterinary Pathophysiology*, Dunlop, R.H.; Malbert, C.H. (eds.). pp: 371-400. Ed. Blackwell Publishing, Iowa, USA

Herdt, H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics North America, Food Animal Practice* 16(2): 215-230.

Herdt, T.H. (1988). Fuel homeostasis in the ruminant. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.* 4(2): 213-231.

Hermansen, J.E. (2003). Organic livestock production systems and appropriate development in relation to public expectations. *Livestock Production Science* 80: 3-15.

Hernandez J.; Benedito J.L.; Castillo C.; Montes A.; Gutierrez C.; Ayala I.; García P.; Vallejo M. (1997). Use of blood parameters as ethnic characteristics in cattle breeds. *Archives of Animal Breeding* 40(6): 521-533.

Heuer, C.; Schkken, 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. Journal Dairy Science 82: 295-304.

Heuer, C.; Van Straalen, W.M.; Schukken, Y.H.; Dirkzwager, A.; Noordhuizen, J.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.

Holtenius, K.; Agenäs, S.; Delavaud, C.; Chilliard, Y. (2003). Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *Journal Dairy Science* 86(3): 883-891.

Hornick, J.L.; Van Eenaeme, C.; Diez, M.; Minet, V.; Istasse, L. (1998). Different periods of feed restriction before compensatory growth in Belgian Blue bulls: II. Plasma metabolites and hormones. *Journal of Animal Science* 76 (1): 260-271.

Houghton, P.L.; Lemenager, R.P.; Horstman, L.A.; Hendrix, K.S.; Moss, G.E. (1990). Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *Journal of Animal Science* 68(5): 1438-1446.

Howlett, B.; Connolly, L.; Cowan, C.; Meehan, H.; Nielsen, R. (2002). Conversion to organic farming: case study report for Ireland. *Working Paper DL* 3.1, Teagasc.

Hsia, C.C.W. (1998). Respiration function of hemoglobin. New England. Journal of Medicine 338: 239-247.

Huber, M.; Rembiałkowska, E.; Średnicka D.; Bügel S.; van de Vijver L.P.L. (2011). Organic food and impact on human health: Assessing the status quo and prospects of research. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences* 58 (3-4): 103–109.

Huntington, G.; Poore, M.; Hopkins, B.; Spears, J. (2001). Effect of ruminal protein degradability on growth and N metabolism in growing beef steers *Journal of Animal Science* 79: 533-541.

Huntington, G.B. (1997). Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal of Animal Science* 75: 852-867.

Huntington, G.B.; Harmon, D.L.; Kristensen, N.B.; Hanson, K.C.; Spears, J.W. (2006). Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Animal Feed Science and Technology* 130: 225–241.

Istasse, L.; Van Eenaeme, C.; Gabriel, A.; Clinquart, A.; Maghuin-Rogister, G.; Bienfait, J.M. (1990). The relationship between carcass characteristics, plasma hormones and metabolites in young fattening bulls. *Veterinary Research Communications* 14: 19-26.

Jacobsen, S.; Niewold, T.A.; Kornalijnslijper, E.; Toussaint, M.J.M.; Gruys, E. (2005). Kinetics of local and systemic isoforms of serum amyloid A in bovine mastitic milk. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 104: 21-31.

Jensen, F.B. (2004). Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O_2 and CO_2 transport. Acta Physiologica Scandinavica 182: 215-227.

Jorritsma, R.; Wensing, T.; Kruip, T.A.M.; Vos P.; Noordhuizen, J. (2003). Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinary Research* 34(1): 11-26.

Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. Bruss, M.L. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Ed. Academic Press, Orlando, USA.

Keatinge, R.; Gray, D.; Thamsborg, S.M.; Martini, A.; Plate, P. (2000). EU Regulation 1804/1999, the implications of limiting allopathic treatment.

Kerr, M.G. (2002). *Veterinary Laboratory Medicine*. 2nd ed. Blackwell Science, London, UK.

Kersbergen, R.; Schivera, D. (2005). Organic dairy farming and milk quality. *Hoard's Dairyman*.

Khan, M.A.; Lee, H.J.; Lee, W.S.; Kim, H.S.; Kim, S.B.; Ki, K.S.; Park, S.J.; Ha, J.K.; Choi, Y.J. (2007). Starch source evaluation in calf starter: I. Feed consumption, body weight gain, structural growth, and blood metabolites in Holstein calves. *Journal of Dairy Science* 90: 5259-5268.

Kijlstra, A.; Meerburg, B.G.; Mul, M.F. (2004). Animal-friendly production systems may cause reemergence of Toxoplasma gondii. *NJAS-Wageningen Journal Life Science* 52: 119-128.

Koza, G.A.; Mussart, N.B.; Fioranelli, S.A.; Álvarez Chamale, G.M.; Coppo, J.A. (2009). Respuesta de indicadores nutricionales en vaquillas suplementadas con semillas de soja y algodón en Chaco, Argentina. *Revista Veterinaria*. 20 (1):15-21.

Kuhn, M.T.; Hutchison, J.L.; Norman, H.D. (2005). Minimum days dry to maximize milk yield in subsequent lactation. Journal Animal Research 54(5): 351-367.

Kumbhakar, S.C.; Tsionas, E.G.; Sipiläinen, T. (2009). Joint estimation of technology choice and technical efficiency: an application to organic

and conventional dairy farming. *Journal of Productivity Analysis* 31: 151-161.

Lampking, N.; Padel, S. (1994): *The Economics of Organic Farming: An International Perspective*. CAB International, Oxon, UK

Lapierre, H.; Bernier, J.F.; Dubreuil, P.; Reynolds, C.K.; Farmer, C.; Ouellet, D.R.; Lobley, G.E. (2000). The effect of feed intake level on splanchnic metabolism in growing beef steers. *Journal of Animal Science* 78: 1084-1099.

Latimer, K.S.; Mahaffey, E.A.; Prasse, K.W. (2003). *Duncan & Prasse´s Veterinary Clinical Pathology*. Iowa State Press, USA.

Lauridsen, C.; Jorgensen, H.; Halekon, U.; Lars-Porskjer, Ch.; Brandt, K. (2005). Organic diet enhanced the health of rats. *Newsletter of Danish Research Centre of Organic Farm* 1:2-11.

LeBlanc, S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development* 56(Suppl): S29-35.

LeBlanc, S.J.; Leslie, K.E.; Duffield, T.F. (2005). Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. Journal Dairy Science 88: 159-170.

LeBlanc, S.J.; Lissemore, K.D.; Kelton, D.F.; Duffield, T.F.; Leslie, K.E. (2006). Major advances in disease prevention in dairy cattle. *Journal Dairy Science* 89(4): 1267-1279.

Leroy J.L.M.R.; Bossaert P.; Opsomer G.; Bols P.E.J. (2011). The effect of animal handling procedures on the blood non-esterified fatty acid and glucose concentrations of lactating dairy cows. *Veterinary Journal* 187: 81-84.

Levy-Toledano, S. (1999). Platelet signal transduction pathways: could we organize them into a " hierarchy " ? *Haemostasis* 29: 4-15.

Locatelli, A.; Agnes, F.; Sartorelli, P.; Tozzi, F.; Arrigoni, C.; Dominoni, S. (1988). Relievi ematochimici e ematologici sul trasporto nel vitello. *SUMMA*. 1: 21-27.

López O, Álvarez J. L. (2005). Consejos prácticos para alimentar y reproducir bien a nuestras vacas lecheras. *Revista ACPA*. 3:37

López, F.J. (2006). Relación entre la condición corporal y la eficiencia productiva en vacas Holstein. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 78 (4): 77-86.

Lucy, C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal Dairy Science* 84(6): 1277-1293.

Luzardo, P.; Almeida-González, M.; Henríquez-Hernández, L.A.; Zumbado, M.; Álvarez-León, E.E.; Boada, L.D. (2012). Polychlorobiphenyls and organochlorine pesticides in conventional and organic brands of milk: Occurrence and dietary intake in the population of the Canary Islands (Spain). *Chemosphere*, 88(3): 307-315

Margolles, E. (1983). Metabolitos sanguíneos en vaca de alta producción durante la gestación y lactación en las condiciones de Cuba y su relación con los trastornos del metabolismo. *Revista Cubana de Ciencias Veterinarias* 14(4): 221.

Masera, O.; Astier, M.; López-Rivadura, Y. (1999). Sustentabilidad y manejo de recursos naturales. El marco de evaluación MESMIS. *Mundi-Prensa, S.A., Gira, IE-UNAM.* México.

Mata Moreno, C.; Caballero Luna, I.; Fernández Ortiz, E.; Díaz Gaona, C.; Arroyo Valverde, F.C.; García Romero, C. (2003). La Ganadería Ecológica en España. Situación Actual, Productiva y Comercial. Perspectivas Futuras. *Bovis* 110: 11-23.

Mata, C. (2001). La ganadería ecológica y sus fundamentos. En: *Principios técnicos de la ganadería ecológica*. Comité andaluz de la ganadería ecológica (Ed.), pp. 1-6.

Mata, H. (2011). Caracterización y viabilidad de la producción ecológica en el NO de España. *Tesis Doctoral*. Universidad de Córdoba (España).

McGilvery, R.W.; Goldstein, G.W. (1988). *Bioquímica: aplicaciones clínicas*. Ed. Interamericana McGraw-Hill. Madrid.

McGuire, M.A.; Grinaldi, J.M.; Dwyer, D.A.; Barman, D.E. (1995). Role of insulin in the regulation of mammary synthesis of fat and protein. *Journal of Dairy Science* 78(4): 816-824.

McNamara, S.; Murphy, J.J.; Rath, M.; O'Mara, F.P. (2003). Effects of different transition diets on energy balance, blood metabolites and reproductive performance in dairy cows. *Livestock Production Science* 84: 195-206.

Midmore, P.; Padel, S.; McCalman, H.; Isherwood, J.; Fowler, S.; Lampkin, N. (2001): Attitudes Towards Conversion to Organic Production Systems: A Study of Farms in England. *Sefydliad Astudiaethau Gwledig Institute or Rural Studies*, Aberystwyth, UK.

Miettinen, P.V.A.; Juvonen, R.D. (1990). Diurnal variations of serum and milk urea levels in dairy cows. *Acta Agriculturae Scandinavica* 40: 289-296.

Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (2007). Disponible en: http://www.mapa.es/.

Miyoshi, S.; Pate, J.L.; Palmquist, D.L. (2001). Effects of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 68(1-2): 29-43.

Molina Hernández, S.A. (2000). Concentraciones de las variables sanguíneas del metabolismo proteico y de las inmunoglobulinas G (Ig G) circulantes en vacas lecheras pre-parto, suplementadas con una pequeña cantidad de afrecho de soya, con y sin minerales trazas

quelados. *Tesis de Grado*, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile.

Mori, A.; Urabe, S.; Asada, M.; Tanaka, Y.; Tazaki, H.; Yamamoto, I.; Kimura, N.; Ozawa, T.; Morris, S.T.; Hickson, R.; Kenyon, P.R.; Blair, H.; Choi, C.B.; Ara, T. (2007). Comparison of plasma metabolite concentrations and enzyme activites in beef cattle raised by different feeding systems in Korea, Japan and New Zealand. *Journal of Veterinary Medicine, Series A*. 54: 342-345.

Morisset, M.; Gilbert, D. (2000): Organic Milk: What are the Costs? Organic Dairy Products. *Bulletin of the International Dairy Federation* 347: 25-30.

Mulligan, F.J.; O'Grady, L.; Rice, D.A.; Doherty, M.L. (2006). Production diseases of the transition cow: body condition score and energy balance. *Journal Irish Veterinary* 59(9): 505-510.

Murray, R.K.; Granner, D.K.; Mayes, P.A.; Rodwell, V.W. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill, Chicago, USA

Nagata, Y.; Yoshikawa, J.; Hashimoto, A.; Yamamoto, M.; Payne, A.H.; Todokoro, K. (2003). Proplatelet formation of megakaryocytes is triggered by autocrine-synthesized estradiol. *Genes Development* 17: 2864-2869.

Nauta, W.J.; Baars, T.; Bovenhuis, H. (2006). Converting to organic dairy farming: consequences for production, somatic cell scores and calving interval of first parity Holstein cows. *Livestock Science* 99: 185-195.

Nelson, D.L.; Cox, M.M. (2000). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 3rd Ed. Worth Publishers, New York, USA.

Nicholas, P.K.; Padel, S.; Cuttle, S.P.; Fowler, S.M.; Hovi, M.; Lampkin, N.H.; Weller, R.F. (2004). Organic dairy production: a review. *Biological Agriculture and Horticulture* 22: 217-249.

Noe, E.; Alrøe, H.F. (2003). Farm enterprises as self-organizing systems: A new transdisciplinary framework for studying farm Enterprises? *International Journal of Sociology of Agriculture and Food* 11: 3-14.

Noro, M.; Borkert, J.; Vargas, V.; Hinostroza, A.; Pulido, R.; Wittwer, F. (2004). Diurnal variation in blood metabolites concentration in lactating dairy cows grazing rye pasture. *XI Congress international society animal clinical biochemistry-ISACB*, Valdivia, Chile.

Noro, M.; Vargas, V.; Pulido, R.G.; Wittwer, F. (2006). Efecto del tipo de concentrado sobre indicadores sanguíneos del metabolismo de energía y de proteínas en vacas lecheras en pastoreo primaveral. *Archivos de Medicina Veterinaria* 38 (3): 227-232.

Noro, M.; Wittwer, F. (2003). Utilidad de la determinación de la urea en la leche. *Vetermas* 2: 2-5.

Oetzel, G.R. (2003). Herd-based biological testing for metabolic disorders. *Advances in Dairy Technology* 15: 275-285.

Oetzel, G.R. (2007). Subacute ruminal acidosis in dairy herds: physiology, pathophysiology, milk fat responses, and nutritional management. *Proceedings of the Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners* Vancouver, Canadá.

Okamura, C.S.; Bader, J.F.; Keisler, D.H.; Lucy, M.C. (2009). Growth hormone receptor expression in two dairy breeds during the periparturient period. *Journal Dairy Science* 92(6): 2706-2710.

Ospina, P.A.; Nydam, D.V.; Stokol, T.; Overton, T.R. (2010). Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. *Journal Dairy Science* 93(8): 3595-3601.

Oudshoorn, F.W.; Sorensen, C.A.G.; de Boer, I.J.M. (2011). Economic and environmental evaluation of three goal-vision based scenarios for organic dairy farming in Denmark. *Agricultural Systems* 104: 315-325.

Overton, R. (2011). Feeding for Improving Energy Balance, *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, Department of Animal Science, Cornell University.

Padel, S. (2000) Strategies of organic milk production. In: Hovi, M.; Bouilhol, M. (Eds.) Human–Animal Relationships: Stockmanship and Housing in Organic Livestock Systems. *Proceedings of the 3th NAHWOA Workshop*, Clermont-Ferrand, Francia.

Panfili, G.; Manzi, P.; Pizzoferrato, L. (1994). High-performance liquid chromatography method for the simultaneous determination of tocopherols, carotens, and retinol and its geometric isomers in Italian cheese. *Analyst* 119: 1161-1165.

Parodi, P.W. (1999). Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *Journal of Dairy Science* 82: 1339–1349.

Payne, J.M.; Payne, S. (1987). *The metabolic profile test.* Ed. Oxford University Press. Oxford Science Publications. Oxford. Inglaterra

Pérez, J.A.; Alvarez, A. (2008). Análisis económico de la producción de leche ecológica. *Tribuna de Economía*, 843: 227-240.

Plomp, M. (2001). Feeding of dairy cattle on organic farms in the Netherlands. In: Hovi, M., Baars, T. (Eds.), Breeding and Feeding for Animal Health and Welfare in Organic Livestock Systems. *Proceedings of the 4th NAHWOA workshop*. Wageningen, Alemania.

Prieto Montaña, F. (1975). Aportaciones a la biopatología del parto en el ganado bovino Pardo-Alpina en la región leonesa. *Tesis Doctoral,* Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

Quigley, J.G.; Yang, Z.; Worthington, M.T.; Phillips, J.D.; Sabo, K.M.; Sabath, D.E.; Berg, C.L.; Sassa, S.; Wood, B.L.; Abkowitz, J.L. (2004). Identification of a human heme- exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell* 118: 757-766.

Radcliff, R.P.; McCormack, B.L.; Keisler, D.H.; Crooker, B.A.; Lucy, M.C. (2003). Plasma hormones and expression of growth hor¬mone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *Journal Dairy Science* 86(12): 3920- 3926.

Radostits, O.M.; Houston, D.M.; Mayhew, I.G. (2002). *Examen y Diagnóstico Clínico en veterinaria*. Ed. Elsevier. España.

Razz, R.; Clavero, T. (2004). Urea, phosphorus, glucose and insulin contents of lactating cows supplemented with concentrate in a *Panicum maximum* and *Leucaena leucocephala* system. *Revista Científica, FCV-LUZ* 14 (4): 365-369.

Real Decreto 1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. *BOE* 252: 34367-34391.

Rearte, D. (1992). Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. *EEA. CERBAS. INTA.* Centro Regional Buenos Aires Sur. Argentina. p 94.

Reddy, G.; Altaf, Md.; Naveena, B.J.; Venkateshwar, M.; Vijay Kumar, E. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation.A review. *Biotechnology Advances* 26(1): 22-34.

REGLAMENTO (CE) NO 834/2007 DEL CONSEJO de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CEE) no 2092/91. Disponible en: http://eur-lex.europa.eu.

REGLAMENTO (CEE) No 2092/91 DEL CONSEJO de 24 de junio de 1991 sobre la producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios. Disponible en: http://eur-lex.europa.eu.

Remond, B.; Rouel, J.; Pinson, N.; Jabet, S. (1997). An attempt to omit the dry period over three con¬secutive lactations in dairy cows. *Annales de Zootechnie* 46(5): 399-408.

Rivas, J.H. (2011). Análisis económico comparativo de la producción lechera ecológica y convencional. *Trabajo Fin de Máster*. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, España.

Roca, A.I.; González, A. (2010). Sistemas ganaderos sostenibles en la agricultura ecológica. *Ganadería*, febrero-marzo 10: 38-42.

Roca, A.I.; González, A.; Vázquez, O.P. (2008). Efecto de la carga ganadera y de la suplementación en pastoreo sobre la producción sostenible de leche. En: P*astos, clave en la gestión de los territorios: integrando disciplinas*. Junta de Andalucía. Córdoba.

Rodenburg, T.B.; Van Hierden, Y.M.; Buitenhuis, A.J.; Riedstra, B.; Koene, P.; Korte, S.M.; Van Der Poel, J.J.; Groothuis, T.G.G.; Blokhuis, H.J. (2004). Feather pecking in laying hens: New insights and directions for research? *Applied Animal Behaviour Science* 86: 291-298.

Rodríguez A.; Hernández A M; Martínez, B. (2010). Leche ecológica en Asturias: una apuesta por la calidad. *Tecnología Agroalimentaria* 7: 42-47.

Rodríguez Bermúdez, R. (2014). Valoración das razas de gando vacún de leite en granxas ecolóxicas no Norte de España. *Memoria de Licenciatura*, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela.

Rodriguez, S.M.; Guimaraes, K.C.; Matthews, J.C.; McLeod, K.R.; Baldwin, R.L., Harmon, D.L. (2004). Influence of abomasal carbohydrates on

small intestinal sodium-dependent glucose cotransporter activity and abundance in steers. *Journal of Animal Science* 82: 3015-3023.

Rotger, A.; Ferret, A.; Calsamiglia, S.; Manteca, X. (2005). Changes in ruminal fermentation and protein degradation in growing Holstein heifers from 80 to 250 kg fed high-concentrate diets with different forage-to-concentrate ratios. *Journal Animal Science* 83(7): 1616-1624.

Ruiz, S.; Martinez, E.; Cárceles, C.; Ramírez, A. (1989). Enzimología clínica en medicina veterinaria: Una revisión. *Medicina Veterinaria.* 6(6): 327-331.

Ruppert, L.D.; Drackley, J.K.; Bremmer, D.R.; Clark, J.H. (2003). Effects of tallow in diets based on corn silage or alfalfa silage on digestion and nutrient use by lactating dairy cows. *Journal Dairy Science* 86(2): 593-609.

Russell, J.B. (1998). Strategies that ruminal bacteria use to handle excess carbohydrate. *Journal of Animal Science* 76: 1955–1963.

Russell, K.E.; Roussel, A.J. (2007). Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. V*eterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 23: 403-426.

Sait, G.; Brunetti, J. (2003). In Nutrition Rules! Guidelines from the Master Consultants, Soil Therapy Pty Ltd. Disponible en: http:// www.nutri-tech.com.au.

Sanz Parejo, E.N. (1990). Nuevos sistemas de alimentación en vacuno lechero. Ed. Aedos, Barcelona, España.

Scott, D.; Robbins, S.P.; Nicol, P.; Chen, X.B.; Buchan, W. (1994). Effects of low phosphate intake on bone and mineral metabolism protein synthesis in lambs. *Experimental Physiology* 79: 183-187.

Smith, G.M.; Fry, J.M.; Allen, J.G.; Costa, N.D. (1994). Plasma indicators of muscle damage in a model of nutritional myopathy in weaner sheep. *Australian Veterinary Journal* 71(1): 12-17.

Sorensen, J.T.; Kristensen, E.; Thysen, I. (1992). A stochastic model simulating the dairy herd on a PC. *Agricultural System* 39: 177-200.

Sprowls, R.W. (1987). Fescue toxicosis: Potential health problems for stocker and feeder cattle. In: *Proceedings Plains Nutrition Council Symposium. Fescue Toxicosis. From cow/calf to slaughter*, Amarillo, TX. pp. 1-3.

Stockham, S.L.; Scott, M.A. (2002). *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Blackwell Publishing Company. Iowa State Press. USA.

Stonehouse, D.P.; Clark, E.A; Ogini, Y.A. (2001): Organic and conventional dairy farm comparisons in Ontario, Canadá. *Biological, Agriculture and Horticulture* 19(2): 115-125.

Stoszek, M.J.; Mika, P.G.; Oldfield, J.E.; Weswig, P.H. (1986). Influence of copper supplementation on blood and liver copper in cattle fed tall fescue or quackgrass. *Journal of Animal Science* 62: 263–271.

Stuedemann, J.A.; Rumsey, T.S.; Bond, J.; Wilkinson, S.R.; Bush, L.P.; Williams, D.J.; Caedle, A.B. (1985). Association of blood cholesterol with occurrence of fat necrosis in cows and tall fescue summer toxicosis in steers. *American Journal Veterinary Research* 46: 1990–1995.

Sundrum, A. (2001). Organic livestock farming. A critical review. *Livestock Production Science* 67 (3): 207-215.

Sutton, J.D.; Hart, I.C.; Morant, S.V.; Schuller, E.; Simmonds, A.D. (1988). Feeding frequency for lactating cows: diurnal patterns of hormones and metabolites in peripheral blood in relation to milk–fat concentration. *British Journal of Nutrition* 60: 265-27.

Tikofsky, L. (2010). *Milk Quality on Organic Dairy Farms*. Disponible en: http://www.extension.org.

Toledo, P.; Andren, A.; Björck, L. (2002). Composition of raw milk from sustainable production systems. *International Dairy Journal* 12: 75-80.

Toledo-Alonzo P. (2003). Studies of raw milk from sustainable/organic production systems. *Licentiate thesis*, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suecia.

Tomas, E.; Kelly, M.; Xiang, X.; Tsao, T.; Keller, C.; Keller, P.; Luo, Z.; Lodish, H.; Saha, A.K.; Unger, R.; Ruderman, N.B. (2004). Metabolic and hormonal interactions between muscle and adipose tissue. *Proceedings of the Nutrition Society* 63(2): 381-385.

Triplett, D.A. (2000). Coagulation and bleeding disorders: review and update. Clinical Chemistry 46: 1260-1269.

Uetake, K.; Ishiwata, T.; Abe, N.; Eguchi, Y.; Tanaka, T. (2006). Hormonal and metabolic relation to restraint and human handling in growing-fattening steers. *Animal Science Journal* 77: 370–374.

Vaarst, M.; Bennedsgaard, T.W. (2001). Reduced medication in organic farming with emphasis on organic dairy production. *Acta Veterinaria Scandinavica* Suppl. 95: 51-57.

Vanholder, T.; Opsomer, G.; Kruif, A. (2006). Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. *Reproduction Nutrition Development* 46(2): 105-119.

Vargas, V.M. (2005). Evaluación metabólica de la suplementación energética con concentrados en base a almidón o fibra en vacas en lactancia a pastoreo durante la primavera. *Memoria de Titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile

Vecillas, R.I. (2009). Estudio de promotores del crecimiento en terneros en Galicia. *Tesis doctoral*. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela.

Vélez de Villa, E. (2013). Factores de origen ambiental que afectan la producción de leche en vacuno bajo pastoreo semi-intensivo. *Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos*. UPG Veterinaria, Perú.

Velez, J. S.; Melendez, P. (2006). Bulk tank linear score somatic cell count dynamics in an organic dairy farm in Colorado from 2004 to 2005. *Proceedings of 1st IFOAM Interantional Conference of Animals in Organic Production*. St. Paul, MN.

Vernon, G. (2005). Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. en *Journal Dairy Research* 72(4): 460-469.

Vilariño, O. (2011). Acción del malato sobre el metabolismo en terneros de cebo. *Tesis Doctoral*, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela.

Wagner, J.J.; Lusby, K.S.; Oltjen, J.W.; Rakestraw, J.; Wettemann, R.P.; Walters, L.E. (1988). Carcass composition in mature Hereford cows: estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *Journal of Animal Science* 66(3): 603-612.

Wang, C.; Liu, Q.; Yang, W.Z.; Dong, Q.; Yang, X.M.; He, D.C.; Dong, K.H.; Huang, Y.X. (2009). Effects of malic acid on feed intake, milk yield, milk components and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Livestock Science* 124: 182–188.

Webb, R.; Garnsworthy, P. C.; Gong, J.G.; Armstrong, D.G. (2004). Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. Journal Animal Science 82(E-Suppl): E63-74.

West, J.B. (1985). *Best and Taylor's Physiologic Basis of Medical Practice* Williams &Wilkins, Baltimore, USA.

Wieghart, M.; Slepetis, R.; Elliot, J.M.; Smith, D.F. (1986). Glucose absorption and hepatic gluconeogenesis in dairy cows fed diets varying in forage content. *Journal of Nutrition* 116:839.

WingChing-Jones, R.; Pérez, R. (2008). Condiciones ambientales y producción de leche un hato de ganado jersey en el trópico húmedo: el caso del módulo lechero. *Agronomía Costarricense* 32(1): 87-94.

Winter, C.K.; Davis, S.F. (2006). Scientific status summary-Organic foods. *Journal of Food Science* 71(9):117-124.

Witkowska, I. (2004). Effect of season on fatty acids composition of herbage species in relation to fatty acid patterns of milk fat. *MSc. Thesis* Wageningen University; Wageningen, The Netherlands.

Wittwer, F. (2000). Diagnóstico dos desequilibrios metabólicos de energía em rebanhos bovinos. En: Gonzalez F, J Barcellos, H Ospina, L Ribeiro (eds). *Perfil metabólico em ruminantes.* pp 9-22. Universidade Federal Do Río Grande Do Sul.

Wittwer, F.; Bohmwald, H.; Contreras, P.; Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile. Archivos de Medicina Veterinaria 19: 35-45.

Woese, K.; Lange, D.; Boess, C.; Bogl, K.W. (1997). A comparison of organically and conventionally grown foods – results of a review of the relevant literature. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74:281-293.

Wook Kim, J.; Rhoads, R.P.; Block, S.S.; Overton, T.R.; Frank, S.J.; Boisclair, Y.R. (2004). Dairy cows experience selective reduction of the hepatic growth hormone receptor during the periparturient period. *Journal Endocrinology* 181(2): 281-290.

Yambayamba, E.S.K.; Price, M.A.; Foxcroft, G.R. (1996). Hormonal status, metabolic changes, and resting metabolic rate in beef heifers undergoing compensatory growth. *Journal of Animal Science* 74: 57-69.

Zhao, Q.; Keating, A. (2007). Expression and regulation of glucose transporters in the bovine mammary gland. *Journal Dairy Science* 90(Suppl 1): E76-86.

Zwald, A.G.; Ruegg, P.L.; Kaneene, J.B.; Warnick, L.D.; Wells, S.J.; Fossler, C.; Halbert, L.W. (2004). Management practices and reported antimicrobial usage on conventional and organic dairy farms. *Journal of Dairy Science* 87: 191-201.

USC UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA