

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS  
ESCUELA DE ZOOTECNIA

Efecto de la suplementación de un núcleo nutricional sobre parámetros productivos y concentración de metabolitos en vacas Jersey en producción en la zona de Oreamuno de Cartago

Daniel Burgos Castro

Proyecto presentado para optar por el título en el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2020

**TRIBUNAL EVALUADOR**

**Esta tesis fue aprobada por la Comisión de Trabajos Finales de Graduación de la Escuela de Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura.**



Ing. Augusto Rojas Bourillón, M. Sc.

Director de Tesis



Ing. Carlos Campos Granados, Lic.

Miembro del Tribunal



Ing. Jeffry Sánchez Salas, M. Sc.

Miembro del Tribunal



Ing. Sergio Salazar Villanea, Ph. D.

Miembro del Tribunal



Ing. Rodolfo WingChing Jones, M. Sc.

Director de Escuela



Daniel Burgos Castro

Sustentante

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme la salud y las condiciones para poder terminar esta etapa.

A mi familia, por estar siempre ahí y apoyarme en todos los momentos.

A mi tutor, don Augusto Rojas, por guiarme en la elaboración de este trabajo y por todos los consejos.

A los profesores Carlos Campos y Luis Alejandro Rodríguez, por toda la ayuda que me brindaron durante el desarrollo de este proyecto.

A los señores Julio Sancho y Álvaro Sancho, propietarios de la finca El Plantón, por haber abierto las puertas de su finca una vez más para la realización de este trabajo.

Al señor Jhonny Calderón, administrador de la finca El Plantón, y a todo el personal de la finca por su amistad y la colaboración brindada en el transcurso del presente estudio.

A la empresa Bayer Sanidad Animal y su representante Ing. Jeffry Sánchez, por el apoyo económico que facilitó el desarrollo de este proyecto de investigación.

A Rafael Molina y Juan Alberto Rojas, del departamento de calidad de leche de la Cooperativa Dos Pinos, por su atención y colaboración en los análisis de leche necesarios para el desarrollo del presente trabajo.

A todos los profesores de la Escuela de Zootecnia, por todos los conocimientos transmitidos y ser parte importante en mi proceso de formación.

## ÍNDICE GENERAL

TRIBUNAL EVALUADOR .....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE DE CUADROS .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
RESUMEN .....	vii
PLAN DE INVESTIGACIÓN .....	1
ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO .....	3
- <b>Situación de la ganadería de leche en Costa Rica</b> .....	3
- <b>Mercado nacional e internacional de la leche</b> .....	5
- <b>Trastornos metabólicos asociados a las vacas lecheras</b> .....	7
- <b>Efecto de los aceites esenciales en los bovinos</b> .....	11
- <b>Efecto de la biotina en los bovinos</b> .....	13
- <b>Efecto del cromo en los bovinos</b> .....	14
- <b>Relación de la vitamina D y calcio en el metabolismo energético de los bovinos</b> .....	16
OBJETIVOS.....	17
PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA.....	18
- <b>Procedimiento general</b> .....	18
- <b>Tratamientos o Definición de factores</b> .....	20
- <b>VARIABLES a evaluar</b> .....	21
- <b>Descripción del análisis de varianza</b> .....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	55
LITERATURA CITADA.....	56
ANEXOS .....	68

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b>	Estructuras de hato de los sistemas doble propósito y lechería especializada en Costa Rica.	<b>3</b>
<b>2</b>	Composición nutricional del pasto Kikuyo (Kikuyuocloa clandestina) con 34 días de rebrote y del alimento balanceado para vacas en producción	<b>19</b>
<b>3</b>	Composición nutricional del alimento balanceado suministrado a vacas prontas	<b>20</b>
<b>4</b>	Nivel de betahidroxibutirato en sangre (mmol/L) obtenidos en los 5 tratamientos en el día 8 y día 30 postparto	<b>32</b>
<b>5</b>	Contenidos (UI/L) de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST) y gamma glutamil transferasa (GGT) en suero en los diferentes tratamientos a los días 1 y 21 postparto.	<b>34</b>
<b>6</b>	Nivel de producción de leche corregida a 4% de grasa (kg/vaca/día) obtenido en los 5 tratamientos en primeros 100 días de lactancia	<b>48</b>
<b>7</b>	Composición de la leche producida por las vacas de los 5 tratamientos	<b>52</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b>	Mecanismo de regulación de calcio sanguíneo en vacas lecheras	<b>16</b>
<b>2</b>	Técnica Botanal®	<b>19</b>
<b>3</b>	Medición de $\beta$ HBA	<b>21</b>
<b>4</b>	Medición de glucosa	<b>22</b>
<b>5</b>	Equipo Spinreact Spin 200E	<b>22</b>
<b>6</b>	Sangrado con tubo y centrifugado	<b>23</b>
<b>7</b>	Balón volumétrico	<b>24</b>
<b>8</b>	Muestras de leche	<b>24</b>
<b>9</b>	Niveles de glucosa en sangre (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos	<b>28</b>
<b>10</b>	Medición de CC en las vacas de los 5 tratamientos	<b>36</b>
<b>11</b>	Niveles de calcio sanguíneo obtenidos de los diferentes tratamientos en los días establecidos postparto	<b>38</b>
<b>12</b>	Niveles de fósforo en suero sanguíneo en los distintos tratamientos	<b>43</b>
<b>13</b>	Contenido de magnesio en suero sanguíneo en los diferentes tratamientos	<b>45</b>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>1</b>	Niveles de glucosa en sangre (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos a los 7, 14, 21 y 28 días postparto.	<b>68</b>
<b>2</b>	Nivel de betahidroxibutirato en sangre (mmol/L) obtenidos en los 5 tratamientos en el día 8 y día 30 postparto	<b>68</b>
<b>3</b>	Evaluación de condición corporal (CC) en las vacas del estudio	<b>68</b>
<b>4</b>	Niveles de calcio sanguíneo (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos	<b>69</b>
<b>5</b>	Niveles de fósforo sanguíneo (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos	<b>69</b>
<b>6</b>	Niveles de magnesio sanguíneo (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos	<b>69</b>
<b>7</b>	Producción de leche en los distintos tratamientos	<b>69</b>
<b>8</b>	Contenido de sólidos totales (%) obtenidos en los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)	<b>70</b>
<b>9</b>	Contenido de grasa (%) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)	<b>70</b>
<b>10</b>	Contenido de proteína (%) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)	<b>71</b>
<b>11</b>	Contenido de lactosa (%) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)	<b>71</b>
<b>12</b>	Contenido de MUN (mg/dL) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)	<b>71</b>
<b>13</b>	Contenido de CCS (puntaje lineal) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)	<b>72</b>

## RESUMEN

Se evaluó el efecto de un núcleo nutricional sobre los parámetros productivos y la concentración de metabolitos en sangre en vacas en producción.

El estudio se llevó a cabo en la finca El Plantón, ubicada en Santa Rosa de Oreamuno, Cartago, en 35 vacas multíparas de la raza Jersey. Se utilizaron 5 tratamientos con 7 repeticiones cada uno. El grupo 1 se suplementó con el núcleo nutricional, el 2 fue el grupo testigo, el 3 se suplementó únicamente con biotina, el 4 se suplementó con cromo y al 5 se le suministró una mezcla de aceites esenciales.

A nivel sanguíneo, se cuantificó los niveles de glucosa, sin encontrarse diferencias significativas entre los distintos tratamientos ( $p < 0,05$ ), donde se obtuvo valores promedio de  $38,3 \pm 3,18$ ;  $43,2 \pm 3,08$ ;  $42,6 \pm 3,65$ ;  $41,9 \pm 3,15$ ;  $41,4 \pm 3,29$  mg/dL para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales, respectivamente.

En cuanto al betahidroxibutirato, tampoco se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ), donde se presentaron valores promedio de  $1,26 \pm 0,21$ ;  $1,09 \pm 0,19$ ;  $1,40 \pm 0,30$ ;  $1,00 \pm 0,22$ ;  $1,35 \pm 0,23$  mmol/L para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales, respectivamente.

Con respecto a los minerales (calcio, magnesio y fósforo), no se presentaron diferencias significativas entre los grupos del estudio ( $p < 0,05$ ). En el caso del calcio, se registraron valores de  $7,56 \pm 0,41$ ;  $7,60 \pm 0,40$ ;  $7,70 \pm 0,47$ ;  $7,04 \pm 0,40$ ;  $7,48 \pm 0,41$  mg/dL para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales, respectivamente. En cuanto al fósforo, los valores fueron los siguientes:  $4,96 \pm 0,45$ ;  $5,32 \pm 0,44$ ;  $4,98 \pm 0,52$ ;  $5,16 \pm 0,44$ ;  $5,08 \pm 0,46$  mg/dL. Finalmente, para el caso del magnesio, los resultados obtenidos fueron:  $2,40 \pm 0,19$ ;  $2,40 \pm 0,18$ ;  $2,24 \pm 0,22$ ;  $2,30 \pm 0,18$ ;  $2,50 \pm 0,20$  mg/dL.

Se determinó la producción de leche corregida al 4% de grasa, sólidos totales, proteína, grasa, lactosa, MUN y CCS. No se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los parámetros analizados con excepción del conteo de células somáticas, donde se encontraron diferencias en el valor numérico.

Para la producción de leche corregida al 4% de grasa, se obtuvieron los siguientes resultados:  $29,3 \pm 1,39$ ;  $30,0 \pm 1,44$ ;  $30,7 \pm 1,51$ ;  $27,1 \pm 1,49$ ;  $27,2 \pm 1,31$  kg/vaca/día en los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente. En



cuanto al contenido de sólidos totales, los resultados fueron los siguientes:  $12,9\pm 0,22$ ;  $13,1\pm 0,25$ ;  $12,9\pm 0,26$ ;  $12,7\pm 0,26$ ;  $12,6\pm 0,23$  % en los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente. Con respecto al contenido de grasa en leche, los resultados se muestran a continuación:  $4,1\pm 0,17$ ;  $4,2\pm 0,19$ ;  $4,2\pm 0,19$ ;  $4,0\pm 0,19$ ;  $3,8\pm 0,16$  % en los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente. Para el nivel de proteína, se reportaron los siguientes valores:  $3,3\pm 0,07$ ;  $3,3\pm 0,08$ ;  $3,2\pm 0,08$ ;  $3,3\pm 0,08$ ;  $3,3\pm 0,07$  % para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente. Respecto al nivel de lactosa, se obtuvo los siguientes resultados:  $4,75\pm 0,052$ ;  $4,88\pm 0,058$ ;  $4,68\pm 0,059$ ;  $4,63\pm 0,059$ ;  $4,71\pm 0,054$  % para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente. En cuanto a los niveles de MUN, los resultados fueron:  $18,5\pm 0,99$ ;  $17,3\pm 0,97$ ;  $17,2\pm 0,97$ ;  $15,4\pm 0,97$ ;  $16,6\pm 0,86$  mg/dL para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente. Con respecto al conteo de células somáticas (CCS), se utilizó el puntaje lineal de células somáticas (PCCS) de acuerdo con el USDA (2005), con el cual se obtuvo los siguientes resultados:  $0,60\pm 0,26$ ;  $1,30\pm 0,32$ ;  $1,60\pm 0,33$ ;  $1,80\pm 0,33$ ;  $1,50$ ;  $1,50\pm 0,27$  para los tratamientos Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y Aceites Esenciales respectivamente.

Se concluye que la suplementación con el núcleo nutricional no tuvo efectos significativos sobre los metabolitos en sangre ni en los parámetros productivos analizados, aunque sí se presentaron diferencias en el valor numérico de células somáticas, lo cual se podría validar en futuras investigaciones.

## PLAN DE INVESTIGACIÓN

### Justificación:

Como ya es sabido, la población mundial continúa en constante crecimiento y por consiguiente aumenta la demanda de alimentos. Para el año 2017, la FAO proyectó un incremento de la subalimentación en la población mundial debido a diversos factores, como la inestabilidad persistente en las regiones dominadas por conflictos, fenómenos climatológicos adversos que han afectado muchas regiones del mundo y desaceleraciones económicas que han empeorado la situación de la seguridad alimentaria (FAO, FIDA, UNICEF, PMA, OMS, 2018). Por otro lado, las áreas destinadas para la producción de alimentos se han reducido a través de los años.

Costa Rica no ha sido la excepción, al igual que en la mayoría de los países tropicales, la producción bovina está basada en el pastoreo como principal recurso alimentario. En 1988 la extensión forrajera del país abarcaba 2,4 millones de hectáreas (48% del territorio nacional), que representaba tres veces la superficie dedicada a otros cultivos agrícolas. No obstante, los datos obtenidos del Censo 2000 definieron un área de pastos cercana a los 1,35 millones de hectáreas, lo cual confirma un descenso en la superficie dedicada a la producción ganadera en nuestro país (CORFOGA, 2018). De igual manera, se mantiene la tendencia a la disminución del área ya que datos obtenidos del INEC (2015), muestran que el área correspondiente a pasturas fue de 1.044.909 hectáreas.

Es imperativo entonces, para todas las personas involucradas en el sector bovino, buscar las alternativas necesarias para maximizar la eficiencia de los sistemas lo cual representa uno de los desafíos para el sector lácteo nacional, tal como lo indica Salazar (2019) mediante la utilización eficiente del recurso forrajero y uso de productos y subproductos tropicales, incremento de la productividad por vaca y por área, innovación tecnológica y su adecuada transferencia, mitigación y adaptación al cambio climático, entre otros. Éste es de gran importancia ya que representa un reto adicional para la producción de rumiantes debido a que reduce la disponibilidad de pastizales y forrajes (McGrath et al., 2017).

Sin embargo, se debe tomar en cuenta que al maximizar la eficiencia de los animales y de los sistemas en general, se reta a los animales comprometiendo su salud y bienestar por lo que aumentan las probabilidades de apariciones de diversas enfermedades metabólicas e infecciosas como lo menciona McGrath et al. (2017).

Una de las medidas para disminuir este efecto es a través del empleo de estrategias de alimentación que promuevan un mayor aprovechamiento de los nutrientes y menor desgaste energético de las vacas en producción, en busca de mejoras en la producción de leche, respuestas positivas en parámetros reproductivos y en la salud en general de los animales, entre otros. Por otro lado, cualquier aspecto que se mejore desde el punto de vista nutricional y alimenticio, tendrá un impacto positivo en la rentabilidad de los sistemas de producción de ganado lechero, debido a que representa aproximadamente el 50% de los costos de producción (Salazar, 2019).

En los últimos años se han desarrollado nuevas tendencias nutricionales con el fin de prevenir trastornos metabólicos como hipocalcemia y cetosis, optimizar el uso de la glucosa en el organismo de los animales, entre otros. Dentro de dichas tendencias se encuentra la suplementación con aceites esenciales, biotina, cromo y vitamina D (Calsamiglia, Busquet, Cardozo, Castillejos, Ferret, 2007; Zimmerly y Weiss, 2001; Rosendo et al., 2004; Bryan, Socha, Tomlinson, 2004; Martínez et al., 2018a).

La importancia en la elaboración de este proyecto de investigación se basa en que un uso más eficiente de la glucosa por el animal y una posible disminución en la incidencia de trastornos metabólicos por medio de estrategias nutricionales, se puede traducir en una mejora en la respuesta productiva y reproductiva de las vacas, por lo tanto, se convierte en una opción para incrementar los ingresos de los productores de ganado lechero en nuestro país.

## ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

### - Situación de la ganadería de leche en Costa Rica

La producción de ganado de leche en nuestro país es una actividad que se empezó a desarrollar desde hace muchos años, la misma se desenvuelve bajo diferentes tipos de sistemas, de los cuales predominan en Costa Rica la lechería especializada, en la cual el producto principal es la leche y las crías se separan de las madres desde el nacimiento, y el sistema de doble propósito.

En éste se maneja de forma paralela la producción de leche de las vacas (en menor cantidad que en los sistemas especializados) junto con el desarrollo de los terneros(as) para la venta (Barrientos y Villegas, 2010). En este sistema las crías toman mayor importancia para producir el estímulo del amamantamiento con lo cual se logra un ordeño exitoso (Pérez, 2017).

De acuerdo con datos del INEC (2017), la estimación del hato ganadero del país fue de 1.497.551 animales, de los cuales 783.052 (52,29 %) corresponde a ganado de carne, 241.775 (16,14%) a ganado de leche o lechería especializada, 469.217 (31,33%) a doble propósito y 3.507 (0,2 %) a los animales destinados exclusivamente a trabajo como la preparación del terreno, entre otras labores. Las estructuras de hato para los sistemas doble propósito y lechería especializada se presentan en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Estructuras de hato de los sistemas doble propósito y lechería especializada en Costa Rica.

Edad	Lechería especializada			Doble Propósito		
	Total	Machos	Hembras	Total	Machos	Hembras
Total	241.775	15.936	225.839	469.217	103.073	366.144
< 1 año	55.011	10.641	44.370	138.696	63.468	75.228
>1 < 2 años	39.007	1.716	37.291	99.611	21.347	78.264
> 2 años	147.757	3.579	144.178	230.910	18.258	212.652

**Fuente:** Elaboración propia con datos del INEC (2017).

Los hatos lecheros de Costa Rica se ubican principalmente en zonas que van desde los 500 hasta los 2.500 msnm con temperaturas promedio que oscilan entre los 18 y 30°C

y niveles de precipitación que van desde los 500 hasta 3.500 mm por año (Vargas, Solís, Saénz, León, 2013).

Estas condiciones climáticas se manifiestan en las principales zonas de producción de leche bovina en Costa Rica, las cuales son: Huetar Norte con un 43% y la región Central con un 41%, a su vez la región Chorotega con un 9%, seguido por las regiones Brunca, Huetar Atlántica y Pacífico Central (Barrientos y Villegas, 2010).

En cuanto al uso del área, para el año 2000 en el país se contabilizaron 34.461 fincas productoras de ganado bovino, de las cuales 8.708 fueron de doble propósito (25,27%) y 6.408 referentes a lechería especializada (18,59%), estos sistemas presentaron un tamaño promedio de 31 hectáreas y 17 hectáreas respectivamente con 26 y 22 unidades animales, para una carga animal de 0,84 en sistemas doble propósito y 1,29 en lechería especializada, lo cual refleja el grado de intensificación de ambos sistemas de producción (CORFOGA, 2018).

Sin embargo, datos más recientes elaborados por el INEC (2015), contabilizaron en Costa Rica 30.248 fincas dedicadas a la producción pecuaria, de las cuales 26.516 fueron de producción bovina. Lo cual, como se mencionó anteriormente, hace referencia a la necesidad de optimizar los rendimientos en los diferentes sistemas. Más aún, cuando el 82% de los sistemas de lechería especializada se basan en el pastoreo, mientras que 16% emplea sistemas semiestabulados y apenas un 2% lo hace de forma estabulada (INEC 2017). En comparación con el sistema doble propósito donde un 95,6% se basa en pastoreo, 4,1% en sistemas semiestabulado y 0,3% estabulación completa.

De acuerdo con Castro (2002) la producción de ganado lechero es de gran relevancia tanto por su aporte nutricional como por la estructura socioeconómica que involucra. Las fincas e industrias lácteas generan 46.147 empleos directos, lo que representa el 5,46% del empleo del sector privado o el 17,1% de la Población Ocupada por el Sector Agropecuario (González, 2013). Por otro lado, Vargas et al. (2013) mencionan de la generación de 200.000 empleos directos e indirectos, lo que refleja el importante impacto que tiene esta actividad sobre el desarrollo rural, la generación de empleo y la seguridad alimentaria.

En Costa Rica la ganadería de leche es de las actividades que mayor participación tiene dentro del sector pecuario, de acuerdo con datos preliminares de la Cámara Nacional de Productores de Leche en el año 2017 se produjo en Costa Rica 1.144.352 toneladas

métricas de leche, con un incremento de 0,6% con respecto al 2016, y con una participación del 77,2% dentro de las actividades pecuarias contempladas (Mora y Quirós, 2018).

#### - **Mercado nacional e internacional de la leche**

De acuerdo con datos brindados por Salazar (2019), a nivel mundial los principales países productores de leche son la Unión Europea, Estados Unidos, India, China y Brasil, con 152.100, 99.473, 76.000, 36.500 y 35.370 millones de toneladas métricas anuales respectivamente. Sin embargo, es importante destacar que, a nivel de distribución de productos lácteos, los principales proveedores a nivel global son: Unión Europea (28%), Nueva Zelanda (26%) y Estados Unidos (14%), mientras que los principales compradores son: China (10%), Rusia, Arabia Saudí, México y Argelia con 5%.

En cuanto a la región centroamericana, de acuerdo con Salazar (2019), para el año 2016 Costa Rica lideró la producción de leche con 1.138 millones de toneladas métricas, seguido por Honduras con 684 millones de toneladas y Nicaragua con 586 millones de toneladas.

Cabe mencionar que la cantidad de vacas lecheras de estos dos países son alrededor de 1.700.000 y 1.200.000 respectivamente, lo cual es importante ya que demuestra el grado de tecnificación y eficiencia alcanzado en nuestros sistemas (Salazar, 2019). Otro aspecto a considerar es que, de los países de la región centroamericana, Costa Rica es el que posee la mayor capacidad instalada para el procesamiento de la leche, con 3 millones de litros/día, seguido por Honduras con 2,4 millones y Nicaragua con 2,1 millones (Salazar, 2019).

En el ámbito comercial, los principales productos que se exportan a nivel centroamericano son: quesos, leche en polvo y concentradas, y leche fluida, tanto por valor económico como por el volumen en kilogramos. En el año 2016, un 80% de las exportaciones se hicieron a nivel regional, seguido por Venezuela y República Dominicana con 8% y 7% respectivamente (Salazar, 2019). En este apartado los principales países que contribuyen son Costa Rica y Nicaragua con 92,3 y 81,3 millones de kg brutos.

Por otro lado, los principales productos que se importan son: quesos, fórmulas infantiles y leche en polvo y concentradas por su valor económico, sin embargo, por

volumen en kilogramos, los principales productos que se importan son: quesos, leche fluida y leche concentrada. Según Salazar (2019), en el año 2016, el 59% de las importaciones se hizo a nivel regional, seguido por Estados Unidos (13%) y México (10%). En este rubro los principales países que favorecen son Guatemala y El Salvador con 100,3 y 79,6 millones de kg brutos.

Con respecto al tema de consumo de productos lácteos, Costa Rica marcha en primer lugar en la región centroamericana, de acuerdo con los últimos datos brindados por la Cámara Nacional de Productores de Leche, el consumo per cápita de productos lácteos para el año 2015 fue de 216 kg en Costa Rica, seguido de El Salvador y Panamá con 165 y 128 kilogramos respectivamente (Salazar, 2019).

A nivel nacional, se ha tenido un crecimiento constante en la exportación de productos lácteos excepto por el periodo comprendido entre 2014-2015, logrando en el año 2017 un volumen de exportación de 98,4 millones de kg netos traducidos en un valor de 155,2 millones de dólares (Salazar, 2019).

Salazar (2019) señala que dentro de los principales productos exportados por valor se encuentran: leche fluida, leche en polvo, helados, leche deslactosada y yogurt. Mientras que los principales productos exportados por volumen son: leche fluida, leche deslactosada, yogurt, leche en polvo y leches modificadas. Estos productos se dirigen principalmente hacia Guatemala (40%), Panamá y República Dominicana (ambos con 16%).

En cuanto a las importaciones, se ha tenido un crecimiento moderado logrando en el 2017 un volumen de importación de 27,5 millones de kg netos que representan 76,6 millones de dólares, lo cual es favorable para la balanza comercial ya que el país exporta más de lo que importa (Salazar, 2019).

De acuerdo con este autor los principales productos por valor económico que Costa Rica importa son: fórmulas infantiles, leche condensada, queso rallado o en polvo, quesos maduros y quesos procesados. Sin embargo, por volumen los productos que más ingresan al país son: leche condensada, leche fluida, fórmulas infantiles, leches modificadas y leche evaporada. Los productos importados provienen principalmente de Chile (23%), Nicaragua (20%) y Estados Unidos (16%).

## - **Trastornos metabólicos asociados a las vacas lecheras**

Las enfermedades metabólicas son un grupo de padecimientos que afectan el metabolismo del animal, disminuyen el desempeño productivo y reproductivo y usualmente ocurren en el periodo de transición, el cual comprende desde 30 días antes hasta 30 días después del parto. Se asocian a la presentación de otros padecimientos metabólicos e infecciosos, e incluso pueden causar la muerte en animales no atendidos de manera oportuna (Saborío-Montero, 2015).

A continuación, se detallan las enfermedades metabólicas principales que la literatura existente relaciona con los aditivos considerados para este trabajo.

### Hipocalcemia

Según Amaral (2014), con el inicio de la lactancia y la consecuente producción de leche, se presentan adaptaciones importantes en la vaca debido a un incremento del requerimiento de nutrientes para soportar la síntesis de leche, tales como energía y aminoácidos para la producción de calostro y posteriormente la producción de leche, de igual forma el requerimiento de calcio (Ca) aumenta de dos a tres veces más de lo que necesita la vaca antes del parto. Durante el parto el animal pasa de un estado de gestación, en el cual requiere alrededor de 12 g de Ca disponible por día para su mantenimiento y desarrollo fetal, a un estado en que sintetiza calostro con 1,7 a 2,3 g de Ca y posteriormente leche con 1,1 g de Ca por litro (Saborío-Montero, Sánchez-González, Vargas-Camacho, 2017a).

La hipocalcemia o fiebre de leche es un trastorno metabólico que se presenta cuando los niveles de calcio caen a niveles inferiores a aquellos necesarios para mantener la función nerviosa y muscular de los animales por lo que no son capaces de mantenerse de pie y caen (Sánchez-González y Saborío-Montero, 2014b). Otros síntomas clínicos incluyen falta de apetito, tetania, inhibición de la defecación y micción, coma eventualmente y la muerte del animal si no se da tratamiento (Horst, Goff, Reinhardt, Buxton, 1997).

Este tipo de hipocalcemia afecta entre el 3 y 10% de las vacas lecheras durante el parto (Sánchez-González y Saborío-Montero, 2014a). Roche (2003), encontró en Nueva Zelanda que aproximadamente 5% de las vacas resultaron con hipocalcemia clínica (calcio sanguíneo < 1,4 mmol/L o equivalente a 5,5 mg/dl) y entre 30 y 40% de las vacas



presentaron hipocalcemia subclínica (calcio sanguíneo < 2,0 mmol/L o equivalente a 8,0 mg/dl).

Por otro lado, a nivel nacional Sánchez-González y Saborío-Montero (2014a) encontraron que la prevalencia de hipocalcemia subclínica es mayor a 40% en hatos Jersey que consumen pastos tropicales. En otro estudio realizado con hatos Jersey, Holstein y Guernsey se obtuvo como resultado una prevalencia general de hipocalcemia de 56,58%, del cual 6,58% fueron casos de hipocalcemia clínica y el 50% hipocalcemia subclínica (Sánchez-González y Saborío-Montero, 2014b).

Niveles de Ca en la sangre inferiores a 8,0 mg/dl pueden aumentar la ocurrencia de partos distócicos, retención de placenta, metritis, mastitis, desplazamiento del abomaso y cetosis; con los cuales se puede comprometer la producción de leche y la reproducción, de ahí la importancia en prevenir la aparición de este trastorno metabólico (McGrath et al., 2017; Sánchez-González y Saborío-Montero, 2014b).

Una de las estrategias nutricionales empleadas con el propósito de reducir la incidencia de hipocalcemia es mediante la suplementación con vitamina D, la cual se detallará más adelante.

### Cetosis

La cetosis es un trastorno metabólico causado por una movilización excesiva de las reservas de grasa en respuesta a un déficit de energía presente en la vaca durante los primeros días postparto. El faltante de energía es causado por una disminución del consumo de materia seca sumado a un aumento sustancial del requerimiento energético para la producción de leche (Saborío-Montero, 2012; Saborío-Montero y Sánchez-González, 2016). Datos encontrados en la literatura mencionan una disminución de alrededor del 35% en el consumo de materia seca durante las últimas tres semanas de gestación (Saborío-Montero, 2012).

Debido a la alta movilización de tejido adiposo, se producen ácidos grasos no esterificados (AGNEs) como resultado de la disociación de triglicéridos mediante el proceso de lipólisis (Drackley, 1999). De acuerdo con Saborío-Montero (2012), esta respuesta fisiológica genera un aumento en la concentración sanguínea de ácido  $\beta$ -hidroxibutírico o betahidroxibutirato (BHBA) y acetoacetato principalmente, las cuales se producen en el hígado y son conocidas con el nombre de cetonas o cuerpos cetónicos.

Los AGNEs bajo condiciones normales son metabolizados en el hígado para satisfacer las necesidades de energía de los procesos fisiológicos involucrados en el final de la gestación, inicios de la lactancia y reproducción (Saborío-Montero y Sánchez-González, 2016).

Sin embargo, cuando se produce una acumulación de ácidos grasos en el hígado antes del parto, o bien cuando la movilización de las reservas de grasa en forma de AGNEs al inicio de la lactancia sobrepasa la capacidad del hígado para oxidarlos y generar energía, se produce el  $\beta$ HBA que al acumularse en el organismo causa el desbalance en el metabolismo energético (Saborío-Montero y Sánchez-González, 2016). Este desbalance también deprime los niveles de glucosa en el organismo (Sánchez, 2000).

La cetosis se puede manifestar de tres formas diferentes, las cuales se describen a continuación:

- a) Tipo I: Es la forma clásica de cetosis y se presenta entre 3 y 6 semanas postparto ya que en este momento las vacas tienen la mayor demanda de energía para la producción de leche, la misma se manifiesta de forma espontánea o bajo condiciones de subalimentación. En este tipo de cetosis el nivel de insulina es bajo debido a una hipoglucemia crónica por escasez de precursores de glucosa. Normalmente las vacas no presentan ningún problema en el periodo preparto, paren de forma normal e inician la lactancia de igual manera. En algunas ocasiones las vacas que presentan cetosis tipo I simplemente no logran mantener su requerimiento energético debido a alguna deficiencia en el manejo nutricional (Oetzel, 2007).
- b) Tipo II: Se presenta usualmente durante la primera semana de lactancia (Saborío-Montero, 2012). En este se incluye cualquier vaca que desarrolle un balance energético negativo y movilice reservas corporales antes o durante el parto. Vacas con alta condición corporal tienen mayor riesgo de presentar este tipo de cetosis debido a que son más propensas a disminuir el consumo de materia seca alrededor del parto, pero vacas con baja condición corporal también tienen el riesgo si el manejo nutricional durante el preparto y/o la maternidad es deficiente (Oetzel, 2007).
- c) Tipo III: En algunos hatos se pueden presentar problemas de cetosis de forma persistente que son causados por alimentar con ensilajes cetogénicos (Tveit, Lingass, Svendsen, Sjaastad, 1992). Pastos que son cortados con alto contenido de humedad para ensilar o que tienen bajo contenido de carbohidratos solubles

favorecen el crecimiento de bacterias clostridiales. Estas bacterias favorecen la producción de ácido butírico en lugar del ácido láctico deseado. Los ensilajes que presentan este tipo de fermentación se reconocen fácilmente por el olor característico del ácido butírico y de los productos de la degradación de proteínas que acompañan este proceso. Un análisis de ácidos grasos volátiles del ensilaje puede determinar la presencia y la cantidad del ácido butírico presente (Oetzel, 2007).

Sin embargo, es importante considerar que los tipos de cetosis pueden presentar sintomatología clínica; de igual manera, la forma subclínica de la enfermedad puede presentarse indistintamente del tipo de cetosis (Saborío-Montero y Sánchez-González, 2013).

La forma subclínica de la enfermedad se define como un exceso de cuerpos cetónicos circulantes en ausencia de síntomas clínicos de cetosis, además presenta una concentración sanguínea de  $\beta$ HBA entre 1,2 y 2,9 mmol/L (Duffield, Lissemore, McBride, Leslie, 2009).

En cuanto a la cetosis clínica, Baird (1980) menciona que normalmente ocurre de forma espontánea en vacas altas productoras entre la segunda y la séptima semana de lactancia. Los síntomas aparecen de manera abrupta e incluye pérdida de apetito (alimento balanceado principalmente), disminución en la producción de leche y pérdida rápida de condición corporal. Oetzel (2007) establece que las vacas con cetosis clínica presentan una concentración sanguínea de  $\beta$ HBA superior a 2,9 mmol/L.

De acuerdo con Saborío-Montero y Sánchez-González (2013), la incidencia de cetosis clínica es de alrededor de 6% y la subclínica de 40% en hatos confinados. A nivel nacional, estos autores encontraron una prevalencia de 9,65% de cetosis subclínica y 3,51% de cetosis clínica a los  $30 \pm 3$  DL (tipo I) en un hato Jersey bajo condiciones de pastoreo.

La cetosis causa reducciones importantes en la producción de leche y sus componentes en las vacas que la sufren, así como una reducción de la vida productiva dentro del hato, incrementos en la incidencia de otras enfermedades de la producción y problemas reproductivos (Saborío-Montero y Sánchez-González, 2013).

En los últimos años se ha investigado la inclusión de precursores de glucosa como una de las estrategias vía alimentación para disminuir la incidencia de esta enfermedad

metabólica (Majee, Schwab, Bertics, Seymour, Shaver, 2003; Hayirli, Bremmer, Bertics, Socha, Grummer, 2001).

Oetzel (2007) indica que la suplementación con grasas no provee los precursores de glucosa necesarios para llevar a cabo la gluconeogénesis y, por el contrario, satura el hígado con ácidos grasos los cuales le representan un desafío para su oxidación completa y por ende comprometen su función. Dentro de dichos precursores destacan el uso de propanodiol o propilenglicol, sustancia ampliamente estudiada, y alternativas como la suplementación con biotina, el cromo y los aceites esenciales.

Las vacas en el postparto necesitan la mayor cantidad de energía posible proveniente de granos para que su producto final sea la glucosa (Oetzel, 2007), ya que según Baird (1980), la causa principal es el desarrollo de un marcado desbalance entre la glucosa aportada en la dieta y la glucosa requerida por el animal.

#### - **Efecto de los aceites esenciales en los bovinos**

Los aceites esenciales se definen como metabolitos secundarios lipofílicos obtenidos de la fracción volátil de las plantas (Calsamiglia et al., 2007; Benchaar y Greathead, 2011). De acuerdo con Martínez et al. (2015) es posible obtenerlos por métodos tales como destilación por vapor o extracción con solventes.

Calsamiglia et al. (2007) señalan que el término “esencial” proviene de “esencia” que significa olor o sabor, y se relaciona con la propiedad que poseen estas sustancias de proveer sabores y olores específicos a muchas plantas. Se caracterizan por tener una composición, naturaleza y actividades diversas. De acuerdo con Benchaar y Greathead (2011) la cantidad y composición de aceites esenciales puede variar de una planta a otra dentro de la misma especie y entre partes de la misma planta.

Los compuestos activos más importantes se incluyen en dos grupos químicos: terpenoides (monoterpenoides y sesquiterpenoides) y fenilpropanoides. Estos grupos son originados por diferentes precursores del metabolismo primario y son sintetizados a través de diferentes rutas metabólicas (Calsamiglia et al., 2007).

Para que el uso de aceites esenciales en la alimentación de los animales tenga efectos positivos, es necesario conocer sus mecanismos de acción y la dosis a la cual

mejoran la productividad de los animales (Greathead, 2003). También es importante considerar que los efectos de los aceites esenciales sobre la respuesta animal pueden variar dependiendo de la estructura química, dietas, mezclas y proveedores de estas sustancias (Calsamiglia et al., 2007).

De acuerdo con Greathead (2003), la cantidad de investigaciones publicadas acerca del uso de los factores no nutricionales y sus extractos para mejorar el rendimiento de los animales ha ido en aumento. Una de las razones es que estos compuestos han llamado la atención debido a su potencial como sustitutos de antibióticos de uso alimenticio y promotores de crecimiento en ganado bovino (Benchaar et al., 2007), lo cual es de suma importancia debido a que se ha presentado un aumento en la preocupación de las personas a nivel mundial sobre el uso rutinario de estos dos tipos de productos en la producción animal (Benchaar, Petit, Berthiaume, Whyte, Chouinard, 2006). Debido a la aparición de residuos y de cepas resistentes de bacterias, su uso se ha prohibido en la Unión Europea desde enero del 2006 (Calsamiglia et al., 2007), por lo que se ha promovido aún más la búsqueda de productos alternativos.

De igual manera, los aceites esenciales tienen propiedades que son capaces de modificar la fermentación ruminal (Tager y Krause, 2001), en diferentes estudios se han obtenido resultados en inhibición de metanogénesis, modificación en la producción y perfil de ácidos grasos volátiles, metabolismo de nitrógeno y otros (Calsamiglia et al., 2007), haciendo más aprovechables los nutrientes de los alimentos y disminuyendo pérdidas de energía a nivel ruminal, con lo que se mejora la eficiencia de producción de leche y de carne en bovinos y ovinos, obteniendo mayores ganancias de peso y mejores conversiones alimenticias (Greathead, 2003).

Entre otros beneficios que tiene el uso de aceites esenciales en la alimentación animal se encuentran sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas (Calsamiglia et al., 2007; Martínez et al., 2015).

## - Efecto de la biotina en los bovinos

La biotina es una vitamina hidrosoluble perteneciente al complejo B, también llamada vitamina H. Se encuentra en forma natural en las plantas y por lo tanto en las dietas que consume el ganado de leche. Esta vitamina también es sintetizada a nivel ruminal en cantidades variables dependiendo de la composición de la dieta en términos de relaciones forraje: concentrado (Bergsten, Greenough, Gay, Seymour, Gay, 2003). De manera que la síntesis de biotina se reduce conforme la proporción de concentrado en la dieta aumenta (Rosendo et al., 2004).

De acuerdo con Rosendo et al. (2004), la biotina funciona como una coenzima esencial para 4 carboxilasas en los mamíferos, de las cuales 2 catalizan pasos críticos en el proceso de gluconeogénesis. Por lo tanto, es de gran utilidad para mejorar el estado de los animales en etapas de alta demanda de energía y ayudar a evitar la aparición de desórdenes metabólicos, tales como hígado graso, cetosis, retención de placenta, mastitis, metritis, hipocalcemia, entre otros (Rosendo et al., 2004).

También actúa en procesos de lipogénesis y síntesis proteica, por lo que es importante para la producción de la pezuña ya que la queratina es el componente estructural principal de la epidermis de la pezuña. La biotina ha sido identificada como un factor esencial de la sustancia cementante intracelular, ya que une las láminas de queratina del casco (Bergsten et al., 2003).

Tal como se mencionó anteriormente, los rumiantes producen biotina como resultado de la fermentación bacteriana, sin embargo, los requerimientos de ésta y otras vitaminas del complejo B en ganado bovino han sido reevaluados (Lean y Rabiee, 2011).

El NRC (2001) de ganado de leche no establece los niveles recomendados de vitamina B para vacas en producción debido a que la investigación en los requerimientos de este nutriente para gestación, salud y producción de leche es escasa. De igual forma, se asume de manera general, que los requerimientos de vitamina B pueden ser cubiertos a través de la síntesis de los microorganismos ruminales y por los alimentos que sobrepasan el rumen. Sin embargo, existe literatura reciente donde se evidencian mejorías en el rendimiento de la lactancia debido a la suplementación con vitaminas del complejo B (Majee, Schwab, Bertics, Seymour, Shaver, 2003). Estos autores deducen que, debido a la

respuesta positiva de vacas en producción a la suplementación con biotina, esta vitamina no requiere protección ruminal.

Se han llevado a cabo diversos estudios enfocados en la síntesis de biotina, su absorción y balance en vacas en producción y vacas secas (Lean y Rabiee, 2011). Estos autores realizaron un meta-análisis donde se demostró que la biotina aumenta la producción de leche, rendimiento de proteína en leche y rendimiento de grasa en leche. De igual manera, se demostró que la inclusión de biotina en la dieta de vacas en producción mejora el consumo de materia seca.

#### - **Efecto del cromo en los bovinos**

El cromo es un micromineral, es decir, los animales lo requieren en bajas cantidades a razón de miligramos por kilogramo de materia seca (mg/kg MS). Sin embargo, es esencial ya que de acuerdo con Marín (2019), se presentan síntomas de su deficiencia cuando su consumo diario es inferior al nivel mínimo requerido y si se suplementa se previenen esos síntomas, restableciéndose la condición metabólica normal.

Marín (2019) indica que este elemento se encuentra en la naturaleza en los estados de oxidación desde -2 hasta +6, sin embargo, es en su forma trivalente como existe en los sistemas biológicos y adquiere mayor estabilidad.

De acuerdo con Marín (2019), el cromo trivalente se puede presentar en forma inorgánica y orgánica, no obstante, las moléculas orgánicas se absorben de manera más rápida y eficiente, además que poseen 50 veces más actividad biológica que el cromo trivalente inorgánico.

Una de sus formas orgánicas es como componente activo del Factor Tolerante a la Glucosa (FTG), y es a través del cual ejerce su participación en el metabolismo, sin este elemento el FTG resulta inefectivo. El principal efecto del cromo es mejorar la comunicación entre la insulina y sus receptores en las membranas celulares de los tejidos sensibles a la insulina, por medio de un aumento en la fluidez de la membrana y tasa de internalización de la insulina (Hayirli et al., 2001; Marín, 2019). Al potenciar la actividad de esta hormona, el cromo influye en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Además, ayuda

en la conversión de tiroxina a triyodotironina lo cual aumenta la tasa metabólica (Bryan et al., 2004).

Anteriormente se asumía que las dietas que se ofrecían a animales domésticos proveían suficiente cromo para satisfacer sus requerimientos. Sin embargo, en años recientes diversos estudios en ganado bovino han evidenciado los efectos beneficiosos de la suplementación con cromo en respuestas productivas y fisiológicas, especialmente durante periodos de estrés elevado como transporte, altas temperaturas ambientales y la etapa de transición (Hayirli et al., 2001; Ghorbani, Sadri, Alizadeh, Bruckmaier, 2012).

El cromo es considerando un nutriente anti-estrés, ya que disminuye los valores de cortisol en sangre en condiciones de estrés. El cortisol es antagonista con la insulina, ya que previene la entrada de glucosa a músculo y tejido adiposo, para que esté disponible en otros órganos que tienen mayor demanda como el hígado y el cerebro (Marín, 2019). Por lo tanto, se aumentan los niveles de glucosa e insulina en sangre con las correspondientes pérdidas urinarias de cromo. De acuerdo con Hayirli et al. (2001), esta resistencia a la insulina puede ser un factor importante en el inicio de varios mecanismos catabólicos.

Por lo tanto, la suplementación con cromo puede mejorar la acción de la insulina y consecuentemente disminuir los niveles de AGNEs en plasma y triglicéridos en hígado y mejorar la tolerancia a la glucosa, lo cual puede resultar en un mejoramiento del rendimiento y la producción en la etapa del parto (Hayirli et al., 2001).

Otro punto a considerar es que, con la reducción en los niveles de cortisol en sangre, se promueve una mejora de la respuesta inmunológica de los animales y sumado a una menor movilización de reservas corporales se pueden tener respuestas positivas en fertilidad de las vacas en producción (Bryan et al., 2004).

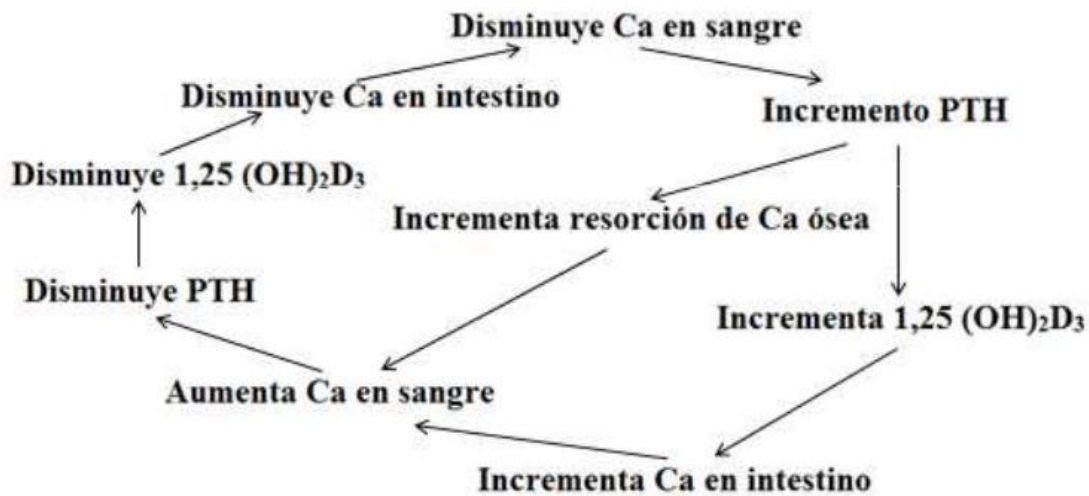
Con base en lo anterior, se ha demostrado que el cromo aumenta la producción de leche en novillas de primer parto y reduce la incidencia de cetosis e hipocalcemia en vacas multíparas (Marín, 2019). Sin embargo, en diversos estudios se han encontrado efectos inconsistentes de la suplementación con cromo en el rendimiento productivo de ganado lechero, los cuales se pueden atribuir a diversos factores incluyendo el tipo de compuesto, dosis, dieta, inicio de suplementación respecto al parto, entre otros (Allen, 2019).



- **Relación de la vitamina D y calcio en el metabolismo energético de los bovinos**

La prevalencia de hipocalcemia subclínica sigue manteniéndose a niveles altos durante los primeros días de lactancia (Martínez et al., 2018a). Esta situación aumenta el riesgo de aparición de otras enfermedades metabólicas, ya que concentraciones de calcio sanguíneo por debajo de lo normal perjudica la liberación de insulina lo que repercute en una mayor lipólisis, desencadenando altas concentraciones de AGNEs a nivel sanguíneo (Wilkens et al., 2012; Vieira-Neto et al., 2017; Rodney et al., 2018a).

La regulación del calcio a nivel sanguíneo está íntimamente relacionada con la hormona paratiroidea (PTH) (ver Figura 1), la concentración de PTH en plasma es regulada por el calcio en plasma. A medida que la concentración de calcio en plasma disminuye <10 mg/dl, se estimulan las glándulas paratiroideas para producir PTH. A su vez, la PTH estimula la activación de 25-(OH)D<sub>3</sub> y se promueve la liberación de la enzima 1-α hidroxilasa en el riñón para formar 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, el cual es la forma biológicamente activa de la vitamina D que potencia la absorción de calcio en el intestino. Si los niveles de calcio en plasma son >10 mg/dl, la secreción de la PTH es disminuida, por lo tanto, la síntesis de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> también disminuye (Horst, Goff, Reinhardt, 1994; Rodney et al., 2018a).



**Figura 1. Mecanismo de regulación de calcio sanguíneo en vacas lecheras**

**Fuente:** Saborío-Montero (2015)

Si bien la aplicación directa de 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> o calcitriol incrementa las concentraciones de calcio en plasma, su vida media relativamente corta (15 horas) es limitante ya que es necesario predecir con precisión la fecha de parto para asegurar los efectos benéficos sobre el balance de calcio. Por esta razón, también se ha investigado el efecto de la administración de 25-(OH)D<sub>3</sub> o calcidiol, puesto que presenta una vida media mucho mayor, aproximadamente de 15 días (Jones, 2008; Wilkens et al., 2012; Weiss, Azem, Steinberg, Reinhardt, 2015; Vieira-Neto et al., 2017). Además, el calcidiol es el metabolito de la vitamina D más estable en el organismo y es el mejor indicador del estado de vitamina D en el animal (NRC, 2001), cuya concentración en sangre oscila entre 20 y 50 ng/ml, mientras que la concentración de calcitriol varía de 5 a 20 pg/ml y la vitamina D entre 1 y 2 ng/ml (Poindexter, 2017). Sin embargo, es importante considerar que la duración del tratamiento debe ser limitada para prevenir los efectos tóxicos potenciales de 25-(OH)D<sub>3</sub> (Jones, 2008).

Dada la importancia que posee la vitamina D en el metabolismo del calcio, algunas de las estrategias actuales para reducir la hipocalcemia, y por ende otros problemas metabólicos como la cetosis, incluyen suplementar dietas acidogénicas preparto y la suplementación de metabolitos de la vitamina D (Martínez et al., 2018b).

## **OBJETIVOS**

### **a) General:**

Evaluar el efecto de la suplementación de un núcleo nutricional sobre parámetros productivos y concentración de metabolitos en vacas Jersey en producción.

### **b) Específicos:**

1. Evaluar el efecto de la suplementación con biotina sobre producción y composición de la leche, y metabolitos en sangre (glucosa y ácido betahidroxibutírico).

2. Cuantificar el efecto de la suplementación con cromo orgánico sobre producción y composición de la leche, y metabolitos en sangre (glucosa y ácido betahidroxibutírico).
3. Determinar el efecto de la suplementación con aceites esenciales sobre producción y composición de la leche, y glucosa en sangre.
4. Evaluar el efecto de la suplementación de un núcleo nutricional sobre características de la condición corporal y nitrógeno ureico en leche (NUL).
5. Determinar las concentraciones de calcio, fósforo, magnesio y enzimas hepáticas de las vacas en estudio durante los primeros 21 días posparto.

## **PROCEDIMIENTO Y METODOLOGÍA**

### **- Procedimiento general**

El estudio se llevó a cabo en la finca El Plantón la cual se ubica en Santa Rosa de Oreamuno, Cartago. Se encuentra a una altitud de 2.350 msnm y la temperatura y precipitación media anual en la zona es de 17,5°C y 1.800 mm, respectivamente (Saborío-Montero y Sánchez-González, 2013).

Las vacas en producción se mantuvieron en pastoreo, bajo un sistema de rotación de 34 días con pasto Kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*), en el cual se utilizaban dos apartos por día.

La cantidad de forraje disponible y su composición nutricional se evaluó de manera mensual mediante la técnica del Botanal® (ver Figura 2) y análisis bromatológicos que se realizaron en el Laboratorio de Bromatología del Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) de la Universidad de Costa Rica



**Figura 2. Técnica Botanal®**

Las vacas en producción se dosificaron diariamente con 150 gramos de suplemento de acuerdo con el tratamiento correspondiente. Los cinco tratamientos se designaron de la siguiente manera: 1) Núcleo: Matriz mineral más Biotina, Cromo y Aceites Esenciales (A.E.), 2) Matriz mineral Testigo, 3) Matriz mineral más Biotina, 4) Matriz mineral más Cromo, 5) Matriz mineral más A.E. En adelante, se mencionará a los tratamientos con los nombres Núcleo, Testigo, Biotina, Cromo y A.E. para los tratamientos 1,2,3,4 y 5 respectivamente.

La dieta de los animales constó de pasto Kikuyo (a libre consumo), alimento balanceado (6 a 9 kg/vaca/día) cuyas composiciones nutricionales se muestran en el Cuadro 2, pulpa de cítricos peletizada (2 kg/vaca/día), melaza (1 kg/vaca/día), sal (100 g/vaca/día), agua (a libre consumo) y heno de Transvala (1kg/vaca/día) (*Digitaria decumbens Stent cv. Transvala*).

**Cuadro 2.** Composición nutricional del pasto Kikuyo (*Kikuyuocloa clandestina*) con 34 días de rebrote y del alimento balanceado para vacas en producción

<b>Ingrediente</b>	<b>Pasto Kikuyo</b>	<b>Alimento Balanceado</b>
<b>Nutriente</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
Materia Seca	15,97 ± 1,05	88,51 ± 0,90
Proteína Cruda	27,35 ± 1,02	15,75 ± 0,86
Cenizas	12,12 ± 0,21	4,95 ± 0,13
Extracto Etéreo	2,32 ± 0,17	4,46 ± 0,44
Fibra Detergente Neutro	53,19 ± 1,83	17,30 ± 1,38
Fibra Detergente Ácida	23,86 ± 0,72	8,42 ± 1,72
Lignina	2,08 ± 0,06	ND
Nitrógeno ligado FDN	1,45 ± 0,07	0,46 ± 0,14
Nitrógeno ligado FDA	0,26 ± 0,01	0,17 ± 0,05

Calcio	0,38 ± 0,08	0,58 ± 0,10
Almidón*	-	38,65
Enl (Mcal/kg MS)	1,60	2,10

\*: Dato tomado de DairyOne

En cuanto a las vacas prontas, el manejo consistió en una separación de las vacas a los 21 días antes de la fecha esperada de parto. Se les ofreció una dieta compuesta por alimento balanceado para vacas prontas (ver Cuadro 3) a razón de 4,5 kg/vaca/día, 5 kg de heno de Transvala/vaca/día y pasto Kikuyo.

**Cuadro 3.** Composición nutricional del alimento balanceado suministrado a vacas prontas

<b>Nutriente</b>		<b>%</b>
Humedad	máx.	13,00
Proteína Cruda	mín.	15,00
Extracto Etéreo	mín.	3,00
Fibra Cruda	máx.	7,00
Fibra Ácido Detergente	máx.	6,00
Fibra Neutro Detergente	máx.	15,00
Energía Digestible	mín.	2.900 Kcal/Kg MS
Energía Neta de Lactancia	mín.	1,4 Mcal/Kg MS
Calcio	mín.	2,50
Calcio	máx.	3,00
Fósforo	mín.	0,35
Sal	mín.	0,20
Sal	máx.	0,30

Fuente: Planta de alimentos balanceados Gastón Fernández

Cabe mencionar que el alimento balanceado que se suministró a las vacas prontas en este estudio contiene una sal aniónica que se dosifica a razón de 750 g/vaca/día.

#### - **Tratamientos o Definición de factores**

Se utilizaron 35 vacas multíparas de la raza Jersey durante 100 días (del día 1 al día 100 de lactancia (DL)), asignando 7 vacas por tratamiento con base en la producción de leche de la lactancia anterior corregida a 305 días. Los tratamientos evaluados fueron

los siguientes: Tratamiento 1 (Núcleo), Tratamiento 2 (Testigo), Tratamiento 3 (Biotina), Tratamiento 4 (Cromo) y Tratamiento 5 (Aceites Esenciales).

Para asignar los tratamientos se realizaron siete bloques de acuerdo con la producción de la lactancia anterior corregida a 305 días y se asignaron los tratamientos en un diseño de bloques completos al azar.

- **Variables a evaluar**

Procedimiento en finca

a) Medición de betahidroxibutirato ( $\beta$ HBA)

La medición de la concentración de  $\beta$ HBA en sangre entera se realizó con el medidor electroquímico de mano "OptiumXceed®" de Laboratorios Abbott, mediante el contacto del dispositivo sensible desechable específico para  $\beta$ HBA con la sangre objeto de análisis tal como se muestra en la Figura 3. La muestra de sangre se obtuvo por punción de la vena y/o arteria coccígea con una aguja de tamaño 18" x 1", el sangrado se realizó 8 días y 30 días postparto (Saborío-Montero, 2012).



**Figura 3. Medición de  $\beta$ HBA**

b) Medición de glucosa

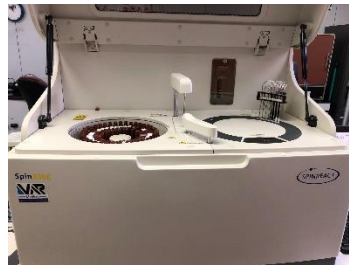
La medición de la concentración de glucosa en sangre entera se realizó con la metodología utilizada por Saborío-Montero y Sánchez-González (2013) para la medición de  $\beta$ HBA, con el medidor electroquímico de mano "OptiumXceed®" de Laboratorios Abbott, mediante el contacto del dispositivo sensible desechable específico para glucosa con la sangre objeto de análisis (ver Figura 4). La muestra de sangre se obtuvo por punción de la vena y/o arteria coccígea con una aguja de tamaño 18" x 1". El muestreo se llevó a cabo una vez por semana durante el primer mes postparto, y 2 horas después de la alimentación de las vacas.



**Figura 4. Medición de glucosa**

c) Muestreo para medición de calcio en sangre

Se tomaron muestras de sangre de la vena y/o arteria coccígea con agujas de 18" x 1" y tubos estériles de 9 ml con activador de aglutinación de suero Z (Greiner Bio-One, tapa roja), los días 1, 3, 5, 7 y 21 postparto. Las muestras se identificaron, centrifugaron a 4,000 rpm durante 5 minutos en una centrífuga marca IEC y el suero separado se colocó en viales tal como se muestra en la figura 6, posteriormente se mantuvieron en refrigeración mientras se enviaron las muestras al laboratorio de Análisis Clínicos de la Universidad Nacional. Los contenidos de calcio, fósforo y magnesio en las muestras de suero se determinaron por colorimetría utilizando un autoanalizador Spinreact modelo Spin 200E, el cual se muestra en la Figura 5.



**Figura 5. Equipo Spinreact Spin 200E**



**Figura 6. Sangrado con tubo y centrifugado**

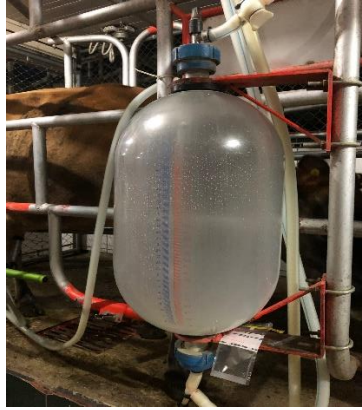
d) Muestreo para medición de enzimas hepáticas

Se tomaron muestras de sangre de la vena y/o arteria coccígea con agujas de 18" x 1" y tubos estériles de 9 ml con activador de aglutinación de suero Z (Greiner Bio-One, tapa roja), los días 1 y 21 postparto. Las muestras se identificaron, centrifugaron a 4,000 rpm durante 5 minutos en una centrífuga marca IEC y el suero separado se colocó en viales tal como se hizo para los muestreos de minerales en sangre. Posteriormente se mantuvieron en refrigeración mientras se enviaron las muestras al laboratorio de Análisis Clínicos de la Universidad Nacional, donde se cuantificó el contenido de las enzimas aspartato amino transferasa (AST) y gamma glutamil transferasa (GGT), con el autoanalizador Spinreact mostrado anteriormente.

e) Producción de leche

La producción de leche se midió en cada ordeño por medio de balones volumétricos (ver Figura 7) y la información productiva se introdujo de manera semanal en el sistema de registros computarizados VAMPP Bovino 3.0.





**Figura 7. Balón volumétrico**

- f) Composición de leche (proteína, grasa, lactosa, nitrógeno ureico en leche (NUL), conteo de células somáticas (CCS)).

Los análisis de composición de la leche y sólidos totales se hicieron semanalmente y se determinaron con el equipo MilkoScan FT-120. Para el análisis de NUL se utilizó el método enzimático y la cuantificación por espectrofotometría mediante el equipo ChemSpec® 150.

La muestra de leche para análisis fue de 100 ml (ver Figura 8), se recolectó de cada ordeño y se mezcló en cantidades proporcionales a la producción por ordeño.



**Figura 8. Muestras de leche**

Procedimiento en Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA)

- a) Análisis de dieta:

Se tomaron 6 muestras de alimento balanceado y 3 muestras de forraje en las cuales se analizó los contenidos de materia seca, proteína cruda, extracto etéreo, cenizas y calcio mediante la técnica AOAC (2000). También se analizó la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina con la técnica propuesta por Van Soest et al. (1991). De igual manera se analizó el nitrógeno ligado a FDN y nitrógeno ligado a FDA siguiendo la metodología descrita por Licitra et al. (1996). La concentración de nutrimentos digeribles totales (NDT) y las estimaciones de energía neta de lactancia ( $EN_L$ ) se calcularon usando los procedimientos de Weiss (1999) y el NRC (2001).

## - Descripción del análisis de varianza

Para el análisis de las variables respuesta del experimento, se usaron modelos generalizados de medidas repetidas con la siguiente forma general:

$$g[E(Y|\gamma_i, T_j, B_k, L_l, C_m, t)] = \mu + \gamma_i + T_j + B_k + L_l + C_m + f(t|T_j)$$

Donde:

$E(Y|\gamma_i, T_j, B_k, L_l, C_m, t)$  es el promedio (o esperanza matemática) de la variable  $Y$ , condicionada al tratamiento  $i$ , el bloque  $k$ , la lactancia  $l$ , la condición corporal preparto  $m$  y el los días en lactancia  $t$  en la vaca  $i$ .

$g(.)$  es la función de enlace correspondiente al modelo lineal generalizado.

$\mu$  es el promedio general de la variable  $Y$ .

$T_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo tratamiento.

$B_k$  es el efecto de la  $k$ -ésima clase de producción (bloque).

$L_l$  es el efecto de la  $l$ -ésima lactancia.

$C_m$  es el efecto de la  $m$ -ésima categoría de condición corporal preparto.

$\gamma_i$  es el intercepto aleatorio de la  $i$ -ésima vaca.

$f(t|T_j)$  corresponde a una función de los días en lactancia  $t$  que interactúa con el tratamiento  $T_j$ .

Dado que las mediciones de las diferentes variables se tomaron en diferentes momentos de la lactancia, se utilizaron varias formas de incluir el efecto de los días en producción de leche ( $t$ ), dependiendo de cada variable respuesta. Se usó una función de ajuste local tipo thin plate spline para las variables producción de leche, nitrógeno ureico en leche (MUN), puntaje de células somáticas y porcentaje de proteína. Para las variables calcio, magnesio y fósforo se usaron polinomios de grado cuatro, la glucosa se manejó con un polinomio cúbico, mientras que para grasa láctea, sólidos totales y lactosa se usó un polinomio cuadrático. Finalmente, para las variables AST, GGT y  $\beta$ HBA se utilizó un modelo que solo contaba con una función lineal del tiempo, debido a que dicha variable solo se midió en dos momentos únicamente. En los casos en los que se usaron polinomios, se incluyó las interacciones de cada término con el tratamiento.

Se asumió una distribución normal con función de enlace identidad para la producción de leche (cruda y corregida a 4% de grasa). Para las variables  $\beta$ HBA, GGT, proteína, MUN, sólidos totales, grasa y lactosa se utilizó una gamma con función de enlace identidad, mientras que para las restantes se usó la distribución beta, con función de enlace logito. Dichos modelos se ajustaron mediante el algoritmo de máxima verosimilitud restringida (REML) en el lenguaje de programación estadística R 3.5.1 (R Core Team, 2018). Específicamente se usaron los paquetes nlme (Pinheiro, Bates, DebRoy, Sarkar, R Core Team, 2018), mgcv (Wood, 2011) y glmmTMB (Mollie et al., 2017) dependiendo del caso.

Para la selección de las estructuras de covarianza de medidas repetidas se ajustó un modelo sin estructura y se obtuvo la matriz de varianza-covarianza. Posteriormente se ajustaron varios modelos simplificados, escogiendo el que más se aproximara a dicha estructura (si es que alguno lo hacía), de acuerdo con Littell, Milliken, Stroup, Wolfinger y Schabenberger (2006). Las estructuras de covarianza escogidas fueron ARMA (4,4) para el calcio, AR (4) para el fósforo, AR (1) continua para producción, MUN y puntaje de células somáticas y sin estructura para el magnesio y la glucosa. En otras variables no fue necesario utilizar una estructura de covarianza y se asumió independencia temporal de las observaciones.

Adicionalmente se realizó un análisis de la incidencia de hipocalcemia clínica ( $Ca < 5,5$ ) y subclínica ( $Ca < 8,0$ ) usando un modelo ordinal mixto, mediante el paquete ordinal (Christensen, 2019). Se intentó realizar lo mismo con la variable  $\beta$ HBA, para modelar las incidencias de cetosis clínica y subclínica, pero los conteos de casos en cada categoría fueron pequeños y no permitieron un ajuste adecuado. Esta metodología fue aplicada también para el caso de la Condición Corporal, pero en vez de obtener las probabilidades de cada categoría, se estimó el promedio de los valores. En este último caso, se excluyó de los predictores del modelo la condición corporal inicial, ya que fue incluida como parte de la respuesta.

La separación de medias se realizó mediante la prueba Tukey con un nivel de significancia de 0,05, usando el paquete emmeans (Lenth, 2018) de R.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

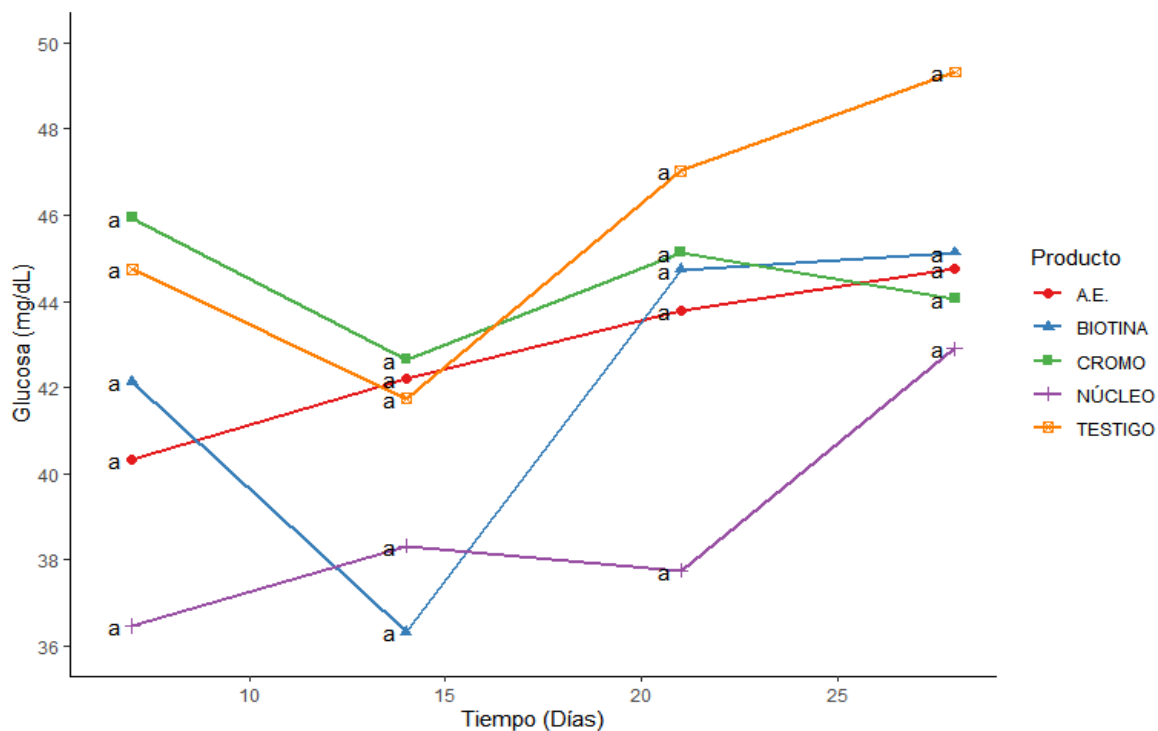
Los tratamientos de la presente investigación se tuvieron que modificar ya que 2 vacas pertenecientes al grupo Biotina se descartaron por aborto y paratuberculosis respectivamente. También se tuvo que eliminar una vaca del tratamiento Cromo por muerte accidental con 14 días de lactancia.

Además, se apartaron de la prueba una vaca del tratamiento Cromo con 88 días de lactancia (D.L.) y una vaca del tratamiento Biotina con 69 D.L., por enfermedad y venta respectivamente. Posteriormente se descartó una vaca del tratamiento Núcleo por mastitis, con 45 D.L.

### *Metabolitos en sangre*

#### *Glucosa*

El nivel de glucosa en sangre presentado por las vacas del estudio se muestra en la Figura 9 y Anexo 1.



### **Figura 9. Niveles de glucosa en sangre (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos**

De acuerdo con los resultados obtenidos, no se presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos. En cuanto a los niveles de glucosa reportados en el presente trabajo, se puede constatar que se encuentran dentro de rangos reportados en la literatura (Butler, 2001; Galviz y Correa, 2002; Sulieman, Makawi, Ibrahim, 2017). Karcher, Pickett, Varga y Donkin (2007) y Bossaert, Leroy, De Vliegher y Opsomer (2008), obtuvieron mediciones ascendentes de glucosa en sangre desde 4 hasta 40 días postparto, lo cual coincide con el comportamiento de la glucosa en la presente investigación.

De acuerdo con Rosendo et al. (2004), la biotina funciona como una coenzima esencial para 4 carboxilasas en los mamíferos, de las cuales 2 catalizan pasos críticos en el proceso de gluconeogénesis. En la presente investigación, las vacas del tratamiento Biotina y las vacas del tratamiento Núcleo, recibieron 20 mg de biotina/vaca/día durante los primeros 100 días postparto.

Al respecto, Zimmerly y Weiss (2001) tampoco obtuvieron resultados significativos en glucosa sanguínea cuando suplementaron con 10 y 20 mg de biotina/vaca/día desde 14 días preparto hasta 100 días postparto, pero sí tuvieron un aumento significativo en el tiempo.

De igual manera, Majee et al. (2003) tampoco presentaron diferencias significativas de glucosa en sangre con la suplementación de 20 mg de biotina/vaca/día a partir de  $46 \pm 8$  D.L. Una de las razones que pueden explicar una ausencia en el efecto de la suplementación con biotina sobre el nivel de glucosa en sangre, es que las concentraciones de metabolitos en el plasma no miden la cantidad del metabolito producido (Zimmerly y Weiss, 2001) o utilizado, por esa razón pueden no ser buenos indicadores de los efectos de los tratamientos sobre el metabolismo de los nutrientes (Majee et al., 2003).

Por otro lado, se ha encontrado una relación entre los niveles de glucosa en sangre y la producción de leche. Herbein, Aiello, Eckler, Pearson y Akers (1985), reportaron que vacas con producciones de leche arriba del promedio tuvieron menor concentración de glucosa en plasma que vacas con producciones de leche promedio. En el estudio de Zimmerly y Weiss (2001), las concentraciones de glucosa en plasma y la producción de leche también aparentaron presentar una asociación negativa. Bergsten et al. (2003) sugieren que, con una mayor producción de leche, aumenta la demanda de biotina requerida para la biosíntesis de glucosa, ácidos grasos y proteína.

No obstante, Rosendo et al. (2004) sí obtuvieron un aumento significativo sobre el nivel de glucosa en sangre con la suplementación de biotina a razón de 20 mg/vaca/día durante 16 días preparto y 30 mg/vaca/día durante 70 días postparto, y este incremento se mantuvo constante a través de las semanas postparto. Los autores especulan que la glucosa en plasma fue mayor en las vacas suplementadas con biotina en este estudio porque éstas no convirtieron la glucosa adicional en leche, mientras que en los estudios mencionados anteriormente se aumentó la producción de leche mas no así el nivel de glucosa en plasma con la suplementación de biotina.

Enjalbert, Nicot y Packington (2008), argumentan que la glucosa en plasma puede no ser un buen indicador de la disponibilidad de glucosa y que la disponibilidad de la glucosa suplementada pudo haber sido direccionada hacia la glándula mamaria para sostener un aumento en la producción de leche, sin aumentar la concentración a nivel plasmático.

Por otro lado, se ha reportado que las concentraciones de insulina después del parto tienen una heredabilidad moderada, y se ha sugerido que vacas de alta producción de leche pueden tener una tendencia genética de menores valores de insulina en sangre. Al presentar menores valores de insulina en tejidos periféricos, en la vaca se genera un estado de ahorro de glucosa con lo que aumenta la disponibilidad de este metabolito para la glándula mamaria (Bossaert et al., 2008).

A los aceites esenciales se les atribuye mejoras en la fermentación ruminal, de manera que aumentan la producción de propionato, generando glucosa, y disminuyen la producción de metano, también modifican la peptidólisis y la desaminación, sin embargo, los resultados no han sido consistentes (Drong et al., 2016). En el presente experimento, las vacas del grupo (A.E.) y el grupo Núcleo fueron suplementados durante los primeros 100 días postparto con 1 g de una mezcla de aceites esenciales compuesto por 25-35% timol, 5-10% eugenol, 10-20% vainilina, 20-35% limoneno, 10-15% guaiacol y 5-10% salicilaldehído (Rossi, 1999) sin cuantificarse alteraciones en el nivel de glucosa en las vacas.

Inefectividad de los aceites esenciales sobre la concentración de glucosa en sangre también son informados por Tassoul y Shaver (2009) y Scharen et al. (2017), al suplementar con 1 g de la mezcla de aceites esenciales/vaca/día desde 3 semanas preparto hasta varias semanas postparto. Indican como posible explicación a la ausencia de efectos con la

suplementación de aceites esenciales el largo periodo de exposición al producto y la consecuente adaptación de la microbiota ruminal.

Benchaar et al. (2006) también señalan la posible adaptación de los microorganismos ruminales a los aceites esenciales, ya que se ha observado que los efectos de diferentes compuestos de aceites esenciales sobre la fermentación microbiana en rumen desaparecen después de 6 días de incubación en sistemas de cultivo continuo.

La evidencia de la actividad antimicrobial *in vivo* de los aceites esenciales ha sido confusa hasta la fecha, probablemente por la capacidad anteriormente mencionada de los microorganismos ruminales para adaptarse y degradar estos metabolitos secundarios. Asimismo, muchas de las concentraciones de aceites esenciales que han obtenido respuestas favorables en la fermentación *in vitro* son demasiado altas para aplicaciones *in vivo* (Benchaar y Greathead, 2011).

Otro punto a tomar cuenta es que existe una variación considerable en el contenido de los compuestos activos en estos extractos debido a la variedad de la planta cultivada, condiciones de crecimiento y métodos de procesamiento, entre otros (Calsamiglia et al., 2007). Otros factores que inciden en la respuesta son dosis (Benchaar et al., 2006) y tipo de ración (Calsamiglia et al., 2007).

El cromo se ha vinculado al metabolismo de la glucosa y en la presente investigación, el grupo Núcleo y otro de los grupos (Cromo) recibió durante los primeros 100 días de lactancia, una dosis de 6 mg de Cr-Met/vaca/día sin cuantificarse diferencias entre tratamientos. Bryan et al., (2004) tampoco determinaron diferencias significativas en el nivel de glucosa sanguínea con la suplementación de 6,25 mg cromo orgánico/vaca/día durante 6 semanas preparto y 21 semanas postparto.

De igual forma, Hayirli et al. (2001) no obtuvieron resultados significativos con la suplementación de 8,3 mg y 7,7 mg cromo orgánico/vaca/día durante 21 días preparto y 28 días postparto respectivamente, sobre los niveles de glucosa en sangre. Estos autores indican que, la concentración de glucosa en plasma o la concentración de insulina en suero puede ser difícil de interpretar de manera separada en términos de evaluar el efecto del cromo, ya que la concentración de ambos metabolitos está armónicamente regulada entre ellos.

En la prueba de Hayirli et al. (2001) se obtuvo una menor relación insulina: glucosa en las vacas que fueron suplementadas con Cr-Met en comparación con las no



suplementadas, lo que sugiere una mejoría en la sensibilidad de los tejidos a la insulina (Subiyatno, Mowat, Yang, 1996). Esto es de suma importancia ya que, si bien en la presente investigación no se midió el nivel de insulina en sangre, una mejoría en la sensibilidad de los tejidos a esta hormona mediante la suplementación con cromo puede contrarrestar uno de los efectos que se producen en la vaca a raíz de un balance energético negativo (Bossart et al., 2008), que podría asociarse a una mejora en la producción o en menor desgaste de la condición corporal postparto.

#### *Betahidroxibutirato ( $\beta$ HBA)*

El nivel de betahidroxibutirato ( $\beta$ HBA) en sangre presentado por las vacas del estudio se muestra en el Anexo 2 y Cuadro 4. Según los resultados obtenidos, no se evidencian diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, es importante mencionar que se tuvo una incidencia del 25% de cetosis subclínica y 6,25% de cetosis clínica a los 30 días de lactancia (tipo I), la cual es superior a la prevalencia encontrada por Saborío-Montero y Sánchez-González (2013) en un hato Jersey bajo condiciones de pastoreo. Cabe subrayar que estos autores utilizaron un valor umbral superior para la cetosis subclínica al empleado en esta investigación, lo cual incide sobre el análisis de comparación entre ambas investigaciones.

**Cuadro 4.** Nivel de betahidroxibutirato en sangre (mmol/L) obtenidos en los 5 tratamientos en el día 8 y día 30 postparto

Grupo	8 d	30 d
A.E.	1,23 (0,195) a	1,47 (0,258) a
Biotina	1,56 (0,326) a	1,25 (0,265) a
Cromo	0,94 (0,206) a	1,07 (0,224) a
Núcleo	1,24 (0,207) a	1,28 (0,213) a
Testigo	1,09 (0,180) a	1,09 (0,194) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna. (valor de  $p < 0,05$ )

En cuanto a la cetosis tipo II, se obtuvo 21,2% de cetosis subclínica y 3% de cetosis clínica. Oetzel (2007) sugiere utilizar el valor de 10% de prevalencia de cetosis clínica como el valor a partir del cual deben revisarse las prácticas de manejo y alimentación del hato lechero para hacer las correcciones respectivas. Sin embargo, el autor brinda este dato a partir de información generada de hatos estabulados de la raza Holstein. Saborío-Montero

y Sánchez-González (2013) mencionan que vacas de la raza Jersey, presentan características de consumo de materia seca diferentes a vacas de la raza Holstein que les permite depender menos de las reservas corporales durante el periodo de mayor riesgo a padecer cetosis tipo II, por lo que podrían ser menos susceptibles a sufrir esta enfermedad metabólica.

Otro factor influyente en la aparición de cetosis tipo I es la deficiencia de energía en los animales. En esta investigación se puede apreciar que existe una deficiencia en la dieta de las vacas en producción en términos de energía proveniente de carbohidratos no fibrosos, específicamente de almidón, el cual dio 17,4% de la materia seca (aporte: 3,13 kg/vaca/d), en comparación con el nivel recomendado por Campabadal (1999) que oscila entre 25 y 35%.

Con respecto a los aditivos utilizados, no se han reportado diferencias significativas en los niveles de  $\beta$ HBA con la suplementación de biotina (Rosendo et al., 2004; Majee et al., 2003; Enjalbert et al., 2008). De igual manera tampoco se han reportado diferencias significativas con la dosificación de cromo orgánico en vacas lecheras (Bryan et al., 2004; Hayirli et al., 2001). Sin embargo, Ghorbani et al. (2012) sí obtuvieron diferencias significativas en el contenido de  $\beta$ HBA en sangre cuando suplementaron con cromo orgánico a razón de 0,03 mg/kg PV<sup>0,75</sup> a terneras Holstein. Sin embargo, se conoce que el betahidroxibutirato en animales jóvenes está relacionado con el desarrollo ruminal y no con una excesiva movilización de ácidos grasos como ocurre en los bovinos adultos, por lo que se atribuye esta respuesta positiva al uso de  $\beta$ HBA periférico (Ghorbani et al., 2012).

En cuanto a la suplementación con la mezcla de aceites esenciales, Drong et al. (2016) obtuvieron resultados superiores sobre los niveles de  $\beta$ HBA en sangre entre 15 y 56 D.L., en comparación con el consumo de monensina, cuando suplementaron con 1 g de dicha mezcla/vaca/día a vacas Holstein sobrecondicionadas desde 21 días preparto hasta 56 días postparto. Similarmente, Tassoul y Shaver (2009) no obtuvieron diferencias significativas en  $\beta$ HBA en sangre cuando suplementaron a vacas Holstein con 1 g de la misma mezcla de aceites esenciales/vaca/día desde 3 semanas preparto hasta 15 semanas postparto.

Al igual que se menciona para el caso de la glucosa, diferentes autores justifican la ausencia de efectos con la suplementación de la mezcla de aceites esenciales a la adaptación de los microorganismos ruminales ante los aceites esenciales y a que las

evaluaciones hechas *in vitro* con dosificaciones que no pueden emplear *in vivo* pueden llevar a conclusiones poco precisas (Benchaar y Greathead, 2011; Scharen et al., 2017).

### Enzimas Hepáticas

En la presente investigación se determinó el contenido de dos enzimas hepáticas (AST y GGT) en suero sanguíneo al día 1 y 21 postparto, los cuales se pueden observar en el Cuadro 5. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en los días seleccionados.

**Cuadro 5.** Contenidos (UI/L) de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST) y gamma glutamil transferasa (GGT) en suero en los diferentes tratamientos a los días 1 y 21 postparto.

Enzima	AST		GGT	
	1 d	21 d	1 d	21 d
A.E.	101,3 (6,98) a	105,3 (7,18) a	14,9 (2,12) a	15,8 (2,28) a
Biotina	81,3 (6,76) a	111,6 (8,31) a	17,1 (2,67) a	19,3 (3,02) a
Cromo	78,5 (6,13) a	109,1 (7,56) a	19,7 (2,85) a	21,8 (3,14) a
Núcleo	95,6 (6,46) a	118,3 (7,76) a	15,3 (2,09) a	19,9 (2,73) a
Testigo	97,1 (6,12) a	94,8 (6,04) a	16,2 (2,36) a	17,2 (2,53) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna (valor de  $p < 0,05$ )

Las enzimas aspartato amino transferasa (AST) y gamma glutamil transferasa (GGT) son dos enzimas hepáticas utilizadas en el diagnóstico clínico de enfermedades hepatocelulares. La GGT se considera órgano-específica ya que es canalicular, mientras que la AST es hepatocelular pero también se ubica en células del músculo esquelético, cardíaco y eritrocitos entre otros (Noro, Cid, Wagemann, Arnés, Wittwer, 2013).

Los valores encontrados demuestran que al día 21 de lactancia, las vacas del estudio presentaron un valor de AST mayor al valor de referencia establecido por el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Universidad Nacional (94,8 a 118,3 vs 70 a 90 UI/L). Sin embargo, Ceballos et al., (2002) obtuvieron valores de AST en vacas con menos de 60 días de lactancia entre 52 a 104 UI/L, los cuales se asemejan más a los valores encontrados en la presente investigación. Asimismo, a nivel nacional, Padilla (2010) encontró valores de AST en vacas Holstein en lactancia temprana de 41 a 180 UI/L. Valores crecientes de AST

en plasma sanguíneo indican afectación en la función de los hepatocitos (Weber et al., 2015).

Por otro lado, cabe rescatar que, en Chile, Noro et al. (2013) en valoraciones de perfiles bioquímicos sanguíneos de vacas lecheras, obtuvieron la mayor sensibilidad y especificidad para la AST cuando ésta superó el valor de 110 UI/L.

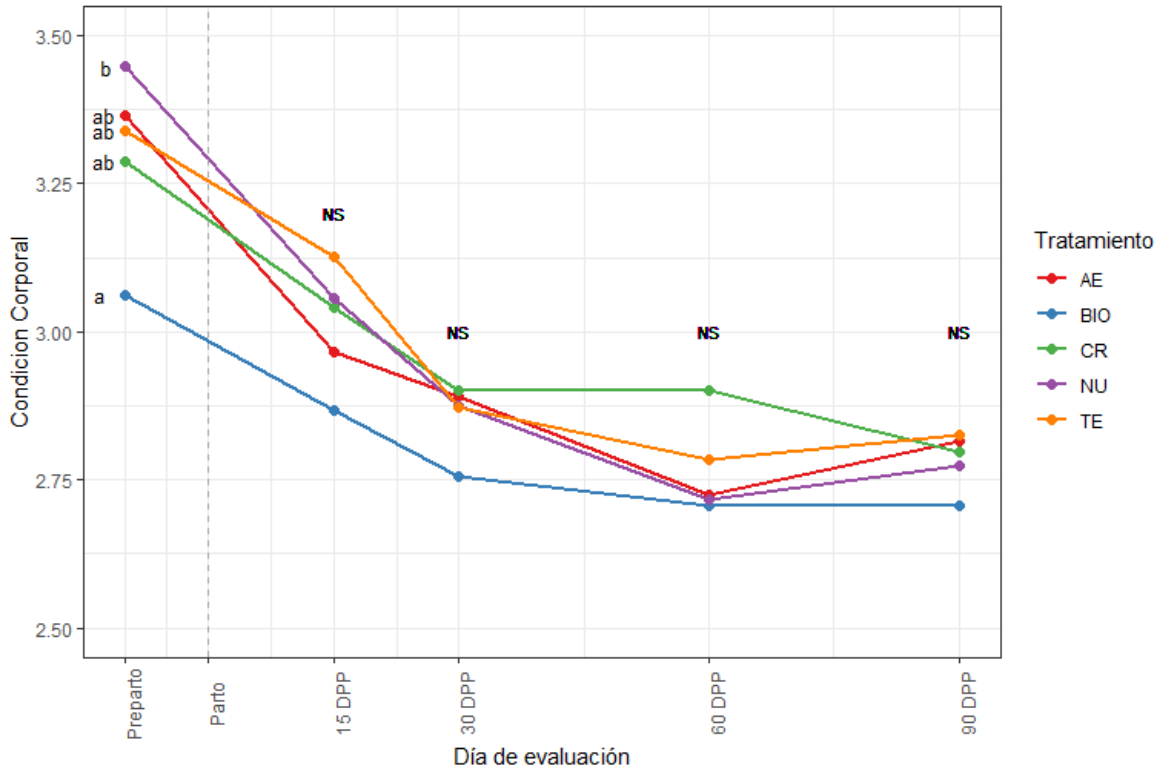
Con respecto a los niveles sanguíneos obtenidos para la enzima GGT (de 14,9 a 21,8 UI/L), se puede observar que éstos se mantienen cercanos al rango mínimo establecido por el laboratorio de la UNA para esta enzima en sangre, el cual es de 20 a 48 UI/L.

De acuerdo con Cozzi et al. (2011), incrementos en el contenido de GGT en suero reflejan daño a nivel hepático en ganado lechero. No obstante, también se puede observar un incremento en el contenido de esta enzima en vacas sanas, atribuible a un mayor estrés productivo en vacas múltiparas en comparación con vacas primíparas.

Tal como se mencionó anteriormente, la enzima GGT es más específica del hígado que la enzima AST, lo cual podría indicar que los niveles obtenidos de ambas enzimas en sangre se deban principalmente a estrés productivo y en menor grado a un posible daño a nivel hepático.

### *Condición Corporal*

Como se puede observar en el Anexo 3 y Figura 10, no se presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos sobre la condición corporal de las vacas, desde 7-15 días parto hasta 90 días postparto. Sin embargo, es evidente que las vacas pertenecientes al grupo Biotina tuvieron una condición corporal (CC) inferior a las vacas de los demás grupos desde antes de iniciar con la presente investigación.



**Figura 10. Medición de CC en las vacas de los 5 tratamientos**

Cabe mencionar que el comportamiento de la curva de condición corporal en el presente estudio fue similar al obtenido por Saborío-Montero y Sánchez-González (2014) en vacas Jersey en pastoreo, donde obtuvieron el nadir de CC en la semana 8 postparto, lo cual coincide con el valor menor de condición corporal reportado en este estudio.

Con respecto a la suplementación con aditivos, Zimmerly y Weiss (2001) indican que la adición de biotina (10-20 mg /vaca/día) no tuvo efecto sobre la condición corporal, pero sí hubo un efecto de la misma en el tiempo, es decir, sí se presentó un cambio conforme pasaron los días postparto. Asimismo, Rosendo et al. (2004) tampoco obtuvieron diferencias significativas sobre la condición corporal o cambios sobre la CC con la dosificación de 20mg de biotina.

En diversas investigaciones donde se evaluó la respuesta de los animales a la suplementación con 1g de la mezcla de aceites esenciales, no se encontraron diferencias significativas sobre la condición corporal (Tassoul y Shaver, 2009; Drong et al., 2016 y Scharen et al., 2017).

En cuanto a la suplementación con cromo orgánico, Hayirli et al. (2001) obtuvieron mejores notas de condición corporal y menores pérdidas de condición corporal postparto cuando dosificaron a vacas Holstein multíparas cantidades crecientes de cromo orgánico de 0; 0,03; 0,06 y 0,12 mg Cr-Met/kg PV<sup>0,75</sup>, de 4 semanas preparto a 4 semanas postparto, lo cual se atribuyó a un mayor consumo de materia seca (CMS) en las vacas suplementadas con cromo. Según Hayirli et al. (2001), el CMS fue estimulado por una posible eliminación de una deficiencia de cromo causada por un aumento en los niveles de cortisol debido al estrés que se produce en las vacas durante el parto.

Otra posible razón que explique un mayor consumo de materia seca con la suplementación de cromo orgánico, es que se ha demostrado una mejoría en la sensibilidad de los tejidos a la insulina con lo cual se reduce la lipólisis y por ende se estimula el consumo (Rockwell y Allen, 2016; Allen, 2019).

Por otro lado, Subiyatno et al. (1996) no encontraron diferencias significativas en condición corporal ni en pérdida de peso cuando suplementaron a vacas Holstein con 5,5 mg cromo orgánico/vaca/d en la etapa preparto y 10 mg/vaca/d en el postparto. De igual manera, Rockwell y Allen (2016) tampoco encontraron diferencias significativas en condición corporal cuando suplementaron con 8 mg de propionato de cromo/vaca/d a vacas Holstein desde 28 días preparto hasta 28 días postparto.

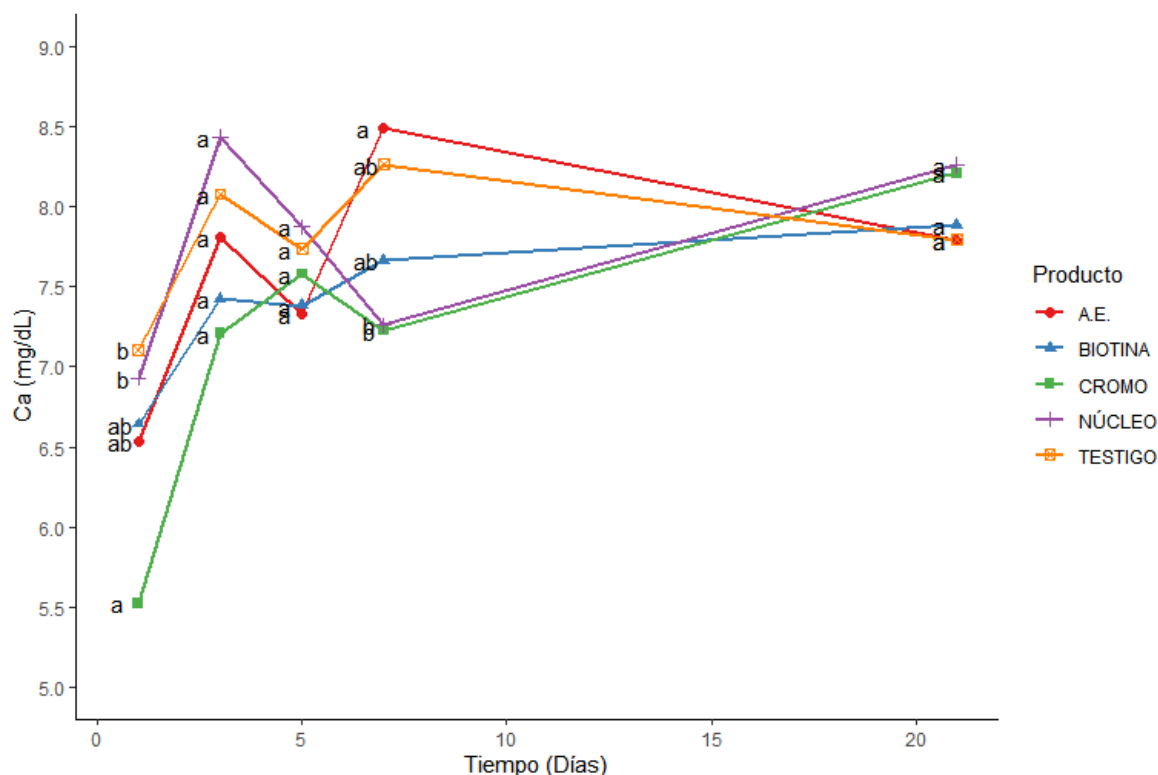
Smith, Waldron, Drackley, Socha y Overton (2005) obtuvieron diferencias significativas en condición corporal en la etapa preparto pero no en el postparto, cuando suplementaron con dosis crecientes de Cr-Met (0; 0,03; 0,06 mg de Cr/kg de PV<sup>0,75</sup>) a vacas Holstein desde 4 semanas antes hasta 4 semanas después del parto.

En la presente investigación, no hubo diferencias significativas sobre la condición corporal de las vacas durante el periodo evaluado. Tal como se mencionó previamente, factores como dosis, dieta, inicio de suplementación con respecto al parto y el tipo de compuesto de cromo suministrado, son factores que afectan la respuesta de los animales con la suplementación de este mineral (Allen, 2019).

Respecto al tipo de compuesto, Allen (2019) indica que no se han hecho estudios para comparar los efectos de los diferentes compuestos de cromo sobre el rendimiento de ganado lechero, sin embargo, se conoce que se pueden presentar diferencias en las características de disociación de dichos compuestos a lo largo del tracto gastrointestinal que podrían llegar a afectar la absorción.

## Calcio

Los niveles de calcio en suero sanguíneo obtenidos en los 5 tratamientos se muestran en la Figura 11 y Anexo 4. Como se puede apreciar, todas las vacas incluidas en el estudio presentaron valores de hipocalcemia subclínica el día 1 postparto, lo cual coincide con Reinhardt, Lippolis, McCluskey, Goff y Horst (2011); Sánchez-González y Saborío-Montero (2014a) y Albornoz et al. (2017), quienes mencionan que durante el parto o poco tiempo después del mismo, existe una hipocalcemia subclínica en las vacas lecheras, caracterizada por concentraciones de calcio en sangre  $<8,0$  mg/dl y  $>5,5$  mg/dl. De acuerdo con Venjakob, Borchardt y Heuwieser (2017), esto se atribuye a que inicia la producción de calostro con el consecuente aumento en la demanda de calcio, por lo que el nadir de la concentración de calcio en suero ocurre de 12 a 24 horas postparto.



**Figura 11. Niveles de calcio sanguíneo obtenidos de los diferentes tratamientos en los días establecidos postparto.**

Dentro de las posibles razones que explican estos bajos valores, se mencionan el número de partos (Goff, Reinhardt, Horst R, 1995; Reinhardt et al., 2011; Sánchez-

González y Saborío-Montero, 2014b), la raza (Goff et al., 1995; NRC, 2001), el manejo alimenticio preparto (Amaral, 2014), la ubicación geográfica de los sistemas de producción (Saborío-Montero, Vargas-Leitón, Romero-Zúñiga, Sánchez-González, 2017b) entre otros.

Con respecto al número de partos, se ha demostrado que éste es el factor de riesgo que tiene mayor efecto sobre la incidencia de hipocalcemia clínica (Saborío-Montero et al., 2017b), estos autores encontraron que un animal de 3 y 6 o más partos tiene respectivamente 11,8 y 52,4 veces la probabilidad de sufrir fiebre de leche, en comparación con un animal de primer parto. Esto se debe a que conforme el número de partos aumenta se disminuyen los niveles de calcio en sangre (Reinhardt et al., 2011; Gild, Alpert, van Straten, 2015; Sánchez-González y Saborío-Montero, 2014b). Esta situación se da por diferentes causas, entre las cuales se menciona en la literatura una menor capacidad de remover calcio de los huesos (van Mosel, van't Klooster, van Mosel, van der Kuilen, 1993), reducción en el transporte de calcio a nivel intestinal (Horst, Goff, Reinhardt, 1990), menos receptores para  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en el intestino en comparación con animales jóvenes (Goff et al., 1995) y menor capacidad de formación ósea debido a que la actividad de los osteoblastos también disminuye conforme la edad del animal aumenta (Taylor, Knowlton, McGilliard, Seymour, Herbein, 2008). Por el contrario, se da una menor producción de calostro en novillas de primer parto en comparación con vacas multíparas, lo cual favorece un menor estrés de calcio en las primeras (NRC, 2001). En el presente experimento un 68,6% de las vacas suplementadas tienen 4 lactancias o más, lo que predispone a la hipocalcemia.

Por otro lado, es importante recalcar que todas las vacas del estudio son de la raza Jersey, lo cual aumenta el riesgo de aparición de hipocalcemia de acuerdo con el NRC (2001), aunque no se tienen claras las razones sí se conoce que el contenido de calcio tanto en el calostro como en la leche de las vacas Jersey es mayor en comparación con la raza Holstein (Kronqvist, 2011), lo cual podría provocar una mayor afectación en la homeostasis del calcio en estos animales. En una investigación hecha por Jarvis, Brown y Arnott (1962), se obtuvo 1,44 g de calcio por litro de leche en vacas Jersey y 1,22 g de calcio por litro de leche en vacas Holstein.

De igual forma, Goff et al., (1995) encontraron que vacas de la raza Jersey presentan una cantidad menor de receptores de la hormona  $1,25$  dihidroxivitamina D (95 fmol/mg de proteína) que vacas de la raza Holstein (142 fmol/mg de proteína), lo que las hace más susceptibles a presentar casos de hipocalcemia en momentos donde se reta el metabolismo



de este elemento. Sánchez-González y Saborío-Montero (2014b) obtuvieron menores valores de calcio sanguíneo en vacas Jersey en un estudio donde se comparó las concentraciones de este mineral en el parto en vacas de las razas Jersey, Guernsey y Holstein.

Para reducir o prevenir la aparición de hipocalcemia clínica y subclínica en las vacas lecheras, se han señalado diferentes estrategias nutricionales. Al respecto, Amaral (2014) indica que bajos niveles de calcio en la dieta preparto, inclusión de forrajes bajos en potasio en la etapa preparto, suplementación con sales aniónicas preparto y fuentes orales de calcio postparto, forman parte de las alternativas que se pueden utilizar para reducir la incidencia de esta enfermedad metabólica.

En la presente investigación los animales fueron suplementados con sales aniónicas preparto, a una dosis de 750 g/vaca/día, lo que puede asociarse a una disminución en la incidencia de hipocalcemias cuantificadas con respecto a previas investigaciones realizadas en la misma finca. Saborío-Montero et al., (2017a) obtuvieron valores de 37,8% de hipocalcemia clínica; 59,5% de hipocalcemia subclínica y 2,7% de vacas sanas, en comparación con los valores que se mostraron en la presente investigación: 27,3% de hipocalcemia clínica; 63,6% de hipocalcemia subclínica y 9,1% de vacas sanas.

Adicionalmente, se ha sugerido la suplementación con metabolitos de la vitamina D (calcidiol y calcitriol) como se mencionó en la primera parte de este trabajo, con el fin de aumentar los niveles de calcio en sangre postparto (Taylor et al., 2008; Vieira-Neto et al., 2017; Rodney et al., 2018a).

En el presente experimento se incorporó una fuente de calcidiol en todos los tratamientos excepto en el grupo testigo, a una dosis de 1 mg de calcidiol/vaca/día a partir del día del parto. De acuerdo con los resultados obtenidos, no se presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos en los días contemplados. La respuesta al calcidiol se ve afectada por dosis (Taylor et al., 2008); el tiempo de suplementación, tipo y etapa productiva de los animales (Rodney et al., 2018b) y la forma del suplemento.

Al respecto Taylor et al., (2008), utilizando un bolo de almidón de maíz con 15 mg de calcidiol/vaca 6 días antes del parto no encontraron diferencias en calcio sanguíneo postparto de vacas Jersey multíparas. De igual manera, Weiss et al. (2015) tampoco determinaron diferencias significativas en calcio sanguíneo postparto cuando

suplementaron vacas Holstein con una dosis de 6 mg de calcidiol/vaca/día durante 13 días preparto.

En un estudio realizado por Wilkens et al. (2012), se obtuvo mejores concentraciones de calcio sanguíneo al día 1 postparto cuando se suplementó con 3 mg de calcidiol/vaca/día a 28 vacas Holstein durante 10 días preparto. Es importante mencionar que tanto Wilkens et al. (2012) como Weiss et al. (2015) emplearon el calcidiol en conjunto con sales aniónicas, lo cual demostró un efecto sinérgico sobre la homeostasis del calcio en el primero mas no en el segundo debido a la dosis del metabolito de la vitamina D suministrada.

Asimismo, Poindexter (2017) obtuvo diferencias significativas tanto en calcio como en fósforo a nivel sanguíneo, cuando suplementó a vacas Holstein con una dosis de 3 mg de calcidiol/vaca/día durante 21 días. Cabe mencionar que las vacas en el estudio de Poindexter (2017) presentaron como mínimo 110 días de lactancia, lo cual es uno de los factores que menciona el autor que pudo influir sobre este resultado, ya que vacas en lactancia media y tardía tienen menor demanda de calcio en comparación con vacas durante el periodo de transición como ocurrió en los estudios antes mencionados. Otro punto a considerar es la dosis empleada, en este estudio el autor evaluó dos dosis (1 mg/vaca/día y 3 mg/vaca/día), de las cuales la primera dosis no presentó diferencias significativas en los contenidos de los minerales citados.

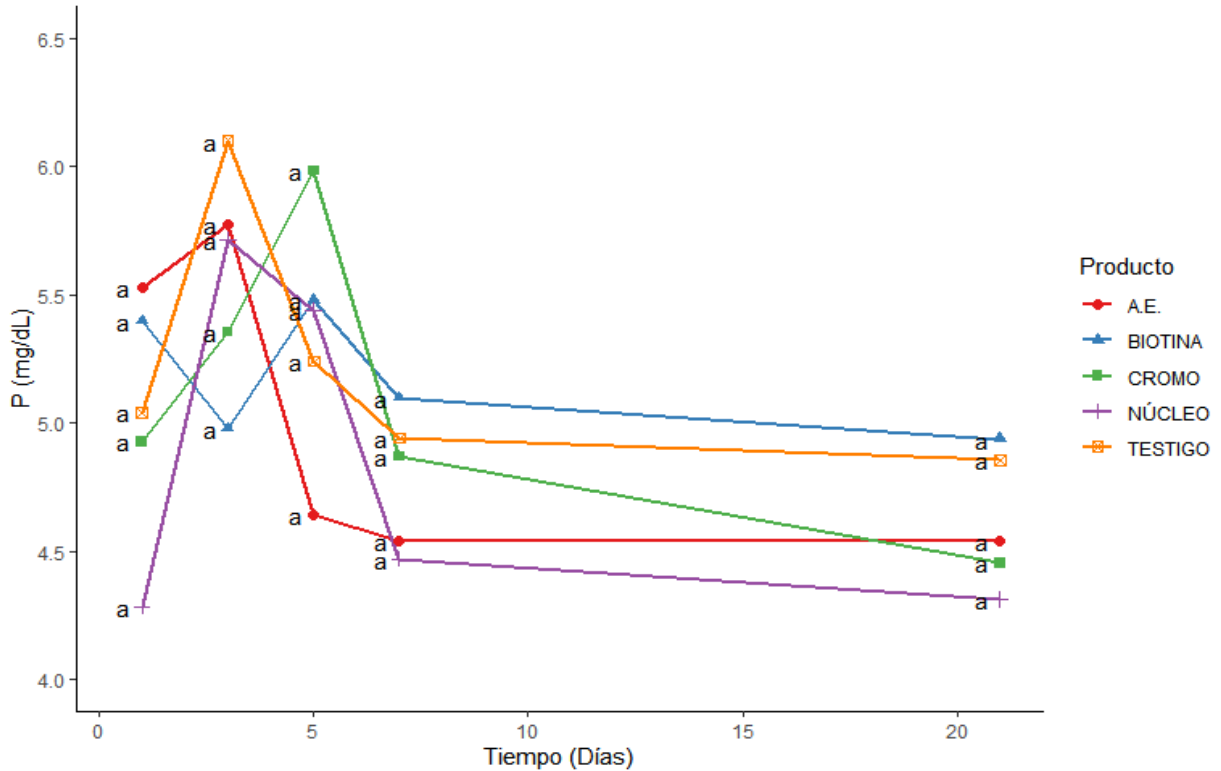
Propuestas para explicar la respuesta al calcidiol incluye conceptos de retroalimentación como lo indica Weiss et al. (2015) al mencionar que la dosis que emplearon (6 mg/vaca/día) aumentó la concentración de calcitriol y esto pudo generar un efecto de retroalimentación negativa sobre el mecanismo homeostático del calcio. Un efecto similar tuvo Rodney et al. (2018b) cuando evaluaron la suplementación de diferentes dosis de calcidiol en vacas Holstein con  $206 \pm 53$  D.L. y encontraron que a mayor dosis de calcidiol (0 hasta 4 mg/vaca/d) se presentó mayor concentración de calcidiol en sangre, pero también mayor concentración de  $24,25\text{-(OH)}_2\text{-D}_3$ , el cual es un metabolito inactivo de la vitamina D que se produce por la acción de la enzima 24- hidroxilasa en respuesta a un aumento de calcidiol y calcitriol a nivel sanguíneo, con el fin de facilitar su excreción (Weiss et al., 2015; Poindexter, 2017; Rodney et al., 2018b). En este caso, tampoco se encontraron diferencias significativas en los niveles de calcio en sangre atribuido a la etapa en la que se suplementaron las vacas.

En el presente estudio, si bien no se presentaron diferencias significativas del contenido de calcio a nivel sanguíneo en los días seleccionados, sí se puede notar una tendencia ascendente en dicho parámetro al término de los 21 días, lo cual es propio de la respuesta del organismo a la regulación del calcio ya que los valores de este mineral en sangre se normalizan entre 2 hasta 7 días postparto (Venjakob et al., 2017; Guo, Jones, Givens, Lovegrove, Kliem, 2018).

En la presente investigación, al dosificar 1 mg de calcidiol/vaca/día quizás no se logra incrementar de forma significativa los niveles de este metabolito en sangre durante el periodo establecido, en comparación con dosis de 2 y 4 mg (Rodney et al., 2018b). Esto podría explicar la falta de respuesta a la suplementación con 1 mg/vaca/día en este estudio similar a los resultados obtenidos en el estudio de Poindexter (2017), al comparar 1 y 3 mg de calcidiol/vaca/día. Los resultados de la presente investigación son además similares a los informados por Guo et al. (2018), al suplementar vacas Holstein con 1,5 mg de calcidiol/vaca/día desde el día 1 hasta el día 56 postparto. Dicha prueba es la que más se asemeja al presente experimento en cuanto a dosis y etapa de suplementación.

### *Fósforo*

Los contenidos de fósforo en suero sanguíneo de las vacas pertenecientes a los 5 tratamientos se muestran en la Figura 12 y Anexo 5, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos y los valores se encuentran dentro de los rangos ideales (Taylor et al., 2008; Albornoz, 2017; UNA, 2019).



**Figura 12. Niveles de fósforo en suero sanguíneo en los distintos tratamientos**

Se han obtenido respuestas positivas en la concentración de calcio y fósforo preparto con la suplementación de calcidiol (Wilkins et al., 2012; Rodney et al., 2018a). En estos estudios se incluyó el calcidiol en la dieta preparto con el fin de mejorar los niveles de ambos minerales postparto, sin embargo, los autores mencionan que existe una serie de factores que inciden en la respuesta de los animales. Una de las causas que menciona la literatura es que al mejorar los niveles de calcio y fósforo antes del parto, se influye en la activación de los mecanismos homeostáticos que se desencadenan de forma natural en las vacas al momento del parto, lo cual afecta de manera negativa la absorción y resorción de calcio y fósforo en intestino y hueso respectivamente, y la reabsorción del calcio en el riñón (Gibbens, 2012; Weiss et al., 2015).

Con respecto a los mecanismos homeostáticos, Rodney et al. (2018a) obtuvieron con la suplementación de 3 mg de calcidiol/vaca/día mayores niveles de fósforo sanguíneo en la etapa preparto, sin embargo, se conoce que un aumento de fósforo preparto a nivel sanguíneo estimula la producción y secreción de una proteína denominada factor estimulante de los fibroblastos (FGF-23) por parte de los osteoblastos y osteocitos, quienes

regulan el fosfato en sangre y además inhiben la enzima 1  $\alpha$ - hidroxilasa, la cual se encarga de transformar el calcidiol a calcitriol por lo que se suprime la síntesis del segundo y por ende, la absorción de calcio y fósforo postparto. Además, el FGF-23 estimula el catabolismo del calcidiol y calcitriol ya que activa la enzima 24- hidroxilasa (Poindexter, 2017; Rodney et al., 2018a).

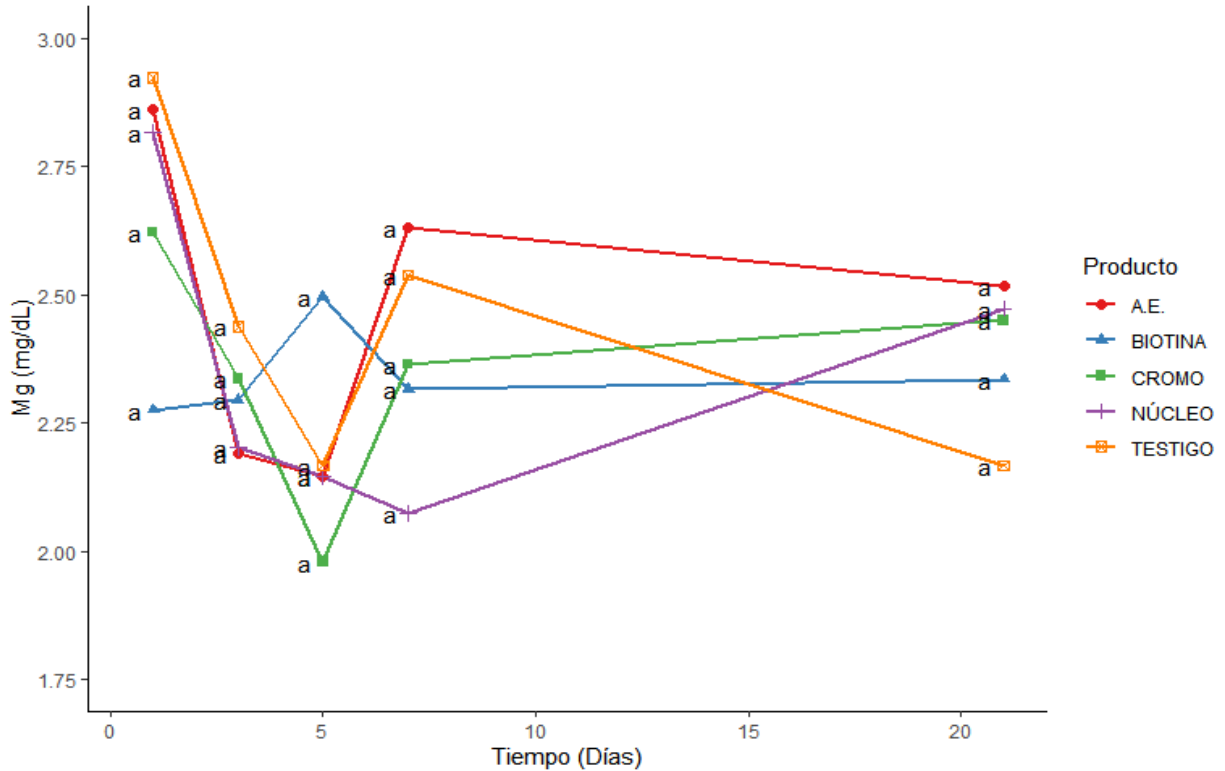
En el estudio realizado por Wilkens et al. (2012), sí se obtuvo mejoras significativas en el contenido de calcio sanguíneo postparto mas no en el nivel de fósforo, los autores atribuyeron dicha respuesta a una liberación insuficiente de minerales del hueso en vacas de 3 o más partos.

A pesar de que los metabolitos de la vitamina D, en este caso el calcidiol, promueven una mayor absorción a nivel intestinal tanto de calcio como de fósforo (Rodney et al., 2018a; Poindexter, 2017), no se detectó efecto del calcidiol suministrado debido a la dosis empleada (1 mg calcidiol/vaca/día) y etapa de suplementación (preparto o postparto).

De acuerdo con los valores obtenidos en el presente experimento, se puede observar un leve comportamiento ascendente entre el día 1 y día 3, al igual que en el nivel de calcio mostrado en la Figura 11, este efecto según Poindexter (2017) se debe a que la forma activa de la vitamina D afecta el metabolismo del fósforo de manera muy similar al metabolismo del calcio, por lo que es normal observar que las concentraciones de ambos minerales en sangre tengan un comportamiento paralelo. Asociado a este comportamiento, se ha demostrado que los niveles de calcitriol alcanzan su pico máximo al día 2 postparto (Gibbens, 2012; Wilkens et al., 2012; Weiss et al., 2015; Rodney et al., 2018a), lo cual influye directamente sobre los niveles de calcio y fósforo en este momento ya que, de acuerdo con Taylor et al. (2008), la hormona 1,25-dihidroxitamina D<sub>3</sub>o calcitriol incrementa el transporte activo de calcio y fósforo a través de las células del epitelio intestinal.

### *Magnesio*

El nivel de magnesio sérico presentado por las vacas del estudio se muestra en la Figura 13 y Anexo 6. De acuerdo con los datos obtenidos se puede destacar que los valores de los 5 grupos superaron los niveles críticos ( $Mg \leq 1,8$  mg/dl) durante los 21 días postparto (Sánchez-González y Saborío-Montero, 2014b).



**Figura 13. Contenido de magnesio en suero sanguíneo en los diferentes tratamientos**

Según Sánchez (2000) y Kronqvist (2011), otra manera de determinar un aporte adecuado de magnesio en la dieta es mediante la medición de este mineral en la orina. Para el cual se ha establecido un valor de 2,5 g por día o bien 0,1 g por litro.

Al igual que en el caso del calcio y el fósforo, no se obtuvo diferencias significativas en el nivel de magnesio entre los distintos tratamientos. No obstante, en diversos estudios donde se ha evaluado la respuesta de la suplementación con calcidiol en vacas lecheras, se han obtenido resultados inconsistentes sobre los niveles de calcio y fósforo, y no se ha obtenido respuesta alguna sobre los niveles de magnesio (Weiss et al., 2015; Rodney et al., 2018a; Rodney et al., 2018b).

Al respecto, diversos autores indican que debido a que no existen mecanismos hormonales para mantener la homeostasis del magnesio, el animal requiere del suministro constante de este mineral en la dieta para prevenir una hipomagnesemia (Sánchez, 2000; NRC, 2001; Kronqvist, 2011). Además, al contrario de lo que ocurre con el calcio, el nivel

de magnesio en sangre no difiere conforme aumentan los partos en las vacas ni con respecto a la raza de los animales (Sánchez-González y Saborío-Montero 2014b).

Kronqvist (2011) señala que una de las razones que explica el comportamiento descendente del magnesio sanguíneo es que al momento del parto y con la consecuente producción de calostro se da una alta salida de este mineral hacia el calostro, por lo que el nivel de magnesio durante el periparto disminuye. También se ha encontrado una relación entre el comportamiento ascendente del calcio en los primeros días postparto con el comportamiento descendente del magnesio. De acuerdo con Vieira-Neto et al. (2017), esta relación se atribuye a que la activación de los receptores sensibles al calcio inducida por un incremento en el calcio iónico inhibe el sistema cotransportador de  $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ , el cual es importante para la reabsorción paracelular de calcio y magnesio. Los cambios esperados en este sistema ocasionan una reducción en el voltaje positivo del lumen, lo cual reduce la reabsorción paracelular mineral en el riñón.

De acuerdo con Goff, Liesegang y Horst (2014), los valores obtenidos demuestran que la incidencia de hipocalcemia cuantificada en la presente investigación no se debe a la deficiencia de este mineral, ya que bajo esta condición se reduce la secreción endógena de PTH así como la respuesta de los huesos y los riñones a esta hormona debido a cambios en la conformación de los receptores (NRC, 2001). Asimismo, en la literatura se menciona que se da una menor síntesis de calcitriol debido a que existe una dependencia del magnesio a nivel hepático para llevar a cabo la primera hidroxilación que conlleva a la formación de calcidiol (Albornoz et al., 2017).

La deficiencia de magnesio puede estar asociada a varios factores como: suministro de cantidades bajas de este mineral, consumo de fuentes poco biodisponibles o bien a la presencia de factores antagónicos a la absorción del mismo en la dieta, tales como el potasio, altos contenidos de proteína en la dieta, pH ruminal superior a 6,5 entre otros (Rérat, Philipp, Hess, Liesegang, 2009; Sánchez-González y Saborío-Montero 2014b). En este sentido, los autores mencionan que, aunque la dieta aporte las cantidades requeridas de magnesio por el animal, se pueden presentar casos de hipomagnesemia si se presentan cantidades altas de potasio en la dieta. Se ha sugerido que a altas concentraciones de potasio a nivel ruminal se genera un efecto sobre el diferencial de potencial de la membrana de las células epiteliales y de este modo se incrementa la resistencia al transporte del magnesio (Kronqvist, 2011). Sánchez-González y Saborío-Montero (2014b) detallan que bajo esta condición se despolariza la membrana apical de las papilas ruminales, lo cual

reduce el potencial electromotriz que se requiere para que el magnesio traspase la pared del rumen e ingrese al metabolismo. Por esta razón, el NRC (2001) recomienda suplementar el magnesio a dosis que estimulen el mecanismo de absorción pasiva para no depender del mecanismo activo, el cual puede ser inhibido por el potasio de la dieta. En la presente investigación, los niveles reportados de potasio y magnesio en la dieta de las vacas fueron de 2,3% y 0,4% de la materia seca (MS) respectivamente.

Por otro lado, los niveles altos de potasio en la dieta incrementan la excreción de sodio por el riñón, lo cual produce una deficiencia del mismo que afecta la absorción activa del magnesio (Sánchez, 2000).

De igual manera, se presenta un efecto negativo cuando se suplementa un exceso de calcio en la dieta sobre la absorción del magnesio a nivel ruminal, debido a que el calcio desplaza al magnesio en los mecanismos de absorción en las células epiteliales del rumen (Kronqvist, 2011). En este estudio, la ración de las vacas reportó un valor de calcio de 0,7% de la materia seca (MS).

Otro factor que predispone a las vacas lecheras a padecer de hipomagnesemia es el contenido de nitrógeno no proteico de los alimentos, principalmente de los forrajes, en los cuales puede oscilar entre el 20 y 40% del nitrógeno total, el cual produce un aumento en la concentración de amoníaco a nivel ruminal afectando la absorción de magnesio, debido a un aumento en el pH ruminal (Sánchez, 2000; NRC, 2001; Kronqvist, 2011; Albornoz et al., 2017).

### *Cantidad y Calidad de Leche*

El nivel de producción de leche corregido a 4% de grasa obtenido en los 5 tratamientos se muestra en el Cuadro 6. Los valores de producción de leche (kg/día) sin la corrección por grasa en los tratamientos A.E., Biotina, Cromo, Núcleo y Testigo fueron 28,6; 29,8; 27,3; 29,2 y 29,2 respectivamente (ver Anexo 7). Como se puede constatar, no se presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos tanto con la producción de leche corregida a 4% de grasa como con la producción de leche sin corregir.



**Cuadro 6.** Nivel de producción de leche corregida a 4% de grasa (kg/vaca/día) obtenido en los 5 tratamientos en primeros 100 días de lactancia

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	26,3 (1,51) a	26,5 (1,95) a	24,4 (1,67) a	25,6 (1,89) a	24,8 (1,88) a
21	26,7 (1,36) a	29,0 (1,55) a	25,8 (1,46) a	30,7 (1,41) a	28,2 (1,47) a
35	27,0 (1,32) a	30,5 (1,51) a	26,8 (1,47) a	30,8 (1,37) a	30,0 (1,45) a
49	27,1 (1,31) a	30,8 (1,51) a	27,1 (1,48) a	29,6 (1,39) a	30,3 (1,44) a
63	27,2 (1,31) a	30,3 (1,51) a	27,0 (1,50) a	29,0 (1,40) a	29,4 (1,44) a
77	27,1 (1,31) a	29,8 (1,52) a	26,8 (1,51) a	28,3 (1,41) a	28,5 (1,44) a
91	26,9 (1,37) a	29,5 (1,61) a	26,6 (1,58) a	27,5 (1,41) a	27,7 (1,47) a

Promedio 27,2 (1,31) a 30,7 (1,51) a 27,1 (1,49) a 29,3 (1,39) a 30,0 (1,44) a  
a,b representan diferencias significativas en una misma fila (valor de  $p < 0,05$ )

**Nota:** 4% LCG: 0,4 (kilogramos de leche) + 15,0 (kilogramos de grasa)

Diversos autores han obtenido respuestas positivas en producción de leche con la suplementación de biotina (Zimmerly y Weiss, 2001; Bergsten et al., 2003; Majee et al., 2003), de igual manera un meta-análisis realizado por Lean y Rabiee (2011) respalda la suplementación de dicha vitamina, ya que se obtuvo un incremento de 1,3 kg/vaca/d. No obstante, estos autores mencionan que las respuestas en leche fueron ampliamente observadas en dietas basadas en ensilaje de maíz y alfalfa como las bases forrajeras de dietas TMR. En la presente investigación, la base forrajera consistió en pasto Kikuyo a 34 días de rebrote cuyo porcentaje de CNF fue de 5,03%, en comparación con niveles de 25% hasta 41% de CNF reportados en la literatura para ensilajes de maíz (Cubero, Rojas, WingChing, 2010).

Al respecto, Abel, Immig, Gomez y Steinberg (2001) señalan que el efecto de la biotina se potencia al aumentar la cantidad de grano y disminuir la cantidad de forraje en la dieta.

En la literatura se indica que la biotina puede aumentar la producción de leche de varias maneras, entre las cuales se menciona: aumento en el consumo de materia seca causado por una mejoría en la salud podal (Zimmerly y Weiss, 2001), un cambio en la distribución de los nutrientes de los tejidos hacia la leche (Bergsten et al., 2003), aumento en la producción de glucosa y un aumento en la digestión de la celulosa (Majee et al., 2003).

Por otro lado, se han realizado estudios donde no se ha encontrado respuesta alguna a la suplementación de biotina sobre la producción de leche. En la investigación

llevada a cabo por Rosendo et al. (2004) usando dosis de 20mg de biotina no obtuvieron respuesta significativa sobre producción de leche, ya que aun cuando sí se aumentó el nivel de glucosa en sangre como se mencionó anteriormente, las vacas no convirtieron la glucosa adicional en leche. Resultados similares, pero en vacas Holstein en pastoreo son aportados por Fitzgerald, Norton, Elliott, Podlich y Svendsen (2000), quienes cuantificaron ninguna mejoría del efecto del uso de 20 mg biotina/vaca/d sobre la producción láctea.

Al respecto, Bergsten et al. (2003) sugieren que la suplementación de nutrientes esenciales como la biotina permitiría obtener una respuesta en el animal cuando el suministro de ese nutriente es limitante en el metabolismo, de tal manera que, a mayores niveles de producción de leche, las actividades de una o más enzimas que contienen biotina pueden verse limitadas. En el estudio de Fitzgerald et al. (2000), las vacas promediaron 20 kg/vaca/d mientras que en el estudio de Bergsten et al. (2003) las vacas tuvieron un promedio de 32 kg/vaca/d, lo cual parece ser insuficiente para estimular la respuesta de la biotina. En la presente investigación las vacas fluctuaron entre 25,2 a 30 kg. Además en el estudio de Fitzgerald et al. (2000), al igual que en la presente investigación, las vacas se encontraban en pastoreo. Cuando las vacas consumen una dieta alta en fibra a través de un aporte considerable de forraje fresco, el cual contiene mayor cantidad de biotina que muchos cereales (Abel et al., 2001), es poco probable que la suplementación con biotina pueda ejercer su actividad a nivel ruminal.

Con respecto a la suplementación de la mezcla de aceites esenciales, la información disponible no demuestra efectos sobre la producción de leche, al igual que en la presente investigación.

Scharen et al. (2017) usando dosis de 1 g/vaca/día no reportaron diferencias significativas para CMS ni variables de producción de leche (rendimiento de leche, grasa y proteína en leche y MUN). De igual manera, en los estudios realizados por Tassoul y Shaver (2009) y Drong et al. (2016), tampoco encontraron efectos en producción de leche con la suplementación de esta mezcla de aceites esenciales en 40 vacas multíparas Holstein. De manera similar, Benchaar et al. (2006) no obtuvieron respuestas sobre producción de leche con la suplementación de 2 g de dicha mezcla/vaca/d.

Más allá de un efecto de dosis, la falta de respuesta en producción y composición de la leche de las vacas en la presente investigación, se podría atribuir al efecto de acostumbramiento por parte de los microorganismos ruminales mencionado anteriormente.

En cuanto a la suplementación con cromo orgánico, Bryan et al. (2004) no obtuvieron diferencias significativas en producción ni composición de la leche con la suplementación de cromo orgánico a razón de 0 o 6,25 mg/vaca/d en vacas en pastoreo, desde 6 semanas preparto hasta 21 semanas postparto.

Por otro lado, Hayirli et al. (2001) sí obtuvieron diferencias significativas en producción de leche, la cual aumentó y después disminuyó con dosis crecientes de Cr-Met. De igual manera, Smith et al. (2005) también presentaron resultados positivos en producción de leche con la suplementación de 0; 0,03 o 0,06 mg de Cr/kg PV<sup>0,75</sup> desde 21 días preparto hasta 28 días postparto.

Allen (2019) menciona que las respuestas variables a la suplementación con cromo se pueden atribuir a diversos factores, los cuales se mencionaron anteriormente. Además, destaca que la dosis a la cual se han obtenido resultados positivos en consumo de materia seca y producción de leche es 8 mg/vaca/d. En la presente investigación se estima un consumo de 6 mg/vaca/día.

A pesar de que no se han hecho comparaciones en ganado lechero entre los diferentes compuestos de cromo que se encuentran actualmente en el mercado, es importante mencionar que se han evaluado dichos compuestos en personas. Preuss et al. (2008) obtuvieron que 3 de 5 compuestos de cromo comerciales que evaluaron fueron efectivos en mejorar la sensibilidad a la insulina.

Rockwell y Allen (2016) establecen que la suplementación con cromo en el periparto ha tenido efectos inconsistentes en la producción de leche. En la prueba llevada a cabo por estos autores tuvieron variabilidad en la respuesta a la suplementación con cromo, la cual atribuyen, aparte de la dosis, a diferencias en la composición de la dieta, ya que evaluaron la suplementación de cromo en combinación con maíz con diferentes contenidos de humedad.

Los estudios que han reportado aumentos en producción de leche con la suplementación de cromo orgánico, lo atribuyen a un aumento en el consumo de materia seca. Además, se menciona que la suplementación con cromo disminuye una posible deficiencia de este mineral, aun cuando no se han establecido los requerimientos del mismo (NRC, 2001).

En la presente investigación, no se obtuvo diferencias significativas en producción de leche quizás por un efecto de dosis y tiempo de suplementación respecto al parto. Por

otro lado, tampoco se obtuvo diferencias significativas en composición de leche en los distintos tratamientos, tal como se demuestran en los Anexos 8, 9, 10 y 11, con excepción en el conteo de células somáticas, como se puede apreciar en el siguiente cuadro.

**Cuadro 7.** Composición de la leche producida por las vacas de los 5 tratamientos

Parámetro	Grupos				
	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
Sólidos Totales (%)	12,6 (0,23) a	12,9 (0,26) a	12,7 (0,26) a	12,9 (0,22) a	13,1 (0,25) a
Grasa (%)	3,8 (0,16) a	4,2 (0,19) a	4,0 (0,19) a	4,1 (0,17) a	4,2 (0,19) a
Proteína (%)	3,3 (0,07) a	3,2 (0,08) a	3,3 (0,08) a	3,3 (0,07) a	3,3 (0,08) a
Lactosa (%)	4,71 (0,054) ab	4,68 (0,059) ab	4,63 (0,059) a	4,75 (0,052) ab	4,88 (0,058) b
MUN (mg/dL)	16,6 (0,86) a	17,2 (0,97) a	15,4 (0,97) a	18,5 (0,99) a	17,3 (0,97) a
CCS*	1,5 (0,27) ab	1,6 (0,33) ab	1,8 (0,33) a	0,6 (0,26) b	1,3 (0,32) ab

a,b representan diferencias significativas en una misma fila (valor de  $p < 0,05$ ).

\*: Para el análisis de esta variable se realizó la transformación de los valores originales al puntaje lineal de células somáticas (PCCS) de acuerdo con el USDA (2005):

$$PCCS = \log_2(CCS/100,000) + 3$$

Dentro de las evaluaciones que se hicieron a la leche producida por las vacas del presente estudio, se tuvo el resultado de nitrógeno ureico en leche (NUL o MUN por sus siglas en inglés), el cual se puede observar detalladamente en el Anexo 12.

El nitrógeno ureico en leche proviene de la degradación de la proteína a nivel ruminal, donde se libera amoníaco producto de la acción de los microorganismos ruminales y éste pasa al torrente sanguíneo para ser absorbido en el hígado, el cual se encarga de transformar el amoníaco circulante en urea. La urea es liberada en la sangre (nitrógeno ureico en sangre o BUN) para ser reciclada por absorción de las paredes del rumen o por la saliva; también puede ser secretada en la leche (MUN), o puede ser eliminada en la orina (Cerón et al., 2014).

Según Hammond (1998), el MUN y el BUN son indicadores metabólicos que se pueden usar para determinar el estado proteico y energético de los bovinos en diferentes circunstancias, como cambios en la alimentación, disponibilidad de forraje, puntos estratégicos del ciclo productivo entre otros.

De acuerdo con los datos obtenidos, se puede observar que los niveles de nitrógeno en leche oscilaron entre 15,4 y 18,5 mg/dL, sin presentar diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Estos valores se encuentran por encima del promedio recomendado, el cual ronda entre 10 y 14 mg/dL (Hutjens y Chase, 2007), lo cual se puede atribuir a la dieta consumida por las vacas de la presente investigación, donde se evidencia un faltante de carbohidratos no fibrosos (principalmente almidón) ante el aporte de proteína (18% en ración total), lo cual ocasiona que las bacterias ruminales no puedan convertir el amoníaco en proteína microbial y éste pase al torrente sanguíneo y finalmente a la leche (Cerón et al., 2014). Según Hutjens y Chase (2007), esta situación provocaría un desperdicio de la proteína de la dieta consumida por las vacas y un aumento del nitrógeno excretado al ambiente.

De acuerdo con la literatura consultada, el uso de los aditivos analizados en la presente investigación, no han tenido efectos significativos sobre el nitrógeno ureico en leche (MUN) (Enjalbert et al., 2008; Scharen et al., 2017; Smith et al., 2005).

Por otro lado, es importante mencionar que, si bien los niveles de MUN obtenidos se encuentran ligeramente altos, no alcanzan niveles donde se pueda comprometer las tasas de concepción y preñez, con niveles de 19 a 20 mg/dL o más, donde se altera el ambiente uterino y se disminuye la fertilidad (Hammond, 1998).

Otro componente que se analizó en el presente estudio fue el conteo de células somáticas (CCS). De acuerdo con los resultados presentados en el Cuadro 7, se pueden observar diferencias significativas entre los tratamientos.

Entre los aditivos considerados para el desarrollo de la presente investigación, no se han encontrado efectos significativos sobre mejoría en el conteo de células somáticas, con excepción del calcidiol. Poindexter (2017) encontró que con la suplementación de calcidiol se tuvo un efecto beneficioso sobre el conteo de células somáticas atribuible a que los metabolitos de la vitamina D contribuyen a la activación de la respuesta inmune de la glándula mamaria, a través de neutrófilos y macrófagos que expresan la enzima responsable de convertir el calcidiol a calcitriol. Si bien todos los tratamientos en la presente investigación contenían una dosis de calcidiol a excepción del grupo Testigo, solo el tratamiento Núcleo tuvo una mejoría significativa sobre el CCS, lo cual hace pensar en un posible sinergismo de ingredientes que se podría estudiar en futuras investigaciones.

En la literatura se menciona un efecto de la biotina sobre el CCS de una forma indirecta a través de una mejoría en la salud podal, ya que se evita que vacas con lesiones podales pasen más tiempo echadas con lo que aumenta la probabilidad de ingreso de bacterias en la ubre en escenarios de invierno principalmente (Fitzgerald et al., 2000). Sin embargo, este motivo no aplicaría para la presente investigación ya que de acuerdo con Zimmerly y Weiss (2001), el crecimiento de la pezuña toma entre 60 y 90 días en alcanzar la superficie de soporte del peso, aunado a la duración de la presente investigación (100 días), no se lograría un efecto significativo.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La suplementación del núcleo nutricional utilizado en la presente investigación, no tuvo efectos significativos sobre producción de leche, grasa, proteína y MUN entre las vacas que se suplementaron y el grupo control, pero sí se presentó una disminución significativa en el nivel células somáticas del grupo Núcleo con respecto al grupo Control.

No se encontraron diferencias significativas en los niveles de glucosa,  $\beta$ HBA, calcio, magnesio y fósforo de las vacas suplementadas con respecto al grupo control.

Es importante considerar los valores umbrales de los metabolitos en sangre que permiten corroborar la incidencia de enfermedades metabólicas en vacas lecheras, ya que éstos pueden variar entre investigaciones, lo cual puede originar resultados diferentes a los obtenidos en el presente estudio.

En cuanto al uso de aditivos utilizados en la presente investigación, es de suma importancia considerar la etapa tanto preparto como postparto y el ajuste de las dosis para asegurar el resultado esperado de los mismos.

Se recomienda tomar en cuenta el tipo de sistema de producción, el manejo alimenticio y las dietas en los cuales se puede lograr una mayor respuesta de los aditivos utilizados en el presente estudio.

Para futuras investigaciones se recomienda agrupar los animales no solo por producción de la lactancia anterior sino también por condición corporal preparto.

Para evaluaciones del núcleo nutricional se recomienda diagnosticar previamente la salud metabólica del hato: incidencia de cetosis, hipocalcemia, laminitis.

De igual manera, es aconsejable realizar mediciones de otros biomarcadores como: insulina, calcidiol, osteocalcina, AGNE's, entre otros, con el fin de integrar más factores que permitan demostrar el efecto de ciertos aditivos utilizados en la presente investigación, que señalan algunos autores, sobre el organismo de los animales.



## LITERATURA CITADA

- Abel H.J., Immig I., Gomez C., Steinberg W. 2001. Effect of increasing dietary concentrate levels on microbial biotin metabolism in the artificial rumen simulation system (rusitec). *Archives of Animal Nutrition* 55(4): 371-376.
- Albornoz L., Albornoz J.P., Cruz J.C., Fidalgo L.E., Espino L., Morales M., Ruprechter G., Piaggio J., Verdes J.M. 2017. Estudio comparativo de los niveles de calcio, fósforo y magnesio durante el parto en vacas lecheras en diferentes sistemas de producción en Uruguay y España. *SMVU* 205(53): 4-12.
- Allen M.S. 2019. The impact of chromium supplementation on dairy cattle performance. Michigan State University, Michigan, Estados Unidos. Consultado el 15 de marzo del 2019, disponible en: [https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/44759/Pre4Allen\\_Manuscript.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/44759/Pre4Allen_Manuscript.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Amaral D, 2014. Subclinical Hypocalcemia, or Milk Fever, in Dairy Cows – Why All the Fuss?. University of Kentucky, Kentucky, Estados Unidos. Consultado el 16 de abril del 2019, disponible en: <https://afs.ca.uky.edu/content/subclinical-hypocalcemia-or-milk-fever-dairy-cows-%E2%80%94-why-all-fuss>
- AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. 2000. Official methods of analysis. 16th ed. Washington, D. C.
- Baird G.D. 1980. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. *Journal of Dairy Science* 65(1): 1-10.
- Barrientos O., Villegas L. 2010. Sector agropecuario, cadena productiva de leche: políticas y acciones. SEPSA, Costa Rica. 11 p.
- Benchaar C., Petit H.V., Berthiaume R., Whyte T.D., Chouinard P.Y. 2006. Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89(11): 4352-4364.

- Benchaar C., Petit H.V., Berthiaume R., Ouellet D.R., Chiquette J., Chouinard P.Y. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science* 90(2): 886-897.
- Benchaar C., Greathead H. 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 166: 338-355.
- Bergsten C., Greenough P.R., Gay J.M., Seymour W.M., Gay C.C. 2003. Effects of biotin supplementation on performance and claw lesions on a commercial dairy farm. *Journal of Dairy Science* 86(12): 3953-3962.
- Bossaert P., Leroy J., De Vliegher S., Opsomer G. 2008. Interrelations between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and time of first ovulation in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91(9): 3363-3371.
- Bryan M.A., Socha M.T., Tomlinson D.J. 2004. Supplementing intensively grazed late-gestation and early-lactation dairy cattle with chromium. *Journal of Dairy Science* 87(12): 4269-4277.
- Butler W. 2001. Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *British Society of Animal Science*. 26: 133-145.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science* 90(6): 2580-2595.
- Campabadal C. 1999. Curso Prácticas de Alimentación (Formulación de alimentos para animales). Escuela de Zootecnia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 30 p.
- Castro A. 2002. Ganadería de leche: Enfoque empresarial. EUNED, Costa Rica. 285 p.
- Ceballos A., Villa N., Bohórquez A., Quiceno J., Jaramillo M., Giraldo G. 2002. Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en lecherías del trópico alto del eje cafetero colombiano. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 15(1): 26-35.
- Cerón M.F., Henao A.F., Múnera O.D., Herrera A.C., Díaz A., Parra A.M., Tamayo C.H. 2014. Concentración de nitrógeno ureico en leche: interpretación y aplicación

práctica. Fondo Editorial Biogénesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. 18 p.

Christensen R. 2019. ordinal - Regression Models for Ordinal Data. R package version 2019.12-10. <https://CRAN.R-project.org/package=ordinal>.

Corfoga 2018. Análisis de censo ganadero 2000. Corporación Ganadera, San José, Costa Rica. Consultado el 9 de abril del 2019, disponible en: [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_animal/censo-ganadero-2000.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_animal/censo-ganadero-2000.pdf)

Cozzi G., Ravarotto L., Gottardo F., Stefani A.L., Contiero B., Moro L., Brscic M., Dalvit P. 2011. Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. *Journal of Dairy Science* 94(8): 3895-3901.

Cubero J., Rojas A., WingChing R. 2010. Uso del inóculo microbial elaborado en finca en ensilaje de maíz (*Zea Mays*). Valor nutricional y fermentativo. *Agronomía Costarricense* 34(2): 237-250.

Drackley J. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science* 82(11): 2259-2273.

Drong C., Meyer U., von Soosten D., Frahm J., Rehage J., Breves G., Danicke S. 2016. Effect of monensin and essential oils on performance and energy metabolism of transition dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 100: 537-551.

Duffield T.F., Lissemore K.D., McBride B.W., Leslie K.E. 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science* 92(2): 571–580.

Enjalbert F., Nicot M., Packington A. 2008. Effects of peripartum biotin supplementation of dairy cows on milk production and milk composition with emphasis on fatty acids profile. *Livestock Science* 114: 287-295.

FAO, FIDA, UNICEF, PMA, OMS. 2018. El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo. Fomentando la resiliencia climática en aras de la seguridad alimentaria y la nutrición. FAO, Roma, Italia. Consultado el 8 de abril del 2019, disponible en: <http://www.fao.org/3/I9553ES/i9553es.pdf>

- Fitzgerald T., Norton B., Elliott R., Podlich H., Svendsen O. 2000. The influence of long-term supplementation with biotin on the prevention of lameness in pasture fed dairy cows. *Journal of Dairy Science* 83(2): 338-344.
- Galviz R., Correa H. 2002. Interacciones entre el metabolismo y la reproducción en la vaca lechera: es la actividad gluconeogénica el eslabón perdido?. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 15(1): 35-50.
- Ghorbani A., Sadri H., Alizadeh A.R., Bruckmaier R.M. 2012. Performance and metabolic responses of Holstein calves to supplemental chromium in colostrum and milk. *Journal of Dairy Science* 95(10): 5760–5769.
- Gibbens N. 2012. Influence of 25-hydroxyvitamin D and anionic salts on the calcium status of dairy cattle. Tesis de maestría, Universidad de Pretoria, Pretoria, Sudáfrica. 83 p.
- Gild C., Alpert N., van Straten M. 2015. The influence of subclinical hypocalcemia on production and reproduction parameters in Israeli dairy herds. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 70(1):16-21.
- Goff J., Reinhardt T., Horst R. 1995. Milk fever and dietary cation-anion balance effects on concentration of vitamin D receptor in tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78: 2388-2394.
- Goff J., Liesegang A., Horst R. 2014. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: A hypocalcemia and milk fever risk factor. *Journal of Dairy Science* 97(3): 1520-1528.
- González J.M. 2013. Situación Actual y Perspectivas del Sector Lácteo Costarricense: Visión de la Cámara Nacional de Productores de Leche. Cámara Nacional de Productores de Leche, San Carlos, Alajuela, Costa Rica. Consultado el 19 de marzo del 2019, disponible en: [http://proleche.com/recursos/documentos/congreso2013/Situacion\\_actual\\_y\\_perspectivas\\_del\\_sector\\_lacteo\\_a\\_nivel\\_nacional\\_Vision\\_de\\_la\\_Camara\\_Lic\\_Jorge\\_Manuel\\_Gonzalez\\_Echeverria\\_Costa\\_Rica.pdf](http://proleche.com/recursos/documentos/congreso2013/Situacion_actual_y_perspectivas_del_sector_lacteo_a_nivel_nacional_Vision_de_la_Camara_Lic_Jorge_Manuel_Gonzalez_Echeverria_Costa_Rica.pdf)
- Greathead H. 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the Nutrition Society* 62: 279-290.

- Guo J., Jones A., Givens D., Lovegrove J., Kliem K. 2018. Effect of dietary vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> supplementation on plasma and milk 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> concentration in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 101(4): 3545-3553.
- Hammond A. 1998. Use of BUN and MUN as guides for protein and energy in supplementation in cattle. *Revista Corpoica* 2(2): 44-48.
- Hayirli A., Bremmer D.R., Bertics S.J., Socha M.T., Grummer R.R. 2001. Effect of chromium supplementation on production and metabolic parameters in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84(5): 1218-1230.
- Herbein J., Aiello R., Eckler L., Pearson R., Akers R. 1985. Glucagon, insulin, growth hormone, and glucose concentrations in blood plasma of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 68:320–325.
- Horst R., Goff J., Reinhardt T. 1990. Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25 dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology* 126:1053-1067.
- Horst R., Goff J., Reinhardt T. 1994. Calcium and vitamin D metabolism in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 77(7): 1936-1951.
- Horst R., Goff J., Reinhardt T., Buxton D. 1997. Strategies for Preventing Milk Fever in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 80(7): 1269-1280.
- Hutjens M., Chase L. Interpreting Milk Urea Nitrogen (MUN) Values. USDA, Estados Unidos. Consultado el 12 de julio del 2020. Disponible en: [https://www.academia.edu/10144605/Interpreting\\_Milk\\_Urea\\_Nitrogen\\_MUN\\_Values](https://www.academia.edu/10144605/Interpreting_Milk_Urea_Nitrogen_MUN_Values)
- Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC). 2015. VI Censo Nacional Agropecuario: características de las fincas y de las personas productoras. Instituto Nacional de Estadística y Censos, San José, Costa Rica. Consultado el 19 de marzo del 2019, disponible en: <http://www.inec.go.cr/documento/cenagro-2014-caracteristicas-de-las-fincas-y-de-las-personas-productoras-vi-censo-nacional>
- Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC). 2017. Encuesta nacional agropecuaria 2017: Resultados generales de las actividades ganaderas vacuna y porcina. Instituto Nacional de Estadística y Censos, San José, Costa Rica. Consultado el 19 de marzo

del 2019, disponible en: <http://www.inec.go.cr/sites/default/files/documentos-biblioteca-virtual/reena2017.pdf>

Jarvis A., Brown J., Arnott D. 1962. Seasonal variations of strontium<sup>90</sup> and calcium levels in Jersey and Holstein milk. *Journal of Dairy Science* 45(4): 522-526.

Jones G. 2008. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *American Journal of Clinical Nutrition* 88: 582S-586S.

Karcher E., Pickett M., Varga G., Donkin S. 2007. Effect of dietary carbohydrate and monensin on expression of gluconeogenic enzymes in liver of transition dairy cows. *Journal of Animal Science* 85: 690-699.

Kronqvist C. 2011. Minerals to dairy cows with focus on calcium and magnesium balance. Tesis de doctorado, Universidad de Ciencias Agrarias de Suecia, Uppsala, Suecia. 66 p.

Lean I., Rabiee R. 2011. Effect of feeding biotin on milk production and hoof health in lactating dairy cows: A quantitative assessment. *Journal of Dairy Science* 9(4): 1465–1476.

Lenth R. 2018. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.4.8. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>

Licitra G., Hernandez T., Van Soest P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science Technology* 57: 347-358.

Littel R., Milliken G., Stroup W., Wolfinger D., Schabenberger O. 2006. SAS for Mixed Models Cary. SAS Institute. NC.

Majee D., Schwab E., Bertics S., Seymour W., Shaver R. 2003. Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and a B-vitamin blend. *Journal of Dairy Science* 86(6):2106–2112.

Marín J. 2019. Importancia del cromo en ganado lechero. Land O'Lakes Inc, Minnesota, Estados Unidos. Consultado el 24 de enero del 2019, disponible en: [http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/Revista/importancia\\_del\\_cromo\\_en\\_ganado\\_lechero.pdf](http://www.cina.ucr.ac.cr/recursos/docs/Revista/importancia_del_cromo_en_ganado_lechero.pdf)

Martínez R., Ortega M.E., Herrera J.G., Kawas J.R., Zárate J., Robles R. 2015. Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia* 40(11): 744-750.

- Martínez N., Rodney R.M., Block E., Hernández L.L., Nelson C.D., Lean I.J., Santos J.E.P. 2018a. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: lactation performance and energy metabolism. *Journal of Dairy Science* 101(3): 1-19.
- Martínez N., Rodney R.M., Block E., Hernández L.L., Nelson C.D., Lean I.J., Santos J.E.P. 2018b. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Health and reproductive responses. *Journal of Dairy Science* 101(3): 1-16.
- McGrath J., Duval S., Tamassia L., Kindermann M., Stemmler R., De Gouvea V.N., Acedo T., Immig I., Williams S., Celi P. 2017. Nutritional strategies in ruminants: a life time approach. *Research in Veterinary Science*. 12 p.
- Mollie B., Kristensen K., van Benthem K., Magnusson A., Berg C., Nielsen A., Skaug H., Maechler M., Bolker B. 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, 9(2): 378-400.
- Mora S., Quirós Y. 2018. Boletín estadístico agropecuario. Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria, San José, Costa Rica. Consultado el 19 de marzo del 2019, disponible en: <http://www.infoagro.go.cr/BEA/BEA28/index.html>
- National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition. National Academies Press, Washington, DC. Estados Unidos. 381 p.
- Noro M., Cid P., Wagemann C., Arnés V., Wittwer F. 2013. Valoración diagnóstica de enzimas hepáticas en perfiles bioquímicos sanguíneos de vacas lecheras. *Revista MVZ Córdoba* 18(2): 3474-3479.
- Oetzel G.R. 2007. Herd-level ketosis – Diagnosis and risk factors. American association of bovine practitioners, Vancouver, Canadá. Consultado el 20 de abril del 2019, disponible en: <https://www.vetmed.wisc.edu/dms/fapm/fapmtools/2nutr/ketosis.pdf>
- Padilla R. 2010. Perfiles metabólicos en bovinos especializados en producción de leche de la raza Holstein, en la zona del Volcán Poás: determinación de valores referenciales. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. 53 p.

- Pérez E. 2017. Manual de manejo: sistemas intensivos sostenibles de ganadería de leche. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, San José, Costa Rica. Consultado el 11 de abril del 2019, disponible en: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/L01-10927.pdf>
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D., R Core Team (2018). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-137, <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- Poindexter M. 2017. Effects of supplemental 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and vitamin D<sub>3</sub> on mineral concentrations and mastitis resistance in lactating dairy cows. Tesis de maestría, Universidad de Florida, Florida, Estados Unidos. 114 p.
- Preuss H., Echard B., Perricone N., Bagchi D., Yasmin T., Stohs S. 2008. Comparing metabolic effects of six different comercial trivalent chromium compounds. *Journal of Inorganic Chemistry* 102(11): 1986-1990.
- R Core Team .2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Reinhardt T., Lippolis J., McCluskey B., Goff J., Horst R. 2011. Prevalence of subclinical hipocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal* 188: 122-124.
- Rérat M., Philipp A., Hess H., Liesegang A. 2009. Effect of different potassium levels in hay on acid–base status and mineral balance in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92(12): 6123-6133.
- Roche J.R. 2003. The incidence and control of hypocalcemia in pasture-based systems. *Acta Veterinaria Scandinavica* 97:141-144.
- Rockwell R.J., Allen M.S. 2016. Chromium propionate supplementation during the peripartum period interacts with starch source fed postpartum: Production responses during the immediate postpartum and carryover periods. *Journal of Dairy Science* 99(6):4453–4463.
- Rodney R.M., Martínez N., Block E., Hernandez L.L., Celi P., Nelson C.D., Santos J.E.P. 2018a. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: vitamin D, mineral, and bone metabolism. *Journal of Dairy Science* 101(3): 1-25.



- Rodney R., Celi P., McGrath J., Golder H., Anderson S., McNeill D., Fraser D., Lean I. 2018b. Metabolic and production responses to calceiol treatment in mid-lactation dairy cows. *Animal Production Science A-L*.
- Rosendo O., Staples C.R., Mcdowell L.R., McMahon R., Badinga L., Martin F.G., Shearer J.F., Seymour W.M., Wilkinson N.S. 2004. Effects of biotin supplementation on peripartum performance and metabolites of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 87(8): 2535-2545.
- Rossi J. 1999. Additives for animal nutrition and technique for their preparation. European patent EP 0646321 B1
- Saborío-Montero A. 2012. Cetosis subclínica: una enfermedad metabólica silenciosa presente en las lecherías. *UTN Informa* 62: 25-30.
- Saborío-Montero A., Sánchez-González J.M. 2013. Prevalencia y factores de riesgo relacionados con la cetosis clínica y subclínica tipo I y II en un hato de vacas Jersey en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 37(2): 17-29.
- Saborío-Montero A., Sánchez-González J.M. 2014. Evaluación de la condición corporal en un hato de vacas Jersey en pastoreo en la zona alta de Cartago. Variaciones durante el ciclo productivo. *Agronomía Costarricense* 38(1): 55-65.
- Saborío-Montero A. 2015. Enfermedades metabólicas y su impacto en la productividad del ganado lechero. *Nutrición Animal Tropical* 9(1): 32-40.
- Saborío-Montero A., Sánchez-González J.M. 2016. Relación entre concentración sanguínea de  $\beta$ -hidroxibutirato e indicadores productivos, reproductivos y de salud en hatos Jersey y Holstein. *Agronomía Costarricense* 40(1): 41-50.
- Saborío-Montero A., Sánchez-González J.M., Vargas M. 2017a. Dinámica de la concentración de calcio sanguíneo durante el periparto y su relación con producción y reproducción en un hato de vacas Jersey. *Agronomía Costarricense* 41(2): 7-16.
- Saborío-Montero A., Vargas-Leitón B., Romero-Zúñiga J., Sánchez-González J.M. 2017b. Risk factors associated with milk fever occurrence in grazing dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 100(12): 9715-9722.

- Salazar C. 2019. Situación y perspectivas del sector lácteo nacional e internacional. Cámara Nacional de Productores de Leche, Curso Ganado de leche. Escuela de Zootecnia, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Sánchez J.M. 2000. Nutrición energética del ganado lechero. *Nutrición Animal Tropical* 6(1): 97-127.
- Sánchez J.M., Saborío A. 2014a. Prevalencia de hipocalcemia en cuatro hatos Jersey en pastoreo en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 38(2): 33-41.
- Sánchez J.M., Saborío A. 2014b. Hipocalcemia e hipomagnesemia en un hato de vacas Holstein, Jersey y Guernsey en pastoreo. *Agronomía Costarricense* 38(2): 55-65.
- Scharen M., Drong C., Kiri K., Riede S., Gardener M., Meyer U., Hummel J., Urich T., Breves G., Danicke S. 2017. Differential effects of monensin and a blend of essential oils on rumen microbiota composition of transition dairy cows. *Journal of Dairy Science* 100(4): 2765-2783.
- Smith K., Waldron M., Drackley J., Socha M., Overton T. 2005. Performance of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the transition period. *Journal of Dairy Science* 88(1):255–263.
- Subiyatno A., Mowat D. N., Yang W. Z. 1996. Metabolite and Hormonal Responses to Glucose or Propionate Infusions in Periparturient Dairy Cows Supplemented with Chromium. *Journal of Dairy Science* 79(8): 1436-1445.
- Sulieman M., Makawi S., Ibrahim K. 2017. Association between postpartum blood levels of glucose and urea and fertility of cross-bred dairy cows in Sudan. *South African Journal of Animal Science* 47(5): 595-605.
- Tager L.R., Krause K.M. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94(5): 2455-2464.
- Tassoul M. D., Shaver R. D. 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92(4): 1734-1740.
- Taylor M., Knowlton K., McGilliard M., Seymour W., Herbein J. 2008. Blood mineral, hormone, and osteocalcin responses of multiparous Jersey cows to an oral dose of

- 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> or vitamin D<sub>3</sub> before parturition. *Journal of Dairy Science* 91(6): 2408-2416.
- Tveit B., Lingass F., Svendsen M., Sjaastad O. V. 1992. Etiology of acetonemia in Norwegian cattle. 1. Effect of ketogenic silage, season, energy level, and genetic factors. *Journal of Dairy Science* 75(9):2421-2432.
- Universidad Nacional de Costa Rica (UNA). 2019. Valores referenciales de hematología y química sérica en diferentes especies de animales. Laboratorio de Análisis Clínico. Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- U. S. Department of Agriculture (USDA). 2005. USDA Somatic Cell Score Evaluation. Consultado el 13 de marzo del 2020. Disponible en: <https://www.aipl.arsusda.gov/reference/scspl/scs.htm>
- Van Mosel M., Van't Klooster A., Van Mosel F., Van Der Kuilen J. 1993. Effects of reducing dietary [(Na<sup>+</sup> + K<sup>+</sup>) - (Cl<sup>-</sup> + SO<sub>4</sub><sup>=</sup>)] on the rate of calcium mobilization by dairy cows at parturition. *Research in Veterinary Science* 54: 1-9.
- Van Soest P., Robertson J., Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(10):3586-3597.
- Vargas B., Solís O., Saénz F., León H. 2013. Caracterización y clasificación de hatos lecheros en Costa Rica mediante análisis multivariado. *Agronomía Mesoamericana* 24(2): 257-275.
- Venjakob P., Borchardt S., Heuwieser W. 2017. Hypocalcemia—cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of Dairy Science* 100(11): 9258-9266.
- Vieira-Neto A., Lima I.R.P., Lopes F., Lopera C., Zimpel R., Sinedino L.D.P., Jeong K.C., Galvao K., Thatcher W.W., Nelson C.D., Santos J.E.P. 2017. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 100(7): 5805-5823.
- Weber C., Losand B., Tuchscherer A., Rehbock F., Blum E., Yang W., Bruckmaier R., Sanftleben P., Hammon H. 2015. Effects of dry period length on milk production,

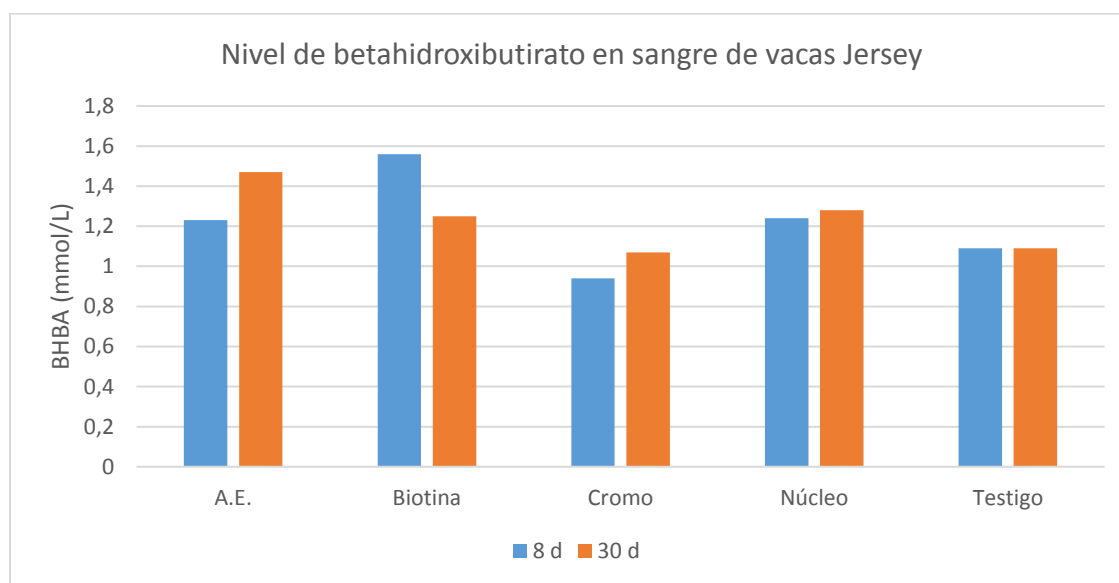
- body condition, metabolites, and hepatic glucose metabolism in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 98(3): 1772-1785.
- Weiss W.P. 1999. Energy prediction equation for ruminant feeds. In: *Proceedings Cornell Nutrition Conference*. Ronchesteer, N.Y. 176-185 p.
- Weiss W.P., Azem E., Steinberg W., Reinhardt T.A. 2015. Effect of feeding 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> with a negative cation-anion difference diet on calcium and vitamin D status of periparturient cows and their calves. *Journal of Dairy Science* 98(8): 5588-5600.
- Wilkens M.R., Oberheide I., Schroder B., Azem E., Steinberg W., Breves G. 2012. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95(1): 151–164.
- Wood S. 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society (B)* 73(1):3-36.
- Zimmerly C. A., Weiss W.P. 2001. Effects of supplemental dietary biotin on performance of Holstein cows during early lactation. *Journal of Dairy Science* 84(2):498–506.

## ANEXOS

**Anexo 1.** Niveles de glucosa en sangre (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos a los 7, 14, 21 y 28 días postparto.

Grupo	7 d	14 d	21 d	28 d
A.E.	39,0 (3,29) a	40,9 (3,29) a	42,4 (3,29) a	43,4 (3,29) a
Biotina	42,7 (3,65) a	36,9 (3,65) a	45,3 (3,65) a	45,7 (3,65) a
Cromo	43,3 (3,06) a	40,1 (3,06) a	42,6 (3,22) a	41,6 (3,26) a
Núcleo	35,9 (3,18) a	37,8 (3,18) a	37,2 (3,18) a	42,3 (3,18) a
Testigo	42,2 (3,08) a	39,2 (3,08) a	44,5 (3,08) a	46,8 (3,08) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna.



**Anexo 2.** Nivel de betahidroxibutirato en sangre (mmol/L) obtenidos en los 5 tratamientos en el día 8 y día 30 postparto

**Anexo 3.** Evaluación de condición corporal (CC) en las vacas del estudio

Grupo	Preparto	15 D Post	30 D Post	60 D Post	90 D Post
A.E.	3,4 (0,08) ab	3,0 (0,07) a	2,9 (0,07) a	2,7 (0,05) a	2,8 (0,06) a
Biotina	3,1 (0,08) a	2,9 (0,09) a	2,8 (0,06) a	2,7 (0,07) a	2,7 (0,07) a
Cromo	3,3 (0,06) ab	3,0 (0,06) a	2,9 (0,07) a	2,9 (0,07) a	2,8 (0,06) a

Núcleo	3,4 (0,09) b	3,1 (0,07) a	2,9 (0,07) a	2,7 (0,05) a	2,8 (0,05) a
Testigo	3,3 (0,07) ab	3,1 (0,07) a	2,9 (0,07) a	2,8 (0,05) a	2,8 (0,06) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna.

#### Anexo 4. Niveles de calcio sanguíneo (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos

Grupo	1 d	3 d	5 d	7 d	21 d
A.E.	6,4 (0,41) a	7,7 (0,41) a	7,2 (0,41) a	8,4 (0,41) a	7,7 (0,41) a
Biotina	6,9 (0,47) a	7,7 (0,47) a	7,7 (0,47) a	8,0 (0,47) a	8,2 (0,47) a
Cromo	5,4 (0,40) a	7,1 (0,40) a	7,5 (0,40) a	7,1 (0,40) a	8,1 (0,40) a
Núcleo	6,7 (0,41) a	8,2 (0,41) a	7,7 (0,41) a	7,1 (0,41) a	8,1 (0,41) a
Testigo	6,9 (0,40) a	7,9 (0,40) a	7,5 (0,40) a	8,1 (0,40) a	7,6 (0,40) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna.

#### Anexo 5. Niveles de fósforo sanguíneo (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos

Grupo	1 d	3 d	5 d	7 d	21 d
A.E.	5,6 (0,46) a	5,9 (0,46) a	4,7 (0,46) a	4,6 (0,46) a	4,6 (0,46) a
Biotina	5,2 (0,52) a	4,8 (0,52) a	5,3 (0,52) a	4,9 (0,52) a	4,7 (0,52) a
Cromo	5,0 (0,44) a	5,4 (0,44) a	6,0 (0,44) a	4,9 (0,44) a	4,5 (0,44) a
Núcleo	4,4 (0,45) a	5,8 (0,45) a	5,6 (0,45) a	4,6 (0,45) a	4,4 (0,45) a
Testigo	5,1 (0,44) a	6,2 (0,44) a	5,3 (0,44) a	5,0 (0,44) a	5,0 (0,44) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna.

#### Anexo 6. Niveles de magnesio sanguíneo (mg/dL) obtenidos en los 5 tratamientos

Grupo	1 d	3 d	5 d	7 d	21 d
A.E.	2,9 (0,20) a	2,2 (0,20) a	2,2 (0,20) a	2,7 (0,20) a	2,5 (0,20) a
Biotina	2,2 (0,22) a	2,2 (0,22) a	2,4 (0,22) a	2,2 (0,22) a	2,2 (0,22) a
Cromo	2,6 (0,18) a	2,3 (0,18) a	1,9 (0,18) a	2,3 (0,18) a	2,4 (0,18) a
Núcleo	2,9 (0,19) a	2,3 (0,19) a	2,2 (0,19) a	2,1 (0,19) a	2,5 (0,19) a
Testigo	2,9 (0,18) a	2,4 (0,18) a	2,1 (0,18) a	2,5 (0,18) a	2,1 (0,18) a

a,b representan diferencias significativas en una misma columna.

#### Anexo 7. Producción de leche en los distintos tratamientos

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	27,2 (1,25) a	25,2 (1,54) a	23,4 (1,30) a	25,1 (1,29) a	23,5 (1,51) a
21	28,6 (1,05) a	28,0 (1,19) a	25,3 (1,13) a	28,4 (1,03) a	27,8 (1,12) a
35	29,1 (1,04) a	29,7 (1,17) a	26,7 (1,15) a	30,0 (1,03) a	29,8 (1,12) a
49	28,8 (1,04) a	30,0 (1,17) a	27,3 (1,15) a	29,5 (1,03) a	29,6 (1,12) a
63	28,0 (1,04) a	29,1 (1,17) a	27,1 (1,16) a	28,6 (1,04) a	28,1 (1,12) a
77	27,1 (1,04) a	28,2 (1,18) a	26,7 (1,17) a	27,4 (1,05) a	26,9 (1,12) a
91	26,2 (1,06) a	27,3 (1,23) a	26,2 (1,21) a	26,1 (1,06) a	25,9 (1,13) a

Promedio 28,6 (1,04) a 29,8 (1,17) a 27,3 (1,15) a 29,2 (1,04) a 29,2 (1,12) a  
a,b representan diferencias significativas en una misma fila.

**Anexo 8.** Contenido de sólidos totales (%) obtenidos en los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	12,4 (0,29) a	13,2 (0,30) a	13,4 (0,34) a	13,4 (0,34) a	13,2 (0,31) a
21	12,4 (0,24) a	13,0 (0,27) a	13,1 (0,28) a	13,1 (0,27) a	13,1 (0,26) a
35	12,5 (0,23) a	12,8 (0,26) a	12,9 (0,26) a	12,9 (0,23) a	13,1 (0,25) a
49	12,6 (0,23) a	12,8 (0,26) a	12,7 (0,26) a	12,9 (0,22) a	13,1 (0,25) a
63	12,7 (0,23) a	12,9 (0,26) a	12,7 (0,26) a	12,9 (0,22) a	13,2 (0,25) a
77	12,9 (0,23) a	13,2 (0,26) a	12,9 (0,26) a	13,0 (0,22) a	13,3 (0,25) a
91	13,1 (0,24) a	13,5 (0,28) a	13,1 (0,27) a	13,2 (0,23) a	13,6 (0,27) a

Promedio 12,6 (0,23) a 12,9 (0,26) a 12,7 (0,26) a 12,9 (0,22) a 13,1 (0,25) a  
a,b representan diferencias significativas en una misma fila.

**Anexo 9.** Contenido de grasa (%) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	3,4 (0,22) a	4,2 (0,22) ab	4,2 (0,28) ab	4,3 (0,28) ab	4,3 (0,23) b
21	3,5 (0,18) a	4,2 (0,20) ab	4,1 (0,22) ab	4,2 (0,21) ab	4,2 (0,20) b
35	3,7 (0,16) a	4,2 (0,19) a	4,0 (0,19) a	4,1 (0,18) a	4,2 (0,19) a
49	3,8 (0,16) a	4,2 (0,19) a	4,0 (0,19) a	4,1 (0,17) a	4,2 (0,19) a
63	3,9 (0,17) a	4,3 (0,20) a	4,0 (0,19) a	4,1 (0,17) a	4,2 (0,19) a
77	4,0 (0,17) a	4,4 (0,20) a	4,1 (0,20) a	4,2 (0,17) a	4,3 (0,20) a
91	4,1 (0,17) a	4,5 (0,22) a	4,2 (0,20) a	4,3 (0,17) a	4,5 (0,22) a

Promedio 3,8 (0,16) a 4,2 (0,19) a 4,0 (0,19) a 4,1 (0,17) a 4,2 (0,19) a  
a,b representan diferencias significativas en una misma fila.

**Anexo 10.** Contenido de proteína (%) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	4,0 (0,10) a	4,1 (0,12) a	4,2 (0,11) a	4,1 (0,11) a	4,0 (0,11) a
21	3,5 (0,08) a	3,5 (0,09) a	3,6 (0,08) a	3,4 (0,08) a	3,5 (0,08) a
35	3,3 (0,07) a	3,3 (0,08) a	3,4 (0,08) a	3,3 (0,07) a	3,4 (0,08) a
49	3,3 (0,07) a	3,2 (0,08) a	3,4 (0,08) a	3,3 (0,07) a	3,3 (0,08) a
63	3,4 (0,07) a	3,3 (0,08) a	3,4 (0,08) a	3,3 (0,07) a	3,3 (0,08) a
77	3,4 (0,08) a	3,3 (0,09) a	3,4 (0,09) a	3,4 (0,08) a	3,4 (0,08) a
91	3,5 (0,08) a	3,4 (0,09) a	3,5 (0,09) a	3,5 (0,08) a	3,4 (0,08) a
Promedio	3,3 (0,07) a	3,2 (0,08) a	3,3 (0,08) a	3,3 (0,07) a	3,3 (0,08) a

a,b representan diferencias significativas en una misma fila.

**Anexo 11.** Contenido de lactosa (%) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	4.47 (0.064) a	4.40 (0.080) a	4.40 (0.065) a	4.48 (0.067) a	4.44 (0.071) a
21	4.56 (0.055) a	4.50 (0.065) a	4.49 (0.059) a	4.59 (0.056) a	4.62 (0.060) a
35	4.64 (0.053) ab	4.59 (0.059) ab	4.57 (0.058) a	4.67 (0.052) ab	4.75 (0.057) b
49	4.70 (0.053) ab	4.66 (0.058) ab	4.62 (0.059) a	4.73 (0.051) ab	4.85 (0.058) b
63	4.73 (0.054) a	4.72 (0.059) ab	4.64 (0.059) a	4.76 (0.052) ab	4.91 (0.058) b
77	4.75 (0.053) a	4.75 (0.059) ab	4.64 (0.059) a	4.77 (0.051) ab	4.93 (0.058) b
91	4.74 (0.054) ab	4.78 (0.061) ab	4.62 (0.060) a	4.74 (0.052) ab	4.91 (0.060) b
Promedio	4.71 (0.054) ab	4.68 (0.059) ab	4.63 (0.059) a	4.75 (0.052) ab	4.88 (0.058) b

a,b representan diferencias significativas en una misma fila.

**Anexo 12.** Contenido de MUN (mg/dL) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	16,0 (1,04) a	15,0 (1,26) a	13,8 (1,10) a	16,6 (1,32) a	14,4 (1,24) a
21	16,1 (0,95) a	15,7 (1,11) a	14,2 (1,01) a	17,2 (1,05) a	15,3 (1,00) a
35	16,3 (0,89) a	16,3 (1,01) a	14,7 (0,96) a	17,9 (0,98) a	16,2 (0,97) a
49	16,5 (0,86) a	17,0 (0,97) a	15,2 (0,96) a	18,4 (0,98) a	17,0 (0,97) a
63	16,7 (0,87) a	17,6 (1,00) a	15,7 (1,00) a	18,6 (0,99) a	17,6 (0,98) a
77	16,9 (0,90) a	18,3 (1,09) a	16,2 (1,08) a	18,6 (1,01) a	17,6 (0,98) a



91	17,1 (0,97) a	18,9 (1,23) a	16,7 (1,19) a	18,2 (1,11) a	17,2 (1,06) a
Promedio	16,6 (0,86) a	17,2 (0,97) a	15,4 (0,97) a	18,5 (0,99) a	17,3 (0,97) a

a,b representan diferencias significativas en una misma fila.

**Anexo 13.** Contenido de CCS (puntaje lineal) en leche de los distintos tratamientos durante los primeros 100 días de lactancia (D.L.)

D.L.	A.E.	Biotina	Cromo	Núcleo	Testigo
7	1,9 (0,37) ab	2,5 (0,43) ab	2,1 (0,40) ab	1,4 (0,34) a	3,5 (0,57) b
21	1,8 (0,33) ab	2,2 (0,39) ab	2,0 (0,36) ab	1,2 (0,31) a	2,7 (0,40) b
35	1,6 (0,30) a	2,0 (0,35) a	1,9 (0,34) a	1,0 (0,28) a	2,0 (0,34) a
49	1,5 (0,28) a	1,7 (0,33) a	1,8 (0,33) a	0,7 (0,26) a	1,5 (0,32) a
63	1,4 (0,27) ab	1,4 (0,32) ab	1,8 (0,33) a	0,5 (0,25) b	1,2 (0,32) ab
77	1,2 (0,28) ab	1,1 (0,33) ab	1,7 (0,35) a	0,3 (0,26) b	1,1 (0,31) ab
91	1,1 (0,31) ab	0,9 (0,35) ab	1,6 (0,37) a	0,1 (0,28) b	1,1 (0,33) ab
Promedio	1,5 (0,27) ab	1,6 (0,33) ab	1,8 (0,33) a	0,6 (0,26) b	1,3 (0,32) ab

a,b representan diferencias significativas en una misma fila.