



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

**EFFECTO DEL ÁCIDO LINOLEICO Y SUS FORMAS CONJUGADAS SOBRE EL
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO Y EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN
LECHE DE VACAS DEL SISTEMA DE LECHERÍA FAMILIAR**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y LA SALUD ANIMAL

PRESENTA

MÓNICA MORENO MEDRANO

TUTOR:

Dr. HÉCTOR RAYMUNDO VERA ÁVILA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN- UNAM

COMITÉ TUTORAL:

Dr. HÉCTOR JIMÉNEZ SEVERIANO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN-UNAM

Dr. CARLOS GUILLERMO GUTIÉRREZ AGUILAR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA-UNAM

MÉXICO, D.F. (ABRIL) 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Resumen	1
Abstract	2
I. Introducción	5
1.1 Objetivo	7
1.2 Hipótesis	7
II. Revisión de la literatura	7
2.1 Los lípidos	7
2.1.1 Clasificación de los lípidos	8
2.1.2 Estructura de los lípidos	8
2.2 Los ácidos grasos	9
2.2.1 Ácidos grasos saturados	12
2.2.2 Ácidos grasos poliinsaturados	12
2.3 Fuentes de ácidos grasos	14
2.4 Digestión de las grasas en el rumen	15
2.4.1 Lipólisis	15
2.4.2 Biohidrogenación ruminal	17
2.5 Uso de los lípidos	20
2.5.1 Grasas no protegidas	20
2.5.2 Grasas protegidas	21
2.5.2.1 Grasas cálcicas	21
2.5.2.2 Grasas hidrogenadas	23
2.6 Efecto de los lípidos sobre la respuesta animal	23
2.7 Componentes bioactivos	24
2.8 Conjugados de ácido graso linoleico (CLA)	25
2.8.1 Historia de los CLA	25
2.8.2 Síntesis ruminal de los CLA	26
2.8.3 Síntesis endógena de CLA	27

2.8.4 CLA en la salud humana	29
2.8.5 CLA en la leche	30
2.9 AGPI en la reproducción animal	31
2.9.1 Efectos de los lípidos de la dieta sobre la secreción de LH, dinámica folicular ovárica, función del cuerpo lúteo y esteroidogénesis	31
2.9.2 AGPI y prostaglandinas	32
2.9.2.1 Mecanismos de inhibición de la secreción de prostaglandinas	36
2.9.2.2 Reducción en la síntesis de ácido araquidónico	36
2.9.3 Alteración en el perfil de ácidos grasos en la membrana plasmática	38
2.9.4 Factores de transcripción	39
2.10 AGPI y esteroidogénesis	40
III. Materiales y métodos	43
3.1 Generales	43
3.2 Producción de leche	44
3.3 Composición química de la leche	45
3.4 Composición de la grasa de la leche	45
3.5 Condición corporal	47
3.6 Intervalo parto-primera ovulación	47
3.7 Análisis estadístico	48
IV. Resultados	49
4.1 Producción de leche	49
4.2 Composición química de la leche	52
4.2.1 Porcentaje de grasa en leche	52
4.2.2 Kilogramos de grasa en leche	54
4.2.3 Porcentaje de proteína en leche	56

4.2.4 Kilogramos de proteína en leche	58
4.2.5 Porcentaje de lactosa en leche	59
4.2.6 Kilogramos de lactosa en leche	61
4.2.7 Porcentaje de sólidos no grasos en leche	62
4.2.8 Kilogramos de sólidos no grasos en leche	64
4.2.9 Porcentaje de sólidos totales en leche	65
4.2.10 Kilogramos de sólidos totales en Leche	68
4.3 Composición de la grasa de la leche	68
4.4 Condición corporal	70
4.5 Intervalo parto-primera ovulación	72
4.6 Días abiertos	72
4.7 Servicios por concepción	73
V. Discusión	73
VI. Conclusiones	83
VII. Referencias bibliográficas	83

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro 1.** Contenido nutrimental de los concentrados proporcionados.
- Cuadro 2.** Producción de leche por día en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 3.** Producción por día de leche corregida a 3.5 % en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 4.** Producción por día de leche corregida a 3.5 % en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 5.** Porcentaje de proteína en leche en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 6.** Producción diaria de proteína láctea en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 7.** Porcentaje de lactosa en leche de vacas en los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 8.** Producción diaria de lactosa en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 9.** Porcentaje de sólidos no grasos en leche de vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 10.** Producción diaria de sólidos no grasos lácteos en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

- Cuadro 11.** Porcentaje de sólidos totales en leche de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 12.** Porcentaje de sólidos totales en leche de vacas en los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 13.** Producción diaria de sólidos totales en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 14.** Concentración de ácidos grasos de cadena corta y media en grasa de leche de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del período experimental (semanas 0 a 9 postparto).
- Cuadro 15.** Concentración de ácidos grasos de cadena larga en grasa de leche de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando las semanas 1, 3, 5 y 7 postparto.
- Cuadro 16.** Condición corporal (CC) de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).
- Cuadro 17.** Condición corporal (CC) de vacas en los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de formación de un triglicérido.

Figura 2. Estructura de un ácido graso.

- Figura 3.** Clasificación de los ácidos grasos de acuerdo a la posición de los dobles enlaces comenzando del grupo metilo.
- Figura 4.** Nombre y clasificación de algunos ácidos grasos comunes.
- Figura 5.** Vías de desaturación y elongación de los ácidos n-3 y n-6.
- Figura 6.** Metabolismo de distintos sustratos lipídicos y sus productos finales en el rumen.
- Figura 7.** Procesos de transformación de los AGPI en el rumen.
- Figura 8.** Vías de la biohidrogenación del ácido linolénico y linoleico y sus productos finales.
- Figura 9.** Papel de la biohidrogenación por microorganismos del rumen y la desaturasa en la producción del CLA *cis*-9, *trans*-11.
- Figura 10.** Vías de biohidrogenación del ácido linoleico.
- Figura 11.** Síntesis endógena de CLA a partir del ácido transvaccénico.
- Figura 12.** Síntesis de prostaglandinas (PG) de las series 1, 2 y 3 a partir de AGPI (PUFAS) de la dieta.
- Figura 13.** Representación esquemática del metabolismo de los AGPI n-6 y n-3 y los mecanismos de regulación de la síntesis de PGF₂.
- Figura 14.** Modelo esquemático propuesto del efecto de una dieta rica en AGPI sobre la síntesis de eicosanoides.
- Figura 15.** Vía para la biosíntesis de progesterona en una célula lútea.
- Figura 16.** Producción de leche por día a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 17.** Producción por día de leche corregida a 3.5 % de grasa a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación) en vacas de los dos hatos experimentales.
- Figura 18.** Porcentaje de grasa en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE).

- Figura 19.** Porcentaje de grasa en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación) en vacas de los dos hatos experimentales.
- Figura 20.** Producción diaria de grasa láctea a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE).
- Figura 21.** Producción diaria de grasa láctea a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas de los dos hatos experimentales.
- Figura 22.** Porcentaje de proteína en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 23.** Producción diaria de proteína láctea a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 24.** Porcentaje de lactosa en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 25.** Producción diaria de lactosa a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 26.** Porcentaje de sólidos no grasos en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 27.** Producción diaria de sólidos no grasos lácteos a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación).
- Figura 28.** Porcentaje de sólidos totales en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas suplementadas con grasa

saponificada (DC) o con conjugados de ácido linoleico (DE). *Indica diferencia entre tratamientos.

Figura 29. Porcentaje de sólidos totales en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas de los dos hatos experimentales. *Indica diferencia entre hatos.

Figura 30. Condición corporal (CC) a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). *Indica diferencia entre semanas.

Figura 31. Intervalo parto-primera ovulación en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o con conjugados de ácido linoleico (DC).

Figura 32. Días abiertos en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o con conjugados de ácido linoleico (DC).

RESUMEN

La lechería semitecnificada/familiar presenta una baja eficiencia reproductiva debido a diversos factores no plenamente identificados en cuanto a su incidencia e importancia, presenta también limitantes nutricionales por variación en la disponibilidad y calidad de forrajes, además de no contar con esquemas de alimentación que cubran los requerimientos nutricionales de los animales de acuerdo a su etapa fisiológica. Una alternativa para mejorar el desempeño reproductivo, productivo y adicionalmente aportar valor agregado a la leche de las vacas del sistema de producción familiar, es mediante la suplementación energética con conjugados del ácido graso linoleico (CLA). El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de la suplementación con CLA durante el posparto temprano en vacas del sistema de producción familiar, sobre el desempeño reproductivo, estado metabólico, nivel de producción y composición de leche. Fueron incluidas 154 vacas en el estudio, conforme cada una de ellas fue pariendo, aleatoriamente fue asignada a uno de dos tratamientos: a) dieta control (DC), dieta base de cada establo adicionada con 100 g de un producto comercial de grasas saponificadas a sales de calcio (Energy Palm, **Apligen**); y b) dieta experimental (DE), dieta base de cada establo adicionada con 100 g de conjugados del ácido graso linoleico, encapsulados para permitir su paso por el rumen sin sufrir degradación (Lutrell, **Basf**). Para las variables asociadas con la producción y composición química de leche, así como para la CC, se realizó un ANDEVA para un diseño de mediciones repetidas por medio del Procedimiento Mixed de SAS; se incluyeron como efectos al tratamiento (TRAT), hato (HAT), muestra/medición (TIEM) y sus interacciones. En cuanto a las variables reproductivas, se realizó un ANDEVA para un diseño completamente al azar mediante el Procedimiento GLM de SAS, en el que se incluyeron como efectos al tratamiento (TRAT), hato (HAT) y su interacción, así como la condición corporal al parto como covariable. En el caso de SC, los datos no presentaron una distribución normal por lo que se analizaron por separado los efectos de TRAT y HAT mediante la prueba de Wilcoxon para dos muestras (PROC NPAR1WAY de SAS).

Para la producción diaria de leche se observó una tendencia de efecto de TRAT ($P=0.07$), aunque solo durante el periodo post-suplementación (P3); el grupo de la DE presentó una mayor producción de leche en comparación con el grupo de la DC (29.44 ± 0.43 vs 28.23 ± 0.50 kg de leche/día para las DE y DC, respectivamente). Para el porcentaje de grasa en leche, al considerar los periodos P1 y P2 se observaron efectos ($P < 0.001$) de TRAT y de la interacción TRAT x TIEM. El porcentaje de grasa en leche disminuyó en ambos tratamientos durante el periodo de suplementación, aunque de manera más pronunciada en el grupo que recibió la DE (primeras 6 semanas postparto). Las vacas de la DE presentaron menos días abiertos que las vacas de la DC. Las vacas del grupo DE requirieron de un menor número de SC comparado con las vacas de la DC (1.8 vs 2.2 servicios por concepción en DE vs DC). En vacas del sistema familiar/semitecnificado, la suplementación con CLA's durante las primeras 6 semanas post parto disminuyó ligeramente la pérdida normal de CC que ocurre durante este periodo, probablemente como reflejo de un mejor estatus energético y debido a la depresión de grasa en leche que provocó. Asociado con lo anterior, el consumo de CLA's permitió influir de manera positiva en variables de desempeño productivo y reproductivo. En el aspecto reproductivo, la suplementación con CLA's disminuyó en 29 días el período de días abiertos y redujo en 0.4 unidades los servicios por concepción. Por otra parte, permitió un incremento en la concentración en la grasa de la leche de isómeros del ácido linoleico que han demostrado efectos nutraceuticos en humanos.

ABSTRACT

The semitecnificated / family dairy has a low reproductive efficiency because of many not fully identified facts about its impact and importance, this system also presents nutritional problems for variation in forage availability and quality, besides not having feeding schemes which covered animals nutritional requirements according to their physiological stage.

An alternative to improve reproductive, productive performance and in addition to provide added value to family dairy milk, is by energy supplementation with conjugated linoleic fatty acid (CLA). The objective of this study was to determine the effect of CLA supplementation during early postpartum in family system dairy production cows over reproductive performance, metabolic status, level production and milk composition. In this study 154 cows were included, which every one were randomly assigned to one of two treatments as they were calving: a) control diet (DC), basal diet of every stall added with 100 g of a commercial calcium salts fat product (Energy Palm, Apligen); b) experimental diet (DE), basal diet of every stall supplemented with 100 g of encapsulated conjugated linoleic acid to permit its passage through the rumen without degradation (Luttrell, BASF). For associated milk production variables and chemical composition as well as for CC, an ANOVA for repeated measurements design was performed, using the SAS Mixed procedure; were included as treatment effects (TRAT) herd (HAT), sample/measurement (TIME) and their interactions. Regarding reproductive variables, ANOVA was conducted for a completely randomized design using the SAS GLM procedure, in which were included treatment (TREAT) herd (HAT) and their interaction as effects, as well as body condition at calving as a covariate. In SC, the data did not show a normal distribution so, TRAT and HAT effects were analyzed separately by two samples Wilcoxon test (SAS PROC NPAR1WAY). For daily milk production, a TRAT trend effect ($P = 0.07$) was observed, but only during the post-supplementation period (P3); the DE cows group presented higher milk production than DC cows group (29.44 ± 0.43 vs 28.23 ± 0.50 kg milk / day for DE and DC, respectively).

For milk fat percentage, considering periods P1 and P2 ($P < 0.001$) TRAT and TRAT x TIME effects were observed. Milk fat percentage decreased in both treatments during the supplementation period, although it were more pronounced in the group receiving the DE (first 6 weeks postpartum). Cows in DE had fewer open days than DC cows. DE cows group required less services per conception number than DC cows (1.8 vs 2.2 services per conception in DE vs DC).

In family/ semitechnified cows system, first 6 weeks post partum CLA's supplementation decreased the CC normal loss which occurs during this period, probably reflecting an improved energy status and due to depressed milk fat produced. Associated with this, CLA's consumption allowed to influence positively on productive and reproductive performance variables. In reproductive, CLA supplementation decreased 29 days the open period and decreased by 0.4 services per conception units. Moreover, CLA supplementation, allowed a milk increase of conjugated linoleic acid isomers concentration that have demonstrated some nutraceuticals effects in humans

I. Introducción

En México, la producción de leche de bovino es muy heterogénea desde el punto de vista tecnológico, agroecológico y socioeconómico (SE, 2012), en el país los sistemas productivos de leche son diferentes, clasificados principalmente en doble propósito, especializado y familiar.

Los establos del sistema familiar se caracterizan por su alta incorporación de mano de obra familiar no asalariada, niveles tecnológicos de medios a bajos, utilización de la raza Holstein con niveles medios a bajos de producción, semiestabulación y alimentación basada en forraje de agostaderos, grano de maíz de producción propia y concentrados comerciales. Este sistema contribuye con aproximadamente el 30 % de la producción de leche a nivel nacional y es el que predomina en el estado de Jalisco, entidad que aporta el mayor porcentaje de la producción de leche a nivel nacional (Cervantes *et al.*, 2001; FIRA, 2009).

Al parecer este sistema presenta una baja eficiencia reproductiva debido a diversos factores no plenamente identificados en cuanto a su incidencia e importancia, presenta también limitantes nutricionales por variación en la disponibilidad y calidad de forrajes, además de no contar con esquemas de alimentación que cubran los requerimientos nutricionales de los animales de acuerdo a su etapa fisiológica (Vera *et al.*, 2009). Lo anterior, provoca en muchos casos que las vacas lleguen al parto con condiciones corporales (CC) inapropiadas para soportar la lactación y la reanudación temprana de la actividad reproductiva en postparto. Con relación a esto, es importante considerar que el inicio de la lactación en ganado productor de leche está caracterizado por un dramático incremento en las demandas de nutrientes y una disminución en el consumo voluntario de materia seca, lo que provoca un balance energético negativo; este déficit energético se cubre con la movilización de reservas energéticas corporales cuya magnitud se refleja en la CC y si las reservas no son suficientes para soportar la lactación y la actividad reproductiva, ambas pueden afectarse disminuyendo la producción y retrasándose el reinicio de la actividad reproductiva posparto (Bell, 1995).

Se ha observado que durante el posparto temprano, en general, las vacas del sistema familiar presentan incrementos de la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados, cuya magnitud depende del nivel de CC al parto y de sus cambios posparto (Estrada *et al.*, 2010). A su vez, estos incrementos indican que durante el posparto la mayoría de las vacas del sistema pasan por una fase de balance energético negativo al igual que en los sistemas intensivos de producción. Una alternativa para aminorar la condición anterior y mejorar el desempeño reproductivo y productivo en vacas del sistema de producción familiar, podría ser mediante la suplementación energética con conjugados del ácido graso linoleico (CLA). Adicionalmente, esta suplementación pudiera aportar valor agregado a la leche al promover un cambio en su perfil de ácidos grasos con aumento en la cantidad de CLA.

En algunos estudios bajo el sistema de producción intensivo se ha observado que cuando las dietas de las vacas lecheras son adicionadas con CLA (*cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12), se puede incrementar la producción de leche (Bernal-Santos *et al.*, 2003), mejorar algunas variables reproductivas debido a efectos positivos sobre el balance de energía (Odens *et al.*, 2007) y además promover una mayor incorporación de estos CLA en la leche, los cuales parecen tener efectos benéficos en la salud humana (Bauman *et al.*, 2003). El efecto positivo de la suplementación con CLA durante la lactación temprana sobre la eficiencia reproductiva, fue bastante evidente en el multiestudio publicado por de Veth *et al.*, (2009); en el cual se encontró un efecto cuadrático de dosis de CLA sobre las variables reproductivas analizadas y la dosis óptima identificada fue de 19 g/d del CLA *trans*-10, *cis*-12.

Sin embargo, la respuesta a la suplementación con CLA podría ser diferente en las vacas del sistema familiar comparado con lo encontrado en vacas del sistema intensivo, ya que las diferencias de manejo entre sistemas de producción así como en el grado de estrés metabólico a que las vacas están sujetas durante la lactación temprana, justifica evaluar la inclusión de los CLA en la dieta de las vacas del sistema familiar.

1.1 Objetivo

Determinar el efecto de la suplementación con CLA durante el posparto temprano en vacas del sistema de producción familiar, sobre el desempeño reproductivo, estado metabólico, nivel de producción y composición de leche.

1.2 Hipótesis

La suplementación con CLA durante el periodo posparto temprano tiene un efecto positivo sobre el desempeño reproductivo, el estado metabólico, la producción de leche e incrementa la incorporación de CLA en ésta última.

II. Revisión de literatura

2.1 Los lípidos

Los lípidos son un grupo de sustancias que se encuentran en los tejidos vegetales y animales y están formados básicamente por carbono, hidrogeno y, en menor proporción, oxígeno, aunque en ocasiones también pueden contener fósforo, azufre y nitrógeno (De Blas *et al.*, 1987).

Los lípidos constituyen un grupo heterogéneo de compuestos emparentados, real o potencialmente, por sus propiedades físicas, más que por las químicas. Tienen la propiedad común de ser 1) relativamente insolubles en agua y 2) solubles en los solventes no polares como el éter, el cloroformo y el benceno. Así, los lípidos incluyen grasas, aceites, esteroides, ceras y compuestos relacionados. Los lípidos son constituyentes importantes de la alimentación, no sólo por su elevado valor energético, sino también por las vitaminas liposolubles y los ácidos grasos esenciales contenidos en la grasa de los alimentos naturales.

2.1.1 Clasificación de los lípidos

Los Lípidos se clasifican como simples o complejos

- 1) Lípidos simples: Son ésteres de ácidos grasos con diversos alcoholes
 - a) Grasas: Ésteres de ácidos grasos con glicerol. Una grasa en estado líquido se conoce como aceite.
 - b) Ceras: Ésteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de peso molecular más elevado.
- 2) Lípidos complejos: Ésteres de ácidos grasos que contienen otros grupos químicos además de un alcohol y del ácido graso
 - a) Fosfolípidos: Lípidos que contienen además de ácidos grasos y un alcohol, un residuo de ácido fosfórico. Con frecuencia tienen bases nitrogenadas y otros sustituyentes, por ejemplo, en los glicerofosfolípidos el alcohol es el glicerol y en los esfingofosfolípidos el alcohol es la esfingosina.
 - b) Glucolípidos: Lípidos que contienen un ácido graso, esfingosina y carbohidratos
 - c) Otros lípidos complejos: Lípidos como sulfolípidos y aminolípidos. También las lipoproteínas pueden colocarse en esta categoría.
- 3) Lípidos precursores y derivados: Incluyen ácidos grasos, glicerol, esteroides, alcoholes diferentes al glicerol y los esteroides, aldehídos de las grasas y cuerpos cetónicos, hidrocarburos, vitaminas liposolubles y hormonas (Murray *et al.*, 2005).

2.1.2 Estructura de los lípidos

Los lípidos predominantes en las plantas que almacenan energía en forma de hidratos de carbono, como los cereales, son los estructurales. EN las plantas que almacenan energía en forma de lípidos, como las semillas oleaginosas, los predominantes son los triglicéridos.

En los animales, la principal reserva de energía son los lípidos que se encuentran en forma de grasa, que puede llegar a constituir el 97% del tejido adiposo en un animal obeso. Los lípidos estructurales (Principalmente fosfoglicéridos) constituyen entre el 0.5 y el 1% del tejido muscular. Las grasas son ésteres de ácidos grasos (AG) con el alcohol trihídrico glicerol. Cuando los tres grupos alcohol se esterifican con AG se habla de triglicéridos. Aunque los triglicéridos son los más abundantes, los mono y los diglicéridos también pueden ocurrir naturalmente, pero en menores cantidades. Estos glicéridos se forman en una reacción de esterificación donde cada AG se une a un alcohol mediante un enlace covalente y se libera una molécula de agua (Fuentes, 2009).

Los lípidos cuantitativamente más importantes en la alimentación de los rumiantes son aquellos que contienen ácidos grasos unidos a glicerol: triglicéridos (Figura 1), glucolípidos y fosfolípidos. Los triglicéridos son mayoritarios en los lípidos de las materias primas no forrajeras, y los glucolípidos y fosfolípidos predominan en los lípidos de los forrajes (Morand-Fehr *et al.*, 2001).

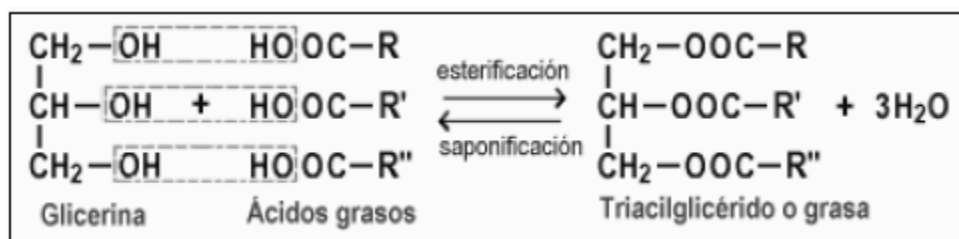


Figura 1. Esquema de formación de un triglicérido (Fuentes, 2009).

2.2 Los ácidos grasos

Los ácidos grasos (AG) son moléculas formadas por una cadena hidrocarbonada lineal larga con un extremo de la cadena acabado en un grupo carboxilo (-COOH; Fig.2; Fuentes, 2009) y el otro en un grupo metilo, generalmente contienen un número par de átomos de carbono, normalmente entre 8 y 22.

Esto se debe a que su síntesis biológica tiene lugar mediante la adición sucesiva de unidades de acetil CoA.

Sin embargo, también existen ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono, que probablemente derivan de la metilación de un ácido graso de cadena par (Rodríguez *et al.*, 2005).

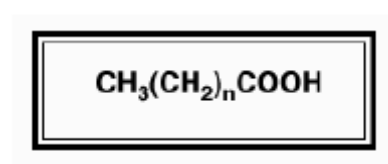


Figura 2. Estructura de un ácido graso

Los AG se diferencian por la longitud de su cadena de átomos de carbono y por el número de dobles enlaces que contienen. La gran mayoría de los AG, tanto de la dieta como del organismo, contiene de 16 a 18 átomos de carbono (Fuentes, 2009). Pueden dividirse en 4 categorías de acuerdo con el número de carbonos o longitud de cadena: con 2-4 carbonos; cadena corta, con 6-10 carbonos; media, con 12-16 carbonos; y larga a partir de 16 carbonos. Si no contienen ningún enlace doble en su molécula se denominan saturados. Cuando contienen enlaces dobles son denominados insaturados, distinguiéndose entre mono, di, tri o poliinsaturados, según tengan uno, dos o tres o más de aquellos. Los ácidos grasos insaturados pueden ser clasificados atendiendo a la posición del primer enlace doble contando desde el grupo metilo terminal, es decir, son de la serie n-3 (ω -3) cuando el enlace doble se sitúa entre los carbonos tres y cuatro, serie n-6 (ω -6) cuando aquel se sitúa entre los carbonos seis y siete (Fig. 3; Cuvelier *et al.*, 2004).

Cuando hay un doble enlace en la cadena pueden presentarse dos formas del AG en función de la disposición en el espacio de los átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono del doble enlace:

- 1) *Cis*: cuando los dos átomos de hidrógeno se encuentran en el mismo lado del doble enlace. La mayoría de los AG que se encuentran en la naturaleza son de este tipo.
- 2) *Trans*: cuando se encuentran uno de cada lado (Fuentes, 2009).

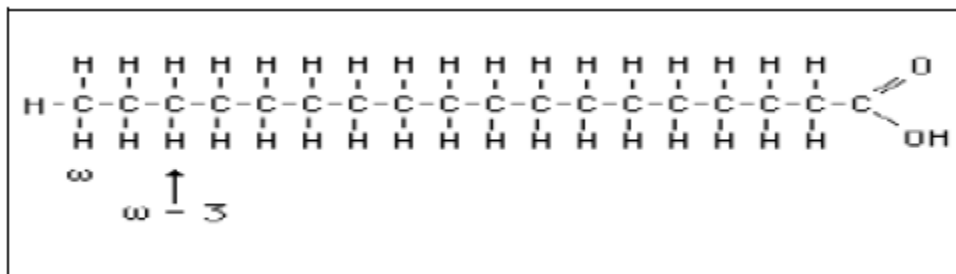


Figura 3. Clasificación de los ácidos grasos de acuerdo a la posición de los dobles enlaces comenzando del grupo metilo

Los ácidos grasos de cualquier fuente pueden experimentar elongaciones y desaturaciones para generar ácidos grasos con propiedades bioquímicas diferentes. La elongación es la adición de dos carbonos a una cadena de carbonos, a través de la acción de una elongasa. La desaturación es un proceso catalizado por enzimas desaturasas, las cuales insertan un doble enlace en la cadena acilo. Las enzimas desaturasas son clasificadas dependiendo de la posición de inserción del doble enlace. La desaturasa $\Delta 6$ inserta un doble enlace entre el carbono seis y el siete a partir del grupo carboxilo terminal. La gran variedad de posibles posiciones para la inserción de dobles enlaces varía dependiendo del organismo animal. En animales, la desaturación de ácidos grasos no ocurre en posiciones menores que $\Delta 9$, es por esto que algunos ácidos grasos como el n-3 y n-6 son considerados esenciales y deben ser provistos en la dieta (Cook, 1996).

2.2.1 Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados (AGS) presentan enlaces simples, poseen la máxima cantidad de átomos de hidrógeno unidos a los átomos de carbono; estas grasas son sólidas a temperatura ambiente, normalmente son de origen animal.

2.2.2 Ácidos grasos poliinsaturados

Existen dos ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) que el organismo no puede sintetizar, el ácido linoleico (AL) y el ácido linolénico (ALA), que deben obtenerse de la dieta y se les conoce como ácidos grasos indispensables. Estos ácidos grasos pertenecen a la familia n-6 ó n-3 y su indispensabilidad es debida a que los mamíferos carecen de enzimas necesarias para insertar dobles enlaces en los átomos de carbono que están más allá del carbón 9 a partir del carboxilo terminal.

Ácidos	Nombre abreviado*	Serie
Saturados		
Caproico	C6:0	-
Caprílico	C8:0	-
Cáprico	C10:0	-
Laúrico	C12:0	-
Mirístico	C14:0	-
Palmitico	C16:0	-
Estearico	C18:0	-
Araquídico	C20:0	-
Behénico	C22:0	-
Insaturados		
Palmitoleico	C16:1cis-9	n-7
Oleico	C18:1cis-9	n-9
Linoleico	C18:2cis-9,cis-12	n-6
Linolénico	C18:3cis-9,cis-12,cis-15	n-3
Eicosapentaenoico	C20:5cis-5,cis-8,cis-11,cis-14-cis-17	n-3
Docosahexaenoico	C22:6cis-4,cis-7,cis-10,cis-13-cis-16-cis-19	n-3

nº de carbonos

* C18:2cis-9,cis-12 ← isómero y localización de los enlaces dobles

nº de enlaces dobles

Figura 4. Nombre y clasificación de algunos ácidos grasos comunes (Martínez *et al.* 2010).

El AL es una molécula de 18 átomos de carbono con dos dobles ligaduras, la primera se localiza en el sexto carbono a partir del metilo terminal (entre carbonos 12 y 13 a partir del grupo carboxilo del otro extremo), su nomenclatura es 18:2 n-6 y pertenece a la familia n-6. El ALA también es una molécula de 18 átomos de carbono con tres dobles enlaces a partir del metilo terminal, su nomenclatura es 18:3 n-3 y pertenece a la familia n-3 (Rodríguez *et al.* 2005).

El procesamiento de los ácidos grasos de una familia solo puede generar ácidos grasos de la misma familia (Fig. 5).

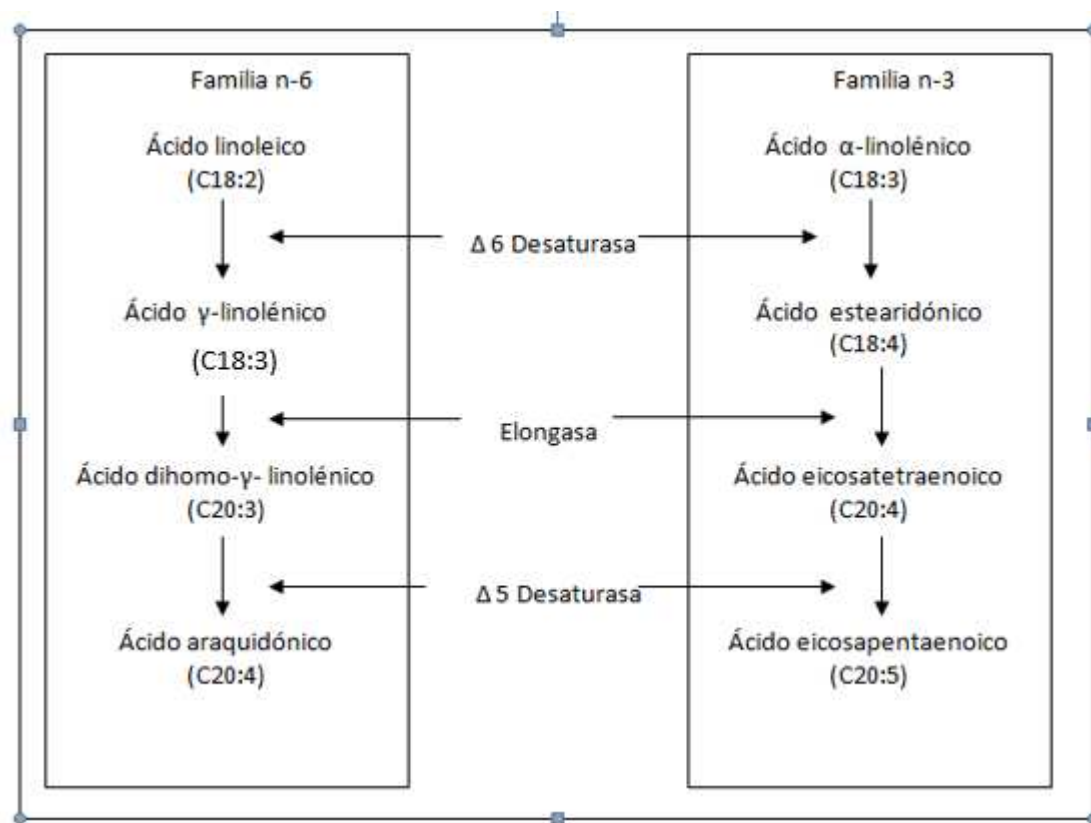


Figura 5. Vías de desaturación y elongación de los ácidos n-3 y n-6 (Mattos *et al.* 2000)

2.3 Fuentes de ácidos grasos

De acuerdo con Morand-Fehr y Tran (2001) e INRA (2002), los ácidos grasos insaturados son mayoritarios en los lípidos de los forrajes y sus subproductos. En los forrajes verdes predominan los ácidos linolénico y linoleico, que representan 50 y 10-20% del total de ácidos grasos, respectivamente.

El ácido linoleico es mayoritario (>50%) en los ácidos grasos de los cereales, sus subproductos y las proteaginosas.

Las semillas oleaginosas y sus aceites y harinas de extracción tienen un contenido de ácidos grasos variable en función de la especie, pero pueden distinguirse dos grandes grupos: aquellos ricos en ácidos grasos saturados de cadena media, como el de coco (C12:0= 46 %) y palma (C16:0 = 43%) y aquellos en que predominan los ácidos grasos insaturados de 18 carbonos como los de colza (C18:1 =58%), soya (C18:2 = 53%) y lino (C18:3=53%) Los aceites de origen marino se caracterizan por su riqueza en ácidos grasos insaturados de 20 a 22 carbonos (Martínez *et al.* 2010).

Las dietas corrientes de los rumiantes contienen generalmente entre 2 y 5% de lípidos, de los que cerca de la mitad son ácidos grasos (Doreau *et al.*, 1994). Uno de los motivos principales para incrementar la grasa de la dieta suministrada es aumentar su concentración energética (Chilliard y Ollier, 1994). Igualmente la inclusión de fuentes de grasa apropiadas en la dieta de los rumiantes permite incrementar el contenido de conjugado de ácido graso linoleico (CLA) y los ácidos grasos de la serie n-3, eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) en la carne y leche con la consiguiente mejora de sus cualidades nutraceuticas para el ser humano (Collomb *et al.* 2006).

2.4 Digestión de las grasas en el rumen

Los rumiantes poseen el beneficio de tener una cámara fermentativa pre-gástrica. La fermentación ruminal es la actividad metabólica de los microorganismos presentes en el rumen, tiene aspectos que difieren de la digestión glandular propia de los animales monogástricos. La digestión propia de la mayoría de los mamíferos ocurre en el estómago y el intestino delgado por enzimas producidas por el animal mismo. Esto se denomina digestión autoenzimática. En los rumiantes, la degradación de los sustratos moleculares por la acción de las bacterias y otros microorganismos se realiza por una hidrólisis enzimática igual que en la digestión glandular; la diferencia mayor es que las enzimas digestivas en la fermentación son de origen microbiano, por lo que se denomina digestión aloenzimática.

Esta digestión fermentativa es más lenta y los sustratos son alterados en mayor grado que en la digestión glandular. Además, la fermentación ocurre en un medio anaerobio.

La digestión aloenzimática puede ocurrir en solo dos sitios del tracto gastrointestinal, estos sitios son el ciego/colon y retículo/rumen (van Lier *et al.* 2008).

Las grasas de la dieta sufren modificaciones en el rumen. Las bacterias de la flora ruminal digieren triglicéridos, fosfolípidos y galactolípidos de la dieta, liberando a los ácidos grasos del glicerol. En los ácidos grasos insaturados se reducen algunos de los dobles enlaces y la orientación cambia en un proceso llamado biohidrogenación de los ácidos grasos (Mattos *et al.* 2000).

2.4.1 Lipólisis

La composición de lípidos de los forrajes consiste en glucolípidos y fosfolípidos y la mayoría de los AG son insaturados como el linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2). En contraste, la composición de lípidos de los aceites de semillas usados en los concentrados son predominante triglicéridos que contienen ácidos linoleico y oleico (cis-9 C18:1; Bauman *et al.* 1999).

Luego de que los lípidos son consumidos, estos son hidrolizados por lipasas microbianas (Fig.6), causando la liberación de los AG. *Anaerovibrio lipolytica*, que es el microorganismo mejor conocido por su actividad de lipasa, produce un esterasa y una lipasa que están unidas a la membrana (Harfoot, 1978). La lipasa es una enzima extracelular empaquetada en partículas membranosas que están formadas de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos (Henderson *et al.* 1973). Esta lipasa, hidroliza los acilgliceroles a AG libres y glicerol con una pequeña acumulación de mono o diglicéridos (Hawke *et al.* 1970). El glicerol es fermentado rápidamente, produciendo ácido propiónico como el mayor producto final. (Garton *et al.* 1961).

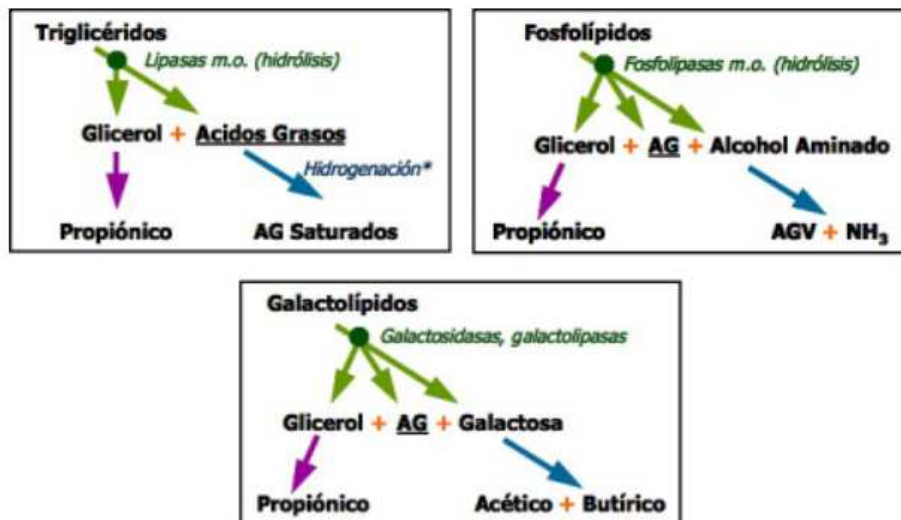


Figura 6. Metabolismo de distintos sustratos lipídicos y sus productos finales en el rumen (AG saturados: esteárico y palmítico, AGV: acético, propiónico y butírico; van Lier *et al.*, 2008).

En la mayor parte de los casos, la lipólisis ocurre de forma rápida y casi total (90% en menos de una hora; Immig *et al.* 1993). Sin embargo, un incremento en la concentración de almidón en la dieta, reduce, de forma muy significativa, la tasa de lipólisis en el rumen (Gerson *et al.* 1985). Van Nevel y Demeyer (1996) observaron que un descenso del pH en el líquido ruminal de 6.3 a 5.25 reducía linealmente la liberación de ácido linoleico a partir de aceite de soja hasta menos de un tercio.

Otro factor que influye en la velocidad de la lipólisis es la fuente de grasa, ya que tiende a ser más alta cuando las grasas se suministran puras que cuando se encuentran protegidas o integradas en una estructura celular, como las semillas de oleaginosas enteras (Doreau y Ferlay, 1994).

2.4.2 Biohidrogenación ruminal

Las bacterias son las principales responsables de la biohidrogenación de los ácidos insaturados en el rumen (Fig. 7); los protozoarios parecen ser de menor importancia (Harfoot *et al.* 1988). Por muchos años, la única bacteria conocida de ser capaz de biohidrogenar era *Butyrivibrio fibrisolvens* (Kepler *et al.* 1966).

Los principales sustratos de la biohidrogenación ruminal son el ácido linoleico y linolénico y la tasa de biohidrogenación ruminal aumenta al aumentar la insaturación de los AG (Fuentes, 2009).

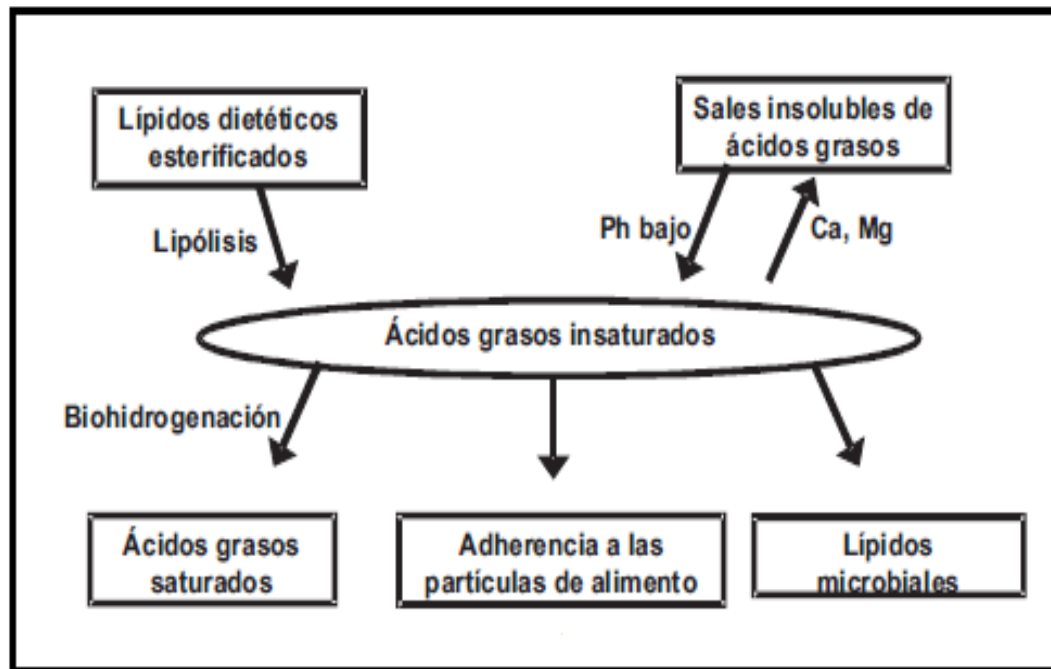


Figura 7. Procesos de transformación de los AGPI en el rumen (Dean, 2008)

Kemp y Lander (1984) dividieron las bacterias en dos grupos basados en las reacciones y en los productos finales de la biohidrogenación (Fig. 8). Las bacterias del grupo A fueron capaces de hidrogenar ácido linoleico y α -linolénico siendo trans-11 C18:1 su producto final principal.

Las bacterias del grupo B usaron trans-11 C18:1 como el principal sustrato y produjeron ácido esteárico como producto final.

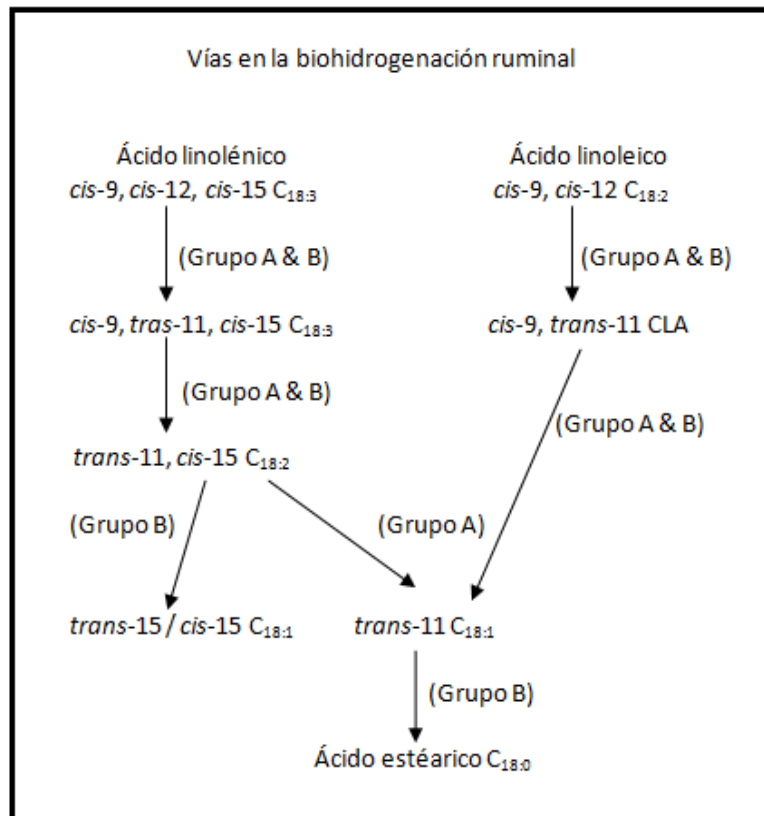


Figura 8. Vías de la biohidrogenación del ácido linolénico y linoleico y sus productos finales (Griinari *et al.* 1999)

La biohidrogenación del ácido linoleico comienza con la isomerización del doble enlace *cis*-12 del sistema de dobles enlaces *cis*-9, *cis*-12. La reacción de la isomerasa es inusual porque no requiere de un cofactor y ocurre en la mitad de la cadena larga hidrocarbonada lejos de cualquier grupo funcional.

La linoleato isomerasa es la enzima responsable de formar dobles enlaces conjugados de la estructura *cis*-9, *cis*-12 del ácido linoleico, así como del ácido α - y γ -linolénico. La segunda reacción es una reducción en la cual el CLA *cis*-9, *trans*-11 es convertido a *trans*-11 C18:1 (Fig. 9)

La hidrogenación del *trans*-11 ocurre menos rápido, por lo tanto, aumenta su concentración en el rumen y está más disponible para su absorción (Tanaka *et al.* 1976).

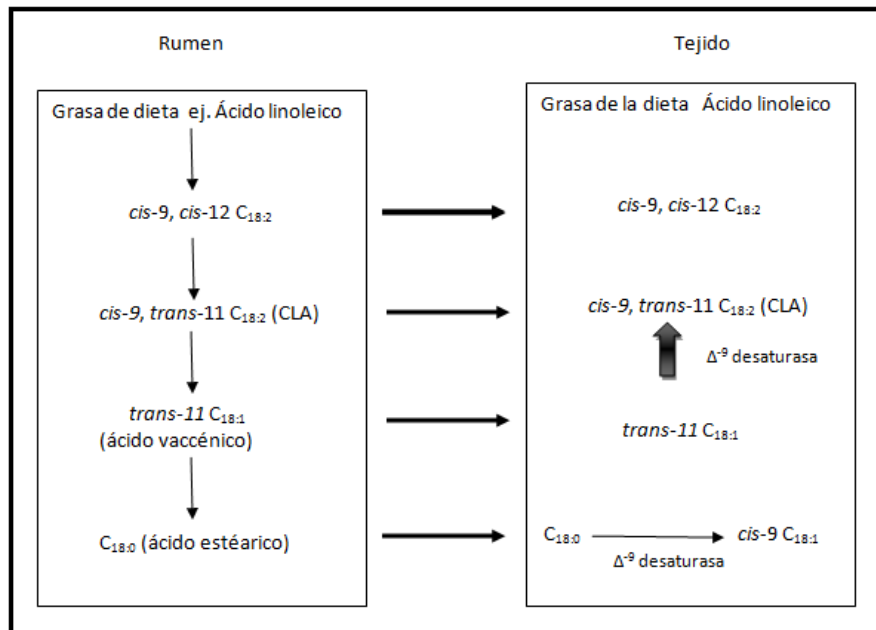


Figura 9. Papel de la biohidrogenación por microorganismos del rumen y la desaturasa en la producción del CLA *cis*-9, *trans*-11 (Adaptado de Bauman *et al.* 1999).

Muchas veces la biohidrogenación no es completa quedando productos intermedios, de los cuales algunos tienen funciones metabólicas en los animales. El porcentaje de hidrogenación está en relación con la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que lleguen al rumen y del pH ruminal. A mayor cantidad de ácidos grasos insaturados, menor va a ser la actividad de biohidrogenación.

Cuando más bajo es el pH ruminal, mayor es la inhibición del crecimiento de las bacterias encargadas de la biohidrogenación, sobre todo del grupo que realiza el último paso, quedando de esa forma mayor cantidad de metabolitos intermedios (Relling *et al.* 2003).

2.5 Uso de lípidos

Las dietas de los rumiantes contienen generalmente entre 2 y 5% de lípidos, de los que la mitad aproximadamente son ácidos grasos (Doreau *et al.* 1994). Según Chilliard y Ollier (1994), la adición de lípidos a las dietas de los rumiantes puede hacerse por varias razones: 1) aumentar la concentración energética en situaciones de elevada producción; 2) reducir el riesgo de acidosis ruminal y la caída de la grasa láctea en dietas pobres en forrajes; 3) modificar los ácidos grasos que pueden ser absorbidos; 4) pueden abaratar los costos de la dieta en determinadas circunstancias.

2.5.1 Grasas no protegidas

Las fuentes de grasa no protegidas son semillas de oleaginosas enteras o procesadas y grasas libres de origen vegetal (aceites de girasol, soja, palma, maíz, etc.) La inclusión de lípidos no protegidos en la dieta de los rumiantes, cualquiera que sea la forma de presentación, puede afectar negativamente a la población microbiana del rumen, esto afecta los parámetros de fermentación ruminal y la digestión de los componentes de la dieta (Sauvant *et al.* 2001). Las grasas afectan la fermentación ruminal mediante un efecto inhibitorio directo, disminuyendo la tasa de exposición del forraje al ataque enzimático microbiano. Esta inhibición se acompaña por una disminución en la producción de metano, hidrogeno y ácidos grasos volátiles y la disminución en la relación acetato:propionato, lo cual tiende a afectar negativamente la concentración de grasa en la leche. Cuando la grasa dietética inhibe la fermentación, se deprime la digestibilidad de la fibra en todo el tracto digestivo y por tanto se incrementa la excreción de la fibra en las heces (Boggs *et al.* 1987).

Jenkins y Palmquist (1984) determinaron que la digestión ruminal de los carbohidratos estructurales puede reducirse hasta más del 50% por la presencia de altas cantidades de grasa en la dieta.

Estos fenómenos obligan a limitar el uso de grasas activas en dietas para rumiantes.

Sin embargo, se han observado resultados contradictorios en el efecto inhibitorio de las grasas sobre la fermentación ruminal y estas divergencias pudieran ser atribuibles a algunas diferencias básicas en la estructura lipídica, especialmente en el grado de saturación de las grasas, porque se han determinado que las grasas insaturadas inhiben la fermentación en mayor grado que las grasas saturadas (Chalupa *et al.* 1984).

2.5.2 Grasas protegidas

Las grasas inertes engloban a un grupo de productos diseñados para rumiantes, caracterizados por tener un efecto inhibitorio mínimo sobre el metabolismo de las bacterias Gramm positivas y protozoarios del rumen. Esta protección se obtiene sin detrimento aparente de su digestibilidad intestinal. Las grasas inertes existentes en el mercado corresponden a las grasas cálcicas, las grasas parcialmente hidrogenadas y las encapsuladas o que tienen protección por recubrimiento (Palmquist, 1991).

2.5.2.1 Grasas cálcicas

Resultan de la saponificación de los ácidos grasos libres por iones calcio. A pH normales del rumen (6.0-6.3), estos jabones permanecen sin disociar, son insolubles en el líquido ruminal y por tanto inertes. En abomaso, sin embargo, el pH disminuye hasta 2.0-2.5 por lo que se disocian, dando lugar a calcio y a los ácidos grasos libres correspondientes que son entonces digeridos. El principal sitio de absorción de las grasas es el tramo medio y final del yeyuno aunque también ocurre absorción en el tramo inicial a pesar del bajo pH (Noble, 1978).

En el yeyuno superior se absorben exclusivamente los ácidos grasos libres que llegan al duodeno con la digesta, mientras que los ácidos grasos procedentes de la digestión

enzimática de las grasas neutras y los fosfolípidos son absorbidos en los dos tercios finales (Doreau y Ferlay, 1994). En el interior de los enterocitos, los ácidos grasos de menos de 12 carbonos no son esterificados y son drenados directamente por la vena porta (Hocquette y Bauchart, 1999).

Por el contrario, los ácidos grasos de 12 ó más carbonos son esterificados para forma triglicéridos y fosfolípidos (Cuvelier *et al.* 2005a).

Los triglicéridos, cantidades pequeñas de mono y diglicéridos, fosfolípidos y colesterol sintetizado in situ son unidos a apoproteínas para formar quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) que son drenados por los conductos lacteales linfáticos para ser incorporados al torrente sanguíneo (Palmquist y Jenkins, 1980). La vía linfática es mucho más importante para el transporte de los lípidos absorbidos pero Chilliard *et al.* (1992) observaron que parte de los triglicéridos intestinales eran drenados por la vena porta cuando las vacas consumían dietas ricas en grasa. Las VLDL y los quilomicrones son transportados en la sangre junto a las lipoproteínas de baja densidad (LDL), media densidad (IDL) y alta densidad (HDL) Bauchart (1996). Las VLDL y los quilomicrones son los principales responsables del transporte de los ácidos grasos para su almacenamiento en los tejidos de reserva, la síntesis de grasa láctea y la oxidación. Los ácidos grasos transportados por las VLDL y los quilomicrones son liberados por la enzima lipoproteinlipasa, localizada en la superficie del endotelio capilar, y quedan disponibles para su captación tisular (Palmquist y Jenkins, 1980). La enzima lipoproteinlipasa se localiza únicamente en los tejidos que utilizan ácidos grasos transportados en las lipoproteínas (musculatura esquelética, hígado, tejido adiposo, glándula mamaria y otros). Los ácidos grasos pueden utilizarse para la secreción directa en la leche, la deposición en los tejidos como grasa de reserva o integrantes de las membranas celulares, o como fuente de energía por oxidación.

Los rumiantes conservan las pequeñas cantidades de ácidos grasos esenciales que escapan a la biohidrogenación ruminal incorporándolos a los ésteres de colesterol y depositándolos selectivamente en los fosfolípidos de las membranas celulares (Demeyer y Doreau, 1999).

La mayoría de las grasas cálcicas disponibles en el mercado se fabrican a partir de ácidos grasos destilados de palma (Mateos *et al.*, 1996).

2.5.2.2 Grasas hidrogenadas

El proceso consiste en hidrogenar parcialmente los dobles enlaces de diversas fuentes lipídicas a fin de elevar su punto de fusión, reduciendo de esta forma su actividad en el rumen por ser más insolubles. Las principales fuentes lipídicas utilizadas en la confección de estas grasas son las oleínas, sebo y las oleínas de pescado. El problema a considerar con este tipo de grasas es que la hidrogenación de los ácidos grasos, especialmente de los de cadena larga, reduce su digestibilidad en el intestino delgado (Firkins *et al.* 1994).

2.6 Efecto de los lípidos sobre la respuesta animal

Las raciones de las vacas lecheras son suplementadas con grasa principalmente con el fin de incrementar la densidad energética de la dieta, para mejorar la producción de leche, crecimiento y reproducción.

De acuerdo a Kronfeld (1976) la eficiencia de utilización de los nutrientes en vacas lactantes teóricamente se maximiza cuando las grasas dietéticas proveen del 15 al 20% de la energía metabolizable consumida por el animal. Diversos estudios han mostrado el efecto positivo de la inclusión de estos lípidos en las raciones, especialmente de rumiantes con altas demandas nutricionales y con dietas de alta calidad.

En un estudio se observó que en vacas Holstein las cuales fueron suplementadas con 3 o 6% de un aceite hidrogenado de pescado, que la producción de leche fue significativamente superior en las vacas suplementadas con 3% de grasa, mientras que la producción corregida al 4% de grasa fue superior en ambos tratamientos con inclusión de grasa, producto de la mayor producción y contenido de grasa láctea. El grupo con 3% de inclusión presentó la mayor diferencia con respecto al control, siendo 9.1% superior (González *et al.* 2002).

Al principio se pensaba que proporcionando alimentos suplementados con grasas durante la lactación temprana, cuando la vaca está experimentando un balance energético negativo, podría mejorar el estado energético del animal y consecuentemente mejorar el comportamiento reproductivo.

Cuando la grasa es proporcionada durante el periodo de lactación temprana, la vaca o disminuye su consumo de alimento o incrementa la producción de leche y el estado energético raramente es alterado (Santos *et al.* 2008; Staples *et al.* 1998). Desde entonces se ha sugerido que cualquier beneficio de proporcionar grasas debe ser independiente del estado de energía y podría ser debido a efectos específicos por la composición de ácidos grasos de la fuente de grasa proporcionada (Mattos *et al.* 2000). Además de los beneficios que los ácidos grasos puedan proporcionar a los animales, en los últimos años el propósito de incrementar la eficiencia productiva ha sido una consideración importante. También ha habido un reconocimiento de que los alimentos pueden ser factores contribuyentes en la prevención y desarrollo de algunas enfermedades. Como resultado, se ha dado enfoque a diseñar alimentos que contengan componentes que proporcionen efectos benéficos a la salud humana (NRC, 1988).

2.7 Componentes bioactivos

En un reporte de la Academia Nacional de Ciencias de EU identificó las investigaciones sobre componentes bioactivos de los alimentos como un área clave enfocada en mejorar la salud humana, a través de la nutrición.

El término “alimento funcional” ha sido adaptado para describir algún alimento o algún componente de éste que tenga efectos benéficos sobre la salud humana, más allá de lo esperado con base su valor nutricional (Bauman *et al.* 2006).

Avances recientes en el conocimiento de los beneficios de los ácidos grasos específicos en la grasa de la leche, son de especial importancia debido a la percepción pública negativa de que los alimentos que contienen grasa saturada es improbable que sean benéficos para la salud humana.

Más bien, se deben considerar los efectos biológicos y nutricionales basados en los ácidos grasos individuales.

Uno de los avances más interesantes en esta área, ha sido el descubrimiento de los beneficios potenciales que los isómeros del conjugado de ácido graso linoleico (CLA) pueden tener en la salud humana (Bauman *et al.* 2006).

2.8 Conjugados de ácido graso linoleico (CLA)

El nombre genérico “ácido linoleico conjugado” (CLA) es un término que abarca todos los ácidos octadecadienoicos (C18:2) con un doble sistema de conjugación en las posiciones 7-9, 8-10, 9-11, 10-12, 11-13 y 12-14 y en una configuración geométrica cis-cis, cis-trans, trans-cis y trans-trans. Recientemente, la evidencia ha sugerido que los isómeros de CLA pueden actuar de diferente forma en sistemas biológicos y contribuir en diferentes vías para generar sus efectos benéficos (Belury, 2002; Khanal, 2004; Pariza, 2004).

2.8.1 Historia de los CLA

Booth *et al.* (1935) fueron probablemente los primeros en establecer la presencia de los conjugados de ácido graso linoleico en la grasa de la leche. Ellos reportaron que cuando las vacas pastoreaban después del invierno, los AG de la grasa de la leche mostraban un gran incremento en la absorción en la región ultravioleta a 230 nm.

Moore (1939) más tarde concluyó que la absorción a 230 nm fue el resultado de dos enlaces dobles conjugados. Hilditch y Jasperson (1941, 1945) sugirieron que la insaturación conjugada ocurrió con el ácido graso insaturado de 18 carbonos. Bartlett y Chapman (1961) encontraron una relación constante entre el *trans* C18:1 y una insaturación conjugada en un gran número de muestras de mantequilla que se determinaron por espectroscopio infrarrojo, lo cual los llevo rápidamente a sugerir una secuencia de reacciones que debieron ayudar a explicar la biohidrogenación del LA en el rumen. Parodi (1977) determinó que los dobles enlaces conjugados fueron *cis*-9 y *trans*-11 del C18:2.

2.8.2 Síntesis ruminal de los CLA

El mayor isómero de CLA en la grasa de la leche es el *cis*-9, *trans*-11, y este representa del 80 al 90% del total de CLA (Parodi *et al.* 1977; Chin *et al.* 1992; Sehat *et al.* 1998).

Los CLA que se encuentran en leche y carne de los rumiantes se originan a partir de dos fuentes (Griinari y Bauman, 1999). Una fuente son los CLA formados durante la biohidrogenación ruminal del ácido linoleico y la segunda fuente son los CLA sintetizados por el tejido animal a partir de *trans*-11 C18:1, otro intermediario en la biohidrogenación de los AGPI. Es conocido que la biohidrogenación del ácido linoleico se realiza en tres pasos, en primer lugar ocurre una rápida isomerización del enlace *cis*-12 a *trans*-11, resultando proporciones variables de isómeros (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-9 *cis*-11; *trans*-10, *cis*-12; etc.), entre los cuales destaca el ácido ruménico (C18:2 *cis*-9, *trans*-11) con un porcentaje alrededor del 30% en vacas (Piperova *et al.* 2002). En una segunda fase, el enlace *cis*-9 es hidrogenado para formar ácido vaccénico (C18:1 *trans*-11) (Martínez *et al.* 2010).

2.8.3 Síntesis endógena de CLA

Mientras el origen de los CLA a partir de las bacterias ruminales fue aceptado, no era suficiente para explicar todos los CLA presentes en la leche o la carne. Banni *et al.* (1996) encontraron que borregas lactantes en pastoreo sin suplementación de ácido linoleico produjeron altos niveles de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 en la grasa de la leche.

Estas investigaciones sugirieron que los CLA formados durante la biohidrogenación del ácido linoleico en el rumen no eran la única fuente y que había otra fuente que necesitaba ser identificada.

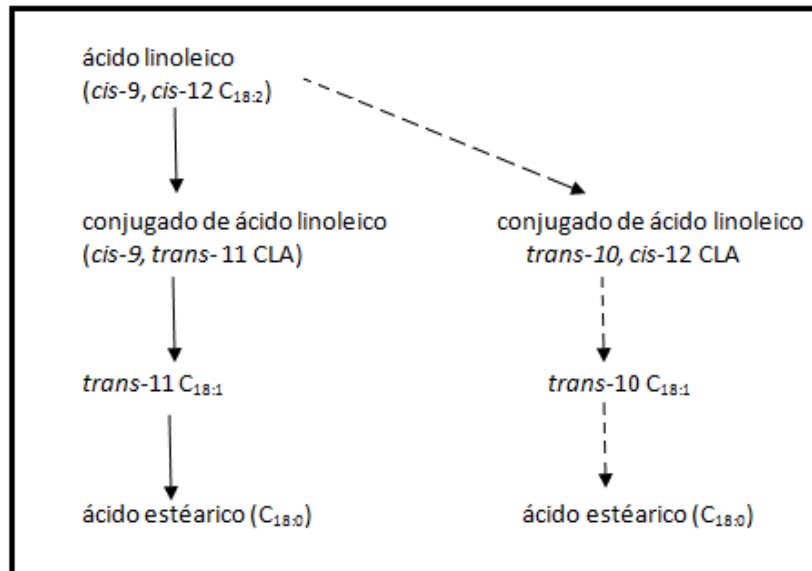


Figura 10. Vías de biohidrogenación del ácido linoleico (Grinari *et al.*, 1999).

Con base en estas observaciones, Holman y Mahfouz (1981) y Pollard *et al.* (1980), describieron la desaturación del *trans* al *cis* del C_{18:2}, donde se propuso que los CLA podrían ser sintetizados endógenamente a partir del ácido transvaccénico *trans*-11 C_{18:1} por la Δ^9 desaturasa (Fig.10; Parodi, 1994).

Más tarde, Griinari y Bauman (1999) propusieron que la mayor proporción de CLA en los lípidos de los tejidos y la leche era originado por la síntesis endógena por la Δ^9 desaturasa y dicha actividad se producía en mayor grado en la glándula mamaria.

Estos autores realizaron varios experimentos, en el primero de ellos suministraron el sustrato *trans*-11 C_{18:1} (12.5 g/d) mediante una infusión abomasal (Corl *et al.* 1998), al terminar el tercer día de infusión, el contenido de CLA en la grasa de la leche había incrementado cerca de un 40%, indicando que la vacas lecheras tienen la habilidad de sintetizar CLA endógenamente (Fig.11)

Para cuantificar la importancia de la desaturasa en la producción de CLA, infundieron abomasalmente ácido estercúlico, un potente inhibidor de la Δ^9 desaturasa (Corl *et al.* 1999). Los resultados demostraron que el ácido estercúlico causó una dramática reducción en el contenido de C_{18:2} *cis*-9, *trans*-11 en la grasa de la leche.

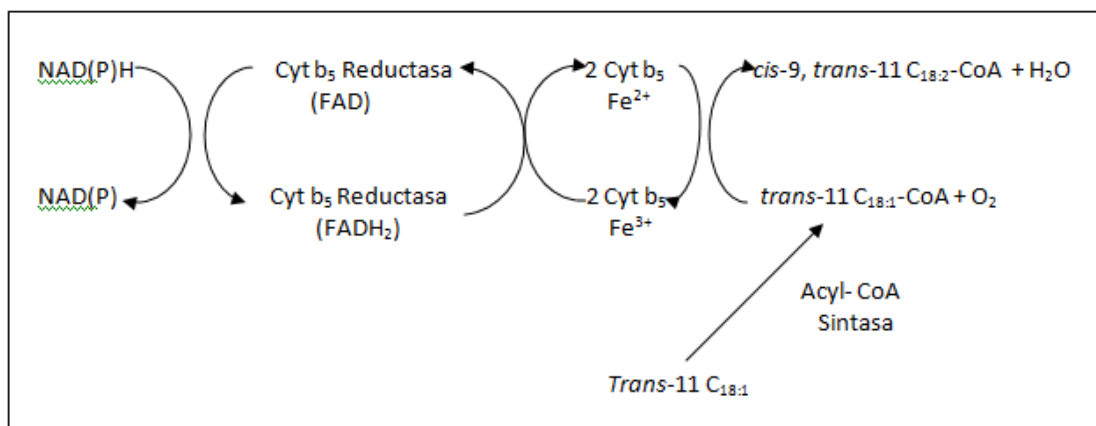


Figura 11. Síntesis endógena de CLA a partir del ácido transvaccénico

El sistema desaturasa es un complejo multienzimático que incluye la NADH citocromo b5 reductasa, la citocromo b5, la acilCoA sintasa y la Δ^9 desaturasa.

La reacción de la Δ^9 desaturasa introduce un enlace doble *cis* entre los carbonos 9 y 10 del ácido graso.

La esteoil- CoA y la palmitoyl-CoA son los mayores sustratos para la Δ^9 desaturasa y los ácidos grasos resultantes de esta reacción son componentes importantes de los fosfolípidos y los triglicéridos, particularmente para el mantenimiento de la fluidez de la membrana plasmática.

Hay diferencias entre especies sobre la distribución de la Δ^9 desaturasa. Los borregos y bovinos en crecimiento tienen mayores cantidades de Δ^9 desaturasa en tejido adiposo (Wahle, 1974), de este modo el tejido adiposo parece ser el mayor sitio de síntesis endógena de *cis*-9, *trans*-11 de animales en crecimiento.

La glándula mamaria parece ser el sitio de síntesis endógena para animales en lactación (Bickerstaffe *et al.* 1970).

2.8.4 CLA en la salud humana

Los productos derivados de los animales rumiantes son la mayor fuente de CLA en la dieta humana (Chin *et al.* 1992). El descubrimiento del papel que juegan los CLA en los alimentos funcionales ocurrió hace una década cuando Pariza *et al.* (1979) encontraron que la carne contenía un factor anticancerígeno que consistía en una serie de isómeros conjugados del ácido linoleico (Pariza *et al.* 1979; Ha *et al.* 1987). Trabajos subsecuentes encontraron que los CLA son capaces de reducir en modelos animales la incidencia de tumores en glándula mamaria, estómago, colon y piel (Belury, 1995). Estos efectos fueron reconocidos en un reporte de la Academia Nacional de Ciencias “Carcinógenos y Anticarcinógenos en la dieta humana”, el cual estableció que el CLA es el único AG que inequívocamente parece inhibir el cáncer en animales experimentales (NRC, 1996).

Recientemente, los efectos positivos sobre la salud asociados con los CLA en modelos experimentales han sido ampliados a incluir: reducción en el aumento de la grasa corporal y una repartición de nutrientes alterada, efectos antidiabéticos, reducción en el desarrollo de la arteriosclerosis, mejora en la mineralización de hueso y modulación del sistema inmune (Belury, 1995).

2.8.5 CLA en la leche

Los tres componentes más importantes de la leche son la lactosa, la proteína y la grasa. Dentro de los factores que influyen la producción y composición de la leche se encuentran: la raza de la vaca, la etapa de lactancia, la nutrición, el sistema y nivel de alimentación, los cambios estacionales, la frecuencia de ordeño y sistema de ordeño (Huppertz y Kelly, 2009) En particular, las fracciones lipídica y proteica pueden ser modificadas a través de cambios en la dieta.

Sin embargo, el factor que tiene mayor impacto sobre la concentración de grasa y proteína en leche es el volumen de producción de ésta (Emery, 1988).

Se ha observado que suplementando CLA a vacas durante la lactación desde 5 días en leche (Loor *et al.* 1998; Chouinard *et al.*, 1999^a) hasta las 20 semanas (Perfield *et al.* 2002a), se puede causar una reducción en el contenido de grasa en leche. En particular, se ha demostrado en varios estudios que el isómero CLA C18:2 *trans*-10, *cis*-12 es un potente inhibidor de la síntesis de grasa en la glándula mamaria y afecta el contenido de ésta en la leche (Baumgard *et al.* 2000a; Baumgard *et al.* 2002b; Peterson *et al.* 2002; Loor y Herbein 2003; Perfield *et al.* 2004; de Veth *et al.* 2004); el mecanismo a partir del cual se genera este efecto es explicado por la teoría de la biohidrogenación (Bauman *et al.* 2001) y por la disminución de expresión de enzimas que participan en la biosíntesis de grasa (Bauman *et al.* 2008) y elementos como la proteína de unión-1 al elemento de respuesta de esterol (SREBP1) y la Spot 14 (S14) que la regulan (Harvatine y Bauman, 2006).

El efecto negativo sobre síntesis y contenido de grasa en leche por consumo de CLA es dosis dependiente y se ha observado que la máxima reducción de la grasa en leche (50%) se alcanza a una dosis aproximada de 15 g de CLA/día (Landwirtschaftlichen, 2012).

2.9 AGPI en la reproducción animal

2.9.1 Efectos de los lípidos de la dieta sobre la secreción de LH, dinámica folicular ovárica, función del cuerpo lúteo y esteroidogénesis.

La secreción de LH de la pituitaria y el crecimiento folicular en ganado están regulados parcialmente por el estado energético del animal. El estado energético de animales en lactación ha sido definido como la energía neta consumida por el animal menos la energía neta requerida para el mantenimiento y la requerida para la producción de leche.

El estado de energía negativo prolonga el anestro posparto (Randel, 1990) y reduce la frecuencia de pulsos de LH que son necesarios para el crecimiento de los folículos ováricos hasta el estado preovulatorio en vacas y borregas (Schillo, 1992). La suplementación con grasas es frecuentemente incluida para incrementar la concentración de energía de las dietas, lo cual podría resultar en un incremento en el consumo de energía y mejorar el estado energético de la vaca (Blum *et al.* 1985; Harrison *et al.* 1995; Palmquist y Weiss, 1994).

La energía extra provista por la suplementación grasa tiene en principio un efecto positivo sobre el patrón de secreción pulsátil de LH (Hightshoe *et al.* 1992; Sklan *et al.* 1994). Sin embargo, también se han observado efectos del consumo de grasa *per se* sobre la función ovárica y particularmente cuando la grasa suplementada es alta en contenido de AGPI. Se ha demostrado que el diámetro del folículo dominante aumenta en vacas alimentadas con dietas ricas en AGPI (Bilby *et al.* 2006; Garnsworthy *et al.* 2008).

Asimismo, muchos estudios han mostrado que suplementar con grasas altera la dinámica de crecimiento de los folículos ováricos incrementando su número total (Lucy *et al.* 1991; Lucy *et al.* 1991^a; Wehrman *et al.* 1991; Thomas *et al.* 1996; Beam and Butler, 1997; Lammoglia, 1997), así como la concentración de colesterol en el fluido folicular (Wehrman *et al.* 1991) y en el plasma (Grummer y Carroll, 1991).

Por otra parte, hay evidencias que sugieren que el consumo de AGPI puede influir positivamente en la función lútea (Staples *et al.* 1998). Estos efectos han sido atribuidos a una cascada de eventos que modifican el patrón de fermentación ruminal, estimulan la síntesis de lipoproteínas y colesterol, aumentan la secreción de esteroides ováricos, modifican las concentraciones de insulina y GH circulantes y mejoran la síntesis o acumulación del factor de crecimiento parecido a la insulina I (IGF-I) en las células ováricas (Williams y Stanko, 1999).

2.9.2 AGPI y prostaglandinas

La suplementación con AGPI n-3, principalmente en forma de aceite de pescado o harina de pescado, produjo efectos benéficos en el comportamiento reproductivo de vacas lecheras (Mattos *et al.* 2004; Mattos *et al.* 2002; Thatcher *et al.* 2004), (Abayasekara *et al.* 1999; Funston, 2004; Staples *et al.* 1998). Dicha suplementación influenció de manera positiva la función ovárica y la esteroidogénesis, así como la síntesis de prostaglandinas (Petit *et al.*, 2002).

Los AGPI de veinte carbonos son los precursores directos de un gran número de componentes activos fisiológicos llamados eicosanoides, los cuales incluyen a prostaglandinas (PGs), tromboxanos, leucotrienos y lipoxinas. Las PG de las series 1 y 2 son derivadas de los AGPI's n-6 como el ácido dihomo-gama linoleico (DGLA) y el ácido araquidónico (AA), mientras que las PG de las serie 3 son derivadas del eicosapentanoico (EPA) (Needleman *et al.* 1986) (Fig. 12). Las PG de la serie 2 (por ejemplo, la PGF₂α) son importantes reguladores de funciones reproductivas como el parto y la regresión del cuerpo lúteo que dirige la iniciación de un nuevo ciclo estral (Mattos *et al.* 2004).

El agente luteolítico prostaglandina F₂α (PGF₂α) derivado del endometrio, juega un papel muy importante en la fertilidad bovina a partir del control de la vida funcional del cuerpo lúteo (Thatcher *et al.* 1984).

La síntesis de PG en los tejidos es un proceso muy bien regulado. El exceso de AGPI es almacenado en la mayoría de las células en forma esterificada como fosfolípidos de las membranas celulares (Ghosh *et al.* 2006).

La PGF₂α es derivada del AA encontrado en los fosfolípidos de las membranas celulares. Su síntesis está dividida en tres etapas con un paso inicial que comprende la movilización de AA de la membrana plasmática, por la acción de la enzima fosfolipasa A (PLA₂) (Capper *et al.* 2001). Muchas fosfolipasas han sido identificadas, de las cuales el grupo citosólico intracelular IV A₂α (GIVA) parece el más importante, controlando la disponibilidad de AA libre para la síntesis de PG (Ghosh *et al.* 2006).

La hidrólisis del ácido araquidónico de los fosfolípidos de las membranas celulares por las enzimas PLA₂ representa el paso limitante en la síntesis de PG de la serie 2 (Capper *et al.* 2001). La activación citosólica de PLA₂, es dependiente de liberación de calcio almacenado en el retículo endoplásmico, dirigiendo a la activación de la proteína cinasa C (PKC) (Poyser, 2005). Coyne *et al.* (2008), demostraron que la PLA₂ está envuelta en la movilización de AA de los fosfolípidos de las membranas celulares y que una disminución en la expresión génica de PLA₂ implica que hay una menor disponibilidad de AA para la producción de PGF₂α.

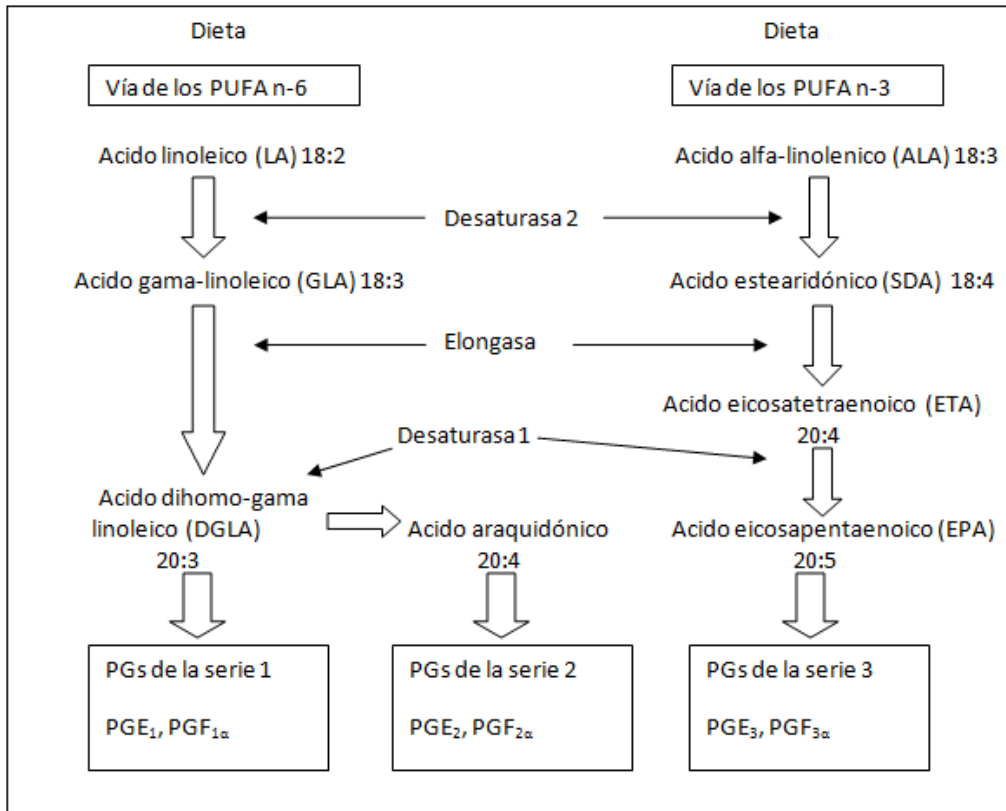


Figura 12. Síntesis de prostaglandinas (PG) de las series 1, 2 y 3 a partir de AGPI (PUFAS) de la dieta (Wathes *et al.* 2007)

El AA libre generado es después metabolizado por enzimas llamadas prostaglandinas endoperóxido sintetasas (PTGS), prostaglandina endoperóxido H sintetasas (PGHS) o ciclooxigenasas (COX), de las cuales las importantes para la biología reproductiva son las isoformas 1 y 2. A pesar de que las PTGS1 y la PTGS2 tienen la misma función, son codificadas por diferentes genes, reguladas diferentemente, expresadas en una manera celular específica y encontradas en distintos compartimiento celulares. Las enzimas PTGS catalizan una reacción de ciclooxigenación en la que el AA es convertido en PGG₂ y una de peroxidación en la que PGG₂ se convierte en PGH₂ (Smith y Lagenbach, 2001).

Finalmente, la PGH_2 es convertida en prostaglandina PGE_2 o $PGF_{2\alpha}$ por enzimas sintetasa específicas, la Prostaglandina E_2 sintetasa (PGES) y la Prostaglandina $F_{2\alpha}$ sintetasa (PGFS), respectivamente (Fig. 13; Madore *et al.* 2003)

La prostaglandina E_2 9-ketoreductasa (9-KPR) reversiblemente convierte PGE_2 en PGF_2 y es una de las enzimas clave que controlan el metabolismo de las prostaglandinas (Madore *et al.* 2003).

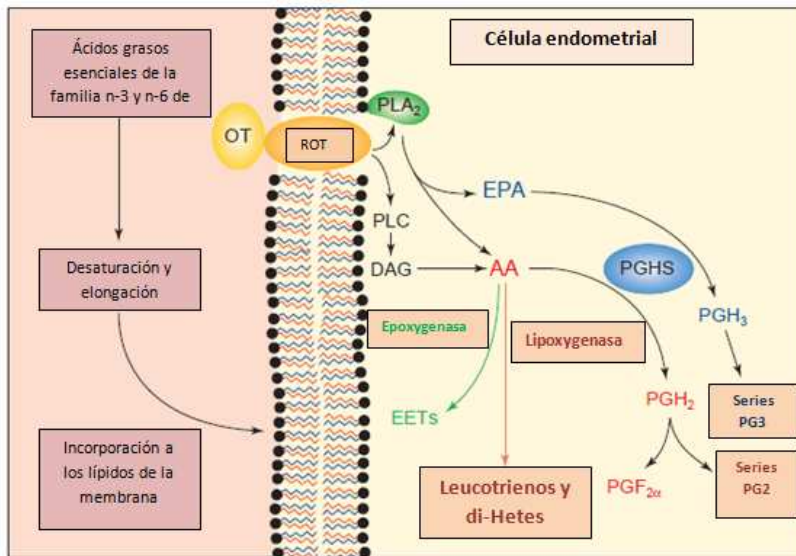


Figura 13. Representación esquemática del metabolismo de los AGPI n-6 y n-3 y los mecanismos de regulación de la síntesis de PGF_2 (Adaptado de Mattos *et al.* 2000)

Las prostaglandinas actúan en receptores acoplados a proteínas G (Madore *et al.*, 2003; Coleman *et al.* 1994). A la fecha, se han clonado cuatro sub-tipos de receptores para prostaglandina E (PTGER; PTGER1, PTGER2, PTGER3 y PTGER4). La activación de los PTGER puede resultar en incrementos en CA^{2+} (vía PTGER1), remoción de fosfoinositol (vía PTGER3), generación de cAMP (vía PTGER2 y PTGER4) o inhibición del agonista estimulado por la actividad de la adenilatociclasa (vía PTGER3) (Hatta *et al.* 2004).

2. 9.2.1 Mecanismos de inhibición de la secreción de prostaglandinas

Los AGPI pueden disminuir la síntesis de PGF₂ α por diferentes vías, las cuales incluyen la disminución del AA como precursor, incremento de ácidos grasos que compitan con el AA para el procesamiento por la PGHS e inhibiendo a la propia PGHS.

La disponibilidad reducida de AA en el pool de fosfolípidos uterinos para la conversión a prostaglandinas de la serie 2 puede ocurrir a través de una reducción en la síntesis de AA e incremento de la síntesis de otros ácidos grasos (Mattos *et al.* 2000).

2. 9.2.2 Reducción en la síntesis de ácido araquidónico

Los AGPI afectan la producción de PGs actuando como sustratos y como inhibidores competitivos de la ciclooxigenación y alterando la expresión o las concentraciones celulares de varias enzimas relevantes (Lands, 1992). Un posible paso que contribuye a la reducción del contenido de ácido araquidónico envuelve una disminución en la síntesis de AA, esto es mediante el procesamiento preferencial de los ácidos grasos n-3 por la Δ 6 desaturasa a expensas de la desaturación de ácidos grasos n-6 (Sprecher, 1981). La diferente proporción de AGPI en la dieta altera la composición de los fosfolípidos de la membrana celular y esto llega a ser cuantitativamente significativo como para que los precursores de cada grupo de PGs compitan por el mismo sistema de enzimas para el metabolismo (Lands, 1992), esto tendría efectos sobre los tipos de PGs sintetizadas y podría influir en respuestas fisiológicas (Abeyasekara *et al.* 1999).

Algunos estudios de suplementación *in vivo* usando dietas enriquecidas con LA para ganado, o de suplementación *in vitro* a células endometriales aisladas de borregas en etapas tardías de la gestación, demostraron una disminución significativa en la producción de PGs de la serie 2 (Cheng *et al.* 2004).

Cantidades altas de EPA pueden resultar en un incremento en la síntesis de PGs de la serie 3 y una disminución en la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$, por lo tanto las respuestas reproductivas reguladas por $\text{PGF}_{2\alpha}$ podrían verse afectadas. Las concentraciones de AA en el útero de la rata son consistentemente mayores que las de ácido dihomo- γ -linoleico y que las de ácido eicosapentaenoico aun cuando se alimente con dietas altas en EPA. Sin embargo, la proporción de EPA: AA puede alterarse a través de manipulación de la dieta (Howie *et al.* 1992). El sustrato preferido para la catálisis de PTGS, cualquiera de las dos la PTGS1 o la PTGS2 es el AA. Sin embargo, EPA es sustrato para ambas, su metabolismo por la vía de la PTGS es pobre (cerca del 10%), lo que significa que su disponibilidad para generar PGs de la serie 3 es también pobre (Smith, 2005). EPA es también un inhibidor de la actividad de PTGS1, esto significa que EPA no solo inhibe la generación de PGs de la serie 2 (McLaren *et al.* 2006), sino que a su vez no permite el incremento en producción de PGs de la serie 3 por la vía de la PTGS1. Mattos *et al.* (2004) encontraron que suplementando células endometriales de ovino en cultivo con LA, GLA o AA resultaba un cambio significativo en la producción de PGs con más PGE_2 que $\text{PGF}_{2\alpha}$. Vaquillas de carne alimentadas con una dieta alta en aceite de pescado tuvieron una expresión mayor de mRNA de PGES en el endometrio (Waters *et al.* 2006), lo que sugiere un posible mecanismo para este efecto. Por otro lado, vacas lecheras que recibieron alimentación crónica de sales de calcio o aceite de pescado (enriquecida con EPA y DHA) no tuvieron ninguna alteración en la expresión de mRNA de PTGS2, PGES o PGFS en células de tejido endometrial colectado el día 17 del ciclo (Bilby *et al.*, 2006).

En algunos estudios *in vitro*, sobre la síntesis de PGs por tejido uterino, la adición de LA fue inhibitoria. Asimismo, la suplementación de LA a bovinos o a células endometriales aisladas de borregas en el último tercio de la gestación, causó una disminución significativa en la producción de prostaglandinas de la serie 2 (Cheng *et al.* 2004).

2. 9.3 Alteración en el perfil de ácidos grasos en la membrana plasmática

Una disponibilidad reducida de AA para la incorporación dentro de los fosfolípidos de la membrana plasmática resultará en una mayor incorporación de otros ácidos grasos, los cuales podrían no ser precursores de eicosanoides. Además, el desplazamiento de AA de los fosfolípidos de la membrana celular ha sido demostrado en animales cuyas dietas fueron ricas en ácidos grasos n-3 (Mattos *et al.* 2004). Trujillo y Broughton (1995) reportaron una reducción significativa en la proporción de AA presente en fosfolípidos extraídos de células del hígado de ratas alimentadas durante 4 semanas con dietas ricas en n-3. En otro trabajo, la alimentación en ratas con una dieta rica en ácidos n-3 por tres semanas resultó en un desplazamiento del 50 % de AA del pool de fosfolípidos en células uterinas por ácidos grasos n-3 y n-6. Se ha visto que los n-3 afectan la cinética de dos segundos mensajeros intracelulares, el diacilglicerol (el activador fisiológico de la proteína cinasa C) y la ceramida. En células epiteliales uterinas de ovino cultivadas con GLA o AA, la producción de PG estuvo muy atenuada, las células llegaron a ser insensibles a oxitocina (Cheng *et al.* 2004; Cheng *et al.* 2005). Si bien es posible que haya una saturación de la PTGS2 disponible, una explicación alternativa pudiera ser debido a alteraciones en las vías de señalización celular.

Algunos trabajos han mostrado que los receptores a oxitocina en el miometrio podrían ser convertidos de un estado de baja a alta afinidad por la adición de colesterol, un efecto que se piensa que es mediado por cambios en las propiedades de la membrana (Fahrenheit *et al.* 1995).

Estos resultados incrementan la posibilidad de que los AGPI afecten la respuesta celular a través de influir en la fluidez de la membrana (Mattos *et al.* 2000)

2. 9.4 Factores de transcripción

Los AGPI pueden alterar la función de los factores de transcripción controlando la expresión de genes y esto puede afectar la concentración de enzimas que regulan las vías de síntesis de las PGS y los esteroides. Por ejemplo, los factores de transcripción USF-1 y USF-2 afectan la activación del promotor de PTGS2 (Wu *et al.* 2001).

En células de la granulosa luteinizadas y en células estromales endometriales bovinas, los AGPI n-3 y n-6, activan la PKC, lo que produce la fosforilación y la activación de las fosfodiesterasas (Michael y Webley, 1991; Cheng *et al.* 2007), por lo tanto, los AGPI reducen la fosforilación de USF-2 y la activación de transcripción de PTGS2 a través de este efecto. Dado que los AGPI pueden activar la MAPK3 (German *et al.* 2006), también es posible que regulen la activación de la PTGS1 y la PTGS2 (Tsatsnis *et al.* 2006). En relación a la esteroidogénesis, la subfamilia 1 de receptores nucleares, miembro 3 (NR1H3) es un factor de transcripción conocido por responder a los AGPI (Sampath *et al.* 2005), que afecta la expresión de STaR y al mismo tiempo la síntesis de esteroides en células adrenocorticales de ratón (Cummins *et al.* 2006).

Los ácidos grasos de la dieta inhiben la expresión de genes envueltos en la lipogénesis hepática y pueden reprimir genes envueltos en la síntesis de prostaglandinas, como los que codifican para PLA2 y PGHS-2.

Los mecanismos propuestos para la regulación de la expresión de genes por los AGPI envuelve la activación de PPARs (Jump *et al.* 1996). Los receptores activadores del proliferador de peroxisoma (PPAR) funcionan como ligando de factores de transcripción que regulan múltiples procesos fisiológicos (Michalik, 2002) incluyendo inflamación, desarrollo y metabolismo lípido (Escher y Wahli, 2000). La distribución de los factores de transcripción PPAR α y PPAR γ indica que juegan algún papel en el catabolismo de los ácidos grasos y la adipogénesis (Fig. 14) (Braissant *et al.* 1996).

Es posible que algunos efectos benéficos de los AGPI n-3 sobre la fertilidad puedan estar mediados a través de la activación de PPAR debido a que estos ácidos grasos funcionan como ligando para PPAR α , δ , y γ .

Recientemente, se detectó una relación inversa entre PPAR δ y la expresión uterina de receptores α estrogénicos bovinos y el gen PGHS-2 (Balaguer *et al.* 2005), lo que sugiere que este receptor nuclear podría jugar un papel importante en el control reproductivo en mamíferos domésticos.

Algunos estudios demuestran que incrementos en la expresión génica de PPAR α y PPAR δ están asociados con una disminución en la producción de PGF $_{2\alpha}$ en células endometriales bovinas (BEND) (MacLaren *et al.* 2006), lo cual podría beneficiar permitiendo la sobrevivencia y desarrollo embrionario temprano (Coyne *et al.* 2008).

2.10 AGPI y esteroidogénesis

Los n-3 y los n-6 pueden afectar un gran número de factores asociados con la síntesis y metabolismo de importantes hormonas reproductivas como los esteroides, progesterona (P4) y estradiol (E2). Dietas altas en n-3 están asociadas con bajas concentraciones de colesterol en plasma (Robinson *et al.* 2002), lo cual puede conducir a una síntesis reducida de hormonas esteroides, debido a que el colesterol es un precursor para ambas, P4 y E2 (Staples *et al.* 1998).

Sin embargo, la inhibición de PGF $_{2\alpha}$ por los n-3 puede prevenir, por otro lado, la regresión del cuerpo lúteo (CL) resultando en una liberación sostenida de P4 (McCracken *et al.* 1972).

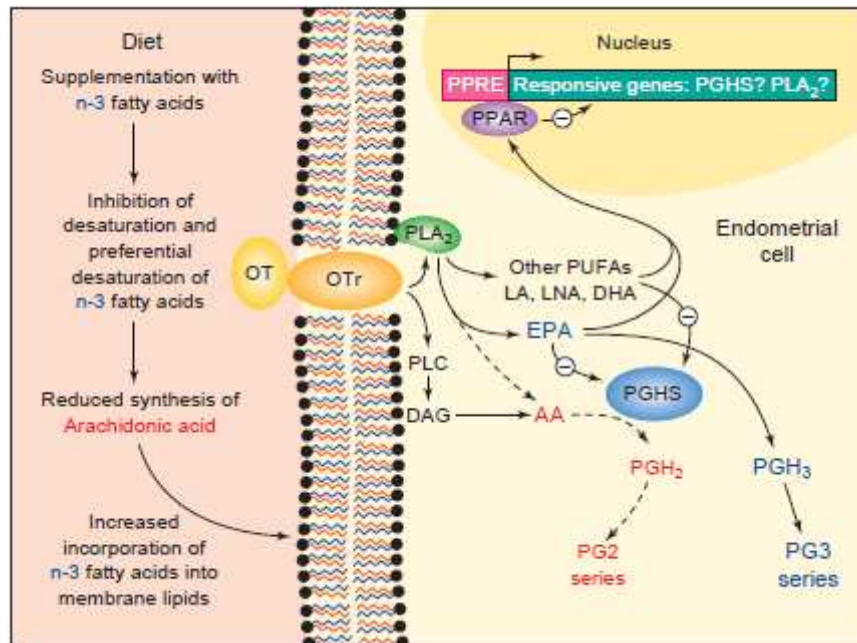


Figura 14. Modelo esquemático propuesto del efecto de una dieta rica en AGPI sobre la síntesis de eicosanoides. (Mattos *et al.* 2000).

El incremento en la concentración de EPA en plasma, asociado al incremento de PPARs (MacLaren *et al.* 2006), podría estar asociado con la reducción de progesterona (P4; Galbreath *et al.* 2008). Dietas altas en n-6 están asociadas con altos niveles de colesterol (Robinson *et al.* 2002), proteína StAR (Wang *et al.* 1999) y PGE2 lo cual podría estimular la producción de P4 (Wathes *et al.* 2007).

La disponibilidad de colesterol no es el factor limitante en la biosíntesis de P4, sino más bien su transporte del citoplasma a la membrana celular interna de la mitocondria por la proteína StAR (Fig. 15; Niswender, 2002).

Algunos estudios indican que los efectos de los AGPI sobre la reproducción incluyen un aumento en la progesterona circulante (Hawkins *et al.* 1995; Lammoglia *et al.* 1997) o en la concentración de estradiol (E2; Robinson *et al.* 2002). El incremento en las concentraciones circulantes de P4 y E2 podría ser un mecanismo esencial para mejorar la fertilidad después de la suplementación con grasas.

La suplementación con AGPI podría aumentar las concentraciones plasmáticas de esteroides por el aumento en su producción a través de varios mecanismos, incluyendo el aumento en la disponibilidad de lipoproteínas, modulación de la síntesis de PG o estimulación directa de la esteroidogénesis ovárica (Grummer and Carrol, 1991; Staples *et al.* 1998; Williams and Stanko, 2000).

AA y sus metabolitos han estado implicados en la esteroidogénesis a través de efectos directos sobre la maquinaria esteroidogénica (proteína StAR, citocromo P450, Familia 11, subfamilia A, enzima polipeptídica 1 [CYP11A1]) o efectos indirectos por la vía de las PGs. La proteína StAR juega un papel crítico en la regulación de la síntesis de esteroides (Stocco *et al.* 2005). En células de Leydig MA-10, la inhibición de liberación endógena de AA, inhibió la síntesis de esteroides inducida por dibutyryl cAMP, disminuyendo a su vez a la proteína StAR y a su RNAm, mientras que la adición exógena de AA invirtió todos estos efectos.

La inhibición específica de PTGS2 también estuvo asociada con un incremento en la expresión de StAR y en la producción de esteroides (Wang *et al.* 2003; Fiedler *et al.* 1999).

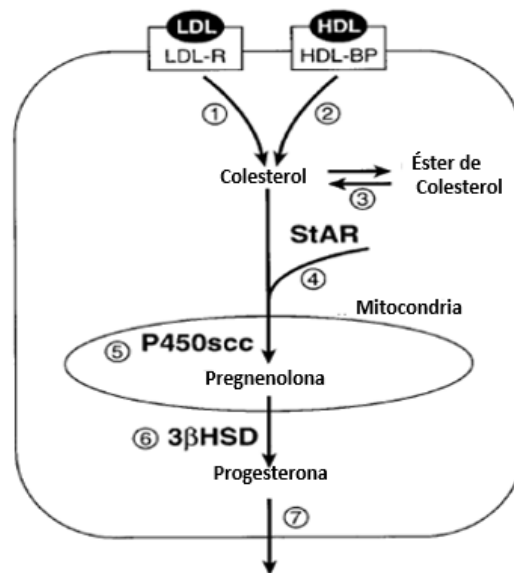


Figura 15. Vía para la biosíntesis de progesterona en una célula lútea. (Niswender *et al.* 2000).

Los AGPI pueden también regular la esteroidogénesis adrenal. La síntesis de corticosterona basal es estimulada por el LA (Sarel *et al.* 1995) mientras la síntesis de esteroides estimulada por ACTH es inhibida (Matthys y Widmaier, 1998).

Hutchinson *et al.*, (2012a) observaron que las concentraciones de P4 estuvieron elevadas durante los días 5-7 y 8-14 después de la ovulación en vacas suplementadas con CLA comparadas con otras suplementadas con n-3. El incremento en plasma de P4 en momentos críticos del ciclo estral puede alterar las secreciones uterinas, dirigiendo a una mayor capacidad del embrión para señalar su presencia a la madre.

III. Materiales y Métodos

3.1. Generales

El estudio se llevó a cabo en dos establos del Municipio de Tepatitlán de Morelos, Jalisco (HAT 1 y 2), ubicados entre las coordenadas 20° 54' 50" y 21° 01' 30" de latitud norte y 102° 33' 10" y 102° 56' 15" de longitud oeste, a una altura de 1,800 m.s.n.m. El clima en la región es de tipo templado subhúmedo, con temperatura media anual de 18.3°C y precipitación media anual de 890 mm, concentrados principalmente entre los meses de Junio a Septiembre (Ruiz *et al.*, 2003).

Los establos que fueron incluidos en el trabajo, son representativos del sistema de producción familiar considerando su tamaño (84 y 85 vacas en ordeña, respectivamente) y rutina de manejo (Cervantes *et al.*, 2001). El estudio se realizó entre mayo de 2011 y noviembre de 2012. El periodo experimental para cada vaca fue desde el momento del parto hasta los 100 días post-parto o hasta recibir su primer servicio. Fueron incluidas 154 vacas, conforme cada vaca fue pariendo, aleatoriamente fue asignada a uno de dos tratamientos: a) dieta control (DC), dieta base de cada establo adicionada con 100 g de un producto comercial de grasas saponificadas a sales de calcio (Energy Palm, **Apligen**); y b) dieta experimental (DE), dieta base de cada establo adicionada con 100 g de conjugados del ácido graso linoleico, encapsulados para permitir su paso por el rumen sin sufrir

degradación (Lutrell, **Basf**). Ambas dietas fueron balanceadas para que fueran isoproteicas e isoenergéticas. Para asegurarse de que cada unidad experimental recibiera la misma dosis, la adición de las grasas (100 g control y 100 g experimental), se realizó en forma de “top-dressing” utilizando como vehículo el concentrado que era ofrecido en la ordeña de la tarde; en ambos establos el concentrado utilizado fue el mismo (Cuadro 1) y se proporcionaba en piletas durante cada una de las dos ordeñas.

El suministro de forraje (silo de maíz, rastrojo de maíz y alfalfa) fue *ad libitum* para todas las vacas, con variaciones en su composición de acuerdo al establo y época del año.

Cuadro 1. Contenido nutrimental del concentrado proporcionado.

Composición	
Ingrediente, % de MS	
Maíz molido	29.23
Destilado de maíz	24.14
Canola	19.41
Salvado de trigo	10.05
Sorgo molido	10.08
<u>Soyplus</u>	2.02
Melaza	1.68
Núcleo urea	3.38
Análisis químico, % de MS	
CP	24.20
NDF	22.90
ADF	11.30
EE	5.84
<u>NE_L</u> Mcal/kg de MS	1.79

3.2 Producción de leche

La producción de leche por vaca se estimó a partir de mediciones semanales en las dos ordeñas del día por medio de un pesador mini-test (True-test limited Milk Meters, New Zealand).

Para obtener el valor de producción por día se sumaron los valores de ambos pesajes. El registro de producción de leche se hizo por 9 semanas a partir del parto (6 semanas en tratamiento y 3 post-tratamiento).

3.3 Composición química de la leche

La composición química de la leche (proteína, grasa, sólidos totales y sólidos no grasos) se analizó semanalmente en muestras de leche (50 ml) colectadas en cada una de las 2 ordeñas a partir del día 5 hasta los 60 días post-parto. Las muestras fueron tomadas en frascos de plástico con tapa de seguridad, después de homogenizar por agitación el total de leche ordeñada por vaca; como conservador se agregó dicromato de potasio a razón de 0.05 g/100 ml (Pinto *et al.*, 1996). Las muestras obtenidas se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta analizar una mezcla de las 2 ordeñas del día en el laboratorio.

Previo a su análisis en un equipo Milkoscan FT120 (Foss Electric, Hillerød, Denmark), las muestras de leche se llevaron a una temperatura de 35°C; los análisis se realizaron en el laboratorio de Análisis Físico-Químico de Alimentos en el Centro Universitario de los Altos de la Universidad de Guadalajara.

El MilkoScan FT120 se basa en el principio de medición FTIR (infrarrojo por transformada de Fourier), esto nos permite analizar las muestras en un tiempo reducido (30- 45 s por muestra) y con precisión. Las mediciones en el Milkoscan se hicieron por duplicado y el resultado final fue el promedio de las 2 mediciones para cada componente.

3.4 Composición de la grasa de la leche

La composición de ácidos grasos en la leche se analizó semanalmente a partir del día 5 hasta los 60 días post-parto. El mismo día que se recolectaban las muestras para componentes de la leche, se tomaba una muestra en cada una de las 2 ordeñas.

Después de homogenizar por agitación el total de leche ordeñada, se tomaba una muestra en un frasco de plástico de 50 ml con tapa de seguridad sin conservador por vaca y se mantenía en refrigeración a 4°C hasta llegar al laboratorio. En el laboratorio, las muestras se centrifugaban a 3000 rpm a una temperatura de 5°C. Posteriormente se separaban 0.75 gr de la grasa sobrenadante en viales de 1.5 ml y se congelaban; el procedimiento se repetía para cada ordeña del día y al final las muestras del día se mezclaban y se mantenían en congelación hasta su posterior análisis.

El perfil de los ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases (Hara y Radin, 1978). El proceso consistió en tomar de 300 – 500 mg de grasa para la extracción de ácidos grasos usando solución de hexano/isopropanol (3:2 v/v) a una proporción de 18 mL/g de grasa. Los ácidos grasos se metilaron con HCl-Metanol 1N a 60 - 65°C por 2h.

La reacción se detuvo con 10 µL de agua destilada. Los análisis de los metil ésteres se realizaron con el cromatógrafo de gases Hewlett Packard serie 6890 equipado con un inyector automático, ajustado a un detector de flama por ionización. El perfil de los ácidos grasos fue determinado por inyección escalonada (20:1) usando un gradiente de temperatura dentro de una columna capilar (60 x 0.250 mm) recubierta de sílica (HP INNOWAX).

El patrón de variación de temperatura fue:

Temperatura inicial de 40°C y retención a esta temperatura por 4 min.

Incremento de 10 °C/min hasta 200 °C con retención por 2 min.

Incremento de 4 °C/min hasta 210 °C con retención por 5 min.

Incremento de 2 °C/min hasta 230°C con retención por 20 min

El tiempo total de corrida fue de 59.5 min.

El gas acarreador fue N₂ a un flujo constante de 2 ml/min, y las temperaturas del inyector y detector fueron de 255°C. Los ácidos grasos individuales fueron identificados por comparación de los tiempos de retención de estándares puros (Matreya Inc. Pleasant Gap, P.A.).

Los ácidos grasos C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C14:1 se midieron semanalmente durante 9 semanas en las muestras de ambos establos, mientras que C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1 n9t, C18:1n9c, C18:2, C18:2 cis-9, trans-11, C18:2 trans-10, cis-12 y C18:3 se midieron en la semana 1, 3, 5 y 7 solo en uno de los establos (HAT 2).

3.5 Condición Corporal

Para estimar los cambios en las reservas corporales de energía durante la etapa inicial de lactancia, se evaluó semanalmente la condición corporal de las vacas, desde el parto hasta los 90 días posteriores a éste; la evaluación se hizo por dos personas capacitadas utilizando la escala de 1 a 5 puntos (con puntos intermedios) establecida por Ferguson *et al.* (1994), utilizando el promedio como variable de respuesta.

3.6 Intervalo parto-primera ovulación

Para determinar el intervalo parto-primera ovulación, se tomaron muestras de sangre por punción en la vena coccígea dos veces por semana a partir de que parían las vacas hasta 90 días postparto, esto con el fin de determinar la concentración sérica de progesterona. Las muestras fueron centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos y posteriormente los sueros fueron almacenados a -20 °C hasta su radioinmunoanálisis (RIA), el cual se realizó mediante un estuche comercial (PROG-CTRIA, Cisbio Bioassays).

La sensibilidad del ensayo fue de 0.05 ng/ml y el coeficiente de variación intra e inter ensayo de 3.5% y 4.5%, respectivamente.

Se consideró como presencia de un cuerpo lúteo funcional y evidencia de ovulación, cuando se presentaron concentraciones séricas de progesterona >1 ng/ml en por los menos tres muestras consecutivas; el día de ovulación se fijó a 4 días antes de la primera elevación de progesterona.

A partir de los 40 días post parto las vacas detectadas en estro fueron servidas por inseminación artificial de acuerdo a la rutina AM-PM; vacas detectadas en estro en la mañana se sirven por la tarde y las detectadas en la tarde se sirven en la mañana siguiente.

3.7 Análisis Estadístico

Se consideraron como variables de respuesta a los kg/día de leche y de leche corregida a 3.5% de grasa, composición química de la leche (grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos y sólidos totales), condición corporal (CC), intervalo parto-primera ovulación (IPPO), días abiertos (DA), servicios por concepción (SC) y composición de la grasa de la leche.

Para las variables asociadas con la producción y composición química de leche, así como para la CC, se realizó un ANDEVA para un diseño de mediciones repetidas por medio del Procedimiento Mixed de SAS; se incluyeron como efectos al tratamiento (TRAT), hato (HAT), muestra/medición (TIEM) y sus interacciones. El análisis de las variables anteriores se realizó considerando el periodo experimental completo (P1, semanas 1 a 9 post parto) y por separado a las fracciones correspondientes al periodo de aplicación de tratamientos (P2, semanas 1 a 6 post parto) y post tratamiento (P3, semanas 7 a 9 post parto).

En cuanto a las variables reproductivas, se realizó un ANDEVA para un diseño completamente al azar mediante el Procedimiento GLM de SAS, en el que se incluyeron como efectos al tratamiento (TRAT), hato (HAT) y su interacción, así como la condición corporal al parto como covariable.

El análisis estadístico para la composición de la grasa de la leche se hizo mediante ANDEVA de una sola vía, considerando al tratamiento como factor.

En el caso de SC, los datos no presentaron una distribución normal por lo que se analizaron por separado los efectos de TRAT y HAT mediante la prueba de Wilcoxon para dos muestras (PROC NPAR1WAY de SAS).

En todos los casos se consideró un efecto estadísticamente significativo cuando se presentó una $P < 0.05$.

IV. Resultados

4.1 Producción de leche

Para la producción diaria de leche se observó una tendencia de efecto de TRAT ($P=0.07$), aunque solo durante el periodo post-suplementación (P3); el grupo suplementado con conjugados de ácido linoleico presentó una mayor producción de leche en comparación con el grupo suplementado con grasa saponificada (29.44 ± 0.43 vs 28.23 ± 0.50 kg de leche/día para las DE y DC, respectivamente). Cuando se consideró el periodo experimental en su totalidad (P1) o solo el periodo de suplementación (P2), no se observaron efectos de TRAT sobre esta variable ($P > 0.05$). Asimismo, no se encontraron efectos de las interacciones TRAT x HAT ni TRAT x TIEM, independientemente del periodo evaluado ($P > 0.05$).

Por su parte, el HAT y TIEM tuvieron efecto sobre la producción diaria de leche ($P < 0.001$), con mayores producciones en el HAT 2 vs HAT 1 (Cuadro 2) y un incremento progresivo de la producción durante las primeras 6 semanas post-parto, independiente del tratamiento recibido o del hato experimental (Fig. 16).

Cuadro 2. Producción de leche por día en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Producción de leche			
Hato	Periodo	kg/día	P
1	1	24.54 ± 0.26	<0.0001
2		31.10 ± 0.28	
1	2	24.18 ± 0.32	<0.0001
2		30.44 ± 0.34	
1	3	25.25 ± 0.45	<0.0001
2		32.42 ± 0.48	

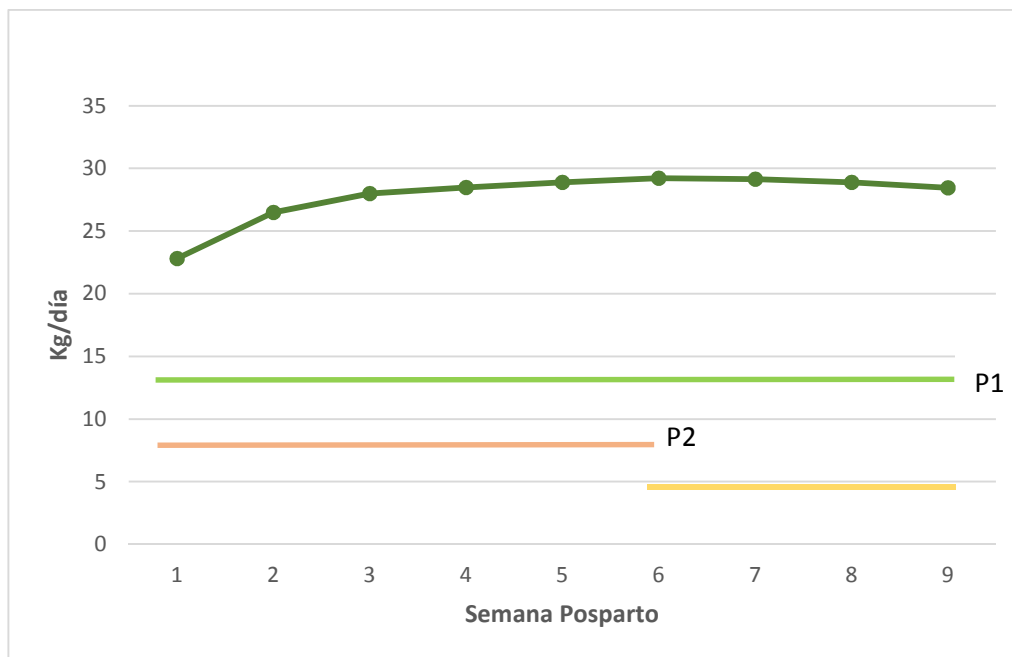


Figura 16. Producción de leche por día a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, $P < 0.01$.

En la producción de leche corregida a 3.5% de grasa, se encontró efecto de TRAT para P1 y P2 ($P < 0.05$), más no para P3 ($P > 0.05$); la mayor producción se observó en el grupo suplementado con grasa saponificada en comparación con el suplementado con conjugados de ácido linoleico (Cuadro 3). Por su parte, no hubo efecto de las interacciones TRAT x HAT y TRAT x TIEM, independientemente del periodo evaluado ($P > 0.05$).

En esta variable se observó efecto de HAT ($P < 0.001$), independientemente del periodo considerado (Cuadro 4) y aunque hubo también efecto de la interacción HAT x TIEM ($P < 0.05$), ésta se manifestó como un diferente perfil de cambio a través del tiempo entre hatos, pero siempre con una mayor producción en el HAT 2 (Fig. 17).

Cuadro 3. Producción por día de leche corregida a 3.5 % en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Producción corregida a 3.5% por tratamiento			
Periodo	Dieta	kg/día	P
1	DC	28.99 ± 0.30	<0.05
	DE	28.03 ± 0.26	
2	DC	29.22 ± 0.37	<0.05
	DE	27.63 ± 0.32	
3	DC	28.23 ± 0.50	>0.05
	DE	28.84 ± 0.43	

Cuadro 4. Producción por día de leche corregida a 3.5 % en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Producción de leche a 3.5%			
Hato	Periodo	kg/día	P
1	1	25.21 ± 0.27	<0.0001
2		31.71 ± 0.29	
1	2	25.67 ± 0.33	<0.0001
2		31.18 ± 0.36	
1	3	25.25 ± 0.45	<0.0001
2		32.42 ± 0.48	

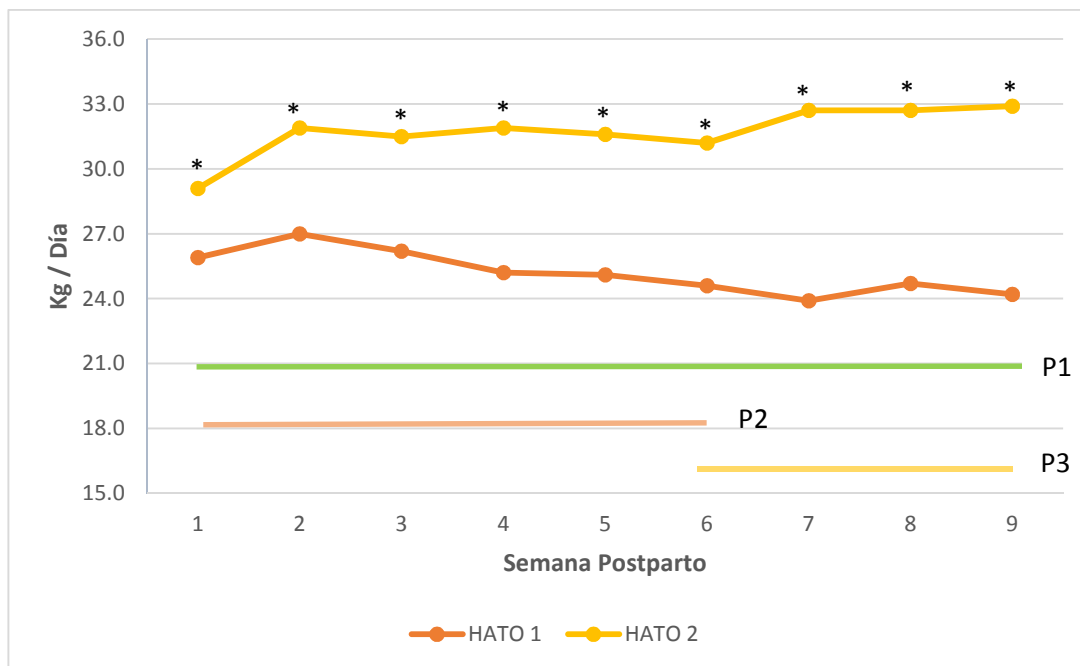


Figura 17. Producción por día de leche corregida a 3.5 % de grasa a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación) en vacas de los dos hatos experimentales. *Indica diferencia entre hatos, $P < 0.001$.

4.2 Composición química de la leche

4.2.1 Porcentaje de grasa en leche

Para el porcentaje de grasa en leche, al considerar los periodos P1 y P2 se observaron efectos ($P < 0.001$) de TRAT y de la interacción TRAT x TIEM (Figura 18). El porcentaje de grasa en leche disminuyó en ambos tratamientos durante el periodo de suplementación, aunque de manera más pronunciada en el grupo que recibió la DE (primeras 6 semanas postparto). Posterior a la suplementación, la concentración de grasa en leche aumentó en las vacas del grupo DE para alcanzar valores similares a los que recibieron la DC. Al considerar el periodo P3 no se encontraron efectos de TRAT o de TRAT x TIEM ($P > 0.05$).

El perfil de cambio en la concentración de grasa en leche a través del periodo experimental fue diferente entre hatos (Figura 19; HAT x TIEM, $P < 0.001$); hasta la semana 6 post parto se presentó una disminución en el porcentaje de grasa en leche que fue similar entre hatos y a partir de esta semana un incremento que fue de mayor magnitud en el HAT 2. Durante P3, el HAT 2 presentó en promedio una mayor concentración de grasa en leche que el HAT 1 (HAT, $P < 0.001$).

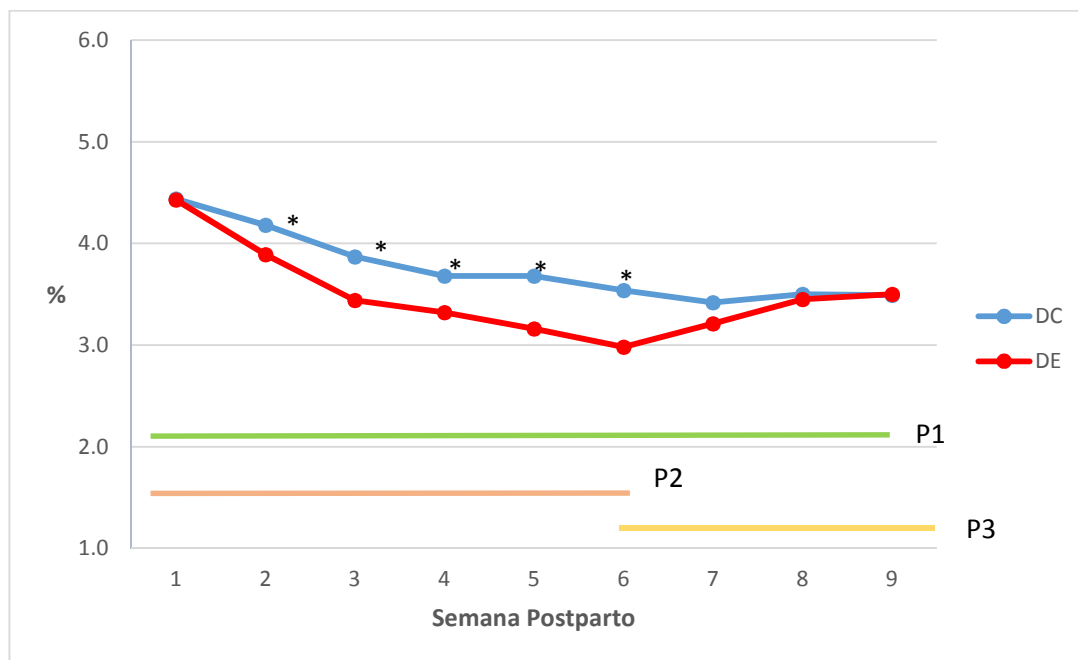


Figura 18. Porcentaje de grasa en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE). *Indica diferencia entre tratamientos, $P < 0.01$.

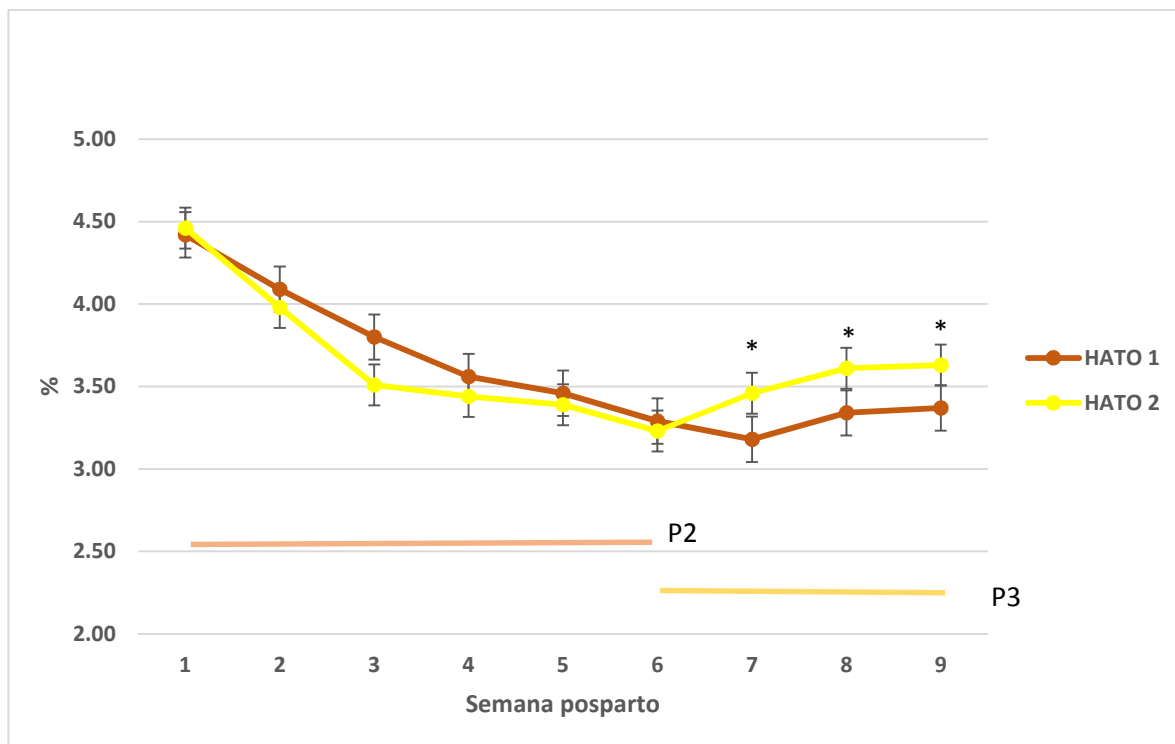


Figura 19. Porcentaje de grasa en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación) en vacas de los dos hatos experimentales. *Indica diferencia entre hatos, $P < 0.001$.

4.2.2 Kilogramos de grasa en leche

Para la producción diaria de grasa láctea se presentaron efectos ($P < 0.001$) de TRAT (P1 y P2) y TRAT x TIEM (P1); como se observa en la Figura 20, el perfil de cambio para esta variable fue similar al del porcentaje de grasa en leche, aunque con diferencias más marcadas entre los tratamientos (disminución más pronunciada en DE durante el periodo de suplementación y posterior incremento en este grupo para alcanzar niveles similares a la DC).

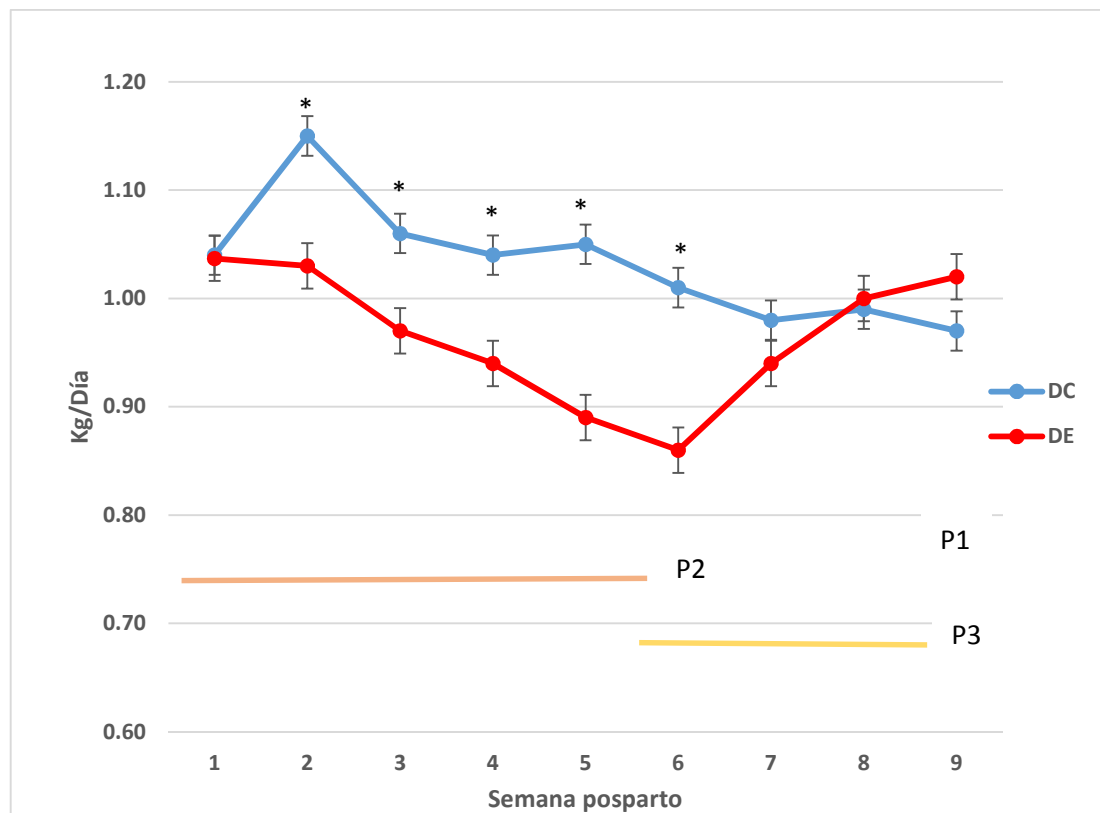


Figura 20. Producción diaria de grasa láctea a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE). *Indica diferencia entre tratamientos, $P < 0.01$.

Al igual que con el porcentaje de grasa en leche, la producción diaria de grasa láctea presentó un perfil de cambio a través del tiempo que fue diferente entre hatos (HAT x TIEM, $P < 0.05$; Fig. 21); la producción diaria de grasa láctea en el HAT 2 fue relativamente constante hasta la semana 5, para después presentar un ligero incremento, mientras que en el HAT 1 se observó una disminución gradual en esta variable a través de casi todo el periodo experimental.

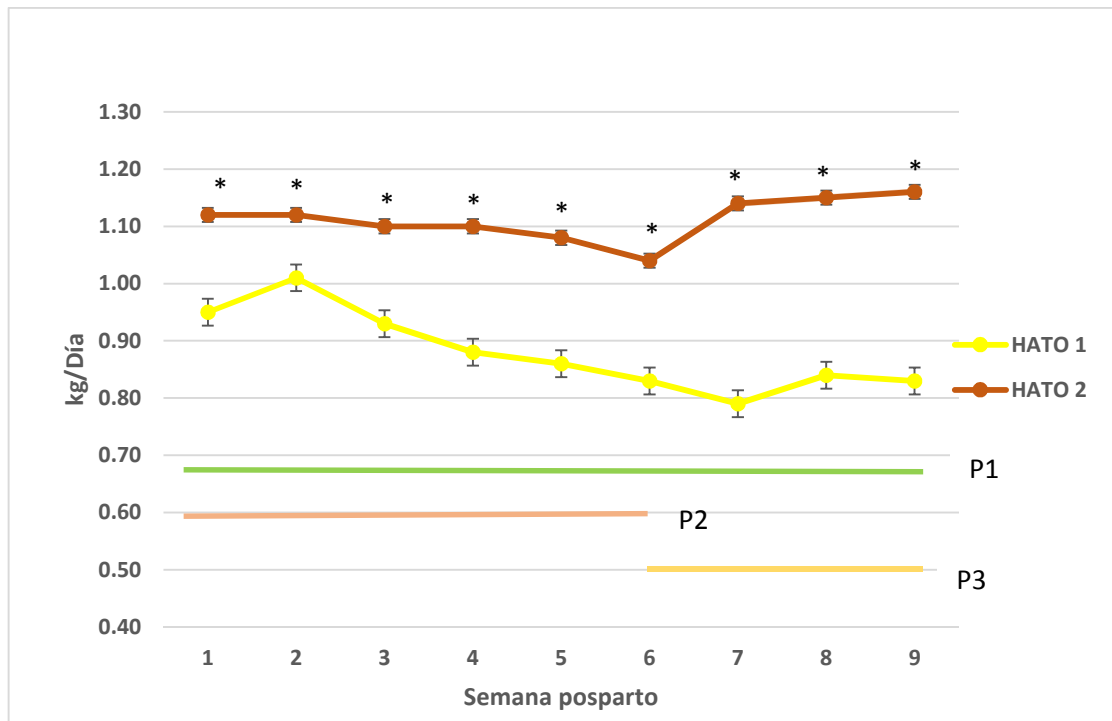


Figura 21. Producción diaria de grasa láctea a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas de los dos hatos experimentales. *Indica diferencia entre hatos, P < 0.001.

4.2.3 Porcentaje de proteína en leche

En el porcentaje de proteína en leche, se encontró efecto de TRAT para P1 (P < 0.01) y P2 (P < 0.05), más no para P3 (P > 0.05); el mayor porcentaje de proteína se observó en el grupo suplementado con grasa saponificada en comparación con el suplementado con conjugados de ácido linoleico (Cuadro 5). Por su parte, no hubo efecto de la interacción TRAT x TIEM (P > 0.05), independientemente del periodo evaluado, aunque si de TRAT x HAT pero solo durante el periodo P3 (P < 0.01); la disminución del porcentaje de proteína en leche en la DE solo se presentó en el HAT 1 durante el periodo P3 (2.9 ± 0.03 vs 3.1 ± 0.03 en DE vs DC para HAT 1 y 3.0 ± 0.03 vs 3.0 ± 0.03 en DE vs DC para HAT 2).

Cuadro 5. Porcentaje de proteína en leche en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Periodo	Dieta	%	P
1	DC	3.15 ± 0.01	<0.01
	DE	3.20 ± 0.01	
2	DC	3.29 ± 0.01	0.03
	DE	3.24 ± 0.01	
3	DC	3.00 ± 0.02	0.07
	DE	2.95 ± 0.01	

El tiempo postparto tuvo influencia sobre el porcentaje de proteína en leche ($P < 0.001$), independientemente del tratamiento recibido o del hato experimental; la concentración de proteína en leche presentó una disminución gradual entre las semanas 1 a 5 postparto, con posterior estabilización en su valor durante el resto del periodo experimental (Fig. 22).

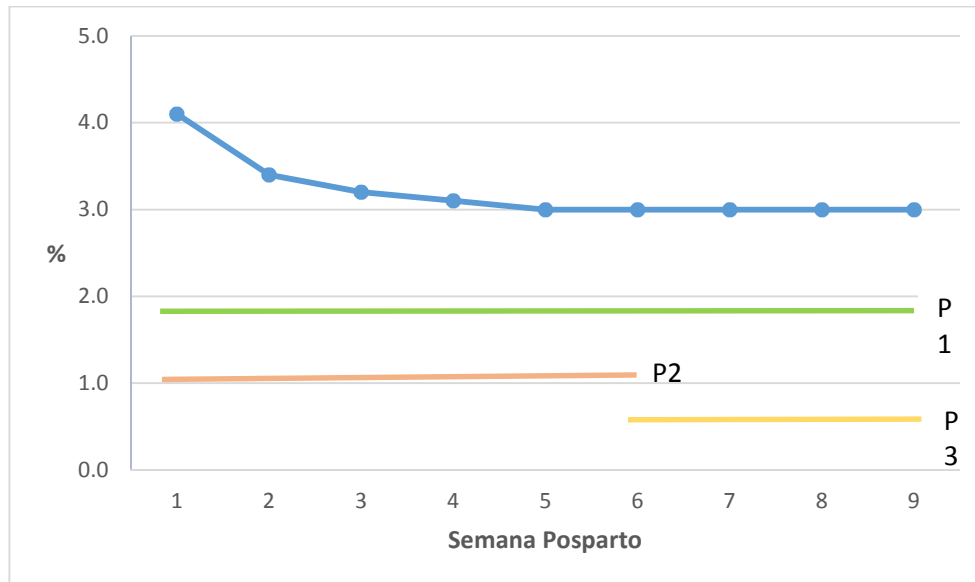


Figura 22. Porcentaje de proteína en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, $P < 0.01$.

4.2.4 Kilogramos de proteína en leche

Independientemente del periodo evaluado, no se encontró efecto de TRAT ni de sus interacciones con HAT y TIEM sobre la producción diaria de proteína láctea ($P > 0.05$).

En esta variable se observó efecto de HAT para todos los periodos evaluados ($P < 0.001$), con una mayor producción diaria de proteína láctea en el HAT 2 comparado con el HAT 1 (Cuadro 6).

Cuadro 6. Producción diaria de proteína láctea en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	kg/día	P
1	1	0.77 ± 0.010	>0.05
2		0.97 ± 0.008	
1	2	0.78 ± 0.010	>0.05
2		0.98 ± 0.011	
1	3	0.86 ± 0.013	>0.05
2		0.96 ± 0.014	

Asimismo se encontró efecto de TIEM ($P < 0.05$), con un perfil de cambio de la producción de proteína láctea similar a lo observado con la concentración de proteína en leche (disminución gradual durante las primeras semanas con posterior estabilización de su valor; Fig. 23).

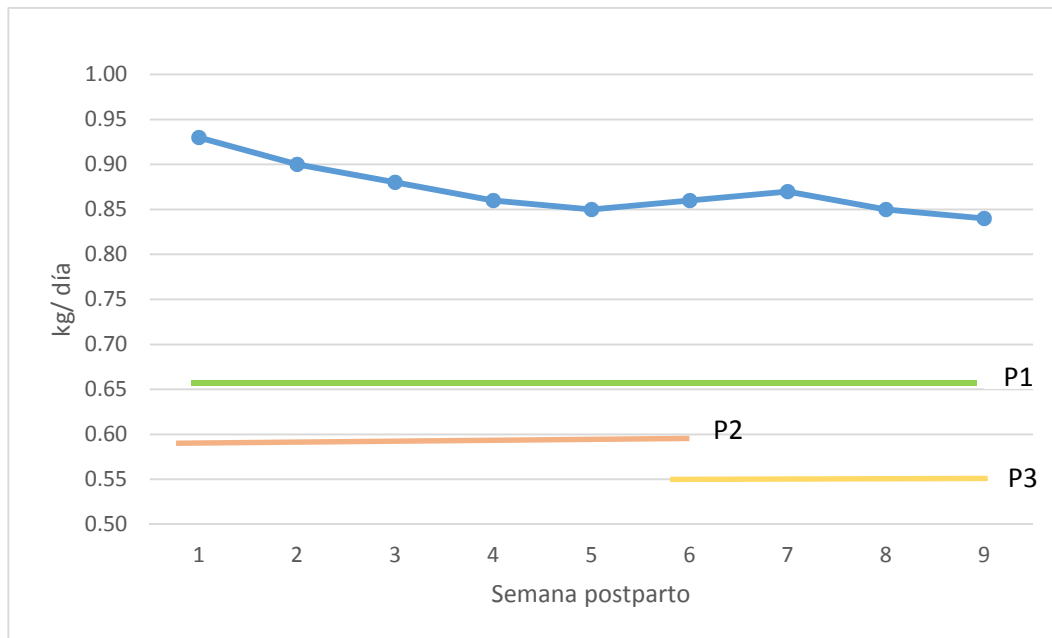


Figura 23. Producción diaria de proteína láctea a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, $P < 0.01$.

4.2.5 Porcentaje de lactosa en leche

Independientemente del periodo evaluado, no se encontró efecto de TRAT ni de sus interacciones con HAT y TIEM sobre el porcentaje de lactosa en leche ($P > 0.05$).

Por otra parte, el HAT influenció el porcentaje de lactosa en leche (P1, P2 y P3; $P < 0.001$), con un mayor porcentaje en el HAT 2 comparado con el HAT 1 (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de lactosa en leche de vacas en los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	%	P
1	1	4.35 ± 0.013	<0.001
2		4.51 ± 0.014	
1	2	4.40 ± 0.015	<0.001
2		4.38 ± 0.017	
1	3	4.51 ± 0.022	<0.001
2		4.50 ± 0.026	

Asimismo, se observó efecto de TIEM sobre esta variable (P <0.001), con un incremento inicial en su valor entre las semanas 1 a 4 y una estabilización posterior (Fig. 24).

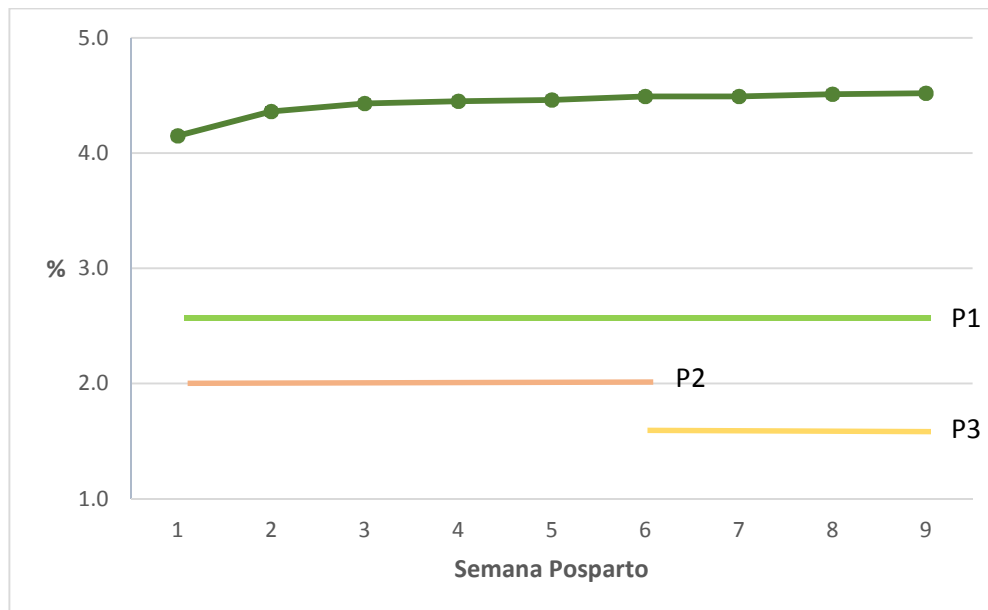


Figura 24. Porcentaje de lactosa en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, P <0.01.

4.2.6 Kilogramos de lactosa en leche

Para la producción diaria de lactosa, solamente se observó una tendencia de efecto de TRAT al considerar el periodo P3 ($P = 0.08$); mayor producción en las vacas suplementadas con conjugados de ácido linoleico (1.34 ± 0.02 vs 1.28 ± 0.02 kg de lactosa/día para DE vs DC).

Al igual que con el porcentaje de lactosa en leche, el HAT 2 presentó una mayor producción diaria de lactosa que el HAT 1 (Cuadro 8) y a su vez hubo efecto de TIEM sobre esta variable (Fig. 25).

Cuadro 8. Producción diaria de lactosa en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	kg/día	P
1	1	1.08 ± 0.012	<0.001
2		1.40 ± 0.013	
1	2	1.06 ± 0.015	<0.001
2		1.37 ± 0.016	
1	3	1.13 ± 0.022	<0.001
2		1.48 ± 0.024	

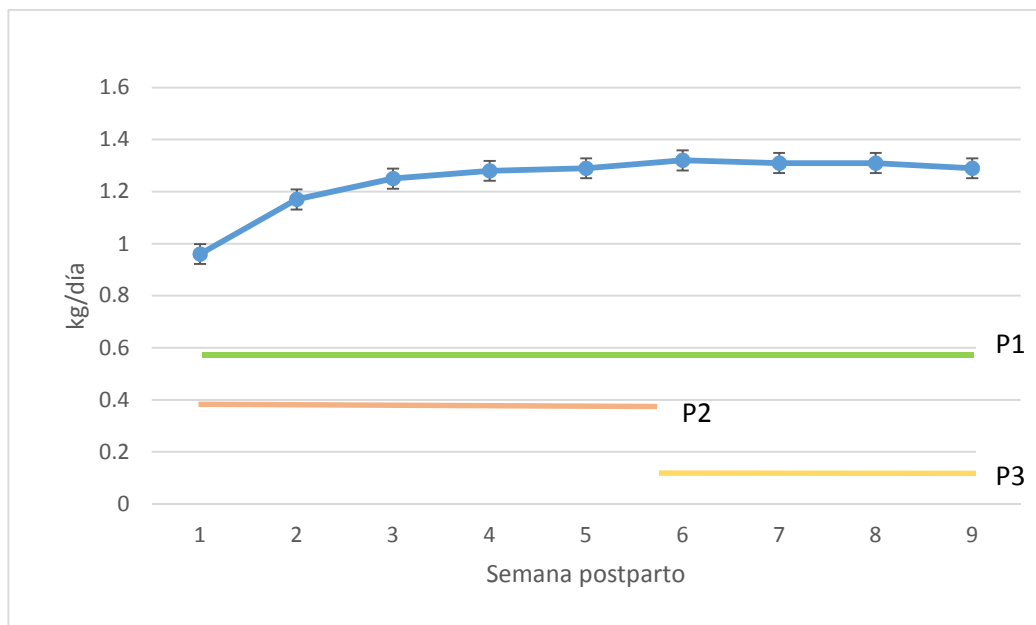


Figura 25. Producción diaria de lactosa a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, $P < 0.01$.

4.2.7. Porcentaje de sólidos no grasos en leche

El porcentaje de sólidos no grasos en leche (SNG) fue influenciado por el TRAT (P1) y la interacción TRAT x HAT (P1 y P2); las vacas suplementadas con conjugados de ácido linoleico presentaron un mayor porcentaje de SNG que las suplementadas con grasa saponificada, sin embargo esta diferencia fue más evidente en el HAT 1 (8.5 ± 0.02 vs 8.3 ± 0.02 % de SNG en leche para DE vs DC en HAT 1 y 8.6 ± 0.02 vs 8.5 ± 0.02 % de SNG en leche para DE vs DC en HAT 2).

El HAT 2 presentó un mayor porcentaje de SNG que el HAT 1 (Cuadro 9) y a su vez este porcentaje varió a través del tiempo postparto con una disminución gradual entre las semanas 1 a 5 post parto y posterior estabilización en su valor (Fig. 26).

Cuadro 9. Porcentaje de sólidos no grasos en leche de vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	%	P
1	1	8.41 ± 0.017	<0.0001
2		8.55 ± 0.018	
1	2	8.49 ± 0.021	<0.0001
2		8.64 ± 0.023	
1	3	8.25 ± 0.030	<0.05
2		8.36 ± 0.032	

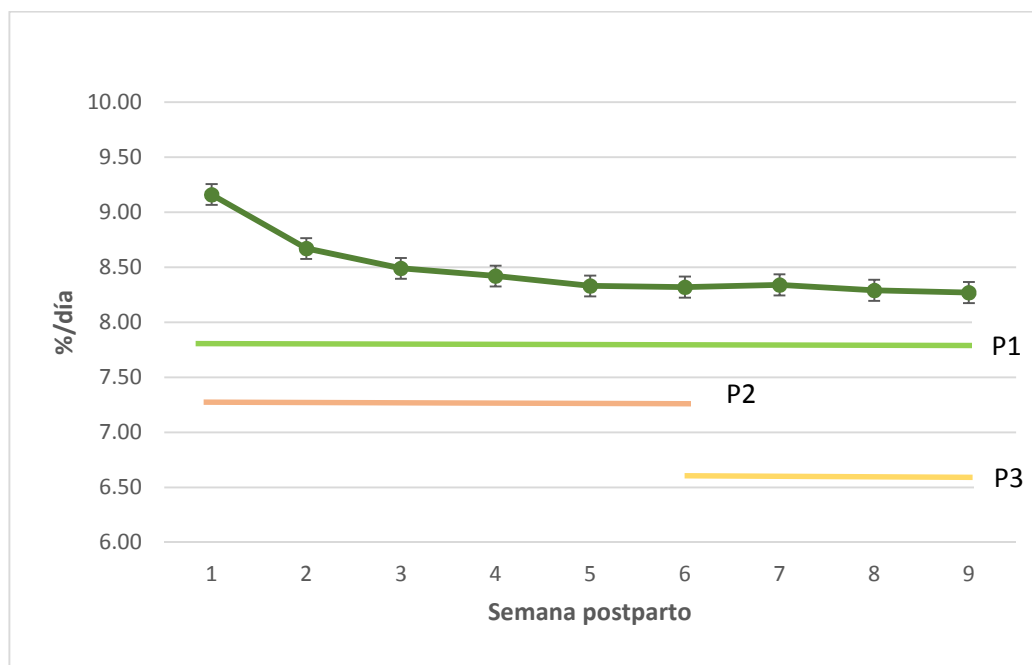


Figura 26. Porcentaje de sólidos no grasos en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, P <0.01.

4.2.8 Kilogramos de sólidos no grasos en leche

La producción diaria de sólidos no grasos lácteos no fue influenciada por el TRAT ni por sus interacciones con HAT y TIEM ($P > 0.05$).

El HAT 2 presentó una mayor producción diaria de SNG que el HAT 1 (Cuadro 10) y a su vez esta producción varió a través del tiempo postparto (TIEM, $P < 0.001$), con un aumento inicial entre las semanas 1 a 3 y una estabilización posterior en su valor (Fig. 27).

Cuadro 10. Producción diaria de sólidos no grasos lácteos en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	kg/día	P
1	1	2.07 ± 0.022	<0.0001
2		2.65 ± 0.023	
1	2	2.06 ± 0.027	<0.0001
2		2.62 ± 0.029	
1	3	2.08 ± 0.037	<0.0001
2		2.70 ± 0.042	

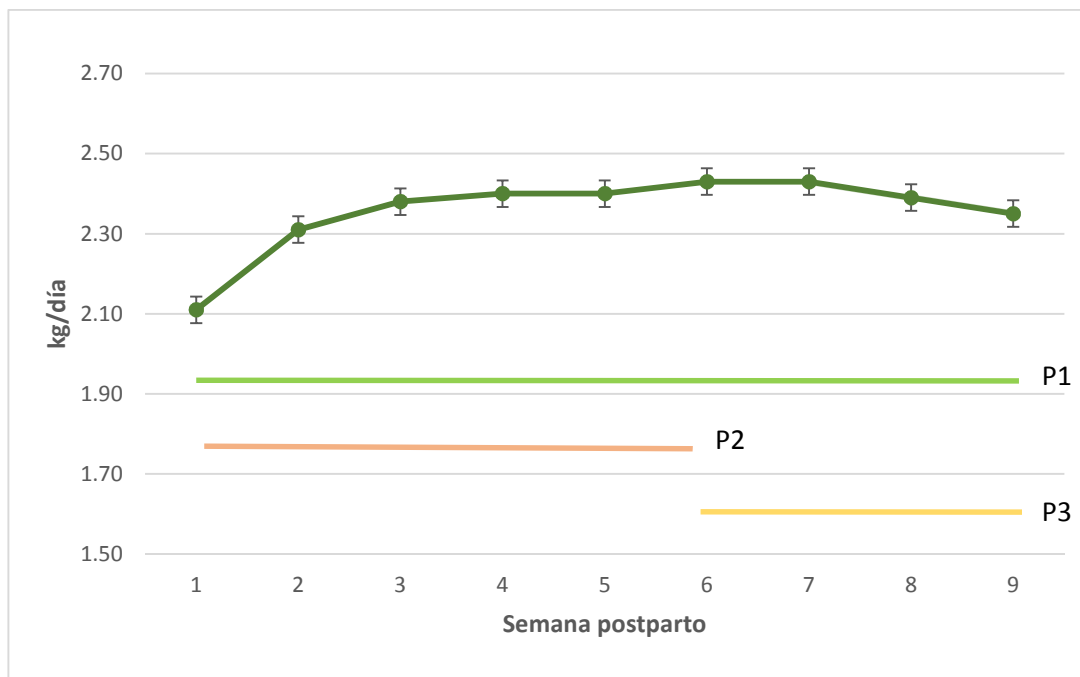


Figura 27. Producción diaria de sólidos no grasos lácteos a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, $P < 0.01$.

4.2.9 Porcentaje de sólidos totales en leche

El TRAT (P1 y P2) y su interacción con TIEM (P1) afectaron el porcentaje de ST en leche ($P < 0.001$), con un mayor porcentaje de ST en vacas suplementadas con grasa saponificada (Cuadro 11).

El HAT 2 presentó un mayor porcentaje de ST que el HAT 1 (Cuadro 12) y a su vez este porcentaje varió a través del tiempo postparto (TIEM, $P < 0.001$), con disminución gradual entre las semanas 1 a 5 y posterior estabilización en su valor. Sin embargo, el perfil de disminución fue diferente entre tratamientos (TRAT x TIEM; $P < 0.05$; Fig. 28) y entre hatos (HAT x TIEM, $P < 0.05$; Fig. 29).

Cuadro 11. Porcentaje de sólidos totales en leche de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Periodo	Dieta	%	P
1	DC	12.27 ± 0.039	<0.0001
	DE	11.95 ± 0.033	
2	DC	12.50 ± 0.050	<0.0001
	DE	12.09 ± 0.050	
3	DC	11.81 ± 0.060	>0.05
	DE	11.69 ± 0.050	

Cuadro 12. Porcentaje de sólidos totales en leche de vacas en los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	%	P
1	1	12.06 ± 0.035	<0.05
2		12.17 ± 0.037	
1	2	12.30 ± 0.045	>0.05
2		12.29 ± 0.048	
1	3	11.58 ± 0.056	<0.0001
2		11.92 ± 0.060	

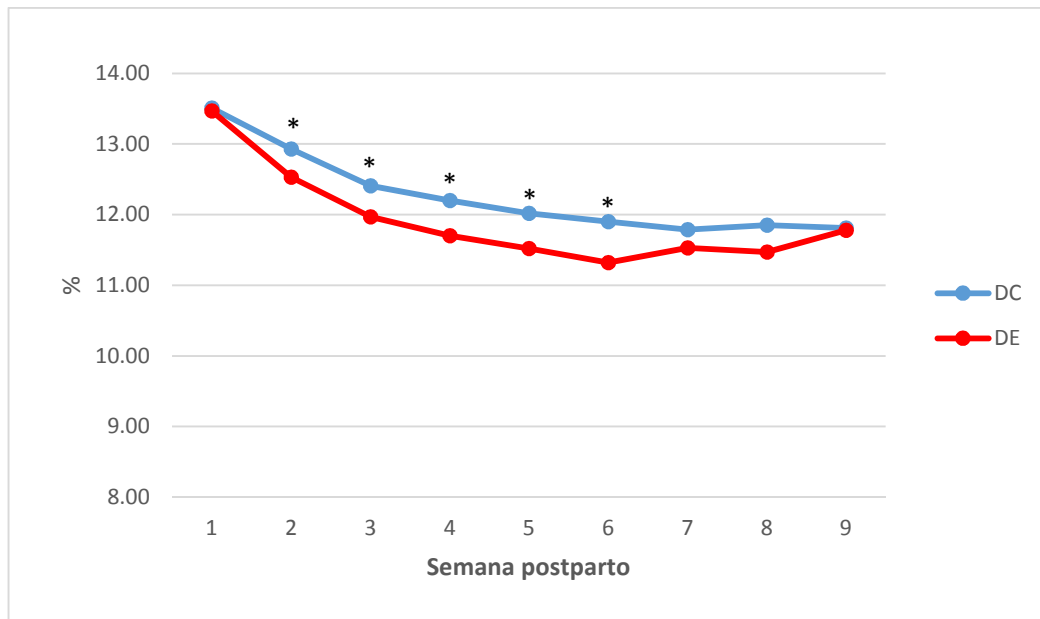


Figura 28. Porcentaje de sólidos totales en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o con conjugados de ácido linoleico (DE). *Indica diferencia entre tratamientos, P < 0.001.

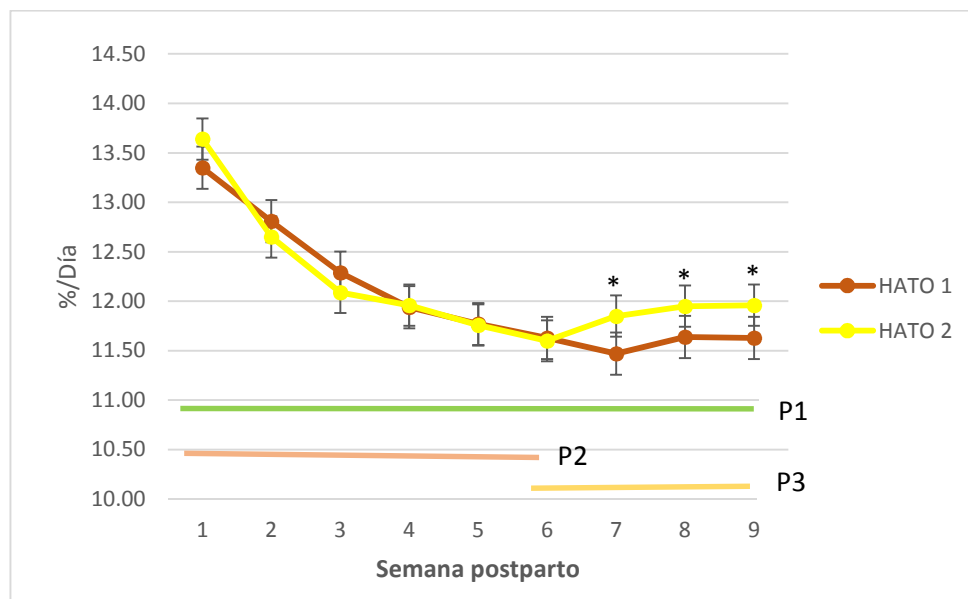


Figura 29. Porcentaje de sólidos totales en leche a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación), en vacas de los dos hatos experimentales. *Indica diferencia entre hatos, P < 0.001.

4.2.10 Kilogramos de sólidos totales en leche

Para la producción diaria de sólidos totales lácteos solamente se encontró efecto de HAT ($P < 0.001$), con una mayor producción en el HAT 2 comparado con el HAT 1 (Cuadro 13)

Cuadro 13. Producción diaria de sólidos totales en vacas de los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	kg/día	P
1	1	2.99 ± 0.031	<0.0001
2		3.78 ± 0.033	
1	2	3.03 ± 0.039	<0.0001
2		3.74 ± 0.041	
1	3	2.91 ± 0.053	<0.0001
2		3.86 ± 0.057	

4.3 Composición de la grasa de la leche

Como se puede observar en el Cuadro 14, la suplementación con CLA's en la DE indujo una reducción de la concentración en leche de ácidos grasos con cadenas menores de 14 carbonos, ácidos grasos que se derivan de la síntesis *de novo*.

Asimismo, se encontraron diferencias por efecto de TRAT para la concentración en leche de los ácidos grasos C15:0, C15:1, C18:2, C18:2 *cis*-9, *trans*-11, C18:2 *trans*-10, *cis*-12 y C18:3, aunque en estos casos la mayor concentración se observó en los animales que recibieron la DE vs DC (Cuadro 15).

Cuadro 14. Concentración de ácidos grasos de cadena corta y media en grasa de leche de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del período experimental (semanas 0 a 9 postparto).

Ácido graso	Tratamiento			
	DC	DE	EEM	P
	(g/100 g)			
C4:0	4.15	4.14	0.07	0.08
C6:0	3.03	2.69	0.04	0.0003
C8:0	1.95	1.62	0.03	<0.0001
C10:0	3.72	3.06	0.06	<0.0001
C12:0	3.77	3.20	0.07	0.002
C14:0	10.57	10.47	0.19	0.726
C14:1	0.75	0.77	0.03	0.418

Cuadro 15. Concentración de ácidos grasos de cadena larga en grasa de leche de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando las semanas 1, 3, 5 y 7 postparto.

Ácido graso	Tratamiento			
	DC	DE	EEM	P
	(g/100 g)			
C15:0	0.83 ^a	0.97 ^b	0.04	0.0252
C15:1	0.23 ^a	0.25 ^b	0.01	0.0336
C16:0	28.25	7.23	0.08	0.3756
C16:1	1.76	1.63	0.10	0.3922
C18:0	12.91	13.66	0.39	0.209
C18:1 n9t	2.19	1.90	0.19	0.4654
C18:1n9c	23.62	25.77	0.81	0.0976
C18:2	3.38 ^a	4.08 ^b	0.11	0.0016
C18:2 <i>cis</i> -9, <i>trans</i> -11	0.60 ^a	0.76 ^b	0.03	0.0046
C18:2 <i>trans</i> -10, <i>cis</i> -12	0.02	0.09	0.02	0.0573

4.4 Condición corporal

Las vacas suplementadas con conjugados de ácido linoleico presentaron una mayor condición corporal (CC) que las suplementadas con grasa saponificada (TRAT, $P < 0.001$; Cuadro 16).

A su vez las vacas del HAT 1 presentaron mayor CC que las del HAT 2 (HAT, $P < 0.001$; Cuadro 17) y a su vez se presentó una disminución gradual de CC entre las semanas 1 a 6 con posterior estabilización en su valor (TIEM, $P < 0.001$; Fig. 30), independientemente del tratamiento recibido o hato experimental.

No se presentaron efectos de interacción para esta variable (TRAT x HAT, TRAT x TIEM, HAT x TIEM y TRAT x HAT x TIEM, $P > 0.005$).

Cuadro 16. Condición corporal (CC) de vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o conjugados de ácido linoleico (DE), considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Periodo	Dieta	CC	P
1	DC	2.56 ± 0.007	<0.0001
	DE	2.62 ± 0.006	
2	DC	2.61 ± 0.012	<0.0001
	DE	2.69 ± 0.011	
3	DC	2.52 ± 0.008	<0.0001
	DE	2.57 ± 0.007	

Cuadro 17. Condición corporal (CC) de vacas en los dos hatos experimentales, considerando la totalidad del periodo experimental (P1), o los periodos de suplementación (P2) y post-suplementación (P3).

Hato	Periodo	CC	P
1	1	2.68 ± 0.006	<0.0001
2		2.56 ± 0.007	
1	2	2.70 ± 0.011	<0.0001
2		2.60 ± 0.012	
1	3	2.57 ± 0.008	<0.0001
2		2.52 ± 0.009	

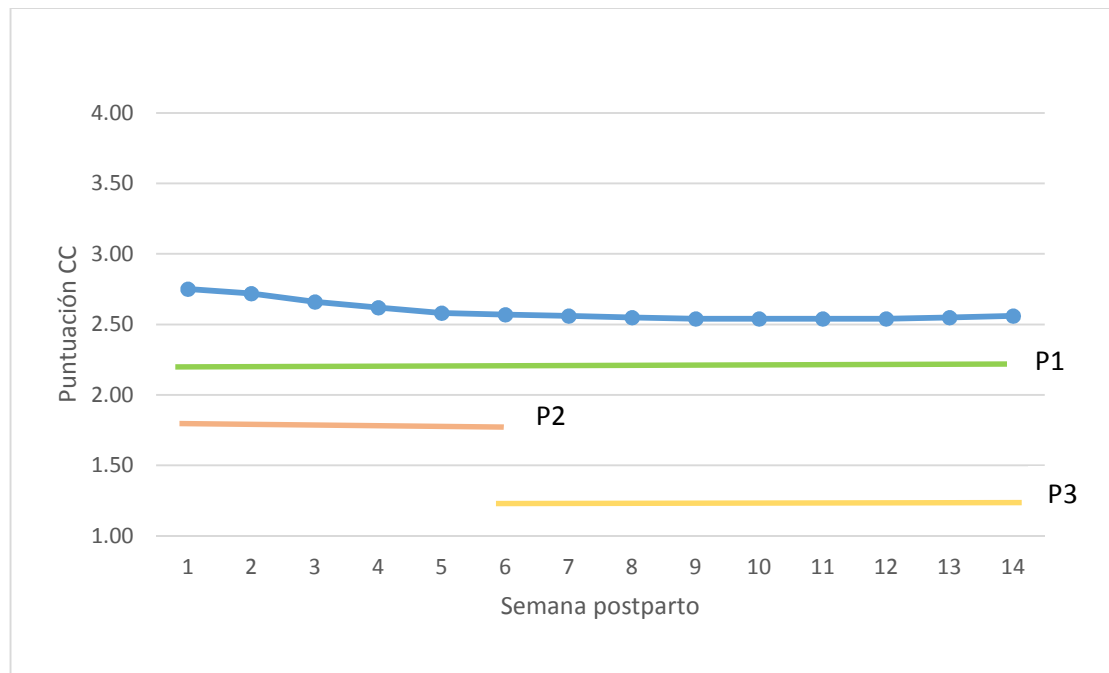


Figura 30. Condición corporal (CC) a través del periodo evaluado (P1=total del periodo experimental; P2=periodo de suplementación; P3=periodo post-suplementación). Efecto de semana postparto, P <0.001.

4.5 Intervalo parto-primera ovulación

Para el intervalo parto-primera ovulación solamente se observaron diferencias por efecto de TRAT ($P < 0.001$), con un mayor intervalo en las vacas suplementadas con conjugados de ácido linoleico comparado con las suplementadas con grasa saponificada (Fig. 31).

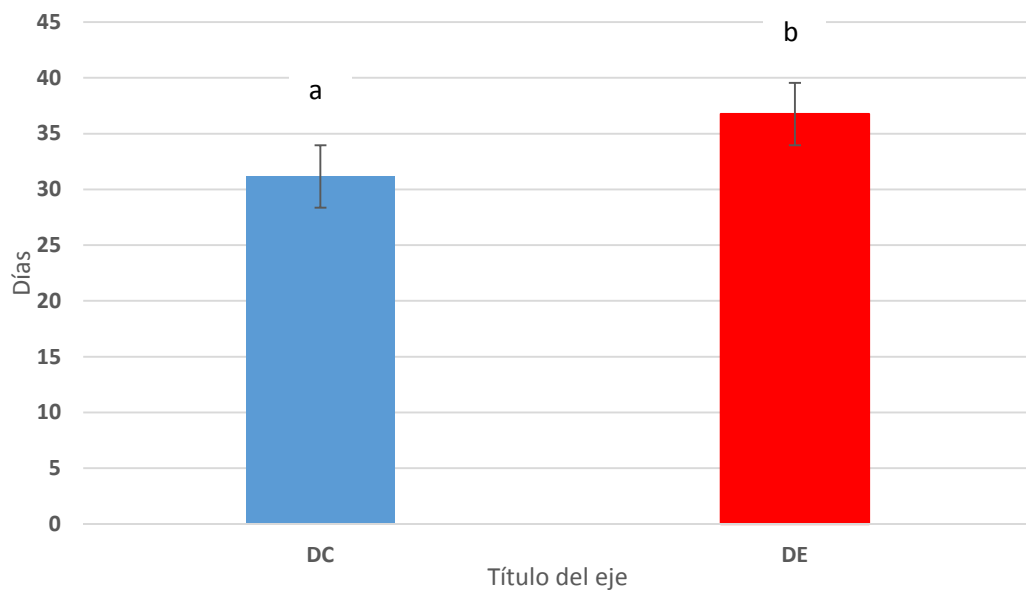


Figura 31. Intervalo parto-primera ovulación en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o con conjugados de ácido linoleico (DE). ^{a,b} $P < 0.001$.

4.6 Días abiertos

Las vacas suplementadas con conjugados de ácido linoleico presentaron menos días abiertos que las suplementadas con grasa saponificada (TRAT, $P < 0.001$; Fig. 32).

A su vez las vacas del HAT 2 presentaron menos días abiertos que las del HAT 1 (96.5 ± 4.1 vs 119.2 ± 3.9 días para HAT 2 vs HAT 1; $P < 0.001$).

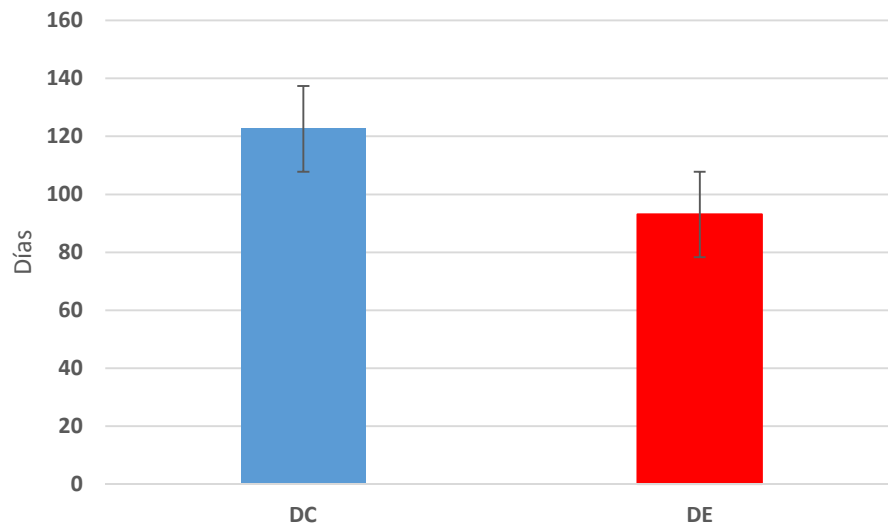


Figura 32. Días abiertos en vacas suplementadas con grasa saponificada (DC) o con conjugados de ácido linoleico (DE). ^{a,b} $P < 0.001$.

4.7 Servicios por concepción

Los servicios por concepción (SC) fueron influenciados por el efecto de TRAT ($P < 0.05$) pero no por el efecto de HAT ($P > 0.05$).

Las vacas suplementadas con conjugados de ácido linoleico requirieron de un menor número de SC comparado con las vacas suplementadas con grasa saponificada (1.8 vs 2.2 servicios por concepción en DE vs DC).

V. Discusión

En el presente trabajo, no se observó un efecto de la suplementación con CLA's sobre la producción diaria de leche durante el periodo en que se suministró el suplemento. En contraste, existen trabajos en que sí se han encontrado incrementos en la producción de leche por la suplementación con CLA's durante la lactación

temprana (Giesy *et al.* 1999; Bernal- Santos *et al.* 2003), aunque en otros casos no se ha manifestado este efecto (Moore *et al.* 2004; Selberg *et al.* 2004).

Para explicar el efecto positivo de la suplementación con CLA's sobre la producción láctea, se ha propuesto que al reducir la concentración de la grasa en leche, los CLA's aminoran el balance energético negativo en la lactación temprana y así permiten que haya mayor energía para la síntesis de proteína y lactosa en la glándula mamaria y a su vez un mayor volumen de leche (Perfield *et al.* 2002b). Esta condición no se presenta en vacas en lactación media, que se encuentran en mejor balance energético y responden de manera diferente a la depresión de grasa en leche producida por los CLA's (Moallem *et al.* 2009). Una situación similar pudiera haber ocurrido en las vacas del presente experimento, ya que aunque estaban en el periodo temprano de la lactancia durante la suplementación con CLA's, su nivel de producción no fue muy alto (<28 kg de leche/día como promedio general) y por lo tanto el reto metabólico que estaban enfrentando no era muy alto; esto último se refleja en la moderada disminución de CC que en general experimentaron las vacas durante las primeras semanas post parto (-0.3 puntos de CC entre semanas 1 y 6).

A diferencia de lo encontrado durante el periodo de suplementación, en el periodo post tratamiento se observó una tendencia ($P= 0.07$) de incremento en la producción diaria de leche por efecto del aporte previo de CLA's (+1.21 kg de leche/vaca/día en animales de la DE). Hotger *et al.* (2013), observaron un retraso similar en el efecto de la suplementación con CLA's sobre la producción de leche; aumento en la producción de leche solo después de 5 semanas de haber iniciado la suplementación. A su vez, Odens *et al.* (2007) encontraron que la suplementación con CLA's provocaba un incremento de los niveles circulantes de glucosa, sugiriendo que esto indicaba a su vez una disminución en la sensibilidad a insulina. Asimismo, Odens *et al.* (2007) proponen que esta baja en la sensibilidad a insulina puede ser el mecanismo por el que los CLA's promueven una mayor producción láctea. Lo anterior, en base a la mayor disponibilidad de glucosa para la glándula mamaria como consecuencia de su menor incorporación en tejidos extra-mamarios.

De ser este el mecanismo, el efecto sobre producción de leche no sería inmediato y más bien requeriría de algún tiempo para manifestarse.

La tendencia de incremento en el volumen de leche producido durante el periodo post tratamiento con CLA's, también se observó en la producción diaria de lactosa. En relación a esta coincidencia de efectos, es importante considerar que al igual que en otras especies, en los bovinos el volumen de leche producido depende primariamente de la cantidad de lactosa sintetizada por las células epitelio-alveolares de la glándula mamaria (Gasque - Gómez, 2008). Lo anterior, porque la lactosa producida y secretada al lumen alveolar incrementa la presión osmótica en este compartimento, promoviendo un aumento del transporte de agua a la luz alveolar y así un mayor volumen de leche.

A pesar de que hubo un marcado efecto de hato sobre la producción diaria de leche, no se observó interacción entre este factor y el de tratamiento. Lo anterior, indica que los efectos derivados de la suplementación con CLA's sobre esta variable, fueron consistentes para un rango de producción típico del sistema familiar/semitecnificado de producción de leche bovina (Estrada et al., 2010).

El efecto más evidente de la suplementación con CLA's sobre la composición química de la leche, fue la reducción en el contenido graso aunque solo durante el periodo de tratamiento (Fig. 18 y 20). Este efecto ha sido observado bajo diferentes regímenes de suplementación con CLA's (Chouinard *et al.* 1999; Castañeda-Gutiérrez et al. 2005; Bernal-Santos et al. 2003; Moore *et al.* 2004) y se atribuye específicamente a la presencia del isómero de ácido linoleico C18:2 trans-10, cis-12.

La grasa de la leche está compuesta principalmente por triglicéridos, cuyos ácidos grasos provienen de la síntesis *de novo* en las células epitelio-alveolares de la glándula mamaria (ácidos grasos de cadena corta y media) o de la captura a partir de la circulación sanguínea (ácidos grasos de cadena larga) (Bauman y Griinari, 2003). Se ha demostrado que el isómero C18:2 trans-10, cis-12 induce una disminución en la expresión de enzimas involucradas con la síntesis de grasa

(Bauman y Griinari, 2003; Bauman *et al.* 2008; Harvatine *et al.* 2009), como la acetyl CoA-carboxilasa y la ácido graso sintasa (Piperova *et al.* 2000).

Asimismo, también se han encontrado efectos regulatorios del isómero C18:2 trans-10, cis-12 sobre la proteína de unión-1 al elemento de respuesta de esterol (SREBP1) y de la Spot 14 (S14) relacionadas con la lipogénesis (Harvatine y Bauman, 2006). Al incluir al isómero de ácido linoleico C18:2 trans-10, cis-12, la suplementación con CLA's disminuye el contenido de grasa en leche por inhibición de la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena corta en la glándula mamaria. Esta condición, se vio reflejada en la composición de la grasa de la leche en los animales suplementados con CLA's (menor concentración de ácidos grasos de cadena corta en la DE; Cuadro 14), de una manera similar a lo observado por Looor *et al.* (1998) y en concordancia con la reducción de la tasa lipogénica en vacas suplementadas con CLA's encontrada por Baumgard *et al.* (2002a).

El efecto de la suplementación con CLA's sobre el contenido de grasa en leche fue claramente reversible (Fig. 18 y 20), condición que a su vez encontró Baumgard *et al.* (2002b), después de 4-5 días de terminada la suplementación con el isómero C18:2 trans-10, cis-12. Asimismo, la depresión en el contenido de grasa de la leche asociado a la suplementación con CLA's, implicó que al ajustar la producción por este componente cambiara el efecto de los tratamientos sobre la producción de leche; mayor producción de leche corregida a 3.5 % de grasa en la dieta control.

Aunque también hubo efecto marcado de hato sobre el contenido de grasa en leche (Fig. 21), de nuevo no se presentó interacción entre este efecto y el de tratamiento. Lo anterior nos vuelve a indicar, que el efecto de la suplementación con CLA's sobre esta variable es consistente en un rango de producción típico del sistema familiar/semitecnificado.

Otros componentes de la leche que fueron influenciados por la suplementación con CLA's fueron el contenido de proteína y sólidos totales, que disminuyeron con respecto a la dieta control y el de lactosa y sólidos no grasos, que aumentó.

Sin embargo, el efecto sobre estos componentes no fue tan consistente como con la grasa; efecto solo en la concentración del componente para proteína, sólidos no grasos y sólidos totales, o solo en la cantidad producida por día para lactosa. Asimismo, en algunos casos el efecto de tratamiento dependió a su vez del efecto de hato (proteína y sólidos no grasos), con diferencias por tratamiento mucho menos evidentes en el hato con mayor producción (HAT 2).

Los efectos de suplementación con CLA's sobre la producción de proteína láctea han sido inconsistentes, ya que en algunos estudios no se ha observado efecto (Odens *et al.* 2007; von Soosten *et al.* 2011), en otros se ha encontrado un efecto de disminución (Moallem *et al.* 2009) e incluso existen trabajos en que se presentó un efecto de incremento (Medeiros *et al.* 2000; Gulati *et al.* 2001). En el caso de los últimos, se ha propuesto que el efecto de incremento depende de las características de la dieta base y en específico se presenta cuando el contenido de energía de la dieta es limitado y la proteína se aporta en exceso, lo cual potencializa el balance energético negativo (Perfield *et al.* 2004a).

Al igual que en el caso de la producción de leche, Hotger *et al.* (2013) encontraron un efecto retrasado de la suplementación con CLA's sobre la producción de lactosa láctea, similar a lo observado en el presente experimento. Coincidente con el aumento en lactosa, Hotger *et al.* (2013) encontraron un aumento en volumen de leche y una disminución en la producción endógena de glucosa. Derivado de esto, los autores anteriores sugieren que en el efecto de CLA's sobre volumen de leche y su contenido de lactosa, el ahorro de glucosa por menor síntesis de grasa en glándula mamaria y la resistencia a insulina en tejidos extra-mamarios representa una parte importante. De manera similar a lo observado para proteína láctea, existen trabajos en que no se han encontrado efectos de la suplementación con CLA's sobre la producción de lactosa (Bernal-Santos *et al.* 2003; Moore *et al.* 2004; Selberg *et al.* 2004; Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2005).

En cuanto a los efectos observados de la suplementación con CLA's sobre sólidos no grasos y sólidos totales, muy probablemente representan un reflejo de lo ocurrido con lactosa en el caso de los primeros y grasa en el de los segundos (Alais - Charles, 1994).

Como ya se mencionó, la suplementación con CLA's indujo una disminución de la concentración de ácidos grasos de cadena corta en la grasa de la leche (Cuadro 15), la cual muy probablemente fue un reflejo del efecto inhibitorio sobre la lipogénesis que produce el isómero C18:2 *trans*-10, *cis*-12 presente en el suplemento. Por otra parte, el aporte de CLA's provocó un incremento en la concentración en grasa de la leche de algunos ácidos grasos de cadena larga y en particular de los isómeros de ácido linoleico C18:2 *cis*-9, *trans*-11 y C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Cuadro 16), el último de los cuales ha demostrado tener propiedades nutraceúticas en humanos (Bauman *et al.* 2003). Bernal-Santos *et al.* (2003), observaron resultados similares al suplementar con CLA's que incluían a los isómeros C18:2 *trans*-10, *cis*-12 y *cis*-9, *trans*-11.

La condición corporal de las vacas en los dos grupos estudiados presentó una ligera disminución a través del período de evaluación, disminución que refleja el periodo de balance energético negativo que experimentaron, como normalmente ocurre en vacas lecheras durante la lactación temprana (Butler y Smith, 1989; Bauman y Currie, 1980). Independientemente de lo anterior y de las diferencias entre hatos, las vacas a las que se les suministro el suplemento de CLA's presentaron en promedio mayor CC que las del grupo control. Lo anterior, concuerda con resultados obtenidos en vacas lecheras en sistemas de producción intensivo bajo diferentes regímenes de suplementación con CLA's (Perfield *et al.* 2002a; Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2005; Odens *et al.* 2007), y asimismo resulta concordante con el efecto de ahorro energético que se deriva de la disminución de grasa en leche por efecto de la suplementación.

En las variables reproductivas evaluadas, se observaron efectos de la suplementación con CLA's que fueron independientes del efecto de hato (efecto de interacción TRAT*HAT no significativo).

En días abiertos y servicios por concepción se encontró un efecto positivo de la suplementación con CLA's, con una reducción de 29 días abiertos y 0.4 servicios por concepción con respecto al grupo control. En estudios realizados en la región Altos de Jalisco con establos del sistema familiar/semitecnificado se han encontrado promedios de 125 a 159 días abiertos (Luna *et al.* 1999; Estrada *et al.* 2011), lo cual es cercano a lo encontrado en el grupo que recibió la dieta control (122 días) y por arriba del valor obtenido en el grupo que recibió el suplemento de CLA's (93 días). Asimismo, los valores de servicios por concepción en hatos familiares/semitecnificados comúnmente se encuentran por arriba del valor observado en los animales suplementados con CLA's (1.8 SC) y muy cercanos al valor de los animales en el grupo control (2.2 SC).

El efecto positivo de la suplementación con CLA's sobre el desempeño reproductivo de vacas lecheras, puede estar asociado a una mejora en la disponibilidad de energía para procesos reproductivos durante la lactancia temprana (Staples *et al.*, 1998) o a acciones directas sobre estos procesos (Mattos *et al.* 2000).

Diversos estudios han indicado que la condición corporal (CC) en vacas lecheras particularmente al parto y sus cambios durante el periodo de lactancia influyen en la producción de leche, en el comportamiento reproductivo y en el estado de salud (Ruegg, 1995; Villa-Godoy *et al.* 1990). En un estudio realizado por Silke *et al.* (2002), donde evalúan los factores asociados con la pérdida embrionaria en vacas lecheras, observan que las pérdidas embrionarias son mayores cuando pierden condición corporal entre los días 28 y 56 de gestación comparado con aquellas vacas que mantuvieron o mejoraron su condición corporal. La menor pérdida de condición corporal en las vacas suplementadas con CLA's en comparación a las del grupo testigo, podría haber implicado a su vez una menor pérdida embrionaria.

Asimismo, se ha demostrado que durante la lactancia temprana de vacas lecheras una nutrición deficiente, un balance energético más negativo y (o) la pérdida de peso causan una disminución en las concentraciones de progesterona en sangre (Beal *et al.* 1978; Gombe y Hansel, 1973, Villa-Godoy *et al.* 1990). La progesterona es requerida para la gestación y hay una asociación entre las bajas concentraciones de ésta y la infertilidad.

El papel central de la progesterona es optimizar el microambiente uterino para soportar el desarrollo embrionario durante la preñez temprana (Walsh *et al.* 2011). Las vacas que muestran tanto un retardo en el aumento de las concentraciones de progesterona después de la ovulación, como una disminución de ésta durante la fase lútea, tienen un desarrollo embrionario retardado con poca o ninguna producción de interferón *tau* en el día 16 después de la inseminación y problemas para impedir la luteólisis como parte del proceso de reconocimiento temprano de la gestación (Mann *et al.* 2001). En un estudio donde se proporcionaron 72 g de ácido *a*-linolenico y 10 g de *trans*-10, *cis*-12 a dos grupos de vacas a los 38 días post-parto, la media de la concentración plasmática de progesterona se redujo en el grupo de vacas suplementadas con omega 3, mientras que en el grupo suplementado con CLA's se observó una elevación en la concentración de esta hormona durante los días 5-7 (3.32 vs 4.24 ng/ml, P=0.04) y los días 8-14 después de la ovulación (6.50 vs 7.20 ng/ml, P=0.002). El incremento en plasma de progesterona en momentos críticos durante el ciclo estral podría alterar las secreciones endometriales uterinas para estimular el desarrollo embrionario, promoviendo una mayor capacidad embrionaria para señalar su presencia a la madre (Hutchinson *et al.* 2012). Por su parte, Castañeda-Gutiérrez *et al.* (2007) observaron una tendencia (P= 0.08) de incremento en la concentración de progesterona durante la fase lútea temprana (día 6 al 8 del ciclo) al suplementar con 7.1 g/día de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 y de C18:2 *trans*-10, *cis*-12. Las altas concentraciones durante esta fase (d 5 al 9 del ciclo) pueden resultar en un trofoblasto más grande y una mejor sobrevivencia embrionaria.

La tendencia a incrementar la concentración de progesterona en vacas suplementadas con CLA's podría estar relacionada con la mayor concentración plasmática de IGF-I en estos animales (Baumgard *et al.* 2000). Se ha demostrado que también el IGF-I juega un papel importante en el desarrollo folicular y lúteo (Perks *et al.* 1999), promoviendo la proliferación celular, la producción de progesterona e incrementando los sitios de unión de LH en las células de la teca (Stewart *et al.* 1995), así como incrementando la producción de estradiol por las células de la granulosa *in vitro*. Taylor *et al.* (2004), reportaron que vacas con altos niveles de IGF-I durante las primeras 12 semanas post-parto tuvieron más probabilidad de concebir que aquellas con bajos niveles. Asimismo, durante el balance energético negativo en la lactación temprana el hígado es refractario a la hormona de crecimiento (GH), resultando en bajas concentraciones de IGF-I, pero un aumento en la disponibilidad de insulina acopla nuevamente el eje GH-IGF, incrementando las concentraciones circulantes de IGF-I (Butler *et al.* 2003). Aunque en la presente investigación no se determinaron las concentraciones plasmáticas de IGF-I, en otros estudios se ha observado un incremento de dicha hormona en la sangre de animales suplementados con CLA's. Así por ejemplo, Baumgard *et al.* (2000) demostraron que después de una infusión abomasal con C18:2 *cis*-9, *trans*-11, las concentraciones plasmáticas de IGF-I fueron ligeramente mayores. Asimismo, Castañeda-Gutiérrez *et al.* (2007) concluyeron a partir de resultados de investigaciones previas (Bernal-Santos *et al.* 2003; Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2005), que podría haber una relación entre el aumento en la concentración de IGF-I plasmático inducido por la suplementación con CLA's, con la tendencia de incremento en la tasa de preñez. Sin embargo, el mecanismo a través del cual los CLA's incrementan los niveles de IGF-I circulante se desconoce, aunque el isómero que parece ser el responsable es el C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2007).

Por otro lado, en algunos estudios con la misma dosis de C18:2 *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 utilizada en la presente investigación, se incrementó la sensibilidad a insulina en músculo (Ryder *et al.* 2001) y la expresión de genes relacionados con la sensibilidad a insulina en ratas diabéticas Zucker (Inoue *et al.* 2006). Es posible entonces, que los efectos de CLA para incrementar la concentración de IGF-I en vacas lactando sean mediados por cambios sutiles en la sensibilidad hepática a la acción de la insulina que son específicos de C18:2 *trans*-10, *cis*-12 (Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2007).

Castañeda-Gutiérrez *et al.* (2005), también encontraron efectos positivos de la suplementación con C18:2 *trans*-10, *cis*-12 sobre el número de servicios por concepción (entre 0.4 y 0.7 menos SC que en su grupo testigo). Al igual que en el caso de reducción de los días abiertos, el efecto sobre servicios por concepción puede ser atribuido a los efectos positivos de la suplementación con CLA's sobre las concentraciones plasmáticas de IGF1 y progesterona, así como a los posibles cambios en la sensibilidad hepática a la acción de la insulina. Sin embargo, existen trabajos en que el incremento en el consumo de ácido linoleico en vacas o su suplementación *in vitro* a células endometriales aisladas de borregas en etapas tardías de la gestación, puede disminuir la producción de prostaglandinas de la serie 2 (Cheng *et al.* 2004). Esto a su vez podría ser un mecanismo a partir del cual la suplementación con CLA's mejorara la sobrevivencia embrionaria, al interferir temporalmente con la síntesis de PGF2 α endometrial y permitir un mayor tiempo de desarrollo y capacidad del embrión antes de que este requiera impedir la luteolisis como parte del reconocimiento materno de la gestación (Abayasekara *et al.* 1999).

En algunos estudios se han observado efectos benéficos cuando se administra el isómero C18:2 *trans*-10, *cis*-12 sobre el reinicio de la actividad ovárica (Bernal-Santos *et al.* 2003; Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2005).

Sin embargo, este efecto no se observó en la presente investigación, en la que los animales suplementados con CLA's presentaron un intervalo parto primera ovulación ligeramente mayor (36.8 días) que los que consumieron la dieta control (31.2 días). Independientemente de lo anterior, los días a primera ovulación encontrados coinciden con lo observado en investigaciones realizadas en hatos familiares/semitecnificados, en los que se ha sugerido que el reto metabólico de la lactancia temprana no es muy elevado de acuerdo a sus niveles de producción y cambios de CC (Estrada *et al.* 2011). Bajo esas condiciones, es posible que el "ahorro energético" inducido por la suplementación con CLA's no sea determinante para la presentación de la primera ovulación post parto, a diferencia de lo que pudiera ocurrir en sistemas intensivos de producción en los que el reto metabólico de la lactancia temprana es muy elevado (Bernal-Santos *et al.* 2003; Castañeda-Gutiérrez *et al.* 2005).

VI. Conclusiones

En vacas del sistema familiar/semitecnificado, la suplementación con CLA's durante las primeras 6 semanas post parto disminuyó ligeramente la pérdida normal de CC que ocurre durante este periodo, probablemente como reflejo de un mejor estatus energético y debido a la depresión de grasa en leche que provocó. Asociado con lo anterior, el consumo de CLA's permitió influir de manera positiva en variables de desempeño productivo y reproductivo. En el aspecto reproductivo, la suplementación con CLA's disminuyó en 29 días el período de días abiertos y redujo en 0.4 unidades los servicios por concepción. Por otra parte, permitió un incremento en la concentración en la grasa de la leche de isómeros del ácido linoleico que han demostrado efectos nutraceúticos en humanos.

VII. Referencias bibliográficas

- Abayasekara DR, Wathes DC. 1999. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* ;61: 275–87.
- Alais CH. 1994. *Ciencia de la leche*. Editorial Continental. 9ª Edición. México D.F.
- Balaguer SA, Pershing RA, Rodriguez-Sallaberry C, Thatcher WW, and Badinga L. 2005. Effects of bovine somatotropin on uterine genes related to the prostaglandin cascade in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:543–552.
- Banni S, Carta C, Contini MS, Angioni E, Deiana M, Dessi MA, Melis MP, Corongiu FP. 1996. Characterization of conjugated diene fatty acids in milk, dairy products and lamb tissues. *J. Nutr. Biochem.*, 7: 150-155.
- Bartlett, JC and Chapman DG. 1961. Detection of hydrogenated fats in butter fat by measurement of *cis-trans* conjugated unsaturation. *Agri. Food Chem.*, 9: 50-53.
- Bauman DE, Davis CL. 1974. Biosynthesis of milk fat. Pages 31-75 in *Lactation: A comprehensive Treatise*. Vol. 2. B. L. Larson and V.R. Smith, eds Academic Press, New York.
- Bauchart D, Gruffat D, Durand D. 1996. Lipid absorption and hepatic metabolism in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.*, 1996, vol. 55, p. 39-47.
- Bauman DE, Currie BW. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy. Sci* 63: 1514-1529.
- Bauman DE, Baumgard LH, Corl BA, Griinari JM. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *American Society of Animal Science*.
- Bauman DE, Corl BA, Baumgard LH, and Griinari JM. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA) and the dairy cow. Pages 221–250 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Bauman DE, Griinari JM. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annu. Rev. Nutr.* 23:203-227.
- Bauman DE, Mather IH, Wall RJ, Lock AL. Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *J. Dairy Sci.* 89: 1235-1243.
- Bauman DE, Perfield JW, Harvatine KJ, Baumgard LH. 2008. Regulation of fat synthesis by conjugated linoleic acid: Lactation and ruminant model. *J. Nutr.* 138:403-409.
- Baumgard LH, Corl BA, Dwyer DA, Saebo A, and Bauman DE. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol.* 278:R179–R184.
- Baumgard LH, Corl BA, Dwyer DA, and Bauman DE. 2002a. Effects of conjugated linoleic acids (CLA) on tissue response to homeostatic signals and plasma variables associated with lipid metabolism in lactating dairy cows. *J. Ani. Sci.* 80:1285-1293.

- Baumgard LH, Moore CE, and Bauman DE. 2002b. Potential application of conjugated linoleic acids in nutrient partitioning. Pages 127–141 in Proc. Southwest Nutr. Conf. [Online]. Available: <http://animal.cals.arizona.edu/swnmc/2002/index.php>. Accessed Dec. 1, 2002.
- Beal WE, Short RE, Staigmiller RB, Bellows RA, Kaltenbach CC, Dunn TG. 1978. Influence of dietary energy intake on bovine pituitary and luteal function. *J. Anim Sci.* 46: 181-188.
- Beam SW and Butler WR. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation in dairy cows receiving three levels of dietary fat *Biology of Reproduction* 56 133–142.
- Belury MA. 1995. Conjugated dienoic linoleate: A polyunsaturated fatty acid with unique chemoprotective properties. *Nutr. Rev.* 53:83-89.
- Belury MA. 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: Physiological effects and mechanisms of action. *Annu. Rev. Nutr.* 22:505–531.
- Bell AW. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy. *J. Anim. Sci.* 73:2804–2819.
- Bernal-Santos G, Perfield JW, Barbano DM, Bauman DE, and Overton TR. 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 86:3218–3228.
- Bilby TR, Block J, do Amaral BC, Sa Filho o, Silvestre FT, Hansen PJ, Staples CR and Thatcher WW. 2006. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. *J. Dairy Sci.* 89:3891-3903.
- Bickerstaffe R, and Annison EF. 1970. The desaturase activity of goat and sow mammary tissue. *Comp. Biochem. Physiol.* 35:653-665.
- Blum JW, Jans F, Moses W, Frohli D, Zemp M, Wanner M, Hart I C, Thun R, Keller U. 1985. Twenty-four hour pattern of blood hormone and metabolite concentrations in high-yielding dairy cows: effects of feeding low or high amounts of starch, or crystalline fat *Zentralblatt Veterinaermedizin* 32 401–418
- Boggs DL, Bergen WG, Hawkins DR. 1987. Effects of tallow supplementation and protein withdrawal on ruminal fermentation, microbial synthesis and site of digestion. *J Anim Sci* 64:970.
- Booth RG, Kon SK, Dann WJ and Moore T. 1935. A study of seasonal variation in butter fat. *Biochem. J.*, 29: 133-137.
- Butler WR and Smith RD. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 72: 767-783
- Butler WR. 2003. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest. Prod. Sci* 83:211-218.

- Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, and Wahli W. 1996. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): Tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat. *Endocrinology* 137:354–366.
- Capper EA, Marshall LA. 2001. Mammalian phospholipases A(2): mediators of inflammation, proliferation and apoptosis. *Prog Lipid Res*; 40:167–97.
- Carroll SM, DePeters EJ, Taylor SJ, Rosenberg M, Perez-Mnti J, and Capps VA. 2006. Milk composition of Holstein, Jersey and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. *Ani Feed Sci Tech.* 131: 451-473.
- Castañeda-Gutiérrez E, Overton TR, Butler WR, and Bauman DE. 2005. Dietary supplements of two doses of calcium salts of conjugated linoleic acid during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 88:1078–1089.
- Castañeda-Gutiérrez E, Benefield BC, de Veth MJ, Santos NR, Gilbert RO, Butler WR and Bauman DE 2007. Evaluation of the mechanism of action of conjugated linoleic acid isomers on reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 4253–4264.
- Cervantes EF, Santoyo CH, Álvarez MA. *Lechería Familiar: Factores de éxito para el negocio: Primera Edición.* México: Plaza Valdéz.
- Chalupa W, Rickabaugh B, Kronfeld DS, Sklan D. 1984. Rumen fermentation in vitro as influenced by long chain fatty acids. *J Dairy Sci* 67:1439.
- Cheng Z, Elmes M, Kirkup SE, Abayasekara DRE, Wathes DC. 2004. Alteration of prostaglandin production and agonist responsiveness by n-6 polyunsaturated fatty acids in endometrial cells from late gestational ewes. *J Endocrinol*; 182:249–256.
- Cheng Z, Abayasekara DRE, Wathes DC. 2005. The effect of supplementation with n-6 polyunsaturated fatty acids on 1-, 2- and 3- series prostaglandin F production by ovine uterine epithelial cells. *Biochim Biophys Acta*; 1736:128–135.
- Chilliard Y, Vacelet JM, Durand D, Bauchart D. 1992. Portal-drained viscera (PDV) and hepatic balance of energy metabolites in high yield cows: effects of a fat supplement on PDV rates. *Reprod. Nutr. Dev.* Vol. 32 p. 501
- Chilliard Y, Ollier A. 1994. Alimentation lipidique et métabolisme du tissu adipeux chez les ruminants. Comparaison avec le porc et les rongeurs. *INRA Prod. Anim.* 7: 293-308.
- Chin SF, Liu W, Storkson JM, Ha YL, and Pariza MW. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *J. Food Compos. Anal.* 5:185-197.
- Chouinard PY, Corneau L, Saebo A, Bauman DE. 1999. Milk yield and composition during abomasal infusion of conjugated linoleic acids in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:2737- 2745.

- Chouinard PY, Corneau L, Barbano DM, Metzger LE, and Bauman DE. 1999a. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129:1579–1584
- Coleman RA, Smith WL, Narumiya S. 1994. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev*; 46:205–229
- Cook HW. 1996. Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. In *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes* Ed. DE Vance and J Vance. Elsevier, Amsterdam pp 129–152
- Collomb M, Schmid A, Sieber R, Wechsler D, Ryhanen EL. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *Int. Dairy J.* 16: 1347-1361
- Corl BA, Chouinard PY, Bauman DE, Dwyer DA, Griinari JM, and Nurmela KV. 1998. Conjugated linoleic acid in milk fat of dairy cows originates in part by endogenous synthesis from trans-11 octadecenoic acid. *J. Dairy. Sci.* 81(Suppl. 1):233 (Abstr.).
- Corl BA, Lacy SH, Baumgard LH, Dwyer DA, Griinari JM, Phillips BS, and Bauman DE. 1999. Examination of the importance of $\Delta 9$ -desaturase and endogenous synthesis of CLA in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. 1):118 (Abstr.).
- Coyne GS, Kenny DA, Childs S, Sreenan JM, Waters SM. 2008. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids alter the expression of genes involved in prostaglandin biosynthesis in the bovine uterus. *Theriogenology*; 70:772–82.
- Cummins CL, Volle DH, Zhang Y, McDonald JG, Sion B, Lefrancois- Martinez AM, Caira F, Veyssiere G, Mangelsdorf DJ, Lobaccaro JMA. 2006. Liver X receptors regulate adrenal cholesterol balance. *J Clin Invest*; 116:1902–1912.
- Cuvelier C, Cabaraux JF, Dufrasne I, Istasse L, Hornick JL. 2005. Production, digestion et absorption des acides gras chez le ruminant. *Ann. Méd. Vét.*, Vol. 149, p. 49-59.
- Cuvelier C, Cabaraux JF, Dufrasne I, Hornick JL, Istasse L. 2004. Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Med. Vet* 148: 133-140.
- Dean DB. 2008. Uso de lípidos en dietas para rumiantes. *Desarrollo Sostenible de la Ganadería de Doble Propósito*.
- De Blas, González C, Argamentería A. 1987. *Nutrición y alimentación del ganado*. Mundi-prensa, Madrid.
- Demeyer D, Doreau D. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Nutr. Soc.* Demeyer, D., Doreau, D. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc. Nutr. Soc.*, 1999, vol. 58, p. 593-607. vol. 58, p. 593-607.
- de Veth KJ, Griinari JM, Pfeiffer AM, Bauman DE. 2004. Effect of CLA on milk fat synthesis in dairy cows: COMparison of inhibition by methyl esters and free fatty acids, and relationships among studies. *Lipids* 39:365-372.
- de Veth MJ, Bauman DE, Koch W, Mann GE, Pfeiffer AM, Butler WR. 2009. Efficacy of conjugated linoleic acid for improving reproduction; A multi-study analysis in early-lactation dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 2662-2669.

- Doreau M, Ferlay A. 1994. Digestion and utilization of fatty acids by ruminants. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 45: 379-396.
- Emery, RS. 1988. Milk fat depression and the influence of diet on milk composition. *Vet.Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4:289-305.
- Escher P, and Wahli W. 2000. Peroxisome proliferators-activated receptors: Insight into multiple cellular functions. *Mutat. Res.* 448:121–138.
- Estrada CE, Villaseñor GF, Villagómez AE, Vera AH, Espinosa MMA, De La Torre SJF. 2010. Producción de leche, caracterización de la condición corporal al parto y los cambios en el posparto temprano de vacas lecheras bajo el sistema familiar en Jalisco. Memoria de la XXII Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED.
- Estrada CE, Vera AH, Villaseñor GF, Villagómez AE. Espinosa MMA, De la Torre SJF, Gómez HJL. 2011. Efecto de la condición corporal sobre la producción de leche y el reinicio de la actividad ovárica posparto en vacas del sistema familiar en Jalisco. XXIII Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED. Venecia, Dgo., MEXICO, pp. 981-985.
- Fahrenholz F, Klein U, Gimpl G. Conversion of the myometrial oxytocin receptor from low to high affinity state by cholesterol. *Adv Exp Med Biol* 1995; 395:311–319
- Fiedler EP, Plouffe L, Hales DB, Hales KH, Khan I. 1999. Prostaglandin F₂alpha induces a rapid decline in progesterone production and steroidogenic acute regulatory protein expression in isolated rat corpus luteum without altering messenger ribonucleic acid expression. *Biol Reprod*; 61:643–650.
- Firkins JL, Eastridge ML. 1994. Assessment of the effects of iodine value on fatty acid digestibility, feed intake, and milk production. *J. Dairy Sci.* 77:2357-2366.
- FIRA. Fideicomisos Instituidos Relacionados a la Agricultura. Panorama Alimentario, Productos Lácteos. 2009. Boletín en línea <http://www.fira.gob.mx>
- Fuentes AMC. 2009. Tesis doctoral: Modificación del perfil de ácidos grasos de la leche a través de la manipulación nutricional en vacas lecheras: el papel del rumen. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Funston RN. 2004. Fat supplementation and reproduction in beef females. *J Anim. Sci.* 82: E154- E161
- Galbreath CW, Scholljegerdes EJ, Lardy GP, Odde KG, Wilson ME, Schroeder JW, Vonnahme KA. 2008. Effect of feeding flax or linseed meal on progesterone clearance rate in ovariectomized ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 35, 164–169.
- Garton GA, Lough AK, Vioque E. 1961. Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents. *J. Gen. Microbiol.* 25:215.
- Garnsworthy PC, Sinclair KD and Webb R. 2008. Integration of physiological mechanism that influence fertility in dairy cows. *Animal* 2: 1144-1152.
- Gasque GR. 2008. Enciclopedia Bovina. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México, D.F.
- German OL, Insua MF, Gentili C, Rotstein NP, Politi LE. 2006. Docosahexaenoic acid prevents apoptosis of retina photoreceptors by activating the ERK/MAPK pathway. *J Neurochem*; 98:1507–1520.

- Gerson T, John A. y King ASD. 1985. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* 105: 27-30
- Giesy JG, Viswanadha S, Hanson TW, Falen LR, McGuire MA, Skarie CH, and Vinci A. 1999. **Effects of calcium salts of conjugated linoleic acid (CLA) on estimated energy balance in Holstein cows early in lactation.** *J. Dairy Sci.* 82: 74 (Abstr.)
- Ghosh M, Tucker DE, Burchett SA, Leslie CC. 2006. Properties of the Group IV phospholipase A2 family. *Prog Lipid Res*; 45:487–510.
- Gombe S, Hansel W. 1973. Plasma luteinizing hormone (LH) and progesterone levels in heifers on restricted energy intakes. *J. Anim. Sci.* 37: 728-733.
- González F, Bas F. 2002. Efecto de la suplementación con un aceite hidrogenado de pescado sobre la producción de leche en vacas holstein friesian. *Cien Inv Agr* 29:73-82.
- Griinari JM, and Bauman DE. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In: Yurawecz MP, Mossoba MM, Grummer JK, Carroll DJ. 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance in dairy cattle. *Journal of Animal Science*: 69:3838-52
- Grummer, R. R., Carroll, D. J. 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dietary cattle. *Journal of Animal Science*: 69:3838-52
- Gulati SK, McGrath S, Wynn PC, and Scott TW. 2001. Rumen protected conjugated linoleic acids: Effects on milk composition in dairy cows. *Proc. Nutr. Soc. Aust.* 25:S85 (Abstr.).
- Ha YL, Grimm NK, and Pariza MW. 1987. Anticarcinogens from fried ground beef: heat-altered derivatives of linoleic acid. *Carcinogenesis* 8:1881-1887.
- Hara A y Radin NS. 1978. Lipid extraction of tissue with low. Toxicity solvent. *Anal Biochem.* 90:420-426.
- Hatta, A. N., Breyer, R. M. 2004. Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation. *Pharmacol Ther* 2004; 103:147–166.
- Harvatine KJ and Bauman DE. 2006. **SREBP1 and thyroid hormone responsive spot 14 (S14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA.** *J. Nutr.*; 136: 2468–2474
- Harvatine KJ, Perfield JW II, Bauman DE. 2009. Expression of enzymes and key regulators of lipid synthesis are up-regulated in adipose tissue during CLA-induced milk fat depression in the dairy cow. *J Nutr.* 139:849–54.
- Harfoot CG, Hazlewood GP. 1978. Lipid metabolism in the rumen. In: P.N. Hobson (Ed). *The Rumen Microbial Ecosystem*. Pp 285-322. Elsevier Applied Science Publishers, London
- Harfoot CG, y Hazlewood, GP. 1988. *The Rumen Microbial Ecosystem*. Hobson, P.N. (ed). Elsevier Applied Science, London, New York, pp. 285-322.

- Harrison JH, Kincaid RL, McNamara JP, Waltner S, Loney KA, Riley RE, Cronrath JD. 1995. Effect of whole cottonseeds and calcium salts of long-chain fatty acids on performance of lactating dairy cows *Journal of Dairy Science* 78 181–193
- Hawke JC, Silcock WR. 1970. The in vitro rates of lipolysis and biohydrogenation in rumen contents. *Biochim. Biophys. Acta* 218:201.
- Hawkins DE, Niswender KD, Oss GM, Moeller CL, Odde KG, Sawyer HR, and Niswender GD. 1995. An increase in the serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J. Anim. Sci.* 73:541– 545.
- Henderson C, Hodgkiss W. 1973. An electron microscopic study of *Anaerovibrio lipolytica* (strain 5s) and its lipolytic enzyme. *J. Gen. Microbiol.* 76: 389.
- Hightshoe R B, Cochran R C, Corah L R, Kiracofe G H, Harmon D L, Perry R C. 1991. Effects of calcium soaps of fatty acids on post-partum reproductive function in beef cows *Journal of Animal Science* 69 4097–4103
- Hilditch TP, Jasperson H. 1941. Milk fats from cows fed on fresh pasture and on ensiled green fodder. I. Observations on the component fatty acids. *J. Soc. Chem. Ind.*, 60: 305-310.
- Hilditch TP, Jasperson H. 1945. The polyethenoid acids of the C18 series present in milk and grass fats. *J. Soc. Chem. Ind.*, 64: 109-111.
- Hocquette JF, Bauchart D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. *Reprod. Nutr. Dev.*, 1999. vol. 39, p. 27-48.
- Holman R T, Mahfouz M M. 1981. Cis- and trans octadecadienoic acid as precursors of polyunsaturated fatty acids. *Prog. Lipid Res.*, 20: 151-156.
- Hötger K, Hammon HM, Weber C, Görs S, Tröscher A, Bruckmaier RM, Metges CC. 2013. Supplementation of conjugated linoleic acid in dairy cows reduces endogenous glucose production during early lactation. *J. Dairy Sci.* 96: 2258-2270 (abstract).
- Howie A, Leaver HA, Wilson NH, Yap PL, Aitken ID. 1992. The influence of dietary essential fatty acids on uterine C20 and C22 fatty acid composition Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids 46 111-121.
- Huppertz T and Kelly AL. 2009. Properties and constituents on cow's milk. In: *Milk Processing and Quality Management* Tamime, A. Y. (ed.). Blackwell. Oxford Reino Unido. pp: 23- 47
- Hutchinson IA, Hennessy AA, Waters SM, Dewhurst RJ, Evans ACO, Lonergan P, Butler ST. 2012a. Effect of supplementation with different fat sources on the mechanisms involved in reproductive performance in lactating dairy cattle. *Tehriogenology* 78: 12-27.
- Immig I, Van Nevel C. y Demeyer DI. 1993. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, p. 59.
- Inoue N, Nagao K, Wang YM, Noguchi H, Shirouchi B, and Yanagita T. 2006. Dietary conjugated linoleic acid lowered tumor necrosis factor- α content and altered expression of genes related to lipid metabolism and insulin sensitivity in the skeletal muscle of Zucker rats. *J. Agric. Food Chem.* 54:7935–7939.

- INRA. 2002. In Sauvant D, Perez JM, Tran G (Eds). Tables de COmposition et de Valeur Nutritive des Matiere Premieres DEstinees aux Animaux d'Elevage. INRA. Paris, Francia. 301pp
- Jenkins TC, Palmquist DL. 1984. Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations. *J Dairy Sci* 67:978-990.
- Jump DB, Clarke SD, Thelen A, Liimatta M, Ren B and Badin M. 1996. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription *Progress in Lipid Research* 35 227–241
- Kemp P, Lander DJ. 1984. Hydrogenation *in vitro* of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 130: 527-533.
- Kepler CR, Hirons KP, McNeill JJ, and Tove SB. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 241:1350-1354.
- Khanal RC. 2004. Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA): A review. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 17:1315– 1328.
- Kronfeld DS. 1976. The potential importance of the proportions of glucogenic, lipogenic and aminogenic nutrients in regard to the health and productivity of dairy cows. *Adv Anim Nutr Anim Physiol* 7:7-19.
- Lammoglia MA, Willard ST, Hallford DM, and Randel RD. 1997. Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol-17 beta, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F-2 alpha and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *J. Anim. Sci.* 75:1591–1600
- Landwirtschaftlichen FH.2012. Supplementation of a rumen- protected conjugated linoleic acid mixture (*cis*-9, *trans*-11; *trans*-10, *cis*-12) to early lactation dairy cows- effects on feed intake and performance. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- Lands W E. M. 1992. Biochemistry and physiology of n-3 fatty acids. *FASEB*; 6:2530–2536.
- Loor JJ, Herbein JH. 1998. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J. Nutr.* 128:2411–2419.
- Loor JJ. and Herbein JH. 2003. Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. *Anim. Feed Sci. Tech.* 103:63-83.
- Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. 1991. Effect of feeding calcium soaps to early post-partum dairy cows on plasma prostaglandin F₂, luteinizing hormone, and follicular growth *Journal of Dairy Science* 74 483–489
- Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. 1991^a. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early post-partum cows *Journal of Dairy Science* 74 473–482

- MacLaren LA, Guzeloglu A, Michel F, Thatcher WW. 2006. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) expression in cultured bovine endometrial cells and response to n-3 fatty acid, growth hormone and agonist stimulation in relation to series 2 prostaglandin production. *Domest Anim Endocrinol*; 30: 155–69.
- Madore, E, Harvey, N., Parent, J., Chapdelaine, P., Arosh, J. A., Fortier, M. A. 2003. An aldose reductase with 20 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activity is most likely the enzyme responsible for the production of prostaglandin f2 alpha in the bovine endometrium. *J Biol Chem*; 13(278):11205–12.
- Mann GE, Lamming GE. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction*.121:175–80.
- Martínez MA, Pérez HM, Pérez AL, Gómez CG. 2010. Digestión de los lípidos en los rumiantes: Una revisión. *Interciencia*. Vol 35 No. 4.
- Mateos GG, Rebollar PG, Medel P. 1996. Utilización de grasas y productos lipídicos en alimentación animal: Grasas puras y mezclas. XII Curso de especialización FEDNA. Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid
- Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev. Reprod*. 5:38-45.
- Mattos. R., Staples, C. R., Williams, J., Amorocho, A., McGuire, M. A., Thatcher, W. W. 2002. Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *J Dairy Sci*; 85:755–64
- Mattos R, Staples C R, Arteche A, Wiltbank M C, Diaz F J, Jenkins TC. 2004. The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF2alpha, milk composition, and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J Dairy Sci*; 87: 921–32.
- McCracken JA, Carlson JC, Glew ME, Goding JR, Baird DT, Green K, Samuelsson B. 1972. Prostaglandin F2_ identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nat. New Biol*. 238, 129–134
- MacLaren LA, Guzeloglu A, Michel F, Thatcher WW. 2006. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) expression in cultured bovine endometrial cells and response to n-3 fatty acid, growth hormone and agonist stimulation in relation to series 2 prostaglandin production. *Domest Anim Endocrinol*; 30: 155–69.
- Matthys LA, Widmaier EP. 1998. Fatty acids inhibit adrenocorticotropin induced adrenal steroidogenesis. *Horm Metab Res*; 30:80–88.
- Medeiros SR, Oliveira DE, Aroeira LJM, McGuire MA, Bauman DE, and Lanna DPD. 2000. The effect of long term supplementation of conjugated linoleic acid (CLA) to dairy cows grazing tropical pasture. *J. Dairy Sci*. 83(Suppl. 1):169. (Abstr.). National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th rev. ed. National Academy of Sciences, Washington, DC
- Michael AE, Webley GE. 1991. Prostaglandin F2a stimulates cAMP phosphodiesterase via protein kinase C in cultured human granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol*; 2:207–214.

- Michalik L, Desvergne B, Dreyer C, Gavillet M, Laurini RN, Wahli W. 2002. PPAR expression and function during vertebrate development. *Int J Dev Biol*; 46:105–14.
- Moallem U, Katz M, Arieli A and Lehrer H 2007. Effects of peripartum propyleneglycol or fats differing in fatty acid profiles on feed intake, production, and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 3846–3856.
- Moore T. 1939. Spectroscopic changes in fatty acids. VI. General. *Biochem. J.*, 33: 1635-1638.
- Moore CE, Hafliger HC, Mendivil OB, Sanders SR, Bauman DE, and Baumgard LH. 2004. Increasing amounts of conjugated linoleic acid progressively reduces milk fat synthesis immediately postpartum. *J. Dairy Sci.* 87:1886–1895.
- Morand-Fehr M, Tran G .2001. La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. *INRA Prod. Anim.* 14: 285-302.
- Murray RB, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. 2005. *Bioquímica de Harper. Lípidos de importancia fisiológica.* 14^a Ed. Manual Moderno.
- Needleman, P., Turk, J., Kakshik, B. A., Morrison, A. R., Lefkowitz, J. B. 1986. Arachidonic acid metabolism. *Ann Rev Biochem*; 55:69–102.
- Niswender GD, Juengel JL, Silva JP, Rillyson MK, Mcintush WE. 2000. Mechanism controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews.* 80.
- Niswender GD. 2002. Molecular control of luteal secretion of progesterone. *Reproduction*; 123:333–9.
- Noble RC. Digestion, absorption and transport of lipids. *Prog. Lipid Res.*, 1978, vol. 17, p. 55-91.
- NRC. 1996. *Carcinogens and Anticarcinogens in the Human Diet.* National Academy Press, Washington, D C.
- Odens LJ, Burgos R, Innocenti M, VanBaale MJ, Baumgard LH. 2007. Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *J Dairy Sci*; 90:293–305
- Palmquist DL, Jenkins TC. Fat in Lactation Rations: Review. *J. Dairy Sci.*, 1980, vol. 63, p. 1-14.
- Palmquist D. 1991. Feeding animal and plant fats. *Proc. Symposium on "Alternative feeds for dairy and beef cattle"*. Ed. E.R. Jordan. Texas A&M. Saint Louis
- Palmquist DL, Weiss WP. 1994. Blood and hydrolyzed feather meals as sources of undegradable protein in high fat diets for cows in early lactation *Journal of Dairy Science* 77 1630–1643
- Pariza MW, Ashoot SH, Chu FS, and Lund DB. 1979. Effects of temperature and time on mutagen formation in pan fried hamburger. *Cancer Lett.* 7:63-69.
- Pariza MW. 2004. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 79:1132–1136.
- Parodi PW. 1977. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.*, 60: 1550-1553.
- Parodi PW. 1994. Conjugated linoleic acid: an anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Aust. J. Dairy Tec.*, 40: 93-97.

- Perfield JW, Bernal-Santos G, Overton TR, and Bauman DE. 2002a. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid (CLA) in dairy cows during established lactation. *J. Dairy Sci.* 85:2609–2617.
- Perfield JW, Bernal-Santos G, Overton TR, Bauman DE. 2002b. Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid in dairy cows during established lactation. *J. Dairy Sci.* 85: 2609-2617.
- Perfield JW, Lock AL, Pfeiffer AM, Bauman DE. 2004. Effects of amide-protected and lipid-encapsulated conjugated linoleic acid (CLA) supplements on milk fat synthesis. *J. Dairy Sci.* 87:3010-3016.
- Perfield JW, Delmonte P, Lock AL, Yurawecz MP, and Bauman DE. 2004a. Trans-10, trans-12 conjugated linoleic acid (CLA) reduces the $\Delta 9$ -desaturase index without affecting milk fat yield in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 87 (Suppl.1):297 (Abstract).
- Perks CM, Peters AR, and Wathes DC. 1999. Follicular and luteal expression of insulin-like growth factors I and II and the J. *Dairy Sci.* Vol. 90 No. 9, 2007 type 1 IGF receptor in the bovine ovary. *J. Reprod. Fertil.* 116:157–165.
- Petit HV, Dewhurst RJ, Scollan ND, Proulx JG, Khalid M, Haresign W. 2002. Milk production and composition, ovarian function, and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. *J Dairy Sci*; 85:889–99.
- Peterson DG, Baumgard LH, and Bauman DE. 2002. Short communication: milk fat response to low doses of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Dairy Sci.* 85:1764-1766.
- Piperova LS, Sampugna J, Teter BB, Kalscheur KF, Yurawecz MP, Ku Y, Morehouse K M, Erdman RA. 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (CLA) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9- containing CLA in lactating dairy cows. *J. Nutr.* 132: 1235-1241.
- Piperova LS, Teter BB, Bruckental I, Sampugna J, Mills SE, Yurawecz MP, Fritsche J, Ku K, Erdman R A. 2000. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *J. Nutr.* 130: 2568–2574.
- Pollard MR, Gunstone FD, James AT and Morris LJ. 1980. Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. *Lipids*, 15: 306-314.
- Poyser NL. 2005. Intracellular processes controlling prostaglandin production by the uterus in relation to luteolysis and menstruation. *Trends Reprod Biol*; 1:15–28.
- Randel RD. 1990. Nutrition and post-partum rebreeding in cattle *Journal of Animal Science* 68 853–862
- Relling AE, Mattioli GA. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. Fac. Cs. Veterinarias UNLP.
- Robinson RS, Pushpakumara PGA, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DR E, and Wathes DC. 2002. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction* 124:119–131.

- Rodríguez MC, Tovar RA, Del Prado M, Torres N. 2005. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. *Revista de Investigación Clínica*. Vol 57 Núm 3. 457-472.
- Ruegg P, Milton R. 1995. Body condition scores of Holstein cows on Prince Edgward Island, Canada: relationships with yield, reproductive performance and disease. *J. Dairy Sci* 78: 552-564.
- Ryder JW, Portocarrero CP, Song XM, Cui L, Yu M, Combatsiaris T, Galuska D, Bauman DE, Barbano MD, Charron MJ, Zierath JR, and Houseknecht KL. 2001. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid. *Diabetes* 50:1149–1157.
- Sarel I, Widmaier EP. 1995. Stimulation of steroidogenesis in cultured rat adrenocortical cells by unsaturated fatty acids. *Am J Physiol*; 268: R1484–R1490.
- Sampath H, Ntambi JN. 2005. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes and lipid metabolism. *Annu Rev Nutr*; 25:317–340.
- Santos JEP, Bilby TR, Thatcher WW, Staples CR, and Silvestre FT. 2008. Long chain fatty acids of diet as factors influencing reproduction in cattle. *Reprod. Domest. Anim.* 43:23–30.
- Sauvant D, Bas P. 2001. La digestión des lipides chez le ruminant. INRA. *Prod. Anim.* Vol 14, p 303-310.
- Schillo K. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep *Journal of Animal Science* 70 1271–1282
- SE. Secretaria de Economía. Análisis del Sector Lácteo en México. 2012. Dirección General de Industrias Básicas. www.economia.gob.mx
- Sehat N, Kramer JKG, Mossoba MM, Yurawecz MP, Roach JAG, Eulitz K, Morehouse KM, Ku Y. 1998. Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids* 33:963-971.
- Selberg KT, Lowe AC, Staples CR, Luchini ND, Badinga L. 2004. Production and metabolic responses of periparturient Holstein cows to dietary conjugated linoleic acid and *trans*- octadecenoic acids. *J. Dairy Sci.* 87:158-168.
- Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, Sreenan JM. 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim. Rep. Sci.* 71; 1-12.
- Sklan D, Kaim M, Moallem U, Folman Y. 1994. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones, and fertility in first parity and older cows *Journal of Dairy Science* 77 1652–1660.
- Smith WL, Lagenbach R. 2001. Why there are two cyclooxygenase enzymes. *J Clin Invest*; 107:1491–1495.
- Smith WL. 2005. Cyclooxygenases, peroxide tone and the allure of fish oil. *Curr Opin Cell Biol*; 17:174–182.
- Sprecher H. 1981. Biochemistry of essential fatty acids *Progress in Lipid Research* 20 13–22

- Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci*; 81:856–71.
- Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, and Keefer BE. 1995. Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: Involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. *J. Anim. Sci.* 73:3719–3731.
- Stocco DM, Wang X, Jo Y, Manna PR. 2005. Multiple signaling pathways regulating steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein expression: more complicated than we thought. *Mol Endocrinol*; 19:2647–2659.
- Tanaka K, Shigeno K. 1976. The biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganism. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 47:50-53.
- Taylor VJ, Cheng Z, Pushpakumara PG, Beever DE, and Wathes DC. 2004. Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Vet. Rec.* 155:583–588.
- Thatcher WW, Bartol FF, Knickerbocker JJ, Curl JS, Wolfenson D, Bazer FW. 1984. Maternal recognition of pregnancy in cattle. *J Dairy Sci*; 67:2797–811.
- Thatcher WW, Bartolome JA, Sozzi A, Silvestre F, Santos JE. 2004. Manipulation of ovarian function for the reproductive management of dairy cows. *Vet Res Commun*; 28:111–9.
- Thomas MG and Williams GL. 1996. Metabolic hormone secretion and FSH-induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated and polyunsaturated fatty acids *Theriogenology* 45 451–458
- Trujillo EP y Broughton KS. 1995. Ingestion of n-3 polyunsaturated fatty acids and ovulation in rats *Journal of Reproduction and Fertility* 105 197–203
- Tsatsanis C, Androulidaki A, Venihaki M, Marqioris AN. 2006. Signalling networks regulating COX-2. *Int J Biochem Cell Biol*; 38:1654– 1661.
- Van Lier E, Regueiro M. 2008. Digestión en retículo-rumen. *Revista Sistemas de producción agroecológica*, vol. 2 (2).
- Van Nevel CJ y Demeyer, DI .1996. *Reproduction, Nutrition, Development* 36:53-63.
- Vera AHR, Hernández AL, Espinosa GJA, Ortega RL, Díaz AE, Román PH, Núñez HG, Medina CM, Ruiz LF. 2009. Producción de leche de bovino en el sistema familiar. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- Villa-Godoy A, Hughes T, Emery R, Stanisiewski EP, Fogwell RL. 1990. Influence of energy balance and body condition on estrus and estrous cycles in Holstein heifers. *J Dairy Sci* 73 : 2759-2765.
- von Soosten D, Meyer U, Piechotta M, Flachowsky Gm Danicke S. 2012. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion and energy utilization in early dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95: 1222-1239.
- Wahle KWJ. 1974. Desaturation of long chain fatty acids by tissue preparations of the sheep, rat and chicken. *Comp. Biochem. Physiol.* 48B:87-105.

- Walsh SW, Williams EJ, Evans AC. 2011. A review of the causes of poor fertility in high milk producing cows. *Anim Reprod Sci.* 38: 123-127.
- Wang X, Reinhart A, Welsh L, Mroteck J, Stocco D. 1999. Arachidonic acid regulation of steroidogenic acute regulatory (StAR) protein gene expression and steroid hormone production. *FASEB J.* 13, A556.
- Wang XJ, Dyson MT, Jo Y, Eubank DW, Stocco DM. 2003. Involvement of 5-lipoxygenase metabolites of arachidonic acid in cyclic AMP-stimulated steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein gene expression. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 85:159–166.
- Waters SM, Child S, Creenan JM, Hennessy AA, Stanton C, Kenny DA. 2006. Effect of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on uterine endometrial gene expression in cattle. 6th ARK-Genomics Farm Animal Functional Genomics Workshop. Cambridge, UK.
- Wathes DC, Abayasekara, DR, Aitken RJ. 2007. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. *Biology of reproduction*:77, 190–201.
- Wehrman ME, Welsh TH and Williams GL. 1991. Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics, and hastens the onset of postpartum luteal activity *Biology of Reproduction* 45 514–522.
- Williams GL, Stanko RL. 1999. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *Proc Am Soc Anim Sci* 68.
- Williams GL, and Stanko RL. 2000. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *J. Anim. Sci.* Available: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0915.pdf>. Accessed September 24, 2003.
- Wu YL, Wiltbank MC. 2001. Transcriptional regulation of cyclooxygenase-2 gene in ovine large luteal cells. *Biol Reprod*; 65:1565–1572.