

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LECHE DE VACAS CON PARTOS DE
PRIMAVERA QUE CAMBIAN DESDE UN SISTEMA MIXTO A CONFINAMIENTO
EN EL VERANO COMPARADAS CON LAS QUE PERMANECEN EN SISTEMA
MIXTO**

Por

Gianfranco STOLETNIY HEINZE

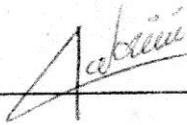
TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Higiene, Inspección - Control
y Tecnología de los Alimentos.

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2021**

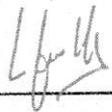
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



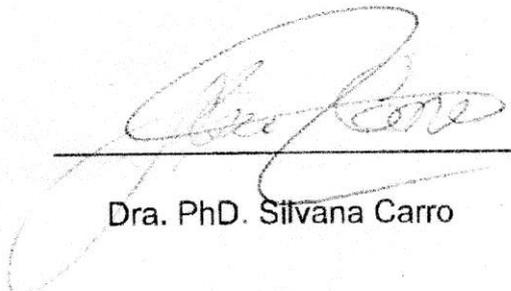
Dr. Msc. Maximiliano Pastorini

Segundo miembro (Tutor):



Dra. Msc. Lucía Grille Peés

Tercer miembro:



Dra. PhD. Silvana Carro

Cuarto miembro (Co-tutor):



Dr. PhD. Juan Pablo Damián

Fecha:

24 de junio del 2021

Autor:



Br. Gianfranco Stoletniy

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a mi tutora Lucía Grille por su enorme dedicación, compromiso, por los conocimientos brindados y principalmente por su paciencia, que fueron claves para la elaboración de esta tesis.

A mi co-tutor Juan Pablo Damián por tiempo, dedicación y conocimientos brindados.

A mi familia por ser un pilar fundamental en todo este tiempo, por brindarme su apoyo y ayuda en toda mi carrera.

A mis amigos, especialmente a aquellos cosechados en esta carrera por ser parte de esta experiencia y haber compartido tanto los momentos buenos como difíciles.

A la Facultad de Veterinaria por brindaros las herramientas para mi formación, así como los docentes que fueron parte fundamental en esta carrera.

TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
AGRADECIMIENTOS.....	4
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	6
GLOSARIO.....	7
RESUMEN.....	8
SUMMARY	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. ANTECEDENTES.....	11
2.1. La lechería en el mundo	11
2.2. La lechería en Uruguay	11
2.3. Calidad de la leche.....	13
2.4. Composición de la leche	13
2.5. Ácidos grasos de interés para la salud humana	17
2.6. Factores que influyen en el perfil de ácidos grasos.....	18
I. Genética	18
II. Factores estacionales.....	19
III. Balance energético.....	19
IV. Alimentación.....	19
3. HIPÓTESIS	21
4. OBJETIVOS	21
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	21
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS	22
5.1. Diseño experimental.....	22
5.2. Alimentación.....	22
5.3. Instalaciones	24
5.4. Manejo de los animales.....	25
5.5. Extracción de muestras y análisis de laboratorio	25
i. Análisis de producción de leche y composición.....	25
ii. Análisis estadísticos	26
6. RESULTADOS	27
7. DISCUSIÓN.....	34
9. BIBLIOGRAFÍA.....	39

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Perfil de ácidos grasos (Media y Error Estándar de la Media (EEM) en la leche bovina). Adaptado de Moate, Chalupa, Boston y Lean (2007).....	14
Tabla 2. Composición química y perfil de ácidos grasos (PAG) en dieta total mezclada (DTM) y pasturas en dos momentos del experimento.	23
Tabla 3. Producción y composición de la leche de los tres tratamientos (GDTM; GCD y GDTM+P) durante todo el periodo experimental (de octubre a diciembre, 2016)..	27
Tabla 4. Clasificación de los ácidos grasos de la leche producidos por vacas Holando alimentadas con dietas mixtas (GCD y GDTM+P) o DTM (GDTM), un mes antes del cambio de alimentación (M1) y un mes después del cambio de alimentación (M3).	32
Tabla 5. Perfil de ácidos grasos de la leche producidos por vacas Holando alimentadas con dietas mixtas (GCD y GDTM+P) o DTM (GDTM), un mes antes del cambio de alimentación (M1) y un mes después del cambio de alimentación (M3). 33	33

FIGURAS

Figura 1. Biohidrogenación ruminal. Adaptado de Bauman et al. (2003).....	16
Figura 2. Producción de leche (L/d) (a), proteína (kg/d) (b), lactosa (kg/d) (c) y grasa (kg/d) (d), en los tres tratamientos: GDTM (línea roja), GCD (línea azul) y GDTM+P (línea verde) durante las diferentes semanas de evaluación (Interacción tratamiento-semana).....	28

GLOSARIO

AG: ácidos grasos

AGNE: ácidos grasos no esterificados

AGS: ácidos grasos saturados

BEN: balance energético negativo

CC: condición corporal

CLA: ácido linoleico conjugado

DTM: dieta totalmente mezclada

GCD: grupo cambio de dieta

GDTM: grupo dieta totalmente mezclada

GDTM+P: grupo dieta totalmente mezclada más pastura

ITH: índice de temperatura y humedad

M1: mes 1

M3: mes 3

MS: materia seca

MUFA: ácidos grasos monoinsaturados

n-3: omega-3

n-6: omega-6

PAG: perfil de ácidos grasos

PUFA: ácidos grasos polinsaturados

TAG: triacilglicéridos

VO/VM: vaca ordeño/vaca masa

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar cómo afecta el cambio de alimentación desde un sistema mixto (doble pastoreo y dieta totalmente mezclada: DTM) hacia un sistema en estabulación con 100% DTM y desde el sistema mixto (doble pastoreo más DTM) hacia un solo pastoreo nocturno más DTM sobre las variables productivas y el perfil de ácidos grasos (PAG) en leche. Los tratamientos fueron: vacas en confinamiento alimentadas con 100% DTM (*ad libitum*) durante todo el período experimental (GDTM: grupo dieta total mezclada, n = 15); vacas que cambiaron bruscamente de un doble pastoreo más DTM a confinamiento (100% DTM) (GCD: grupo cambio de dieta, n = 15); y vacas que cambiaron de un doble pastoreo más DTM a un solo pastoreo nocturno más DTM (GDTM+P: grupo dieta total mezclada más pastura, n = 15). Los cambios de manejo y alimentación fueron realizados en el segundo mes de lactación. Para la evaluación de la producción de leche, proteína, lactosa y grasa (kg/d y porcentaje) se tomaron muestras de leche individuales con una frecuencia semanal. Las muestras de leche y alimento para la evaluación del PAG fueron tomadas un mes antes (M1) y un mes después (M3) del cambio en los sistemas mixtos. La producción de leche fue mayor para GDTM en la semana 9 en comparación con GCD y GDTM+P (p = 0,0006 y p = 0,007 respectivamente). En las semanas 12 y 13 GCD no tuvo diferencias con GDTM, pero GCD fue mayor que GDTM+P (p = 0,01 y p = 0,002). La producción de proteína y lactosa (kg/d) siguió la misma tendencia que la producción de leche (p = 0,001). En relación a la producción de grasa (kg/d), el tratamiento GCD aumentó luego del cambio, desde la semana 9 a la 10 (p = 0,004) y se mantuvo constante hasta la semana 13, mientras que el GDTM+P disminuyó desde la semana 4 a la 13 (p = 0,005). El C18:2 CLA, omega-3 y la relación omega-6/omega-3 mostraron interacción entre tratamiento-mes (p = 0,02). Para el C18:2 CLA, todos los tratamientos disminuyeron en M3 respecto a M1, pero el tratamiento GDTM+P no presentó una caída tan grande, siendo mayor que el GCD (p = 0,001). Los omega-3 (n-3) no tuvieron diferencias entre tratamientos en M1. Sin embargo, GCD disminuyó desde M1 a M3 (p = 0,0001) y fue menor que GDTM+P en M3 (p = 0,02). La relación omega-6/omega-3 (n-6/n-3) en GDTM fue superior a GCD y GDTM+P en M1 (p < 0,0001), mientras que en M3 GDTM y GCD tuvieron mayor relación que GDTM+P (p < 0,0001). El cambio de un sistema mixto a un sistema estabulado en GCD influyó positivamente en las variables productivas, pero hubo una disminución de algunos AG considerables saludables. Sin embargo, el tratamiento que mantuvo un pastoreo nocturno mejoró el PAG saludables en detrimento de la producción de leche.

SUMMARY

The objective of this work was to determine how it affects the change of feeding from a mixed (double grazing and totally mixed ration: TMR) towards a system in stables with 100% TMR and from the mixed system (double grazing plus TMR) towards a single grazing night plus TMR on the productive variables and the profile of fatty acids (FAP) in milk. The treatments were: confined cows fed 100% TMR (ad libitum) during the entire experimental period (GDTM: mixed total diet group, $n = 15$); cows that changed abruptly from double grazing plus TMR to confinement (100% TMR) (GCD: diet change group, $n = 15$); and cows that changed from a double grazing plus TMR to a single night grazing plus TMR (GDTM+P: total mixed diet plus pasture group, $n = 15$). The management and feeding changes were made in the second month of lactation. For the evaluation of the production of milk, protein, lactose and fat (kg/d and percentage), individual milk samples were taken with a weekly frequency. Milk and feed samples for the FAP evaluation were taken one month before (M1) and one month after (M3) the change. Milk production was higher for GDTM at week 9 compared to GCD and GDTM+P ($p = 0.0006$ and $p = 0.007$ respectively). At weeks 12 and 13 GCD had no differences with GDTM, but GCD was greater than GDTM+P ($p = 0.01$ and $p = 0.002$). Protein and lactose production (kg/d) followed the same trend as milk production ($p = 0.001$). In relation to fat production (kg/d), the GCD treatment increased after the change, from week 9 to 10 ($p = 0.004$) and remained constant until week 13, while the GDTM+P decreased from weeks 4 to 13 ($p = 0.005$). The C18: 2 CLA, omega-3 and the omega-6/omega-3 ratio showed interaction between treatment-month ($p = 0.02$). For C18: 2 CLA, all treatments decreased in M3 compared to M1, but the GDTM+P treatment did not show such a large drop, being greater than the GCD ($p = 0.001$). Omega-3 (n-3) had no differences between treatments in M1. However, GCD decreased from M1 to M3 ($p = 0.0001$) and was less than GDTM+P in M3 ($p = 0.02$). The omega-6/omega-3 (n-6/n-3) ratio in GDTM was higher than GCD and GDTM+P in M1 ($p < 0.0001$), while in M3 GDTM and GCD had a higher ratio than GDTM+P ($p < 0.0001$). The change from a mixed system to a system housed in GCD positively influenced the productive variables, but there was a decrease in some considerable healthy FAs. However, the treatment that maintained a night grazing improved healthy FAP to the detriment of milk production.

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de lácteos es clave en la alimentación mundial dado su aporte de proteínas, grasas y minerales, su consumo continúa en aumento en el orden del 2,3% anual (FIL-IDF, 2018). En los últimos años, se ha registrado una tendencia por parte de los consumidores a seleccionar productos lácteos con un PAG más saludables para el ser humano, con un contenido alto de Omega-3 (n-3) y de ácido linoleico conjugado (CLA) (Croissant, Washburn, Dean y Drake, 2007). Su interés está motivado porque se ha demostrado que el CLA presenta algunas características benéficas, como propiedades antioxidantes, anticarcinogénicas, antidiabéticas entre otras (Bauman y Griinari, 2001; Pariza, Park y Cook, 2001). Además, los n-3 son considerados ácidos grasos (AG) esenciales, los cuales deben ser consumidos diariamente ya que son utilizados en todas las etapas de la vida (Simopoulos, 1999). Hoy se sabe que la alimentación es el factor de mayor influencia sobre la composición de la grasa láctea (Dewhurst, Shingfield, Lee y Scollan, 2006) y son numerosos los estudios sobre suplementación en animales estabulados, incorporando semillas o aceites de diferentes orígenes (Donovan et al., 2000; AbuGhazaleh y Holmes, 2007), así como la suplementación en sistemas pastoriles (Rego et al., 2005; Flowers, Ibrahim y AbuGhazaleh, 2008). Se ha reportado que los sistemas pastoriles obtienen un PAG más saludables que los sistemas con DTM (Gagliostro, Páez, Taverna, 2003), con un mayor contenido de AG monoinsaturados (MUFA) y polinsaturados (PUFA) en la leche (Schroeder et al., 2003). Sin embargo, es relativamente escasa la información de los cambios que se producen en los AG de la leche cuando se pasa de un sistema de alimentación que incluye pasturas a un sistema de confinamiento y DTM en la lactancia temprana. Si bien la producción uruguaya se basa mayormente en sistemas pastoriles, lo cual sería óptimo para un buen PAG, debido a la menor área destinada a la lechería (DIEA, 2019), a las variaciones del clima y producción de forrajes, muchos productores deben realizar diferentes cambios de manejo y alimentación a lo largo del año. Uno de éstos es el encierro de los animales y alimentación con DTM, el cual puede utilizarse en el pico de producción, en el invierno cuando hay escasez forrajera o en el verano para evitar el estrés calórico (Fajardo et al., 2015; Bernabucci et al., 2015).

Esta tesis busca comparar como afecta el cambio de un sistema mixto (doble pastoreo y DTM) a un sistema de confinamiento (100% DTM) y de un doble pastoreo más DTM a un solo pastoreo nocturno más DTM en el verano sobre los parámetros productivos en vacas de parto en primavera. Asimismo se pretende estudiar cómo se ve afectado el PAG, específicamente C18:2 (n-6); C18:3 (n-3) y la relación n-6/n-3 en la leche de estos animales.

2. ANTECEDENTES

2.1. La lechería en el mundo

La producción mundial de lácteos se basa principalmente en la leche de vaca, representando un 82% del total, seguida por la leche de búfala y de cabra (OCLA, 2018). Según FIL-IDF (2018), en el año 2017 la producción de leche de vaca fue de 696 millones de toneladas, siguiendo con la tendencia de crecimiento en el orden del 2,3% anual. En cuanto al consumo de lácteos, este sigue siendo mayor en los países desarrollados. Sin embargo, los países en desarrollo han aumentado su consumo debido a un aumento en sus ingresos, el crecimiento demográfico, la urbanización y el cambio en su régimen alimentario; tal es así que desde 1960 la demanda en estos países casi se ha duplicado (FAO, 2019). Además de este fenómeno, desde hace un tiempo, los consumidores tienden a seleccionar lácteos que provengan de sistemas con mayor proporción de pasturas en la dieta de sus animales o “sistemas ecológicos” (Croissant et al., 2007). Esto se debe a que dichos sistemas presentan valores más altos de PUFA como los n-3 y CLA, en especial este último presenta mayor interés dado sus propiedades benéficas para la salud humana (Pariza et al., 2001).

2.2. La lechería en Uruguay

La producción nacional se realiza en 3718 establecimientos lecheros que ocupan un total de 827 mil hectáreas (DIEA, 2019). De estos establecimientos un 80,3% remiten a planta y los restantes elaboran productos en el propio establecimiento (DIEA, 2019). En el 2018 la producción lechera alcanzó los 2063 millones de litros, lo que indica un aumento del 6,3% con respecto al año anterior (INALE, 2019). En la última década la producción tuvo un crecimiento del 30%, con un aumento del rodeo lechero del 5% y una mejora en la relación VO/VM. Sin embargo, desde 2010 hasta el 2017 se redujo un 10% el área lechera y se perdieron más de 800 productores lecheros (DIEA, 2019). Por lo tanto, el aumento de la producción es explicado por un incremento productivo a nivel individual (litros por vaca) y en menor medida por un incremento en la carga (Chilibroste, Soca y Mattiauda, 2012).

Nuestra producción lechera se basa principalmente en pasturas implantadas (praderas, verdeos y mejoramientos) cosechada en forma directa por los animales. Sin embargo, su consumo presenta limitaciones por las características propias de las pasturas, como la estacionalidad de producción y el manejo de éstas (Wales et al., 2013). Para lograr cubrir los requerimientos de los animales se utilizan reservas forrajeras como fardos, ensilajes de planta entera y concentrados (DIEA, 2019), que son suministrados en momentos estratégicos, como la lactancia temprana o en momentos de escasez forrajera.

En Uruguay, si bien se dan partos todos los meses del año, podemos encontrar mayor concentración en dos épocas en particular, en otoño (marzo - mayo) y la otra en primavera (agosto - septiembre), siendo la primera la más importante en cantidad (Chilibroste, Ibarra, Zibil y Laborde, 2002). La razón principal que explica los partos de primavera es la idea de hacer coincidir uno de los momentos de mayor

requerimiento de las vacas, con la época de mayor producción de las pasturas (Chilibroste y Battezzato, 2003). Tras el parto, los requerimientos nutricionales aumentan rápidamente con la producción de leche, por otra parte, la ingesta de materia seca empieza a disminuir a partir de las 3 semanas antes del parto (Drackley, 1999; Grummer, Mashek y Hayirli, 2004). Al no ingresar la energía requerida, el animal entra en un balance energético negativo (BEN) que comienza pocos días antes del parto y se extiende por 10 a 12 semanas, alcanzando su nivel más negativo (nadir) sobre las 2 semanas luego del parto (Butler, 2003). Este estado produce cambios a nivel metabólico del animal y de la glándula mamaria, lo que se ve reflejado en el PAG de la leche (Chilliard, Ferlay, Mansbridge y Doreau, 2000).

En el caso de los animales paridos en primavera se enfrentan a la problemática del estrés calórico, lo que puede afectar la producción de las mismas. En los meses cálidos, debido a la combinación de temperatura y humedad alta, se ve sobrepasada la capacidad para disipar calor por parte de los animales. Esto genera que salgan de su zona de confort, resultando de un menor consumo voluntario y por lo tanto, una menor producción en litros de leche, materia grasa y proteína (Bernabucci et al., 2015; Ozrenk y Selcuk, 2008). Un estudio realizado por Saravia (2009), determinó que en condiciones de altas temperaturas los animales prefieren quedar bajo sombra sin pastorear, reduciendo su consumo total de alimento. En Uruguay, Cruz y Saravia (2008), han realizado una caracterización climática de índice de temperatura y humedad (ITH) en el período estival (promedios históricos mensuales de la serie 1961 - 1990 de los meses de diciembre a marzo), encontrando probabilidades mayores al 55% de que se presenten valores por encima del crítico en el norte del Río Negro para el mes de enero. En este escenario, los productores deben tener presentes las alternativas de manejo para evitar el estrés calórico y mantener un buen desempeño productivo.

Debido a las fluctuaciones en la disponibilidad de forraje que se presentan en diferentes épocas del año y las condiciones climáticas adversas, el sistema de confinamiento con acceso a la sombra se utiliza como manejo alternativo en el ganado lechero para reducir los efectos negativos en la producción de leche y mejorar el bienestar animal (Charlton y Rutter, 2017). En este sentido, se han realizado estudios sobre diferentes estrategias de pastoreo suplementadas con dieta parcialmente mezclada en lactancias tempranas, registrándose aumentos de producción entre un 5% al 24% a favor de los sistemas con DTM (Acosta, Karlen, Villanueva, Mieres y La Manna, 2010; Fajardo et al., 2015). Sin embargo, estos estudios toman en cuenta grandes aspectos como producción de leche, grasa y proteína, pero son muy pocos los estudios que relacionan estas estrategias con la calidad de la leche y de sus AG. En este sentido, Barca et al. (2017), estudió diferentes tiempos de acceso a pastoreo comparado con DTM en vacas con partos de otoño, logrando un PAG más beneficioso al aumentar el tiempo de pastoreo. Sin embargo, en nuestro país, no hay estudios de cómo se ve afectado el PAG en leche cuando se pasa de un sistema mixto a un sistema de confinamiento ni cuando se reducen las horas de pastoreo al pasar a un solo pastoreo nocturno en vacas con partos de primavera.

2.3. Calidad de la leche

El consumo de lácteos es clave en la alimentación mundial, dado la importancia de éstos en el aporte de proteínas, grasas y minerales que ayudan a la seguridad alimentaria (FIL-IDF, 2018). Sin embargo, además de este aspecto, en los últimos años la calidad nutricional ha sido un aspecto clave entre los consumidores, dado la conciencia que han adquirido sobre el vínculo existente entre la alimentación y la salud. En Estados Unidos, el consumo de productos lácteos provenientes de granjas orgánicas ha mostrado un crecimiento anual entre un 15% y 21% desde 1997 al 2007 (Croissant et al., 2007). Se ha documentado que los alimentos contienen componentes que pueden proporcionar beneficios para la salud humana, los cuales se conocen como “bioactivos” (Bimbo et al., 2017). La leche contiene en su MG una serie de AG como los PUFA y el CLA, los cuales han demostrado su capacidad nutracéutica (Bauman, Mather, Wall y Lock, 2006). La información generada de la investigación nacional se limita a términos porcentuales de los grandes componentes de la leche (grasa y proteína) y es muy escasa la información sobre los componentes nutracéuticos que se pueden obtener con diferentes estrategias de alimentación. Esto puede estar motivado por nuestro sistema de pago de la leche que se basa en la calidad bromatológica y el contenido de sólidos (Decreto 359/013). En este contexto, la producción nacional no está aprovechando el recurso de destacarse a nivel mundial como un país productor natural, dado que hoy el agregado de estos componentes bioactivos es netamente industrial. Esto último va en contra de la imagen de “Uruguay Natural” (Uruguay, Poder Ejecutivo, 2002, Decreto N° 328029), lo que es de gran importancia para un país exportador. Generar información respecto a cómo se afecta la calidad de la leche según la alimentación de los animales resulta importante tanto para la salud de los consumidores, como para utilizarlo como herramienta de marketing, dada nuestra producción basada en pasturas. En este encuadre productivo, es necesario determinar cómo afecta los diferentes manejos que se realizan en los sistemas lecheros sobre el PAG en leche.

2.4. Composición de la leche

Se entiende por leche al producto de la secreción mamaria natural de vacas lecheras, obtenido por uno o varios ordeños sin la adición o sustracción alguna. El ordeño debe ser total e ininterrumpido, de animales sanos, adecuadamente nutridos y no fatigados. La recolección debe ser higiénica y sin la presencia de calostro (Uruguay, Poder Ejecutivo, 1994, Decreto 315/994). Es un sistema complejo y heterogéneo, donde el agua es el solvente y da sustento físico a los demás componentes, como los que se encuentran en solución verdadera (sales, lactosa y proteínas del suero), en suspensión (micelas de caseína) y en emulsión (grasas) (Walstra, Geurts, Noomen, Jellema y Van Boekel, 2001).

La leche es secretada por la glándula mamaria de las hembras luego de dar una cría, su principal función es nutrir a la cría en los primeros meses. La lactosa es el principal carbohidrato de la leche, es un disacárido compuesto por glucosa y galactosa, su origen es la glucosa de la sangre (Alais, 1985) y es responsable del 50% de la presión osmótica de la leche, lo que define el volumen producido (Cant, Trout, Qiao y Purdie, 2002). El 80% de la proteína de la leche está constituida por

las caseínas y el 20% restante lo constituyen las proteínas del lactosuero, siendo las albúminas y globulinas las más abundantes (Walstra et al., 2001). Dentro de los minerales contiene potasio, sodio, calcio, magnesio, cloro y fosfato en mayores cantidades y se encuentran trazas de yodo, cobre, zinc y manganeso. La leche presenta enzimas, muchas de las cuales son sintetizadas en la glándula mamaria. Además, se pueden hallar enzimas de origen microbiano como las proteinasas y lipasas. Otras enzimas con actividad en la leche son la lisozima, fosfatasa y lactoperoxidasa. Las vitaminas más abundantes son el ácido ascórbico, riboflavina, tocoferoles y niacina. La leche también contiene gases disueltos, como el anhídrido carbónico, nitrógeno y oxígeno (Alais, 1985).

La MG de la leche se encuentra en forma de pequeñas gotas (glóbulos de grasa) en forma de emulsión en agua, es el componente que más varía en la leche, tanto en la cantidad como en su composición. Ésta grasa está compuesta por un 98% de triacilglicéridos (TAG) (Dewettinck et al., 2008) y el 2% restante por ácidos grasos no esterificados (AGNE), colesterol, carotenoides, vitaminas liposolubles y lípidos estructurales (Zhang, Trimble, Guo y Mak, 2010). Los AG son moléculas formadas por una cadena hidrocarbonada lineal en cuyos extremos hay un grupo carboxilo y un grupo metilo. En un estudio realizado por Jensen (2002), se identificaron aproximadamente 416 AG diferentes en la grasa láctea bovina, donde el 70% de éstos corresponden a ácidos grasos saturados (AGS), un 26% MUFA y un 4% a PUFA. Los principales AG de la leche se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Perfil de ácidos grasos (Media y Error Estándar de la Media (EEM) en la leche bovina). Adaptado de Moate, Chalupa, Boston y Lean (2007).

Ácidos grasos	Media (g/100g)	EEM
C4:0	3,13	0,68
C6:0	1,94	0,52
C8:0	1,17	0,35
C10:0	2,48	0,73
C12:0	2,99	0,85
C14:0	10,38	1,71
C14:1	1,08	0,36
C15:0	1,05	0,33
C16:0	25,18	4,98
C16:1	1,73	0,63
C17:0	0,73	0,35
C18:0	10,51	3,59
C18:1 <i>cis</i>	20,5	5,35
C18:1 <i>trans</i>	4,25	2,63
C18:2 <i>cis</i> (n-6)	3,11	2,13
C18:2 CLA	1,03	0,66
C18:3(n-3)	0,59	0,36
C20:5	0,1	0,11
C22:6	0,07	0,07
Saturados	58,83	16,89
Monoinsaturados	27,56	8,79
Poliinsaturados	4,9	3,33

CLA: Ácido linoleico conjugado; C18:3 n-3: Ácido Linolénico.

Existen 4 vías por la que se obtienen AG en la leche: directamente de la dieta, formados en el rumen (por biohidrogenación o degradación bacteriana), liberados de reservas corporales del animal y sintetizados de *novo* en la glándula mamaria (Stoop, Bovenhuis, Heck y Van Arendonk, 2009).

Los AG que provienen de la dieta son aquellos que al ser ingeridos por el animal no sufren modificación por las bacterias ruminales, pasan a la sangre y se transportan como lipoproteínas de muy baja densidad. Al llegar a la glándula mamaria son absorbidos por la lipasa lipoproteica presente en la pared capilar (Bauman y Griinari, 2001). Si bien este proceso depende de la cantidad de AG presentes en la dieta, las bacterias ruminales son altamente eficientes en su proceso y por ello la mayoría de los AG sufre modificaciones en el rumen. Ejemplos de éstos AG son ácido linoleico (C18:2 n-6) y linolénico (C18:3 n-3), ambos AG son provenientes de la dieta y llegan a la glándula mamaria preformados (Lock y Bauman, 2004).

Los AG formados en el rumen se obtienen por dos rutas: la primera ruta, son los ingeridos por el animal que sufren cambios por las bacterias ruminales debido a procesos de lipólisis y biohidrogenación, este proceso es responsable de los cambios drásticos entre los AG que se ingieren (mayormente insaturados) y los AG que salen de rumen (mayormente saturados). La segunda ruta son los AG sintetizados por las bacterias a partir de precursores carbonados (Bauman, Corl y Peterson, 2003).

Los glicolípidos, fosfolípidos y triglicéridos ingeridos en la dieta sufren el proceso de lipólisis por enzimas de origen bacteriano principalmente, *Anaerovibrio lipolytica* y *Butyrivibrio fibrisolvens* son las que tienen mayor actividad. Si bien se han reportado enzimas lipolíticas en protozoarios, saliva e incluso en las mismas plantas, éstas tienen muy baja actividad. Este proceso genera AG libres que son un paso obligatorio para la biohidrogenación (Harfoot, 1981). El proceso de biohidrogenación comienza con la isomerización de los principales PUFA presentes en la dieta, como el C18:2 y C18:3, estos son hidrogenados por dos grupos de microorganismos (grupos A y B) dependiendo de las reacciones y productos que ellos generan (Kemp y Lander, 1984). Este proceso se presenta en la Figura 1.

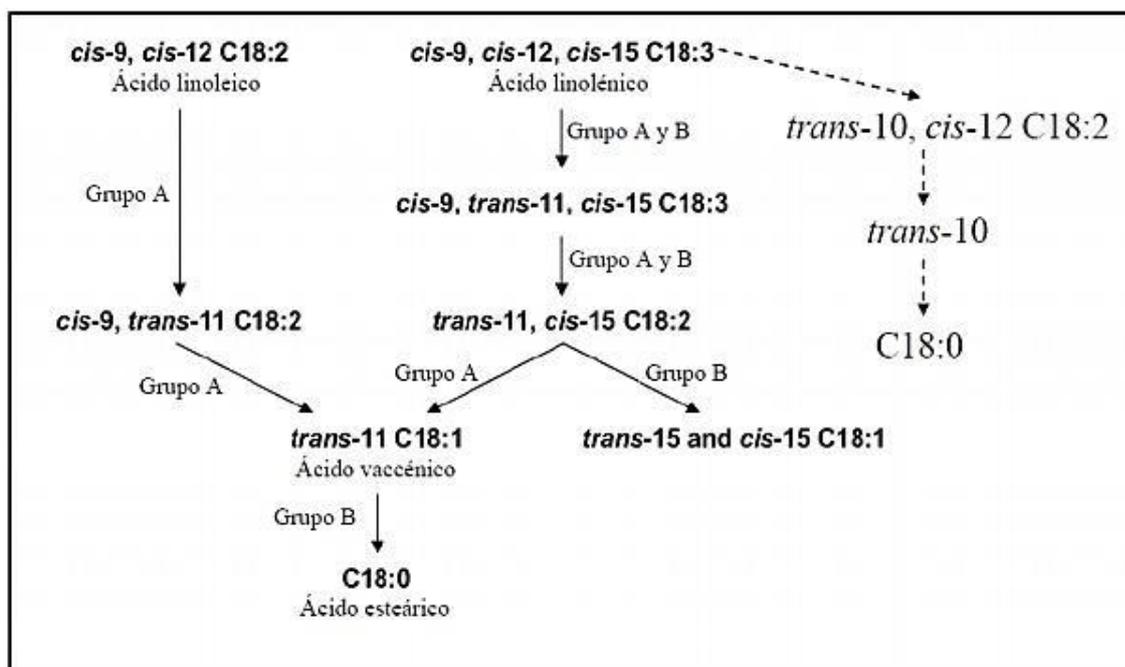


Figura 1. Biohidrogenación ruminal. Adaptado de Bauman et al. (2003).

Como se ha mencionado, la biohidrogenación ruminal reduce considerablemente la cantidad de AG insaturados que llegan al intestino, solo el 8 y el 20% del ácido linoleico y ácido linolénico respectivamente no son hidrogenados y el C18:0 es el único AG que llega al intestino en mayor cantidad de lo que es consumido en la dieta (Wu et al., 1991). Sin embargo, este proceso es incompleto, generándose algunos AG insaturados intermedios que escapan del rumen (Chilliard et al., 2000). Por ejemplo, el *cis-9, cis-12* C18:2 es isomerizado a *cis-9, trans-11* C18:2 (ácido ruménico (CLA)), luego es hidrogenado en primer término a *trans-11* C18:1 (ácido vaccénico) y luego a C18:0 (ácido esteárico). Dado que este último paso es limitante en el proceso, el ácido vaccénico tiende a acumularse (Harfoot, 1981). El CLA que se forma como intermediario del proceso y que escapa del rumen solo representa el 10% de total encontrado en la leche (Kay, Mackle, Auldish, Thomson y Bauman, 2004). El principal isómero del CLA es el ácido ruménico (*cis-9 trans-11* C18:2) sintetizado a partir de su precursor *trans-11* C18:1 vía desaturación por medio de la enzima delta 9 desaturasa presente en los lactocitos de la glándula mamaria (Griinari y Bauman, 1999). Chilliard et al. (2000), reportaron que esta enzima tienen mayor afinidad por el C18:0 y en segundo lugar por el C18:1, mostrando escasa actividad desaturasa en los AG \leq a C16:0.

La grasa que proviene de las reservas corporales se moviliza mayormente después del parto, debido al balance energético negativo (BEN) que se produce en este momento. Para compensar esa falta de ingreso energético, el animal recurre a sus reservas corporales, primeramente al glucógeno almacenado y luego comienza una movilización de sus reservas lipídicas, realizando hidrólisis de los TAG almacenados en el tejido adiposo (Lehninger, Nelson, Cox y Cuchillo, 2001). En rumiantes, el tejido adiposo almacena AG en forma de triglicéridos, mayormente C16:0, C18:0 y C18:1 *cis* (Rukkwamsuk, Geelen, Druip y Wensing, 2000). En momentos de BEN, se produce la liberación de AG provenientes de la hidrólisis de triglicéridos, gracias a la acción de la enzima lipoproteína lipasa, que se transportan en sangre como NEFA por el plasma sanguíneo para ser utilizado por la glándula mamaria. La captación de

NEFA está directamente relacionada con su concentración plasmática e incorporan AG de cadena larga en la grasa láctea (Chilliard et al., 2000).

Por último, los AG *de novo* formados por la glándula mamaria representan aproximadamente el 40% de la grasa láctea (todos los de cadena corta y el 50% de cadena media) a partir del acetato y betahidroxibutirato (Chilliard et al., 2000). Estos dos derivan de la degradación y fermentación de carbohidratos y proteínas de la dieta que son luego utilizados por las células epiteliales de la glándula mamaria. Para la formación de AG se necesita la acción de dos enzimas principales: acetil-coA carboxilasa, quien forma el malonil-CoA a partir del acetato y la ácido graso sintetasa quien condensa el malonil-CoA con acetil-CoA o butiril-CoA a partir de acetato o betahidroxibutirato (Barber, Clegg, Travers y Vernon, 2007). Esta reacción produce C14:0 y en mayor medida C16:0. Cabe destacar que acetil-coA carboxilasa se ve inhibida por la presencia de AG de cadena larga, siendo mayor el poder inhibitorio cuanto más larga su cadena carbonada y su grado de insaturación (Chilliard et al., 2000). La incorporación de AG de cadena larga es proporcional a la cantidad de éstos en el plasma sanguíneo y su absorción depende de la lipasa lipoproteica presente en la pared de los lactocitos, por lo tanto un aumento de éstos AG, como puede ser en la lactancia temprana, provoca una disminución en la formación de AG *de novo* (Chilliard et al., 2000).

2.5. Ácidos grasos de interés para la salud humana

El CLA se conoce desde los primeros estudios de Pariza y Ha (1990), realizados en la Universidad de Wisconsin-Madison, quien al investigar ciertos componentes carcinogénicos en carne de ternera a la parrilla, descubrieron que algunos AG derivados del linoleico presentaban propiedades anticancerígenas. A partir de ese momento se han realizado varios estudios en los cuales se ha demostrado los beneficios de esos AG para la salud, como la inhibición de las principales enfermedades crónicas (Calder, 2014), enfermedades aterogénicas (McGuire y McGuire, 2000), inflamatorias (Calder, 2012) y carcinogénicas (Belury, 2002), además mejoran la capacidad del sistema inmune, previenen la obesidad, poseen efectos antidiabéticos y mejoras en la mineralización ósea (Bauman y Griinnari, 2001; Pariza et al., 2001). La dosis diaria recomendada de CLA para tales efectos es aproximadamente entre 3 y 5 g/d (McGuire y McGuire, 2000; Pariza, 2004; Whigham et al., 2007).

Los AG omega-3 (n-3) como el C18:3 y los omega-6 (n-6) como el C18:2 se consideran esenciales, por lo que su consumo debe ser diario dado que el cuerpo humano no puede sintetizarlos (FAO, 2012). Los n-3 son esenciales en todas las etapas de la vida, desde el feto en el desarrollo del cerebro y retina, además durante el crecimiento mejorando la capacidad cognitiva y el coeficiente intelectual en niños (Connor, 1996). Durante la vida adulta tienen efectos antitrombóticos y antiarrítmicos, aumentan el tiempo de sangrado evitando la adherencia de plaquetas en las arterias, previene la aterosclerosis al reducir las concentraciones de colesterol en plasma y contribuyen a bajar la presión sanguínea entre otras (Simopoulos, 1999). Los n-6 en humanos pueden retrasar o controlar el desarrollo de la obesidad (Sekiya et al., 2003). Sprecher (1992), ha reportado que incrementan la oxidación de AG en el músculo y reducen la acumulación de triacilgliceroles, además en la

glándula mamaria lactante, se utilizan para la síntesis de los lípidos de la leche. Se ha reportado que la relación n-6/n-3 óptima para la salud es 4/1 (Simopoulos, 2008).

Por otro lado, la grasa láctea presenta una importante cantidad de AGS (70% aproximadamente), lo que popularmente se asocia con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Según Bauman et al. (2006), han señalado que los AGS de la leche difieren en sus propiedades y muchos de ellos no presentan efectos negativos sobre la salud del consumidor. Los AG de cadena corta como el butírico (C4:0), caprílico (C8:0) y caproico (C10:0) presentan actividades benéficas, como anticancerígena, antiviral y antibacteriana (Bauman et al., 2006). Los AG láurico (C12:0), mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0), son los contraindicados desde un punto de vista de la salud humana ya que incrementan las lipoproteínas de baja densidad, y disminuyen las lipoproteínas de alta densidad en el consumidor, generando un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares (Haug, Hostmark y Harstad, 2007). Los AG con configuración *trans* también han sido asociados a afecciones cardíacas, ya que incrementan las lipoproteínas de baja densidad a nivel sanguíneo (Haug et al., 2007). Sin embargo, en el caso de la leche la fracción *trans* está representada mayoritariamente por el C18:1 *trans*-11, el cual no presenta efectos adversos e incluso algunos autores lo han categorizado como beneficioso para la salud humana (Jutzeler van Wijlen y Colombani, 2010).

Como se ha mencionado anteriormente los sistemas que incluyen pasturas en su alimentación tienen mayores valores de MUFA, PUFA y CLA en comparación con los sistemas estabulados (Schroeder et al., 2003; Barca et al., 2017). La FAO recomienda aumentar el consumo de estos AG y disminuir los AGS para reducir el riesgo de enfermedad coronaria y alteraciones metabólicas. Esto es una gran oportunidad para nuestro país, dado la demanda internacional de leche producida en sistemas pastoriles, lo cual puede ser un nuevo nicho de exportación con un gran valor agregado, mejorando los márgenes económicos y así detener la tendencia actual de pérdida de productores lecheros.

2.6. Factores que influyen en el perfil de ácidos grasos

I. Genética

La selección genética en el sector lechero es muy importante. A lo largo de los años se han buscado animales que produzcan mayor cantidad de leche y sólidos, sin embargo la selección genética para aumentar el contenido de grasa lleva a un aumento de AG de cadena corta y un detrimento de los de cadena larga (Palmquist, Beaulieu y Barbrano, 1993). Estudios sobre la concentración lipídica y la composición de los AG en la leche realizados por Bauman et al. (2006), indicaron que existen diferencias entre e intra especies. Soyeurt et al. (2006), estudiaron 600 muestras de 275 animales de 5 razas, concluyendo que existen diferencias entre razas, donde la Jersey mostró un PAG más saludable. En cuanto a la variación entre una misma raza, Soyeurt et al. (2006), indicaron variaciones entre 41,33 a 60,91%, esto podría sugerir una heredabilidad moderada para cada componente en el PAG.

II. Factores estacionales

En un estudio realizado por Villar, Barrachina y Salcedo (2011), comparando sistemas ecológicos (con mayor incorporación de pasturas, Reglamento CEE N°2092/91) con sistemas intensivos con mayor incorporación de granos, concluyeron que en ambos sistemas el nivel de CLA bajaba en invierno, esta diferencia era mucho mayor en sistemas ecológicos debido a que la producción dependía de la pastura. Esta variación puede deberse a que la producción de CLA está relacionada a la cantidad de ácido linolénico en las pasturas, lo cual baja la cantidad de éste AG en invierno (Mel'uchová et al., 2008).

III. Balance energético

La composición de la grasa de la leche puede verse afectada por el balance energético de los animales. En general, al inicio de la lactancia, los animales entran en BEN, compensando la falta de energía con la movilización de reservas corporales (Butler, 2003). Esta movilización de reservas produce el aumento de algunos AG de cadena larga, principalmente C18:1, que produce una inhibición en la síntesis de AG *de novo* en la glándula mamaria (Chilliard et al., 2000). Gross, Van Dorland, Bruckmaier y Schwarz (2011), señalaron que este mecanismo de inhibición puede ocurrir en cualquier momento de la lactancia si los animales son sometidos a una restricción alimentaria.

IV. Alimentación

a) Estudios en estabulación con diferentes suplementos

Son numerosos los estudios que se han realizado con DTM y el agregado de suplementos. En este sentido, AbuGhazaleh y Holmes (2007), suplementaron con semillas de girasol y semillas de girasol + aceite de pescado, donde ambas dietas no afectaron la producción de leche, pero si disminuyó la cantidad de materia grasa y aumentó el contenido de CLA. Dschaak et al. (2011), suplementaron con un 3% de la materia seca con semillas de cártamo entera, resultando una estrategia efectiva para aumentar los CLA, MUFA y PUFA, sin bajar la producción de leche. Por otro lado, el aceite de pescado suplementado en DTM resultó de un aumento del CLA y ácido *transvaccénico* comparados con las vacas que no recibieron este aceite (Donovan et al., 2000).

b) Estudios en pastoreo con suplementación

Algunos estudios se han enfocado a la suplementación de los animales en pastoreo, tal es el caso de Rego et al. (2005), donde se utilizó aceite de sardina en vacas en pastoreo, dando como resultado un aumento muy significativo del CLA en leche

comparado con el grupo control. Resultados similares obtuvieron Flowers et al. (2008), con la utilización de semillas de lino y aceite de pescado. AbuGhazaleh y Holmes (2007), demostraron que la utilización de aceite de pescado y aceite de girasol fue una estrategia efectiva para aumentar los valores de CLA en vacas que pastaban sobre alfalfa. La utilización de aceites de girasol, linaza y colza mezclados con ensilado de maíz en vacas en pastoreo, permitió mantener la producción de leche, con una leve baja en la cantidad de grasa láctea, con disminución en la cantidad de AG de cadena corta y media, pero aumentando la cantidad de MUFA y PUFA (Rego et al., 2009).

c) Uso de pasturas y dietas totalmente mezcladas

Se ha reportado que la alimentación pastoril es favorable para la obtención de leche con un PAG más saludable, con aumentos en la concentración de C18:3 y CLA con respecto a las producciones exclusivas con DTM (Gagliostro et al., 2003). Ellis et al. (2006), reportaron que la utilización de pasturas como base de alimentación genera una mejora en las concentraciones de MUFA, PUFA, CLA y de compuestos intermedios de la biohidrogenación como el C18:1 *trans*, además de presentar menor relación n-6/n-3 cuando es comparada con estrategias basadas en DTM. Barca et al. (2017), en un estudio realizado en nuestro país, demostraron que existe una mayor producción de AG preformados en leche y la relación n-6/n-3 es menor en los animales que recibieron un sistema de alimentación mixto en comparación con el tratamiento DTM.

A pesar de que haya evidencia que un sistema pastoril produzca una leche con un perfil más saludable, hay momentos en los que los productores necesitan cambiar su estrategia de alimentación, ya sea con una mayor incorporación de DTM o pasar a un sistema de estabulación. Esto puede ser al inicio de la lactación, para lograr una mayor producción de leche en este período, dado que los animales no han alcanzado aún su máxima capacidad de consumo de materia seca en pastoreo (Acosta et al., 2010; Fajardo et al., 2015). Otro momento puede ser en el verano, cuando las condiciones climáticas no son favorables para el pastoreo ya que se puede generar estrés calórico en los animales (Cruz y Saravia, 2008). Pero existe poca información de cómo afectan estos cambios bruscos de alimentación y manejo realizados en ciertos momentos de la lactancia sobre el PAG.

3. HIPÓTESIS

El cambio desde un sistema mixto (doble pastoreo más DTM) a confinamiento (100% DTM) como medida de manejo en el verano en vacas con parto de primavera, mejora las variables productivas (producción de leche y sólidos) pero afecta negativamente algunos AG de interés para la salud humana como C18:2 (CLA), C18:3 (n-3), Omega-3 y la relación Omega-6/Omega-3 en leche, en comparación con vacas que se mantienen en sistemas mixtos con un sólo pastoreo nocturno más DTM.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar cómo se modifica el PAG de la grasa láctea y las variables productivas cuando las vacas cambian desde un sistema mixto (doble pastoreo más DTM) a un sistema de confinamiento (100% DTM) y desde un sistema mixto (doble pastoreo más DTM) a un solo pastoreo nocturno más DTM como estrategia de manejo en vacas con partos de primavera.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar si los cambios de manejo en vacas que cambian desde sistemas mixtos a confinamiento vs. vacas en sistemas mixtos que mantienen un pastoreo nocturno en el verano afectan:

- Producción y composición de la leche: grasa, proteína y lactosa (% y kg/d).
- El PAG de la leche específicamente: C18:2 (CLA); C18:3 (n-3) y la relación n-6/n-3.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó de setiembre de 2015 a febrero de 2016 en el establecimiento comercial “La Armonía” de PILI S.A., ubicado en el Departamento de Paysandú, ruta 3, km 407.

El siguiente trabajo fue avalado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (formulario N°149).

5.1. Diseño experimental

Fueron seleccionadas 45 vacas multíparas de raza Holando, con un promedio de lactancias de $3,1 \pm 1,2$ y un peso vivo promedio preparto de $660 \pm 82,1$ kg. La fecha de parto promedio fue 15 de setiembre ± 13 días. Éstos animales fueron bloqueados según fecha prevista de parto y producción en la lactancia anterior (leche corregida por grasa a los 305 días).

Las vacas luego del parto se asignaron a uno de los tres tratamientos: vacas confinadas y alimentadas con DTM *ad libitum* (GDTM, n = 15) durante todo el período experimental, el cual se utilizó como grupo control; vacas que cambian su dieta (GCD, n = 15) desde un sistema mixto (doble pastoreo más 25% de DTM) a un sistema de encierro y sólo DTM; vacas que se mantuvieron en sistema mixto durante todo el período experimental, pasando de doble pastoreo más 25% DTM a un pastoreo nocturno más 35% DTM (GDTM+P, n = 15). El cambio de dieta en el GCD y momento del pastoreo en el GDTM+P fue realizado el 16 de noviembre (de forma brusca), correspondiente a mes 2, 70 ± 14 días post parto (semana 9). La fecha del cambio de manejo y alimentación se fundamentó según los registros históricos de ITH, donde a partir de esta fecha se pueden esperar valores de temperatura y humedad que superen el valor crítico, por lo cual es aconsejable realizar cambios de manejos en los sistemas comerciales.

5.2. Alimentación

Los animales en pastoreo tuvieron acceso a pasturas de Festuca (*Festuca arundinacea*) y Dactylis (*Dactylis perseo*) en los meses de primavera y sorgo forrajero (*Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanensis* Var. ACA 727) a partir del 20 de diciembre.

El pastoreo se realizaba en parcelas diarias. Al momento de la entrada de los animales a la parcela, la pastura se encontraba dentro de las condiciones reportadas por Formoso (2010), para un correcto pastoreo: altura de 15 a 20 cm y una disponibilidad de 1,5 a 2 toneladas/ha de materia seca (MS).

La DTM fue formulada de acuerdo a las recomendaciones y tablas de requerimientos del National Research Council (2001) para vacas lecheras de 600 kg de peso y una producción de 40 litros de leche/día con 4% de MG. Los componentes de la dieta fueron: ensilaje de planta entera de sorgo (33%), grano seco de sorgo (12,5%), expeler de canola (16,5%), burlanda de sorgo (10%), pulpa de citrus (10%)

y cascarilla de soja (16%). Además, se adicionó un *premix* de vitaminas y minerales (1,3%) formulado a medida y urea (0,2%). Para el tratamiento GDTM, la DTM fue administrada de forma *ad libitum* (rechazo 10%). El rechazo fue medido en base a la diferencia entre la oferta y el rechazo del alimento ofrecido, una vez a la semana. En base a su consumo se determinó la suplementación de DTM para los demás tratamientos. En el primer mes de lactación (M1) los valores administrados a los tratamientos GCD y GDTM+P corresponden al 25% del total de lo que se administró al tratamiento GDTM. En el tercer mes de lactación (M3) se administró DTM *ad libitum* al tratamiento GCD de igual forma que al tratamiento GDTM, mientras que al tratamiento GDTM+P se lo suplementó con el equivalente al 35% de ese total. Los consumos de DTM para el GDTM fueron de 32,5 y 25,2 kgMS/vaca/día (para M1 y M3 respectivamente; para el GCD fueron de 10,9 y 25,2 kgMS/vaca/día (para M1 y M3 respectivamente) y para GDTM+P fueron de 11,7 y 10,8 kgMS/vaca/día (para M1 y M3 respectivamente).

Tabla 2. Composición química y perfil de ácidos grasos (PAG) en dieta total mezclada (DTM) y pasturas en dos momentos del experimento.

Componente	M1		M3	
	DTM	Pastura	DTM	Pastura
MS %	66,8	26,7	57,8	21,3
PC % MS	16,8	13,56	16,59	10,39
FDN % MS	40,4	48,94	35,66	62,01
FDA % MS	22,34	24,01	20,51	32,19
Cenizas % MS	6,5	10,05	6,03	10,87
AG, g/100 g de grasa				
C10:0	0,06	nd	Nd	Nd
C12:0	0,09	0,22	Nd	Nd
C14:0	0,41	0,63	0,14	0,55
C15:0	0,07	nd	0,05	Nd
C16:0	14,14	25,17	13,52	29,11
C:6:1 <i>cis</i>	0,41	0,26	0,63	Nd
C16:1 <i>trans</i>	0,06	1,98	0,10	1,92
C16:2	0,04	nd	Nd	Nd
C17:0	0,15	0,85	Nd	0,65
C17:1 <i>cis</i>	0,07	nd	0,11	Nd
C18:0	5,63	13,04	5,60	10,25
C18:1 <i>cis</i>	37,34	10,55	41,57	9,30
C18:1 <i>trans</i>	0,34	0,09	0,37	Nd

C18:2 <i>cis</i> (n-6)	36,82	14,67	32,62	17,88
C18:2 <i>trans</i>	0,42	0,25	0,43	0,22
C18:2 CLA	0,05	nd	Nd	Nd
C18:3 (n-3)	2,27	25,02	2,17	23,76
C18:3 (n-6)	0,03	0,31	Nd	0,34
C20:0	0,53	1,12	0,77	1,19
C20:1 <i>cis</i>	0,55	0,68	0,54	0,75
C20:1 <i>trans</i>	0,05	nd	Nd	Nd
C20:2 <i>cis</i> (n-6)	0,15	nd	0,15	nd
C21:0	0,04	0,18	0,05	0,18
C22:0	0,29	1,73	0,46	1,55
C23:0	0,14	0,22	0,10	0,47
C24:0	0,36	1,32	0,45	1,82
C25:0	0,07	0,27	0,09	0,11
C26:0	0,09	1,51	0,08	Nd
C28:0	0,03	nd	Nd	Nd
n-3	2,27	25,02	2,17	23,76
n-6	37,0	14,98	32,77	18,22
Extracto etéreo, g/100	3,48	2,29	3,14	1,91

DTM: dieta total mezclada; M1 (Mes 1); M3 (Mes 3); MS: materia seca; PC: proteína cruda; FDN: fibra detergente neutra; FDA: fibra detergente ácida; C18:2 CLA: ácido ruménico; C18:2 *cis* (n-6): ácido linoleico; C18:3 (n-3): ácido linolénico; C18:3 (n-6): ácido gamma-linolénico; nd: no detectado.

5.3. Instalaciones

En cuanto a la sala de ordeño, la misma era en forma de espina de pescado, constituida por 30 órganos unilaterales. La sala de espera era techada y presentaba un sistema de ventilación y aspersores con el fin de refrescar a todas las vacas previo al ordeño de la tarde, en los meses más calurosos de verano.

La DTM se administró en corrales abiertos “open stalls” (80 x 35 mts). Los comederos eran techados (70 x 3 mts.) con piso de concreto y techo de metal junto con un área con piso de tierra sin techo pero con sombra (50 x 30 mts). Además contaban con un área de sombra (malla sombra) para brindar un mejor bienestar a los animales. Los bebederos eran de material plástico (3,76 x 0,76 x 0,44 mts.) los

cuales proporcionaban agua *ad libitum*. Éstas medidas estaban de acuerdo con las recomendaciones para encierros en ganado lechero según Frossasco et al. (2017).

El encierro donde se administró la DTM se halló a una distancia de aproximadamente 500 metros de donde pastorearon los animales. Los animales en pastoreo no tuvieron acceso al agua mientras se encontraban dentro de las parcelas pastoreando, pero si en los momentos de la suplementación y en los ordeños.

5.4. Manejo de los animales

Todas las vacas fueron ordeñadas dos veces al día, desde las 6:00 a 7:30 hs. (primer ordeño) y de 17:30 a 19:00 hs. (segundo ordeño). Las vacas del GDTM luego de cada ordeño permanecieron en encierro consumiendo DTM *ad libitum* durante todo el período experimental. Las vacas del GCD y del GDTM+P en el manejo de primavera (desde el parto hasta la semana 9 de lactación) luego del ordeño de la mañana pastoreaban hasta las 11:00 hs, luego se encerraban y consumían DTM *ad libitum* hasta el momento del segundo ordeño. Los animales del GCD luego del cambio (semana 9), después de cada ordeño permanecieron en encierro y consumían DTM *ad libitum*, en iguales condiciones que el GDTM. En cuanto a los animales del GDTM+P luego del cambio (semana 9), después del primer ordeño permanecieron en encierro consumiendo DTM *ad libitum* (de 7:30 hasta las 17:30 hs.) y luego del ordeño de la tarde pastoreaban hasta el primer ordeño del día siguiente (de 19:00 hasta las 6:00).

5.5. Extracción de muestras y análisis de laboratorio

i. Análisis de producción de leche y composición

La producción de leche se registró de forma individual una vez por semana durante todo el período experimental, utilizando medidores de Waikato[®], sumándose las producciones de los dos ordeños. A partir de estas mediciones se tomaron alícuotas representativas de los dos ordeños que fueron mezcladas con conservante bronopol (LACTOPOL[®]) para su preservación y enviadas al laboratorio COLAVECO donde se determinó la concentración de grasa, proteínas totales y lactosa. Para este trabajo se evaluaron las semanas correspondientes al mes de lactancia (semanas 4 y 5), a los dos meses de lactancia (antes del cambio: semana 8 y después del cambio: semana 9 y 10) y tres meses de lactancia (semana 12 y 13).

Los análisis para la determinación de la composición de la leche (grasa, proteína total y lactosa) se realizaron utilizando LactoScope FT infrarrojo (FTIR) (Delta Instruments, Drachten, Países Bajos). El rendimiento y la composición de la leche se analizaron como promedio de los dos ordeños diarios.

Al mes de lactancia (un mes antes del cambio de alimentación: M1) y un mes luego del cambio de alimentación (después del cambio: M3), en cada ordeño se realizó

extracción de una muestra de leche individual por medio de medidores de Waikato®, para el análisis del PAG. Éstas fueron almacenadas a -18°C para su posterior análisis, al igual que las muestras de alimento de ese día (pastura y DTM).

A partir de las muestras extraídas en el experimento de campo, se realizó la extracción de grasa de la leche mediante la metodología Folch (1957) (solventes de extracción: Metanol y Cloroformo) en el laboratorio fisicoquímico de la Estación Experimental “Mario A. Cassinoni” (EEMAC) de la Facultad de Agronomía, Departamento de Paysandú, Uruguay.

Luego las muestras de MG fueron enviadas al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), donde se realizó una metilación de los AG según el procedimiento descrito por IUPAC 2.301 (Mossoba et al., 1996). Los ésteres metílicos de los AG se identificaron y cuantificaron utilizando un cromatógrafo gaseoso (Agilent Technologies 6890, Palto Alto, CA, USA) conectado a un espectrómetro de masa (Agilent Technologies 5973) con ionización por impacto electrónico.

La extracción de la MG de la pastura y DTM se realizó siguiendo la metodología descrita por Barca et al. (2017) y enviadas al LATU para la determinación del PAG según la metodología descrita por Mossoba et al. (1996).

ii. Análisis estadísticos

Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 2005 Cary, NC, USA.). Las variables producción y composición de leche así como las fracciones de AG en leche se analizaron mediante el procedimiento PROC MIXED. Se consideró como efectos fijos tratamiento (GDTM, GCD, GDTM+P) semana y su interacción para producción y sólidos (variables aleatorias) y tratamiento, mes (M1 y M3) y su interacción para los análisis del PAG en leche (variable aleatoria). Se realizó comparación de medias mediante el método mínimos cuadrados de la media (LSD). Los resultados se consideran significativos cuando $p \leq 0,05$ y que presentaron tendencia cuando $0,05 < p < 0,1$. Los datos son presentados como media \pm EEM.

6. RESULTADOS

6.2. Producción y composición de la leche

En la Tabla 3, se observa el efecto tratamiento (T), semana (S) e interacción tratamiento-semana (T * S) de las variables de producción de leche (L/d), proteína (% y kg/d), lactosa (% y kg/d) y grasa (% y kg/d) en los tres tratamientos: GDTM; GCD y GDTM+P.

Tabla 3. Producción y composición de la leche de los tres tratamientos (GDTM; GCD y GDTM+P) durante todo el periodo experimental (de octubre a diciembre, 2016).

	GDTM	GCD	GDTM+P	EEM	T	T * S
Producción de						
leche (L/d)	35,1	32,6	31,2	2,0	ns	< 0,0001
Proteína (kg/d)	1,07	0,98	0,93	0,06	ns	< 0,0001
Proteína (%)	3,0	3,1	3,0	0,04	ns	< 0,0001
Lactosa (kg/d)	1,73	1,57	1,50	0,09	ns	< 0,0001
Lactosa (%)	4,8	4,9	4,8	0,02	ns	Ns
Grasa (kg/d)	0,94	0,97	0,98	0,06	ns	0,014
Grasa (%)	2,5	3,1	3,3	0,1	0,02	0,003

Tratamientos: GDTM dieta total mezclada (100%); GCD: cambio de dieta; GDTM+P: dieta total mezclada + pastura. EEM: error estándar de la media. T: tratamiento; T * S: interacción entre tratamiento y semana; ns: no significativo.

No hubo efecto del tratamiento sobre la producción de leche, proteína y lactosa (kg/d), pero todas las variables mostraron interacción entre tratamiento y semana (Tabla 3). No se encontraron diferencias en la producción de grasa (kg/d) entre tratamientos. Sí hubo diferencias entre semanas e interacción entre tratamiento y semana (Tabla 3).

En relación a los porcentajes de proteína y lactosa (%), no hubo efecto del tratamiento, pero en proteína (kg/d y %) se observa interacción tratamiento y semana. En porcentaje de grasa (%) hubo efecto tratamiento e interacción entre tratamiento y semana, mientras que en kg/d solo hubo interacción entre tratamiento y semana (Tabla 3).

En la Figura 2, se observan las variables de producción de leche (L/d) (a), proteína (kg/d) (b), lactosa (kg/d) (c) y grasa (kg/d) (d) en los tres tratamientos (GDTM, GCD y GDTM+P) durante las diferentes semanas de evaluación.

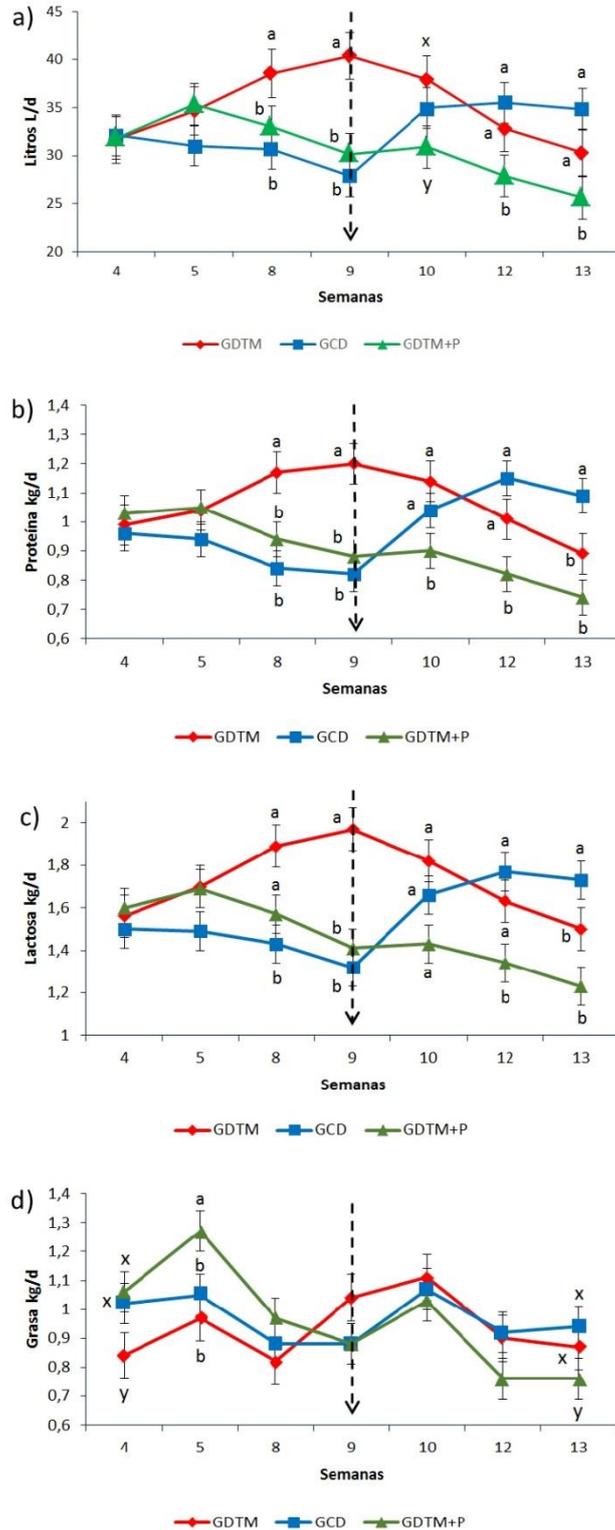


Figura 2. Producción de leche (L/d) (a), proteína (kg/d) (b), lactosa (kg/d) (c) y grasa (kg/d) (d), en los tres tratamientos: GDTM (línea roja), GCD (línea azul) y GDTM+P (línea verde) durante las diferentes semanas de evaluación (Interacción tratamiento-semana). La flecha punteada indica semana de cambio de dieta y manejo en GCD y GDTM+P. Letras diferentes (a, b) indican diferencias entre tratamientos en la misma semana cuando hubo interacción ($p < 0,05$). Letras (x, y) muestran tendencia a la interacción en la misma semana ($0,05 < p < 0,1$).

La producción de leche en las semanas 8 y 9 en GDTM ($38,5 \pm 2,5$ L/d y $40,4 \pm 2,4$ L/d) fue mayor que en GCD ($30,7 \pm 2,1$ L/d y $27,8 \pm 2,1$ L/d respectivamente; $p = 0,03$ y $p = 0,0006$). En la semana 9, la producción de leche fue mayor en GDTM en comparación con GDTM+P ($40,4 \pm 2,4$ L/d vs. $30,1 \pm 2,2$ L/d; $p = 0,007$), manteniéndose una tendencia hacia la semana 10 ($37,9 \pm 2,4$ L/d vs. $30,8 \pm 2,2$ L/d; $p = 0,06$; Figura 2a). En las semanas 12 y 13 el GCD tuvo mayor producción de leche que GDTM+P ($35,5 \pm 2,1$ L/d vs. $27,9 \pm 2,2$ L/d; $p = 0,01$; $34,8 \pm 2,1$ L/d vs. $25,6 \pm 2,2$ L/d; $p = 0,002$; respectivamente), pero no hubo diferencias entre GCD y GDTM (Figura 2a).

En las vacas del GDTM la producción de leche, aumentó desde la semana 5 a la 9 ($34,7 \pm 2,5$ L/d vs. $40,4 \pm 2,4$ L/d; $p = 0,01$), disminuyendo desde la semana 9 a la 13 ($40,4 \pm 2,4$ L/d vs. $30,3 \pm 2,4$ L/d; $p < 0,0001$). El GCD presentó una tendencia a disminuir la producción de leche desde la semana 4 a la 9 ($32,1 \pm 2,1$ L/d vs. $27,8 \pm 2,1$ L/d; $p = 0,06$), pero desde la semana 9 a la 10 aumentó ($27,8 \pm 2,1$ L/d vs. $34,9 \pm 2,2$ L/d; $p < 0,0001$) y se mantuvo en valores altos hasta la semana 13. El GDTM+P presentó un descenso sostenido desde la semana 5 a la 13 ($35,33 \pm 2,2$ L/d vs. $25,59 \pm 2,2$ L/d; $p < 0,0001$).

En relación a la producción de proteína y lactosa hubo diferencias entre semanas ($p < 0,0001$) e interacción entre tratamiento y semana ($p < 0,0001$).

En la figura 2b se observa que la producción de proteína (kg/d) fue mayor en GDTM que en GCD en la semana 8 ($1,17 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,84 \pm 0,06$ kg/d; $p = 0,002$) y 9 ($1,2 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,82 \pm 0,06$ kg/d; $p = 0,0002$). Además, fue mayor que GDTM+P en semana 8 ($1,17 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,94 \pm 0,06$ kg/d; $p = 0,03$) y 9 ($1,2 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,88 \pm 0,06$ kg/d; $p = 0,003$). En la semana 10 no hubo diferencias entre GDTM y GCD. A partir de este momento GCD produjo más proteína que GDTM+P en la semana 12 ($1,15 \pm 0,06$ kg/d vs. $0,82 \pm 0,06$ kg/d; $p = 0,0002$) y 13 ($1,09 \pm 0,06$ kg/d vs. $0,74 \pm 0,06$ kg/d; $p < 0,0001$), incluso fue mayor que GDTM en la semana 13 ($1,09 \pm 0,06$ kg/d vs. $0,89 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,05$).

En las vacas del GDTM aumentó la proteína desde la semana 4 a la 10 ($0,99 \pm 0,07$ kg/d vs. $1,14 \pm 0,07$ kg/d $p = 0,009$), para luego disminuir hacia la semana 13 ($1,14 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,89 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,0002$). En GCD la proteína disminuyó desde la semana 4 a la 9 ($0,96 \pm 0,06$ kg/d vs. $0,82 \pm 0,06$ kg/d; $p = 0,04$) y aumentó desde la 9 a la 13 ($0,82 \pm 0,06$ kg/d vs. $1,09 \pm 0,06$ kg/d; $p < 0,0001$). Las vacas del GDTM+P presentaron un leve descenso sostenido desde la semana 4 a la 13 ($1,03 \pm 0,06$ kg/d vs. $0,74 \pm 0,06$ kg/d; $p < 0,0001$).

En la figura 2c, se observa que la producción de lactosa fue mayor en las vacas del GDTM que en GCD en la semana 8 ($1,89 \pm 0,1$ kg/d vs. $1,42 \pm 0,09$ kg/d; $p = 0,005$) y semana 9 ($1,97 \pm 0,1$ kg/d vs. $1,33 \pm 0,09$ kg/d; $p < 0,0001$), y mayor que GDTM+P en la semana 9 ($1,97 \pm 0,1$ kg/d vs. $1,41 \pm 0,09$ kg/d; $p = 0,001$). En la semana 10 no hubo diferencias entre GCD y GDTM, pero si se observa una tendencia a que el GCD tuvo mayor producción de lactosa que GDTM+P ($1,66 \pm 0,1$ kg/d vs. $1,4 \pm 0,09$ kg/d; $p = 0,08$). A partir de este momento GCD produjo más lactosa que GDTM+P en la semana 12 ($1,77 \pm 0,09$ kg/d vs. $1,34 \pm 0,09$ kg/d; $p = 0,002$) y 13 ($1,73 \pm 0,09$ kg/d vs. $1,23 \pm 0,09$ kg/d; $p = 0,0003$; Figura 2c). En GDTM la producción de lactosa aumentó entre la semana 4 a la 9 ($1,56 \pm 0,1$ kg/d vs. $1,97 \pm 0,1$ kg/d; $p = 0,0002$) donde a partir de este momento comienza a caer hasta la semana 13 ($1,97 \pm 0,1$ kg/d vs. $1,49 \pm 0,1$ kg/d; $p < 0,0001$). En GCD se mantuvo constante entre la semana

4 a la 9, pero desde la semana 9 a la 12 aumentó ($1,33 \pm 0,09$ kg/d vs. $1,77 \pm 0,09$ kg/d; $p < 0,0001$) manteniéndose alto hasta la semana 13. En las vacas del GDTM+P, la producción de lactosa (al igual que la proteína) disminuyó desde la semana 4 a la 13 ($1,6 \pm 0,09$ kg/d vs. $1,23 \pm 0,09$ kg/d; $p = 0,002$).

En la figura 2d, se observa que para la producción de grasa, tanto en GCD como en GDTM+P mostró una tendencia a mayor contenido que el GDTM en la semana 4 ($1,02 \pm 0,08$ kg/d; $1,06 \pm 0,08$ kg/d; $0,84 \pm 0,08$ kg/d, respectivamente; $p = 0,08$). En la semana 5 las vacas del GDTM+P fueron mayores que GDTM ($1,27 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,97 \pm 0,08$ kg/d; $p = 0,02$) y en la misma semana fue mayor que GCD ($1,27 \pm 0,07$ kg/d vs. $1,05 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,04$). A partir de este momento no hubo diferencias entre los tratamientos, aunque el GCD tendió a ser mayor que el GDTM+P en la semana 13 ($0,94 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,75 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,08$). El GDTM entre la semana 4 a la 10 aumentó la producción de grasa en la leche ($0,84 \pm 0,08$ kg/d vs. $1,12 \pm 0,08$ kg/d; $p = 0,004$) y luego disminuyó hacia la semana 13 ($0,87 \pm 0,08$ kg/d; $p = 0,004$). Las vacas del GCD no presentaron diferencias entre la semana 4 a la 9, pero luego del cambio de alimentación y ambiente se observó un aumento de grasa en la leche desde la semana 9 a la 10 ($0,88 \pm 0,07$ kg/d vs. $1,07 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,004$) y luego se mantuvo constante hasta la semana 13. Sin embargo, entre la semana 4 y la 13 no se observaron diferencias ($1,02 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,94 \pm 0,07$ kg/d). El GDTM+P mostró un aumento de los kg de grasa diarios desde la semana 4 a la 5 ($1,06 \pm 0,07$ kg/d vs. $1,27 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,002$) para luego disminuir hasta la semana 13 ($1,27 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,75 \pm 0,07$ kg/d; $p < 0,0001$), mostrando una disminución entre la semana 4 a la 13 ($1,06 \pm 0,07$ kg/d vs. $0,75 \pm 0,07$ kg/d; $p = 0,001$).

6.2. Perfil de ácidos grasos en leche

La AG *de novo* no mostraron efecto de tratamiento, pero hubo efecto mes ($p < 0,0001$) e interacción entre tratamiento y mes ($p = 0,002$; Tabla 4). No hubo diferencia entre los tratamientos en ninguno de los meses (Tabla 5).

El porcentaje de AG *de novo* aumentó de M1 a M3 en GCD y GDTM+P ($p < 0,0001$; Tabla 4). En relación a estos AG se observó que en M1 los AG caproico (C10:0) y láurico (C12:0) fueron mayores en GDTM que en GCD ($p = 0,05$; $p = 0,02$ respectivamente) y mayor láurico que GDTM+P ($p = 0,05$; Tabla 5).

Con respecto a los AG preformados no hubo efecto tratamiento, sí hubo efecto mes ($p < 0,0001$) y tendencia a la interacción entre tratamiento y mes ($p = 0,08$; Tabla 4). Estos AG disminuyeron de M1 a M3 (50,6% vs. 37,2%; $p < 0,0001$). De ellos, esteárico (C18:0), oleico (C18:1 *cis*), linoleico (C18:2 *cis*) y linoeláidico (C18:2 *trans*), ácido ruménico (C18:2 CLA) y linolénico (C18:3) (n-3) no mostraron efecto del tratamiento, si se observa efecto mes ($p < 0,0001$) e interacción entre tratamiento y mes ($p = 0,02$; Tabla 5).

Esteárico (C18:0) no se observaron diferencia entre los tratamientos en ninguno de los dos meses y oleico (C18:1 *cis*) no mostró efecto del tratamiento, pero sí se observó efecto mes en este AG ($p < 0,0001$; Tabla 5) y tendencia a la interacción tratamiento y mes.

Con respecto al linoleico C18:2 *cis* (n-6), en M1, la concentración en leche de las vacas del GDTM fue mayor que las del GCD ($p < 0,0001$) y que las del GDTM+P ($p < 0,0001$), mientras que GCD y GDTM+P no mostraron diferencias en este mes. Respecto al linoeláidico (C18:2 *trans*), en GDTM fue menor que GCD ($p = 0,05$) y GDTM+P ($p = 0,0001$) y GCD menor que GDTM+P ($p = 0,02$). En M3 no hubo diferencia entre tratamientos tanto para linoleico como para linoeláidico (Tabla 5).

En relación al ácido linoleico conjugado (CLA: C18:2) y linolénico (C18:3 (n-3) en M1 no se observaron diferencias entre tratamientos, mientras que en M3, la leche de las vacas del GCD presentaron menor concentración de éstos AG que las del GDTM+P ($p = 0,001$; $p = 0,03$; respectivamente; Tabla 5), pero no hubo diferencia entre GCD y GDTM para ambos AG en M3.

Esteárico (C18:0), linoleico (C18:2 *cis*), CLA (C18:2) y linolénico (C18:3 (n-3) disminuyeron desde M1 a M3 en GDTM ($p = 0,007$), GCD ($p = 0,0006$) y GDTM+P ($p = 0,0001$), excepto C18:1 *cis* y C18:2 *trans* que disminuyeron solo en GCD (Tabla 5).

Los AGS no mostraron diferencias entre tratamientos ni interacción tratamiento y mes, pero sí se observó diferencia entre los meses (Tabla 4). Todos los tratamientos tuvieron mayor concentración de AGS en M3 ($70,8 \pm 0,7\%$; $p < 0,0001$; Tabla 4) que en M1 ($62,9 \pm 0,7\%$). Mientras que no hubo diferencias entre los tratamientos en cada mes (M1 y M3).

Los MUFA, PUFA, AG n-6 y n-3, no presentaron diferencias entre tratamientos, sin embargo se observó diferencia en los meses (Tabla 4). Los MUFA disminuyeron de M1 ($28,3 \pm 0,7\%$) a M3 ($24,4 \pm 0,7\%$, $p = 0,0001$), y se observó tendencia a la interacción entre tratamiento y mes ($p = 0,06$). Con respecto a los PUFA se observó interacción entre tratamiento y mes ($p < 0,0001$). En este sentido se observó que en M1, la concentración de PUFA en la leche de las vacas de GDTM fue mayor que en GCD ($p = 0,002$) y que en GDTM+P ($p = 0,0007$), sin embargo los tratamientos mixtos no tuvieron diferencias entre ellos. En M3 no hubo diferencia entre tratamientos.

En el caso del total de los n-3, en GCD disminuyó de M1 a M3 ($p = 0,0001$; Tabla 4), mientras que en los tratamientos GDTM y GDTM+P no hubo diferencias entre los meses. Se observó interacción entre tratamiento y mes ($p = 0,01$; Tabla 4). En M1 no hubo diferencia entre tratamientos, pero en M3 GCD fue menor que GDTM+P ($p = 0,02$; Tabla 4), mientras que GDTM no fue diferente a GCD pero se observó tendencia con GDTM+P ($p = 0,07$).

La suma de los AG n-6 disminuyeron de M1 a M3 en todos los tratamientos ($p < 0,0001$; $p = 0,004$; $p = 0,0001$ para GDTM, GCD y GDTM+P respectivamente; Tabla: 4), además tuvieron interacción entre tratamiento y mes ($p < 0,0001$; Tabla 4). En M1, GDTM fue mayor que GCD ($p = 0,002$) y GDTM+P ($p = 0,0009$), pero GCD y GDTM+P no presentaron diferencias. En M3 no hubo diferencia entre tratamientos.

La relación n-6/n-3 mostró diferencias entre tratamientos ($p = 0,0005$) e interacción entre tratamiento y mes ($p < 0,0001$), pero no hubo diferencia entre meses. En M1 el GDTM+P y GCD no mostraron diferencia entre ellos pero presentaron menor relación que el GDTM ($p < 0,0001$). En M3, GDTM+P tuvo menor relación que GDTM y GCD ($p < 0,0001$), mientras que entre estos últimos no hubo diferencias. En las vacas del GDTM disminuyeron desde M1 a M3 ($p < 0,0001$; Tabla 4) mientras

que las vacas GCD aumentaron de M1 a M3 ($p < 0,0001$; Tabla 4), el GDTM+P no hubo diferencias entre los meses.

Tabla 4. Clasificación de los ácidos grasos de la leche producidos por vacas Holando alimentadas con dietas mixtas (GCD y GDTM+P) o DTM (GDTM), un mes antes del cambio de alimentación (M1) y un mes después del cambio de alimentación (M3).

PAG g/100g de grasa	GDTM		GCD		GDTM+P		EEM	T	M	T * M
	M1	M3	M1	M3	M1	M3				
Saturados	64,8 Aa	71,5 Ab	61,0 Aa	70,5 Ab	63,0 Aa	70,3 Ab	2,1	ns	< 0,0001	ns
MUFA	25,4 Aa	24,2 Aa	31,5 Aa	24,9 Ab	28,2 Aa	24,0 Ab	2,2	ns	0,0001	0,06
PUFA	3,98 Aa	1,68 Ab	2,5 Ba	1,78 Ab	2,38 Ba	1,62 Ab	0,3	ns	< 0,0001	< 0,0001
Sat /Insat	2,3 Aa	2,82 Ab	1,88 Aa	2,67 Ab	2,12 Aa	2,77 Ab	0,2	ns	< 0,0001	ns
<i>De novo</i> (C4:0-C15:1)	24,7 Aa	26,0 Aa	18,2 Aa	25,6 Ab	19,8 Aa	25,1 Ab	2,5	ns	< 0,0001	0,02
Origen Mixto (C16:0+C16:1)	26,7 Aa	36,2 Ab	29,6 Aa	38,9 Ab	28,6 Aa	36,3 Ab	1,5	ns	< 0,0001	ns
Preformados (>C17:0)	48,1 Aa	37,5 Ab	52,3 Aa	35,6 Ab	51,4 Aa	38,5 Ab	3,5	ns	< 0,0001	0,08
n-3	0,13 Aa	0,10 Aa	0,42 Aa	0,07 ABb	0,40 Aa	0,35 Ba	0,08	ns	< 0,0001	0,01
n-6	3,6 Aa	1,4 Ab	2,1 Ba	1,6 Ab	2,0 Ba	1,4 Ab	0,3	ns	0,004	< 0,0001
n6/n3	12,3 Aa	8,5 Ab	5,0 Ba	9,0 Ab	4,5 Ba	4,9 Ba	0,5	0.00 05	ns	< 0,0001

Tratamientos: GDTM dieta total mezclada (100%); GCD: cambio de dieta; GDTM+P: dieta total mezclada + pastura. PAG: perfil de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media. T: tratamiento. M: mes. T*M: interacción entre tratamiento y mes. Sat/Insat: relación saturados/insaturados. Diferentes letras mayúsculas en la misma fila muestran diferencias entre los tratamientos en el mismo mes y las letras minúsculas en la misma fila muestran diferencias en los mismos tratamientos entre meses ($p < 0,05$).

Tabla 5. Perfil de ácidos grasos de la leche producidos por vacas Holando alimentadas con dietas mixtas (GCD y GDTM+P) o DTM (GDTM), un mes antes del cambio de alimentación (M1) y un mes después del cambio de alimentación (M3).

PAG g/100g de grasa	GDTM		GCD		GDTM+P		EEM	T	T * M
	M1	M3	M1	M3	M1	M3			
C10:0	3,8 Aa	3,3 Aa	2,3 Ba	2,9 Ab	2,5 Aa	3,0 Aa	0,4	ns	0,03
C12:0	3,9 Aa	3,8 Aa	2,3 Ba	3,5 Ab	2,6 Ba	3,3 Ab	0,3	ns	0,008
C15:0	1,6 Aa	2,2 Ab	1,4 Aa	2,6 Ab	1,6 Aa	2,2 Ab	0,1	ns	0,0004
C18:0	12,3 Aa	9,4 Ab	13,9 ABa	7,4 Ab	14,6 Aa	9,6 Ab	1,2	ns	0,02
C18:1 <i>cis</i>	24,0 Aa	21,9 Aa	29,4 Aa	22,1 Ab	26,2 Aa	21,5 Ab	1,8	ns	0,05
C18:2 <i>cis</i> (n6)	3,5 Aa	1,3 Ab	2,0 Ba	1,5 Ab	1,8 Bba	1,3 Ab	0,2	0,08	< 0,0001
C18:2 <i>trans</i>	0,3 Aa	0,3 Aa	0,5 Ba	0,3 Ab	0,6 Ca	0,4 Ab	0,4	0,07	0,0004
C18:2 CLA	0,8 Aa	0,6 ABb	0,8 Aa	0,3 Ab	1,1 Aa	0,7 Bb	0,1	0,055	0,02
C18:3 (n3)	0,2 Aa	0,1 Ab	0,4 Aa	0,1 Ab	0,4 Aa	0,2 Ba	0,04	ns	0,0002

Tratamientos: GDTM dieta total mezclada (100%); GCD: cambio de dieta; GDTM+P: dieta total mezclada + pastura. PAG: perfil de ácidos grasos. EEM: error estándar de la media. T: tratamiento; T * M: interacción entre tratamiento y mes. Sat/Insat: relación saturados/insaturados. ^{A,B}: Diferentes letras mayúsculas en la misma línea muestran diferencias entre los tratamientos en el mismo mes. ^{a,b}: Diferentes letras minúsculas en la misma línea muestran diferencias en los mismos tratamientos entre meses (p < 0,05).

7. DISCUSIÓN

Los cambios de manejo en los sistemas mixtos pudieron haber contribuido en las modificaciones presentadas en la producción de leche y sólidos, como también de algunos de los AG considerados benéficos para el consumo humano. El GCD presentó una mayor producción de leche luego de pasar a confinamiento. Esto podría deberse a un mayor consumo de MS y energía, lo que resulta de una mayor producción de leche (Kolver y Müller, 1998; Bargo, Delahoy, Schroeder, Baumgard y Muller, 2002; Fontaneli, Sollenberger, Littell y Staples, 2005; Vibart, Fellner, Burns, Huntington y Green, 2008; Mendoza, Cajarville, Santana y Repetto, 2011; Fajardo et al., 2015). Al comparar el grupo GCD con el GDTM+P, se observa que la producción del segundo fue menor después del cambio, lo que puede deberse a que los animales en pastura tienen un menor consumo de MS y mayores gastos de energía en actividades de caminata y pastoreo en comparación con los sistemas de DTM (Agnew y Yan, 2000; Bargo, Muller, Delahoy y Cassidy, 2002). Similares resultados obtuvieron Fajardo et al. (2015) y Aloy, Bazzano y Calvo (2017), quienes reportaron que los animales en sistemas DTM produjeron más leche en sistemas mixtos.

Los componentes de la leche siguieron la misma línea, el cambio a DTM en el GCD mejoró la producción de proteína y lactosa en un corto periodo (desde la semana 9 a la 11) que incluso llegó a superar los valores de proteína del GDTM. El aumento de proteína y lactosa podría explicarse porque al pasar a una dieta 100% DTM las vacas tuvieron mayor disponibilidad de energía, provenientes de un mayor contenido de carbohidratos no estructurales y además recibieron un mayor aporte de proteína cruda que los sistemas mixtos (DePeters y Fergurson 1992; Bargo et al., 2002; Acosta, 2017). Un aumento de energía provoca que aumente la producción de ácido propiónico, utilizado para síntesis de lactosa y proteína (Sutton y Morant, 1989), a su vez, favorece la síntesis de proteína microbiana a nivel ruminal, aumentando el aporte de aminoácidos a la glándula mamaria (Astigarraga, 2003). Un aumento de la proteína cruda puede aumentar la cantidad de aminoácidos que se absorben a nivel intestinal y que son captados por la glándula mamaria para la síntesis de proteína láctea (NRC, 2001).

El aumento de los AG *de novo* en GCD y GDTM+P luego del cambio de alimentación (M3) pudo deberse a que en M1 la síntesis de éstos AG en la glándula mamaria se encontraba bajo un efecto de inhibición debido a algunos AG de cadena larga como esteárico, oleico y linoleico. Éstos AG pueden haber provenido tanto de la movilización de reservas corporales como de los aportados por la pastura. Se ha reportado que los AG de cadena larga inhiben la producción de grasa en la glándula mamaria (Sessler y Ntambi, 1998; Lock y Bauman, 2004). Esta inhibición puede explicar porque el ácido caproico, láurico para GCD y de láurico para GDTM+P fueron menores en M1 comparados con M3 (todos AG *de novo*). Estos resultados concuerdan con los resultados de Palmquist et al. (1993) y Gross et al. (2011), donde los AG menores a 16 carbonos fueron menores en las primeras semanas de lactación. La mayor concentración AG preformados en leche en M1 (4 semanas post parto) en los 3 tratamientos en comparación con M3 podría deberse a que al mes post parto las vacas se encuentran en un periodo de alta movilización de reservas corporales (Butler, 2003; Adrien et al., 2012) que se ve reflejado en la mayor

proporción de AG de cadena larga en leche (Palmquist et al., 1993; Chilliard et al., 2000).

Lo anterior a su vez se puede sustentar en los hallazgos de Mendina (2017), quien al evaluar el estado corporal de los animales utilizados en este trabajo, reportó que todos los tratamientos a los 30 días post parto se encontraban perdiendo condición corporal (CC) (M1). Mientras que a los 100 días post parto todos los grupos se encontraban recuperando CC (coincidiendo con M3), lo que indica que la lipomovilización a esta fecha se detuvo.

Si bien los 3 tratamientos tuvieron mayor movilización de reservas en M1 que en M3, explicado principalmente por la etapa de lactancia (temprana y media), podríamos sugerir que las vacas de los tratamientos mixtos en M1 tuvieron mayor movilización de reservas que las vacas que se encontraban en confinamiento (GDTM). En un estudio realizado sobre los animales utilizados en este trabajo por Grille, Adrien, Olmos, Chilibroste y Damián (2019), mostraron que las vacas del GCD tuvieron mayor concentración de NEFA que las del GDTM en la semana 4 (M1), lo que indicaría mayor movilización de reservas en las vacas del GCD (sistema mixto). Con respecto al GDTM+P al encontrarse en las mismas condiciones de manejo y alimentación que las del GCD en M1, podrían estar transcurriendo por un mismo *status* fisiológico. A su vez, esta mayor movilización de reservas en los sistemas mixtos podría explicar la mayor inhibición de los AG *de novo* en las vacas de estos sistemas en M1 en comparación con las vacas del GDTM.

Considerando lo que ocurrió con los AG *de novo* y los preformados, podemos pensar que la mayor producción de grasa que tuvieron los animales de los sistemas mixtos en M1 en comparación con el sistema DTM, estaría dado por un mayor aporte de preformados. Éstos grupos recibieron éstos AG tanto de la movilización de reservas como de los aportados por la pastura, lo que según Kay et al. (2005), los AG preformados representan una mayor proporción en el total de la grasa láctea en la lactancia temprana. Siguiendo este razonamiento, la disminución de la grasa total en leche en M3 en GDTM+P podría ser a causa de a una menor movilización de reservas y disminución en la oferta de pasturas. Sin embargo, las vacas del GCD no presentaron diferencias en la producción de grasa entre la semana 4 y la 13, lo que pudo deberse a la mayor producción de leche que experimentaron estos animales al cambiar al sistema estabulado.

La disminución de C18:2 CLA entre M1 y M3 en GCD y GDTM+P puede ser explicado por la disminución de la oferta de pastura en la dieta en ambos grupos, dado que la misma es rica en ácido linoleico y ácido linolénico principales precursores para la formación de CLA (Kemp y Lander, 1984). A su vez, el tratamiento GDTM+P al mantener un pastoreo en M3, permaneció con niveles más elevados de éste AG en la leche en comparación con el tratamiento que cambió a un sistema estabulado con 100% DTM (GCD).

Nuestros resultados concuerdan con lo reportado por Bargo, Delahoy, Schroeder, Baumgard y Muller (2006) donde los animales que tuvieron mayor aporte de pasturas en la dieta produjeron más C18:2 CLA. Esto resalta la importancia de la incorporación de pastura en la dieta de las vacas lecheras para mejorar la calidad de la grasa láctea, principalmente por el aumento de los AG benéficos para la salud humana.

Lo mismo sucede con los resultados encontrados para C18:3 (n-3). El mayor porcentaje de éste AG en la leche de vacas que mantuvieron un pastoreo en M3 (GDTM+P) en comparación con las que cambiaron a confinamiento, también resalta la importancia de mantener una proporción de pastura en la dieta para mantener altos niveles de éste AG en leche. En este sentido, se observó que la pastura presentó mayor porcentaje de C18:3 (n-3) en comparación con la DTM. Chilliard et al. (2000), señalaron que el principal n-3 en la grasa láctea es el ácido linolénico y los rumiantes al no poder sintetizarlo deben recibirlo de la alimentación, donde según Lock y Bauman (2004), hasta un 15% de éste AG puede escapar de la biohidrogenación ruminal y pasar a la sangre para ser absorbido por la glándula mamaria. Nuestros resultados son consistentes con los trabajos de Morales-Almaraz et al. (2010) y Barca et al. (2017), quienes encontraron mayores cantidades de C18:3 (n-3) en los grupos que incluían pastura en comparación con el sistema que solo recibían DTM. La menor relación n-6/n-3 obtenida en leche de las vacas que mantuvieron un pastoreo en M3 (GDTM+P), en comparación con las del GCD y GDTM, estaría dado por mantener alta la fracción n-3 en éste tratamiento en el verano. Como se explicó anteriormente, éstos resultados podrían estar relacionados con la presencia de pastura en la dieta. Ésta explicación también se sustenta con lo ocurrido en la leche de las vacas del GCD, donde la relación n-6/n-3 aumentó cuando las vacas dejaron de consumir pastura. Además, nuestros resultados concuerdan con estudios realizados previamente por Barca et al. (2017) y Pastorini, Pomiés, Repetto, Mendoza y Cajarville (2019) donde los sistemas mixtos lograron tener una relación más baja que los sistemas en confinamiento con 100% DTM. La relación n-6/n-3 cercana a 4/1 es considerada óptima desde el punto de vista de la salud humana (Simopoulos, 2008). Por lo tanto, los bajos valores obtenidos en el tratamiento GDTM+P en M3 en comparación con los sistemas estabulados podría ser un indicador que la leche obtenida de estos animales tendría mejores características desde el punto de vista de la salud humana.

Mantener un pastoreo nocturno en el verano, si bien disminuyó la performance productiva, logró un mejor PAG en leche desde el punto de vista de la salud de los consumidores, en comparación con las vacas que cambiaron a estabulación con 100% DTM. Otro aspecto muy importante es que mantener un pastoreo en la alimentación de los animales no solo baja los costos productivos, lo cual es clave para ser sistemas competitivos a nivel comercial (Chilibroste et al., 2012), sino que también permite otorgar a los animales la capacidad de pastorear, y por tanto de mejorar desde el punto de vista del comportamiento y su bienestar (Arnott, Ferris y O'Connell, 2016).

8. CONCLUSION

Mantener un pastoreo nocturno en verano en los sistemas mixtos logró producciones más altas de algunos AG considerados saludables para el consumo humano como el C18:2 (CLA), C18:3 (n-3), suma n-3 y menor relación n-6/n-3 cuando lo comparamos con el sistema que pasó a DTM. Si bien mantener un pastoreo nocturno redujo la producción de leche y sólidos comparado con el sistema DTM, estas diferencias no fueron tan abruptas, alineándose a las producciones promedio de los sistemas comerciales de nuestro país.

Por lo tanto, mantener un pastoreo nocturno en verano podría ser es una buena herramienta de manejo para mantener una buena calidad de la grasa láctea, además de los beneficios que otorgan estos sistemas desde el punto de vista económico y del bienestar de los animales.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. AbuGhazaleh, A.A., y Holmes, L.D. (2007). Diet Supplementation with Fish Oil and Sunflower Oil to Increase Conjugated Linoleic Acid Levels in Milk Fat of Partially Grazing Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 2897-2904.
2. Acosta, Y. (2017). *Alimentación y sólidos en leche*. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Recuperado de <http://www.infolactea.com/wpcontent/uploads/2017/05/informe-1.pdf>.
3. Acosta, Y., Karlen, H., Villanueva, N., Mieres, J.M., y La Manna, A. (2010). Intensificación: el rol de la alimentación. Jornada Técnica de Lechería. Serie Actividades de Difusión No. 610. San José, Uruguay, pp: 5562.
4. Adrien, M.L., Mattiauda, D.A., Artegoitia, V., Carriquiry, M., Motta, G., Bentancur, O., Meikle, A. (2012). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the *transition* period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal Science Journal*, 6 (2), 292-299.
5. Agnew, R.E., y Yan, T. (2000). Impact of recent research on energy feeding systems for dairy cattle. *Livestock Production Science*, 66, 197-215.
6. Alais, C. (1985). *Ciencia de la leche: principios de técnica lechera*. México: CECSA.
7. Aloy, E., Bazzano, M., y Calvo, M. (2017). Combinación de diferentes niveles de forraje fresco y ración totalmente mezclada en dietas de vacas lecheras: efecto sobre el consumo, producción y composición de leche. Tesis, Facultad de Veterinaria, UDELAR, 34 p.
8. Arnott, G., Ferris, C.P., y O'Connell, N.E. (2016). Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal*, 11 261- 2731.
9. Astigarraga, L. (2003). El manejo de la alimentación como herramienta para modificar la composición química de la leche. En: Cabrera M.C., Astigarraga L, Saadoun A. Calidad de alimentos y calidad de productos de origen animal. Montevideo. Universidad de la República, p. 135-150.
10. Barber, M.C., Clegg, R.A., Travers, M.T., y Vernon, R.G. (2007). Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochimica et Biophysica*, 1347, 101-126.
11. Barca, J., Carriquiry, M., Olazabal, L., Fajardo, M., Chilbroste, P., y Meikle, A. (2017). Milk fatty acid profile from cows fed with mixed rations and different access time to pastureland during early lactation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(3), 620-629.

12. Bargo, F., Delahoy, J.E., Schroeder, G.F., Baumgardc, L.H., y Muller, L.D. (2006). Supplementing total mixed rations with pasture increase the content of conjugatedlinoleic acid in milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 226-240.
13. Bargo, F., Muller, L.D., Delahoy, J.E., y Cassidy, T.W. (2002). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, 85, 2948-2963.
14. Bauman, D.E., Corl, B.A., y Peterson, D.G. (2003). The biology of conjugated linoleic acids in ruminants. *In Advances in conjugated linoleic acid research*, 146-173.
15. Bauman, D.E., y Griinari, J.M. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livestock Production Science*, 70, 15-29.
16. Bauman, D.E., Mather, I.H., Wall, R.J., y Lock, A.L. (2006). Major Advances Associated with the Biosynthesis of Milk. *Journal of Dairy Science*, 89, 1235-1243.
17. Belury, M.A. (2002). Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: Potential mechanisms of action. *Journal of Nutrition*, 132, 2995-2998.
18. Bernabucci, U., Basiricò, L., Morera, P., Dipasquale, D., Vitali, A., Cappelli, F. P., y Calamari, L.U.I.G.I. (2015). Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1815-1827.
19. Bimbo, F., Bonanno, A., Nocella, G., Viscecchia, R., Nardone, G., De Devitiis, B., y Carlucci, D. (2017). Consumers' acceptance and preferences for nutritionmodified and functional dairy products: A systematic review. *Appetite*, 113, 141-154.
20. Butler, W.R. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, 83, 211-218.
21. Calder, P.C. (2012). Long-chain fatty acids and inflammation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 71, 284-289.
22. Calder, P.C. (2014). Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116, 1280-1300.
23. Cant, J.P., Trout, D.R., Qiao, F., y Purdie, N.G. (2002) Milk Synthetic Response of the Bovine Mammary Gland to an Increase in the Local Concentration of Arterial Glucose. *Journal of Dairy Science*, 85, 494-503.
24. Charlton, G.L., y Rutter, S.M. (2017). The behaviour of housed dairy cattle with and without pasture access: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 192, 2-9.

25. Chilibroste, P., y Battezzare, G. (2003). Proyecto de producción competitiva. Montevideo, CONAPROLE, 31p.
26. Chilibroste, P., Ibarra, D., Zibil, S., y Laborde, O. (2002). Proyecto alimentación-reproducción: Informe final-2002. [S.I.], CONAPROLE 28 p
27. Chilibroste, P., Soca, P., y Mattiauda, D. (2012). Estrategias de alimentación en Sistemas de Producción de Leche de base pastoril. Pasturas 2012: Hacia una ganadería competitiva y sustentable. Balcarce: INTA. pp. 91-100.
28. Chilliard, Y., Ferlay, A., Mansbridge, R. M., y Doreau, M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. In *Annales de zootechnie* (Vol. 49, No. 3, pp. 181-205). EDP Sciences.
29. Connor, W.E. (1996). Omega-3 essential fatty acids in infant neurological development. *Backgrounder*, 1, 1-6.
30. Croissant, A.E., Washburn, S.P., Dean, L.L., y Drake, M.A. (2007). Chemical Properties and Consumer Perception of Fluid Milk from Conventional and Pasture-Based Production Systems. *Journal of Dairy Science*, 90, 4942-4953.
31. Cruz, G., y Saravia, C. (2008). Un índice de temperatura y humedad del aire para regionalizar la producción lechera en Uruguay. *Agrociencia*, 12(1), 56-60.
32. De la Quinta, E., Garmendia, M.E., y Mutuberría, E. (2012). Variación en la producción y composición de la leche en vacas en confinamiento con inclusión de pasturas. Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay.
33. DePeters, E.J., y Ferguson, J.D., (1992). Non protein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal of Dairy Science*, 75,3192.
34. Dewettinck, K., Rombaut, R., Thienpont, N., Le, T.T., Messens, K., y Van Camp, J. (2008). Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material. *International Dairy Journal*, 18, 436-457.
35. Dewhurst, R.J., Shingfield, K.J., Lee, M.R.F., y Scollan, N.D. (2006). Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 168-206.
36. DIEA. (2019). Ministerio de ganadería, agricultura y pesca (MGAP). Recuperado de: <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2019/Anuario2019.pdf>
37. Donovan, D.C., Schingoethe, D.J., Baer, R.J., Ryali, J., Hippen, A.R., y Franklin, S.T. (2000). Influence of Dietary Fish Oil on Conjugated Linoleic

Acid and Other Fatty Acids in Milk Fat from Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 2620-2628.

38. Drackley, J.K. (1999). Biology of dairy cow during the *transition* period: the final frontier?. *Journal of Dairy Science*, 82, 2259-2273.
39. Dschaak, C.M., Noviandi, C.T., Eun, J.S., Fellner, V., Young, A.J., ZoBell, D.R., y Israelsen, C.E. (2011). Ruminant fermentation, milk fatty acid profiles, and productive performance of Holstein dairy cows fed 2 different safflower seeds. *Journal of Dairy Science*, 94, 5138-5150.
40. Ellis, K.A., Innocent, G., Grove-White, D., Cripps, P., McLean, W.G., Howard, C.V., y Mihm, M. (2006) Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *Journal of Dairy Science*, 89, 1938-1950.
41. Fajardo, M., Mattiauda, D.A., Motta, G., Genro, T.C., Meikle, A., Carriquiry, M., y Chilbroste, P. (2015). Use of mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation Holstein cows. *Livestock Science*, 181, 51-57.
42. FAO. (2012). *Fats and fatty acids in human nutrition: Report of an expert consultation*. FAO Food and Nutrition Paper No. 91. Recuperado de <http://www.fao.org/3/i1953s/i1953s.pdf>.
43. FAO. (s.f.). *Leche y productos lácteos*. Recuperado de <http://www.fao.org/dairy-production-products/products/es/>.
44. FIL-IDF. (s.f.). *World Dairy Situation 2018*. Recuperado de <https://store.fil-idf.org/wp-content/uploads/2018/10/WDS2018Preview-1.pdf>.
45. Flowers, G., Ibrahim, S.A., y AbuGhazaleh, A.A. (2008). Milk fatty acid composition of grazing dairy cows when supplemented with linseed oil. *Journal of Dairy Science*, 91, 722-730.
46. Folch, J., Lees, M., y Sloane Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
47. Fontaneli, R.S., Sollenberger, L.E., Littell, R.C., y Staples, C.R. (2005). Performance of lactating dairy cows managed on pasture-based or in freestall barn-feeding systems. *Journal of Dairy Science*, 88, 1264-1276.
48. Formoso, F. (2010) *Festuca Arundinácea, manejo para producción de forraje y semillas*. Montevideo, Uruguay, INIA. 183 p. (Serie Técnica no. 182).
49. Frossasco, B.; García, F.; Odorizzi, A.; Ferrer Martínez, J.; Buretti, MA.; Echeverría, A. (2017) Evaluación de distintos sistemas lecheros intensivos. Disponible en:

https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_evaluacion_de_distintos_sistemas_de_cheros_intensivos.pdf. Fecha de consulta: 16/05/2020.

50. Gagliostro, G., Páez, R., y Taverna, M. (2003). La composición de la grasa butirosa, una alternativa para diferenciar sistemas pastoriles. *INTA EEA Rafaela*; 98: 48-54.
51. Griinari, J.M., y Bauman, D.E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *Advances in conjugated linoleic acid research*; 1: 180-200.
52. Grille, L., Adrien, M.L., Olmos, M., Chilbroste, P., y Damián, J.P. (2019). Diet change from a system combining total mixed ration and pasture to confinement system (total mixed ration) on milk production and composition, blood biochemistry and behavior of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 1484-1494.
53. Gross, J.J., Van Dorland, H.A., y Bruckmaier, R., y Schwarz, F.J. (2011). Milk fatty acid profile related to energy balance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 78(4), 479-88.
54. Grummer, R. R., Mashek, D. G., y Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(3), 447-470.
55. Harfoot, C.G. (1981). Lipid metabolism in the rumen. En: Christie, WW. Lipid metabolism in ruminant animals. Oxford, Pergamon Press, p: 21-55.
56. Haug, A., Hostmark, A.T., y Harstad, O.M. (2007). Bovine milk in human nutrition- a review. *Lipids in Health and Disease*, 6, 25-41.
57. INALE. (2019). *Remisión a plana y composición de la leche*. Recuperado de <https://www.inale.org/estadisticas/remision-a-planta/>.
58. Jensen, R.G. (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85, 295-350.
59. Jutzeler van Wijlen, R., y Colombani, P. (2010). Grass-based ruminant production methods and human bioconversion of vaccenic acid with estimations of maximal dietary intake of conjugated linoleic acids. *International Dairy Journal*, 2, 433-448.
60. Kay, J.K., Mackle, T.R., Auldist, M.J., Thomson, N.A., y Bauman, D.E. (2004). Endogenous synthesis of *cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acid in dairy cows fed fresh pasture. *Journal of Dairy Science*, 87, 236-378.
61. Kay, J.K., Weber, W.J., Moore, C.E., Bauman, D.E., Hansen, L.B., Chester-Jones, H., Crooker, B.A., y Baumgard, L.H. (2005). Effects of week of lactation and genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 8, 3886-3893.

62. Kemp, P., y Lander, D.J. (1984). Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria. *Journal of General Microbiology*, 130, 527-533.
63. Kolver, E.S., y Muller, L.D. (1998). Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 81, 1403-1411.
64. Lock, A.L., y Bauman, D.E. (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, 39,1197-1206.
65. McGuire, M.A., y McGuire, M.K. (2000). Conjugated linoleic acid (CLA): A ruminant fatty acid with beneficial effects on human health. *Journal of Animal Science*, 77, 1-8.
66. Mel'uchová, B., Blaško, J., Kubinec, R., Górová, R., Dubravská, J., Margetín, M., y Soják, L. (2008). Seasonal variations in fatty acid composition of pasture forage plants and CLA content in ewe milk fat. *Small Ruminant Research*, 78(1-3), 56-65.
67. Mendina, G. (2017). Efecto de la estrategia de alimentación durante los primeros 180 días post parto sobre el metabolismo y parámetros reproductivos en vacas lecheras. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay.
68. Mendoza, A; Cajaville, C; Santana, A; Repetto, J. (2011). ¿Hacia una nueva forma de pensar la alimentación de las vacas lecheras? La inserción del confinamiento en los sistemas pastoriles de producción de leche. Jornadas Uruguayas de Buiatría, 39º. Paysandú, Uruguay, p. 82-90.
69. Moate, P.J., Chalupa, W., Boston, R.C., y Lean, I.J. (2007). Milk fatty acids, Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *Journal of Animal Science*, 90, 4730-4739.
70. Morales-Almaraz, E., Soldado, A., Gonzalez, A., Martinez-Fernandez, A., Dominguez-Vara, A., de la Roza-Delgado, B., y Vicente, F. (2010). Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *Journal of Dairy Research*, 77, 225-230.
71. Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., McDonald, R.E., Flickinger, B.D., y Perkins, E.G. (1996). Analysis of Cyclic Fatty Acid Monomer 2-Alkenyl-4,4-dimethyloxazoline Derivatives by Gas Chromatography–Matrix Isolation–Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3193-3196.
72. RNC. National Research Council (1989). Nutrient requirements of dairy cattle. 6a. ed. Washington, National Academy Press, 112 p.

73. NRC. National Research Council. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle: Seventh revised Edition: Update 2000. National Academy Press, Washington D.C., USA. 232 p
74. Lehninger, A. L., Nelson, D. L., y Cox, M. M. (2005). *Principios de bioquímica*. Ediciones Omega.
75. OCLA. (2018). *Lechería mundial principales aspectos*. Recuperado de <http://www.ocla.org.ar/contents/newschart/portfolio/?categoryid=8>.
76. Ozrenk, E., Selcuk, S. (2008). The effect of seasonal variation on the composition of cow milk in Van Province. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (1), 161-164.
77. Palmquist, D.L., Beaulieu, A.D., y Barbano, D.M. (1993). ADSA foundation symposium: Milk fat synthesis and modification. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Animal Science*, 76, 1753.
78. Pariza, M.W. (2004). Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 1132-1136.
79. Pariza, M.W., y Ha, Y.L. (1990). Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogens. *Medical oncology and tumor pharmacotherapy*, 7(2), 169-171.
80. Pariza, M.W., Park, Y., y Cook, M.E. (2001). The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 40, 283-98.
81. Pastorini, M., Pomiés, N., Repetto, J.L., Mendoza, A., y Cajarville, C. (2019). Productive performance and digestive response of dairy cows fed different diets combining a total mixed ration and fresh forage. *Journal of Animal Science*, 102 (5), 4118-4130.
82. Rego, O.A., Alves, S.P., Antunes, L.M., Rosa, H.J., Alfaia, C.F., Prates, J.A., y Bessa, R.J. (2009). Ácidos grasos derivados de la biohidrogenación ruminal en la grasa láctea de vacas lecheras en pastoreo suplementadas con aceites de colza, girasol o linaza. *Journal of Animal Science*, 92, 4530-4540.
83. Rego, O.A., Rosa, H.J., Portugal, P., Cordeiro, R., Borba, A.E., Vouzela, C.M., y Bessa, R.J. (2005). Influence of dietary fish oil on conjugated linoleic acid, omega-3 and other fatty acids in milk fat from grazing dairy cows. *Livestock Production Science*, 95, 27-33.
84. Rukkwamsuk, T., Geelen, M.J., Druip, T.A., y Wensing, T. (2000). Interrelation of fatty acid composition in adipose tissue, serum, and liver of dairy cows during the development of fatty liver postpartum. *Journal of Animal Science*, 83, 52-59.

85. Saravia, C. "Efecto del estrés calórico sobre las respuestas fisiológicas y productivas de vacas Holando y Jersey". Tesis de Maestría, Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Agronomía, 2009.
86. Schroeder, G.F., Delahoy, J.E., Vidaurreta, I.F., Gagliostro, G.A., y Muller, L.D. (2003). Milk Fatty Acid Composition of Cows Fed a Total Mixed Ration or Pasture Plus Concentrates Replacing Corn With Fat. *Journal of Animal Science*, 86, 3237-3248.
87. Sekiya, M., Yahagi, N., Matsuzaka, T., Najima, Y., Nakakuki, M., y Nagai, R. (2003). Polyunsaturated fatty acids ameliorate hepatic steatosis in obese mice by SREBP-1 suppression. *Hepatology*, 38(6), 1529-39.
88. Sessler, A.M., y Ntambi, J.M. (1998). Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression, *Journal of Nutrition*, 128, 923-926.
89. Simopoulos, A.P. (1999). Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 560-569.
90. Simopoulos, A.P. (2008). The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 233, 674-688.
91. Soyeurt, H., Dardenne, P., Gillon, A., Croquet, C., Vanderick, S., Mayeres, P., y Gengler, N. (2006). Variación en el contenido de ácidos grasos de la leche y la grasa láctea dentro y entre las razas. *Journal of Animal Science*, 89, 4858-4865.
92. Sprecher, H. (1992). Long chain fatty acid metabolism, polyunsaturated fatty acids in human nutrition. *Raven Press*; 13-23.
93. Stoop, W.M., Bovenhuis, H., Heck, J.M., y Van Arendonk, J.A. (2009). Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of Holstein-Friesian cows. *Journal of Animal Science*, 92, 1469-1478.
94. Sutton, J.D., Morant, S.V. (1989). A review of the potential of nutrition to modify milk fat and protein. *Livestock Production Science*, 23, 219-237.
95. Uruguay, Poder Ejecutivo, Decreto 315/994. (1994). *Reglamento bromatológico nacional*. Recuperado de <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994>.
96. Uruguay, Poder Ejecutivo, Decreto 359/013. (2013). *Sistema nacional de calidad de la leche*. Recuperado de <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/359-2013>.
97. Uruguay, Poder Ejecutivo, decreto N° 328029. (2002). *Marca Uruguay Natural*. Recuperado de <https://impo.com.uy/diariooficial/2002/06/05/documentos.pdf>.

98. Vibart, R.E., Fellner, V., Burns, J.C., Huntington, G.B., y Green, J.T. (2008). Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *Journal of Dairy Research*, 75, 471-480.
99. Villar, A., Barrachina, M., Salcedo, G. (2011). Análisis comparativo de la calidad y perfil de ácidos grasos de la leche de vacuno procedente de explotaciones con manejo convencional y ecológico. *Cría y Salud*, 30, 40-49.
100. Wales, W., Marret, L., Greenwood, J., Wright, M., Thornhill, J., Jacobs, J., Ho, C., y Auldish, M. (2013). Use of partial mixed rations in pasture based dairying in temperature regions of Australia. *Animal Production Science*, 53, 1167-1178.
101. Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A.C., Jellema, A.C., y Van Boekel, M.A. (2001). *Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos*. España, editorial Acriba.
102. Whigham, L.D., Watras, A.C., y Schoeller, D.A. (2007). Efficacy of conjugated linoleic acid for reducing fat mass: a meta-analysis in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 85, 1203-1211.
103. Wu, Z., Ohajuruka, O.A., y Palmquist, D.L. (1991). Ruminant synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *Journal of Animal Science*, 74, 3025-3034.
104. Zhang, S.O., Trimble, R., Guo, F., y Mak, H.Y. (2010). Lipid droplets as ubiquitous fat storage organelles. *BMC Cell Biol*, 11, 1-11.