

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS VETERINARIAS**



**“EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE PROTEÍNA VEGETAL SOBRE
COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO EN VACAS HOLSTEIN EN
PRODUCCIÓN”**

TESIS

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS**

PRESENTA:

LUCIO BOLIVAR HERNÁNDEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MARTÍN FRANCISCO MONTAÑO GÓMEZ

MEXICALI, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

OCTUBRE DE 2018

Efecto de la suplementación de proteína vegetal sobre comportamiento reproductivo en vacas Holstein en producción. Tesis presentada por Lucio Bolívar Hernández como requisito parcial para obtener el Grado de Maestro en Ciencias Veterinarias, que ha sido aprobada por el siguiente comité:

Dr. Martín Francisco Montaña Gómez

Director

M.C. Miguel Ángel Vega Cázares

Asesor

Dr. Martín Luis Arango Pérez

Asesor

M.C. Ramón Manuel Valenzuela Padilla

Asesor

M.C. Luis Mario Muñoz del Real

Asesor

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento para el Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y el área de posgrado de la Universidad Autónoma de Baja California por haberme brindado la oportunidad de ingresar a este programa y realizar los estudios de maestría y a la Dra. Olga Maritza Manríquez Núñez que nos orientó en todo momento.

De igual manera a todos aquellos que colaboraron en la parte práctica del trabajo, amigos y el personal de la institución que nos ofrecieron su apoyo para conseguir este proyecto.

Parte fundamental de esto fue el apoyo que brindaron cada uno de los docentes que integraron el proyecto, el MC. Miguel Ángel Vega Cazares, MC. Martín Luis Arango Pérez, MC. Ramón Manuel Valenzuela Padilla, MC. Luis Mario Muñoz del Real y a mi asesor el Dr. Martín Francisco Montaña Gómez, a los cuales les estoy sumamente agradecido por todo lo enseñado.

Al mismo tiempo, agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo recibido por un servidor y por el Dr. Martín Francisco Montaña Gómez.

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo a mis padres, que me brindaron su apoyo incondicional en todo momento y que estuvieron motivándome para poder sacar adelante este logro.

A mi hermana que siempre me brinda palabras de aliento para salir adelante en mis planes de estudio y trabajo.

Y una dedicatoria especial a mi abuelo que es una parte muy importante en mi vida y que ha sido junto con mi familia un motivo para que yo salga adelante.

LISTA DE CONTENIDO

	Pág
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIA.....	4
LISTA DE CONTENIDO.....	5
LISTA DE TABLAS.....	6
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	12
REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
Suplementación con DDGS.....	15
Suplementación con pasta de soya.....	17
Metabolitos resultantes de la degradación proteica.....	18
Nitrógeno ureico en sangre (NUS) y nitrógeno ureico en leche (NUL).....	19
Efecto de proteína sobre fertilidad.....	20
Efecto de nitrógeno ureico sobre parámetros reproductivos.....	21
Eje ovario-hipófisis.....	22
Ambiente uterino.....	23
Efectos sobre el embrión.....	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	32

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Dietas experimentales.....	26
Tabla 2. Condición corporal de la unidades experimentales.....	27
Tabla 3. Efecto de los tratamientos sobre niveles de urea y progesterona.....	29
Tabla 4. Programa de sincronización de celos.....	35

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la fuente de proteína vegetal sobre nitrógeno ureico en sangre, progesterona en sangre y fertilidad en vacas Holstein en producción. Se utilizaron doce vacas Holstein en su primer tercio de lactación. Cada unidad experimental se asignó a una corraleta con comedero individual y bebedero automático compartido para dos unidades experimentales. Las dietas se formularon en base a heno de alfalfa. En el tratamiento dos se sustituyó el 20% de la PC de la alfalfa por pasta de soya, y en el tratamiento tres por 20% de granos secos de destilería más solubles. Los muestreos de urea y progesterona se realizaron los días 0, al momento de la inseminación artificial y 20 días posteriores, realizando ultrasonografía a los 35 días post inseminación. Los resultados fueron: urea en sangre; TMT1 18.99 mg/dl, TMT2 13.44 mg/dl, TMT3 15.43 mg/ml y para progesterona en sangre T1 5.75 mg/ml T2 2.90 mg/ml, T3 4.85 mg/ml. Se encontraron diferencias estadísticas para urea y progesterona en sangre ($P < 0.05$). Además, aunque se observó diferencia estadística en la preñez ($P < 0.05$) ésta pudo deberse principalmente a alteraciones reproductivas a nivel de ovarios, sin relación alguna con los tratamientos utilizados en este experimento, por lo que se puede recomendar la sustitución del 20% de la proteína de la alfalfa en dietas para vacas en producción por cualquiera de las otras dos fuentes proteicas sin alterar comportamiento reproductivo.

Palabras Clave: Heno de alfalfa, Harina de Soya DDGS, Holstein.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the effect of source of vegetable protein on urea nitrogen in blood, blood progesterone and fertility in Holstein cows in production. Twelve Holstein cows were used in the first third of lactation. Each experimental unit was assigned to a place with automatic individual and drinking trough for two experimental units. Diets were formulated based on alfalfa hay. In the treatment two replaced 20% PC alfalfa by soybean, and in the three treatment by 20% distiller dry grains plus solubles. Urea and progesterone samples were conducted on days 0, at the time of the artificial insemination and 20 days, carrying out ultrasonography 35 days after insemination. The results were: blood urea nitrogen; TMT1 18.99 mg/dl, TMT2 13.44 mg/dl, TMT3 15.43 mg/ml and progesterone in blood T1 5.75 mg/ml T2 2.90 mg/ml, T3 4.85 mg/ml. Statistical differences for urea and progesterone were found in blood ($P < 0.05$). In addition, although there was statistical difference in pregnancy ($P < 0.05$) this could be due mainly to reproductive alterations at the level of ovaries, unrelated to the treatments used in this experiment, so it can recommend the substitution of 20% of the protein in alfalfa diets for cows in production by any of the other two protein sources without altering reproductive behavior.

Key words: Alfalfa hay, Soy flour, DDGS, Holstein.

INTRODUCCIÓN

La productividad y consecuentemente la rentabilidad de la ganadería bovina parte de la optimización de la relación costo beneficio, expresado en obtener la mayor cantidad de litros de leche. Sin embargo para que estos logros sean posibles es fundamental que el hato tenga una eficiencia reproductiva óptima. En los sistemas de producción de las vacas lecheras, la eficiencia reproductiva representa uno de los aspectos económicos más importantes a considerar para mejorar la producción de leche por vaca; así mismo, esta permite determinar junto a otros indicadores productivos la rentabilidad de las empresas ganaderas.

Desde hace tiempo, la relación existente entre la nutrición y la fertilidad de vacas lecheras ha sido objeto de estudio a nivel mundial (Whitaker y col, 1999). A medida que el nivel de producción individual de las vacas ha aumentado, asociado a la incorporación de la genética, la fertilidad ha disminuido (Marrodán, 2006). En un análisis productivo y reproductivo llevado a cabo en la cuenca lechera central santafesina desde el 2002 (n = 16,536) hasta el 2005 (n = 37,483) la tasa de concepción promedio anual disminuyó de 35 % a 33 %, con marcadas variaciones mensuales (Martino, 2006).

Existen un sin número de factores nutricionales, metabólicos y minerales capaces de afectar el rendimiento productivo y reproductivo del ganado lechero (Moraga, 2002). Si bien los macrominerales, los oligoelementos y las vitaminas tienen una cierta influencia sobre reproducción (Williamson, 2006), el consumo de energía, la ingesta de proteínas y el balance entre ambos

son factores a tener en cuenta si se desea tener una adecuada performance reproductiva (Noro y Wittwer, 2003).

En la alimentación de bovinos las fuentes proteicas son importantes para cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción; los altos costos de los insumos para la alimentación han impulsado la exploración de fuentes alternas de proteínas disponibles localmente y a bajo costo, esto sin causar otro tipo de alteraciones, problemas reproductivos de los hatos lecheros como: bajas tasas de concepción, repetición de calores, aumentos en los días abiertos y en los servicios por concepción, se han asociado con los niveles de nitrógeno de la dieta.

La mayor parte de las proteínas ingeridas por las vacas lecheras, especialmente la proveniente de las pasturas, son proteínas degradables en rumen. Estas proteínas son atacadas por las bacterias ruminales para ser transformadas en amonio (NH_3), el cuál es utilizado, conjuntamente con la energía proveniente de la dieta, para la síntesis de proteínas microbianas.

Si el suministro de energía es bajo, en relación al rendimiento diario de producción, el exceso de NH_3 producido es absorbido y transportado al hígado, como metabolito tóxico, para ser transformado en urea. Vacas suplementadas con concentrados amiláceos o fibrosos, respecto a vacas no suplementadas, presentan una menor concentración de urea plasmática producto de un mejor aprovechamiento del nitrógeno de la pastura por las bacterias ruminales (Noro y col, 2006).

HIPÓTESIS

La inclusión de distintas fuentes de proteína vegetal no tiene efecto negativo sobre los niveles de nitrógeno ureico en sangre NUS, progesterona y fertilidad de vacas Holstein en producción.

OBJETIVOS

General:

Evaluar el efecto de la fuente de proteína vegetal sobre nitrógeno ureico en sangre, progesterona en sangre y fertilidad en vacas Holstein en producción.

Específicos:

- Evaluar el efecto de los tratamientos sobre nitrógeno ureico en sangre (NUS).
- Evaluar el efecto de los tratamientos sobre la progesterona en sangre.
- Evaluar el efecto del nitrógeno ureico en sangre (NUS) sobre parámetros reproductivos.

REVISIÓN DE LITERATURA

Las recomendaciones para la concentración de proteína cruda (PC) en las raciones de las vacas lecheras varían en un rango de entre 12% y 18% para vacas en la primera parte de lactancia. Las dietas para las vacas medianas productoras (20 Kg a 30 Kg de leche/d) contienen aproximadamente 16 % de PC, la cual es administrada mediante la mezcla de forrajes y concentrados (Coleman, 1977).

Los aspectos nutricionales a considerar para optimizar la producción de leche y la fertilidad del ganado lechero son: energía, fibra, proteína, minerales, vitaminas y agua de bebida. La energía es un concepto abstracto, pero que se puede entender analizando las reservas corporales a través del depósito de tejido graso en zonas anatómicas estratégicas, tales como la base de la cola, la zona de la pelvis y los procesos transversales de las vértebras lumbares y costillas del animal (Meléndez y Bartolomé, 2016).

La pérdida en condición corporal CC durante el postparto es un fenómeno normal, debido a que los requerimientos son mayores a los aportes ofrecidos por la dieta y al nivel de consumo de alimento del animal. Así, la vaca debe recurrir a sus reservas corporales para suplir la deficiencia dietaria y de consumo de alimentos (Roche, 2015).

Acorde con Sinclair (2014), la proteína es un nutriente que debe ser considerado tanto en cantidad como en calidad. Una vaca requiere proteína tanto degradable como no degradable en el rumen. Tanto la deficiencia como un exceso de proteína tienen un impacto negativo en la fertilidad del ganado bovino lechero. Una deficiencia va a afectar dramáticamente la producción de

leche, pero también la fertilidad del animal. Un exceso de proteína también ha demostrado ser detrimental para la fertilidad de las vacas en producción.

Todo exceso de proteína es finalmente eliminado vía excremento o convertido en urea en el hígado del animal. La urea puede ser reciclada hacia el rumen del animal y reutilizada para la síntesis de proteína microbiana. No obstante, el exceso de urea podría ser tóxico para el ambiente uterino y oviducto, afectando tanto los gametos como el embrión, con la consiguiente reducción en fertilidad. Un exceso relativo de proteína también puede ocurrir cuando la dieta es deficiente en energía. Esto se va a traducir en mayores producciones de amonio ruminal y urea en el cuerpo del animal, produciendo el mismo efecto negativo mencionado (Meléndez, 2003).

En algunos estudios se ha demostrado que valores de nitrógeno ureico en leche (46 % de la urea) mayores a 16 a 19 mg/dl, sobre todo en los meses de verano, se han asociado con fertilidad reducida; no obstante otros estudios no han encontrado esta asociación negativa. Últimamente se ha dilucidado que la correlación fenotípica entre el nitrógeno ureico en leche y la fertilidad es casi cero, e incluso la correlación genotípica entre ambas características es levemente positiva, sugiriendo que niveles elevados de urea en leche se asocian a niveles elevados de fertilidad en el ganado lechero (Mucha, 2011).

Sobre esto, Patton (2014), sostiene que independientemente de la asociación entre urea y reproducción, la nutrición proteica debe ser balanceada en calidad y cantidad, incluyendo el balance aminoacídico, y debe ir acompañada de un aporte energético suficiente para optimizar la síntesis proteica microbiana a nivel ruminal, además de que los minerales son importantes componentes estructurales, de enzimas, y cofactores que permiten

que el organismo funcione en forma adecuada, incluyendo los procesos reproductivos.

Al igual que los minerales, las vitaminas son nutrientes esenciales que se requieren en cantidades pequeñas. Las vitaminas A, D y E deben ser aportadas en la dieta porque el animal no las sintetiza; en cambio las vitaminas del complejo B y la vitamina C pueden ser producidas por los microorganismos del rumen, y por lo tanto, solo requieren ser aportadas en situaciones extremas de producción de leche. Las vitaminas A y E son muy importantes para los procesos reproductivos (retención de membranas fetales, mortalidad embrionaria, repetición de calores, etc.), sobre todo relacionado al estrés oxidativo que ocurre durante el parto (Dudoc, 2012).

Suplementación con granos secos de destilería mas solubles DDGS

Abdelqader y Oba (2012), en un experimento realizado con la finalidad de evaluar el efecto de la inclusión de los DDGS de trigo y maíz en niveles crecientes sobre el consumo de materia seca, producción, composición de leche, eficiencia alimenticia, metabolitos en plasma y fermentación ruminal de vacas lecheras, cuyos tratamientos fueron; control T1: pasta de canola como principal fuente de proteína; T2: DDGS 20% de inclusión, T3: 15% de inclusión con mezcla de 50% DDGS de trigo y 50% DDGS de maíz, sustituyendo el 15% del materia seca de la dieta y T4: DDGS 15% de trigo en la dieta. Supliendo el 35% de la proteína en la dieta. Las vacas alimentadas con DDGS tendieron a disminuir la digestibilidad de la PC de la dieta comparado con el tratamiento control, mientras que la concentración de amonio en rumen, nitrógeno ureico en plasma y nitrógeno ureico en leche fueron mayores, pero la proteína de la

leche tendió a disminuir, más la producción de leche no tuvo diferencias significativas. Los niveles de NUS fueron los siguientes; mg/dL 16.8, 21.8, 18.6 19.2 respectivamente para cada tratamiento ($P < 0.05$) y para nitrógeno ureico en leche NUL mg/dL; 10.0, 11.3, 10.4, 11.0 respectivamente para cada tratamiento ($P < 0.05$) en este estudio se muestran diferencias significativas entre estas dos variables debido a los cambios en la proteína degradable en rumen (RUP) más aún son niveles que se encuentran dentro de los rangos normales por lo que no se afectan los parámetros productivos de las vacas Holstein en producción.

En un experimento realizado por Benchaar et al. (2013), en el cual utilizaron doce vacas Holstein asignadas bajo un diseño de Cuadro Latino 4 x 4, en un periodo de 35 días y bajo alimentación *ad libitum*, incluyendo niveles de 0, 10, y 30% DDGS en la dieta, los niveles de MUN reportados fueron 11.1, 10.0, 9.9, 10.6 respectivamente, no observándose diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.05$). La excreción total de N (urinario y fecal; g/d) aumentó a medida que aumentó la cantidad de DDGS suplementada. La eficiencia de la utilización de N (secreción de N de leche como proporción de la ingesta de N) disminuyó linealmente en respuesta al incremento de DDGS suplementado. Al mismo tiempo, el N productivo aumentó linealmente con proporciones crecientes de DDGS en la dieta, lo que sugiere una mejor eficiencia del uso de N por el animal. En base a los resultados obtenidos, estos autores recomiendan la utilización de DDGS a un nivel de hasta 30 % de la dieta.

En un experimento realizado con la finalidad de evaluar el efecto de la inclusión de granos secos de destilería con solubles de trigo (W-DDGS) o

mezcla de maíz con trigo (B-DDGS) como principal fuente de proteína (PC), en dietas con alto o bajo contenido de proteína cruda en la alimentación de vacas lecheras sobre la función ruminal, síntesis de proteína microbiana, flujos de nutrientes omasales, reciclaje de N-ureico y producción de leche, se utilizaron ocho vacas Holstein. Los tratamientos fueron el tipo de co-producto de destilería (W-DDGS) vs (B-DDGS) así como el contenido de proteína (15% vs 17%). Los valores de nitrógeno ureico en leche (MUN;mg/dl) fueron: 12.9, 12.3, 14.8, 15.8 respectivamente. Para nitrógeno ureico en plasma (NUP;mg/dl) fueron 16.3, 15.4, 18.5, 19.5 respectivamente ($P > 0.05$). Acorde con estos autores (Chibisa y Mutsvangwa, 2013), la inclusión de cualquiera de estos dos subproductos de la destilería y en estos niveles de inclusión y porcentaje de proteína es recomendable.

Al mismo tiempo, se ha demostrado que la utilización de DDGS provenientes de diversas fuentes no afecta adversamente tanto el comportamiento productivo como reproductivo de vacas Holstein alimentadas con una dieta con 16% PC. Además, en este experimento realizado por Kleinschmit et al. (2006), los resultados de MUN mg/dl no fueron estadísticamente significativos.

Suplementación con Pasta de Soya

Santos et al. (1998), al reemplazar pasta de soya con suplementos ricos en proteína de sobrepaso, observaron una disminución de la síntesis de proteína microbial en 22 de 29 comparaciones de 15 experimentos de metabolismo. Estos autores concluyeron que incrementando la proteína no

degradable en rumen (RUP) en dietas de vacas lecheras conduce a un inadecuado suplemento de proteína degradable en rumen (RDP), un cambio en el perfil de aminoácidos absorbidos y un inconsistente mejoramiento en la producción de leche. Por su parte, Sanchez y Claypool, (1983), al estar evaluando el efecto de la suplementación de pasta de canola, pasta de algodón y pasta de soya (extraída con solventes), observaron que la producción de leche fue similar.

En un experimento mediante el cual se compararon 4 dietas con diferente fuente y contenido de PC, se observó que la producción de leche no fue afectada significativamente ($P > 0.05$) por las dietas. Sin embargo, el rendimiento de la leche tendió ($P=0.08$) a ser más bajo para los animales alimentados con dietas bajas en PC, aun cuando fueron suplementadas con una fuente alta de PNDR (Olmos y Broderick, 2006).

Estos mismos autores observaron una tendencia de mayor consumo de materia seca ($P=0.09$), mejor ganancia de peso ($P=0.1$) y menor conversión alimenticia (litros de leche producidos / kg de materia seca ingerida) ($P=0.06$), en respuesta al incremento de la PC de la dieta, lo cual aumenta el consumo de materia seca sin mejorar la producción, provocando una menor eficiencia alimenticia. Al mismo tiempo Sannes et al. (2002), reportaron un incremento significativo del consumo de materia seca en respuesta al incremento de PC de la dieta, del 12.7% al 19.1%, sin afectar sobre rendimiento de leche.

Metabolitos resultantes de la degradación proteica

Las proteínas son nutrientes esenciales formados por unidades básicas llamadas aminoácidos, que en la leche forman la proteína llamada caseína. Desde el punto de vista nutricional, la calidad de los alimentos proteicos está determinada por el contenido total de proteína verdadera o metabolizable y su composición en aminoácidos. En el caso de los rumiantes, la proteína puede ser degradada en el rumen por los microorganismos -proteína degradable- o puede resistir el ataque de los microorganismos y pasar intacta al intestino -proteína no degradable o by pass-. La proteína degradable se convierte principalmente en amonio $\text{-NH}_3\text{-}$, que es utilizado por los microorganismos para producir sus propios aminoácidos y proteínas. El resto del amonio es absorbido y llevado al hígado para ser convertido en urea, ya que el amonio es tóxico para el animal.

La urea es transportada por todo el organismo para ser excretada por orina, saliva, y leche. Además puede llegar al útero y cuando se encuentra en exceso puede afectar los procesos reproductivos, a través de posibles efectos tóxicos sobre el óvulo, los espermatozoides y el embrión.

Nitrógeno ureico en sangre (NUS) y Nitrógeno ureico en leche (NUL)

La urea contiene un 46% de nitrógeno, que al medirlo en sangre se le denomina nitrógeno ureico sanguíneo -NUS- y refleja el metabolismo de la proteína en los mamíferos. Así, si hablamos de 35 mg de urea, es lo mismo decir 16 mg de nitrógeno ureico, ya que es el 46% de los 35 mg. La urea se equilibra rápido en los fluidos corporales, incluyendo la leche. El NUS se encuentra en un rango de 10 a 30 mg/dl de sangre. En la leche cerca de un 2 a

3% del nitrógeno total es nitrógeno ureico -NUL- y tiene una alta relación con el NUS.

Cuando el nivel de proteína en la dieta se encuentra elevado, o cuando no hay suficiente energía para darle un uso eficiente a la proteína a nivel del rumen, los niveles de amonio y, por ende de urea, aumentan en sangre. Además existe una variación diurna del NUS y el NUL, que alcanza su nivel máximo dos horas después de la última comida. Por lo tanto, el momento en que se ofrecen las dietas son un factor preponderante sobre los niveles de urea que el animal alcanzará en sangre y en leche, un factor a tener presente a la hora de interpretar los análisis de urea en leche tanto a nivel individual como a nivel de hato.

Efecto de proteína sobre fertilidad

La fertilidad es una característica de baja heredabilidad, que por lo tanto depende en gran medida de factores ambientales y de manejo. La nutrición, el sistema de estabulación, el clima y el manejo en general juegan un rol fundamental para alcanzar las metas reproductivas. Los procesos fisiológicos del organismo tienen diferentes prioridades nutricionales. En general, las funciones reproductivas tienen una prioridad baja comparado a otros procesos como la lactancia. Por lo tanto, bajo ciertos periodos de altas demandas nutricionales durante la lactancia, los nutrientes se dirigen preferentemente hacia la glándula mamaria para la síntesis de leche, y otros órganos como el útero o los ovarios se verán desprovistos de nutrientes esenciales. Como resultado de esta redistribución, pueden ocurrir desbalances hormonales,

anestro, quistes ováricos, mortalidad embrionaria y, por ende, fertilidad reducida.

El impacto negativo del exceso de proteína dietaria, rica en proteína soluble y proteínas altamente degradable ha sido bien documentada. Sin embargo este tópico es aún controversial, debido a que otros estudios no han encontrado un efecto negativo del exceso de proteína sobre la fertilidad del ganado. El mecanismo por el cual el exceso de proteína puede afectar la fertilidad puede relacionarse al aumento en la producción de amonio ruminal y, en consecuencia, urea en sangre, cuyo exceso puede tener un potencial efecto negativo sobre los órganos reproductivos, los niveles hormonales, el embrión, los espermatozoides y el óvulo.

La alta producción de leche en las vacas depende de los altos niveles de proteína y energía en la dieta. En dependencia de la cantidad y composición de la proteína, pueden disminuir las concentraciones séricas de progesterona, alterarse el ambiente uterino y menguar la fertilidad.

Efectos de nitrógeno ureico sobre parámetros reproductivos

Bach (2004), en un estudio sobre el efecto del incremento de proteína cruda (PC) en la dieta (13-20 %) encontraron que las vacas que consumieron una dieta con mayor porcentaje de PC, tuvieron un mayor intervalo del parto a la primera ovulación; esto ocurrió solamente en las vacas con problemas de salud posparto, como quistes ováricos, retención placentaria, distocia y metritis. Normalmente los excesos de proteína cruda son degradados a amoníaco por

los microorganismos ruminales; este es absorbido por la circulación porta y rápidamente convertido en urea por el hígado. Las concentraciones de nitrógeno ureico en el plasma (NUP) por encima de 19 mg/dl fueron asociadas con un porcentaje de gestación reducido en vacas lecheras.

La elevación de urea y amoníaco en sangre puede conllevar a dos efectos dañinos diferentes:

- En primer lugar, pueden tener un efecto tóxico directo en el óvulo, los espermatozoides y los embriones jóvenes.
- En segundo lugar, el amoníaco puede causar trastornos en el metabolismo intermediario e influir en las concentraciones sanguíneas de glucosa, lactosa, ácidos grasos libres y urea, así como en la función endocrina y del cuerpo lúteo.

No todos los investigadores han encontrado una relación negativa entre el porcentaje de proteína en la dieta y la reproducción, lo cual sugiere que otros factores tales como la producción de leche, el estado energético del animal y el manejo reproductivo pueden contribuir a mitigar los efectos nocivos del exceso de proteína.

Eje ovario-hipófisis

Se ha planteado la hipótesis que la concentración de LH, y por tanto de progesterona, podrían verse afectadas por elevados niveles de proteína en la ración. Sin embargo, vacas alimentadas con raciones de 16 a 19% de proteína bruta tiene similares concentraciones de LH y relacionando un exceso de proteína bruta con la concentración de progesterona sería a través del balance

energético negativo en vacas al comienzo de la lactación, por el gasto de glucosa y el consumo energético extra que supone transformar el amoníaco en urea (Deiros, 2004).

Ambiente uterino

Estos últimos autores también sostienen que las fuentes proteicas pueden desencadenar problemas de tipo reproductivo en vacas próximas al servicio, ya que producen un aumento del amoníaco (NH_3), con el posterior incremento en la concentración del Nitrógeno Ureico Sanguíneo (NUS) una vez realizado el ciclo de la urea en el hígado.

La concentración de amoníaco en el fluido uterino es relativamente mayor a la concentración en el plasma, ejerce efectos directos sobre el ambiente uterino disminuyendo su pH, que normalmente se encuentra con un valor de 6,8 en el estro y de 7,1 al día 7 del ciclo estral. Las muertes embrionarias precoces suceden antes de los 13 días pos fecundación, donde es realizado el reconocimiento materno de la gestación. Los niveles de NUS sobre los 19 mg/dl se asocian con bajas de fertilidad de 19 a 20%. Las mediciones del NUS pueden ser utilizadas como herramienta para establecer posibles interrelaciones entre éste, el pH y la función reproductiva de vacas alimentadas con fuentes de proteína altamente degradable en el rumen (Deiros, 2004).

Efectos sobre el embrión

Acorde con Acedo (2004), un exceso de proteína tal que reduzca los niveles de progesterona podría ocasionar mortalidad embrionaria en torno al día 17 pos inseminación debido a la pérdida del efecto protector de ambos compuestos frente a la respuesta inmunitaria de la madre. En resumen, el exceso de proteína afecta negativamente la función reproductiva bien empeorando el balance energético, bien afectando la supervivencia del embrión directa o indirectamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La presente investigación se realizó durante los meses de diciembre de 2016 a febrero de 2017, en las instalaciones de la Unidad de Producción Lechera del Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma de Baja California, en el noroeste de México con una latitud de 32°40', una longitud de 115°28', una altitud de 10 m sobre el nivel del mar y condiciones desérticas, ubicada en km 3.5 carretera a San Felipe. Fracc. Laguna Campestre, Mexicali, Baja California, México.

Material biológico

Se utilizaron 12 vacas Holstein en su primer tercio de lactación, de 2 o 3 partos, libres de problemas de salud. Cada unidad experimental se asignó aleatoriamente a una corraleta con comedero individual y bebedero automático compartido para dos unidades experimentales con acceso al agua *ad libitum*. Las dietas se ofrecieron por partes iguales diariamente a las 07:00 y 15:00 hrs. Los animales consumieron las dietas *ad libitum*, asegurándose que en el comedero quede alrededor del 5% del total ofrecido.

El experimento tuvo una duración de 14 días de adaptación a las dietas (tratamientos) y 40 días para la inseminación, toma de muestras y diagnóstico de gestación. La sincronización consistió en la aplicación de doble inyección con 25mg PGF₂α, una el día cero y a los once días posteriores a la primera aplicación para las vacas que no entraron en celo con la primera aplicación. Además de 100 µg de GnRH esto en el momento de la inseminación y se

tomaron muestras de sangre de la vena coccígea, con aguja vacutainer calibre 21 y tubo tapón rojo de 10 ml sin anticoagulante para analizar N-ureico y progesterona y se tomó muestra de leche para obtener la correlación entre el NUS y NUL.

Tratamientos

Los tres tratamientos consistieron en la fuente de proteína vegetal suplementaria: TMT1: Dieta tradicional a base de heno de alfalfa (Control); TMT2: harina de soya; TMT3: DDGs. Las dietas se prepararon 2 veces por semana, tanto el forraje como el concentrado se prepararon de manera separada. Se almacenó en cajones de madera, que se situaron frente a las corraletas. La dieta total por día se ofreció por partes iguales diariamente a 08:00 y 15:00 h. Las dietas experimentales se muestran en el cuadro 2. Se administró primero el forraje y por encima de este el concentrado, el cual incluyó el suplemento proteico.

Tabla 1. Dietas Experimentales (%BMS).

	TMT1	TMT2	TMT3
Ingrediente			
Alfalfa heno, 32% FAD	67.90	67.90	67.62
Concentrado comercial, 18% PC	31.67		
Soya, pasta, 55% PC		4.00	
DDGs			16.25
Maíz rolado		27.67	15.70
Fosfato dicálcico	0.43	0.43	0.43
TOTAL	100.00	100.00	100.00

Composición, % MS

MS	89.71	89.75	90.18
ENL (Mcal/kg)	1.53	1.53	1.53
PC	18.6	18.0	18.4
Extracto etéreo	3.40	3.27	4.37
FC	17.13	17.17	18.24
FAD	22.59	22.72	24.98
FND	31.75	31.74	37.47
Ca	1.06	1.07	1.07
P	0.32	0.34	0.39

Tabla 2. Condición Corporal de las Unidades Experimentales

UE*	104	142	158	5065	98	147	153	190	204	169	5167	5332
CC**	3.5	2.5	2.75	3.0	4.0	2.5	3.5	3.5	4.0	4.0	2.5	4.0

*Unidad experimental.

**Condición Corporal al inicio de la prueba.

Análisis de la información

Se utilizó un diseño Completamente al Azar para evaluar el efecto de los tratamientos sobre NUS y P₄, y se utilizó la prueba de Chi Cuadrada para evaluar la diferencia de fertilidad entre los tratamientos. Se consideró diferencia estadística significativa cuando ($P \leq 0.05$; Hicks, 1973).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los tratamientos sobre nitrógeno ureico en sangre (NUS).

En nuestro experimento se observaron efectos significativos ($P < 0.05$) entre tratamientos sobre NUS, especialmente entre los tratamientos 1 y 2. Las medias generales observadas para los tratamientos 1, 2 y 3 fueron de 18.99, 13.44 y 15.43 mg/dl respectivamente. Por su parte Benchaar (2013), sostiene que se pueden incluir hasta un 20 a 30 % de DDGS en la dieta sin riesgo de aumentar los niveles de NUS a valores no recomendados. Kleinschmit et al. (2006), en su experimento con tres diferentes fuentes de DDGS y obtuvo resultados similares de NUS; 9.4, 9.47, 9.58 mg/dl respectivamente para cada tratamiento con un porcentaje de proteína en sus dietas igual al nuestro de 16% PB. Acorde con Ferguson et al. (1993), las dietas proteicas que no producen concentraciones plasmáticas superiores a 20 mg/dl no parecen comprometer la fertilidad de las vacas lecheras. Hammond (1997), reportó que concentraciones de nitrógeno ureico inferiores a 7 mg/dl se pueden considerar como indicadores de deficiencias de proteína en la dieta de vacas y novillos sanos, y concuerda con Butler (1998), que concentraciones superiores a 19-20 mg/dl de nitrógeno ureico se han asociado con una reducción en las tasas de concepción y preñez en vacas lecheras.

Efecto de los tratamientos sobre progesterona en sangre.

Los niveles de progesterona mostraron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$), entre el tratamiento 1 y 2. Las medias generales observadas para los tratamientos 1, 2 y 3 fueron de 5.75, 2.90 y 4.85 ng/dl respectivamente. Subramanian et al. (2016), al utilizar DDGS a un nivel de 17 % de la ración, reportaron una respuesta similar a la observada en el presente estudio, obteniendo niveles de 7.9 y 5.4 ng/dl para multíparas y primíparas respectivamente, sin alterar el comportamiento reproductivo y función ovárica. Acorde con Butler (1998), porcentajes elevados de proteína en la dieta pueden provocar un descenso en el pH uterino que, en combinación con bajos niveles de progesterona pueden propiciar un ambiente uterino hostil para el embrión.

Para el caso de la pasta de cacahuate la progesterona aumentó considerablemente, aunque hacen falta más estudios para compararla ya que hay muy poca información disponible.

Efecto de los tratamientos sobre la fertilidad

En nuestro experimento observamos un porcentaje general de preñez del 67%, distribuyéndose en 75, 25 y 100 para los tratamientos 1, 2 y 3 respectivamente. Es importante aclarar que aunque de acuerdo con el análisis de Chi cuadrada realizada se observó diferencia estadísticamente significativa, dos de las unidades experimentales asignadas al tratamiento 2 fueron diagnosticadas con problemas reproductivos, por lo que consideramos que fue esta la causa y no los tratamientos los que originaron la baja fertilidad observada. Elrod (1993), reportó que la tasa de concepción al primer servicio fue de 82 % para las vaquillonas que recibieron una dieta con niveles normales de proteína y 61% para las que recibieron la dieta con altas concentraciones de proteína. Por otra parte, se sabe que altos niveles de proteína en la dieta para ganado lechero puede provocar descensos en la fertilidad por lo que la alta concentración de PB en la dieta ha sido asociada con una reducción en el comportamiento reproductivo (Westwood et al., 1998). El efecto negativo sobre la reproducción probablemente no se deba sólo a un exceso proteico en la ración, sino también a la acción de otros factores como la producción de leche, el estatus energético, la relación energía/proteína y/o el manejo reproductivo (Butler, 2000).

Tabla 3. Efecto de los tratamientos sobre niveles de urea y progesterona

Variable	Tratamientos			Valor P \geq 0.05
	TMT1	TMT2	TMT3	
Urea en sangre (mg/dl)	18.99	13.44	15.43	0.05
Progesterona (ng/ml)	5.75	2.90	4.85	0.05

CONCLUSIONES

Por lo antes expuesto, podemos concluir que cualquiera de las dos fuentes alternas de proteína de origen vegetal utilizadas en el presente experimento puede ser utilizada para la sustitución parcial de heno de alfalfa sin alterar la eficiencia reproductiva de vacas Holstein medianas productoras.

LITERATURA CITADA

- Abdelqader, M. M., and M. Oba. 2012. Lactation performance of dairy cows fed increasing concentrations of wheat dried distillers grains with soluble. *J. Dairy Sci.* 95 :3894–390.
- Acedo, J. 2004. Nitrógeno ureico en leche y suero, su comportamiento después de la alimentación en vacas Lecheras de la alta y baja producción. Madrid España.
- Bach, A. 2004. La reproducción del vacuno lechero: Nutrición y fisiología. XVII Curso de Especialización. FEDNA. Purina España.
- Benchaar, C. F., R. Hassanat, P. Gervais, Y. Chouinard, C. Julien , H. V. Petit , and D. I. Massé. 2013. Effects of increasing amounts of corn dried distillers grains with solubles in dairy cow diets on methane production, ruminal fermentation, digestion, N balance, and milk production. *J. Dairy Sci.* 96:2413-2427.
- Butler, W. R. 1998. Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533-2539.
- Chibisa, G. E., and T. Mutsvangwa. 2013. Effects of feeding wheat or corn-wheat dried distillers grains with solubles in low- or high-crude protein diets on ruminal function, omasal nutrient flows, urea-n recycling, and performance in cows. *J. Dairy Sci.* 96:6550-6563.
- Coleman S. W. and K. M. Barth, 1977. Utilization of supplemental NPN and energy sources by beef steers consuming low protein hays. *J. Anim. Sci.* 45:1180-1187.
- Deiros, A. 2004. Nitrógeno ureico en leche y Suero, su comportamiento después de la alimentación en vacas Lecheras de la alta y baja producción. San Salvador.

- Dubuc, J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, J. S. Walton, and S. J. LeBlanc. 2012. Risk factors and effects of postpartum anovulation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95:1845-1854.
- Elrod, C. C., and W. R. Butler. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J Anim. Sci.* 71:694-701.
- Ferguson, J. D., D. T. Galligan, T. Blanchard and M. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *J Dairy Sci.* 76:3742-3746.
- Hammond, A. C. 1997. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle. U. S. Department of Agriculture, Agricultural Reserch Service Subtropical Agicultural Reserch Station Brooksville, Florida. Pp: 45–54.
- Hicks, C. R. 1973. *Fundamental Concepts in the Desing of Experiment.* Holt, Rinehart and Wiston, New York.
- Kleinschmit, D. H., D. J. Schingoethe, K. F. Kalscheur, and A. R. Hippen. 2006. Evaluation of Various Sources of Corn Dried Distillers Grains Plus Solubles for Lactating Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 89:4784–4794.
- Melendez, P., A. Donovan, J. Hernandez, J. Bartolome, C. Risco, C. Staples, and W. Thatcher. 2003. Milk, plasma, and blood urea nitrogen concentrations, dietary protein, and fertility in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 223:628-634
- Meléndez, P., y J. Bartolomé . 2016. Avances sobre nutrición y fertilidad en ganado lechero.
- Mucha, S., and E. Strandberg. 2011. Genetic analysis of milk urea nitrogen and relationships with yield and fertility across lactation. *J. Dairy Sci.* 94:5665-5672.

- Olmos Colmenero, J. J., and G. A. Broderick. 2006. Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1704-1712.
- Patton, R. A., A. N. Hristov, and H. Lapierre. 2014. Protein feeding and balancing for amino acids in lactating dairy cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 30:599-621.
- Roche, J. R., S. Meier, A. Heiser, M. D. Mitchell, C. G. Walker, and M. A. Crookenden. 2015. Effects of precalving body condition score and prepartum feeding level on production, reproduction, and health parameters in pasture-based transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:7164-7182.
- Sanchez, J. M., y D. W. Claypool. 1983. Canola meal as protein supplement in dairy rations. *J. Dairy Sci.* 66:80–85.
- Sannes, R. A., M. A. Messman, and D. B. Vagnoni. 2002. Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:900-908.
- Santos, F. A. P., J. E. P. Santos, C. B. Theurer, and J. T. Huber. 1998. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A12-year literature review. *J. Dairy Sci.* 81:3182-3213.
- Sinclair, K. D., P. C. Garnsworthy, G. E. Mann, and L. A. Sinclair. 2014. Reducing dietary protein in dairy cow diets: implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. *Animal.* 8:262-274.
- Westwood, C. T., I. J. Lean, and R. C. Kellaway. 1998. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: a quantitative review. Part 2. Effect of dictan; protein on reproductive performance. *N Z Vet J.* 46:123-130.
- Wright, C. F., M. A. G. von Keyserlingk, M. L. Swift, L. J. Fisher, J. A. Shelford, and N. E. Dinn. 2005. Heat- and lignosulfonatetreated canola meal as a

source of ruminal undegradable protein for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:238–243.

Tabla 4. Programa de Sincronización de Celos

Actividad	dic-21	dic-23 día 0 a.m.	dic-28 día 5 a.m.	ene-02 día 10 a.m.	ene-04 día 12 p.m.	ene-05 día 13 a.m.	feb-07
Toma muestra de sangre para medición de Nitrógeno Ureico y P4 en suero		Obtención de sangre de la Vena Coccígea	Obtención de sangre de la Vena Coccígea	Obtención de sangre de la Vena Coccígea			
Diagnóstico y seguimiento del estado ovárico	Realización del diagnóstico del estado ovárico de las 12 vacas por examen tocológico y ultrasonografía		Realización del diagnóstico del estado ovárico de las 12 vacas por examen tocológico y ultrasonografía	Realización del diagnóstico del estado ovárico de las 12 vacas por examen tocológico y ultrasonografía			
Tratamiento hormonal para estímulo a las gónadas		Aplicación de GnRH 200 µg/animal, vía I.M.			Aplicación de GnRH 200 µg/animal, vía I.M.		
Tratamiento hormonal para regresión de cuerpo lúteo y estimular desarrollo folicular				Aplicación de PGF2α, 25 ml Dinoprost por cabeza GCe 500 U.I./animal, vía I.M.			
Inseminación Artificial						Inseminación artificial a tiempo fijo a partir de la 8:30 horas	
Diagnóstico de Gestación							Diagnóstico de gestación por ultrasonido