



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS DOCTORAL

**EFECTO DE LA ADICIÓN DE SEMILLAS DE
OLEAGINOSAS A LA DIETA DE VACAS SOBRE
EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y PERFIL
LIPÍDICO DE LA LECHE**

Para obtener el título de

Doctor en Ciencias Agropecuarias

PRESENTA

Genaro Plata Pérez

Director

Dr. Rodolfo Vieyra Alberto

Codirector

Dr. Gabriel Aguirre Álvarez

Comité tutorial

Dr. Juan Carlos Ángeles Hernández
Dr. Oscar Enrique Del Razo Rodríguez

Tulancingo de Bravo, Hgo., México, noviembre de 2023

18/10/2023

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar
Presente.

El Comité Tutorial del **PROYECTO TERMINAL O TESIS** del programa educativo de posgrado titulado **"EFECTO DE LA ADICIÓN DE SEMILLAS DE OLEAGINOSAS A LA DIETA DE VACAS SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO Y PERFIL LIPÍDICO DE LA LECHE"**, realizado por el sustentante **GENARO PLATA PÉREZ** con número de cuenta **429387** perteneciente al programa de **Doctorado en Ciencias Agropecuarias**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

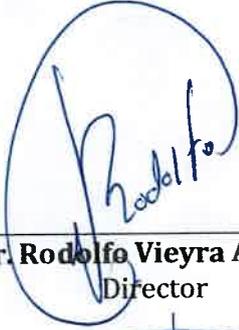
Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

Atentamente

"Amor, Orden y Progreso"

Lugar, Hidalgo a 18 de octubre de 2023

El Comité Tutorial


Dr. Rodolfo Vieyra Alberto
Director


Dr. Gabriel Aguirre Álvarez
Codirector


Dr. Juan Carlos Angeles Hernández
Asesor


Dr. Oscar Enrique Del Razo Rodríguez
Asesor



Agradecimientos

Al Dr. Rodolfo Vieyra Alberto por su apoyo y comprensión en las situaciones difíciles que se han presentado durante el desarrollo de este trabajo, por su apoyo continuo y consejos que me han permitido cumplir con los objetivos propuestos en este trabajo.

Al Dr. Juan Carlos Ángeles Hernández por compartir sus conocimientos que siempre contribuyen enormemente en la estructura del trabajo.

Al Dr. Oscar Enrique del Razo Rodríguez por sus cátedras, asesorías y observaciones que siempre fueron una guía en la realización del estudio.

Al Dr. Rafael Germán Campos Montiel, por la confianza continua, enseñanzas y apoyo incondicional que me han permitido concluir este trabajo.

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y, en particular, al Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) por la oportunidad de participar como miembro activo en sus instalaciones, convivir con el cuerpo académico y estudiantil.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por el incommensurable apoyo de una beca nacional que me ha permitido cumplir con los requisitos necesarios para obtener el grado.

Dedicatorias

Dedico este trabajo a mi familia Mayra Carolina Vieyra Alberto y a mi hijo Emilio Jenaro Plata Vieyra porque me motivan a seguir adelante siempre y han estado conmigo en todo momento.

A mis padres porque a pesar de todas las dificultades que hemos pasado se que cuento con su apoyo y comprensión incondicional, estoy eternamente agradecido y orgulloso de ser su hijo.

A la familia de mi esposa que siempre han contribuido con su amistad, apoyo y soporte en mi vida diaria, así como durante la realización de este proyecto.

Contenido

<i>Agradecimientos</i>	<i>II</i>
<i>Dedicatorias</i>	<i>III</i>
<i>Contenido</i>	<i>1</i>
<i>Índice de cuadros</i>	<i>3</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>4</i>
<i>Resumen general</i>	<i>5</i>
<i>Abstract</i>	<i>8</i>
<i>I. Introducción</i>	<i>10</i>
<i>II. Antecedentes</i>	<i>12</i>
2.1 Estructura y función de los lípidos	12
2.2 Rutas metabólicas de los ácidos grasos contenidos en la leche	18
2.3 El ácido linoleico conjugado (CLA)	25
2.4 El meta-análisis en ciencia animal	29
<i>III Justificación</i>	<i>31</i>
<i>IV Objetivos</i>	<i>32</i>
4.1 Objetivo general	32
4.2 Objetivos específicos	32
<i>V. Hipótesis</i>	<i>33</i>
<i>VI. Materiales y Métodos</i>	<i>34</i>
6.1 Meta-análisis y meta-regresión	34
6.2 Inclusión de linaza molida en la dieta de vacas Holstein	36

<i>VII. Resultados</i>	40
7.1 Meta-análisis y meta-regresión	40
7.2 Efecto de la inclusión de linaza molida en la dieta de vacas Holstein	43
<i>VIII. Discusión</i>	47
8.1. Meta-análisis y meta-regresión	47
8.2 Efecto de la inclusión de linaza molida en la dieta de vacas Holstein	57
<i>IX. Conclusiones</i>	59
<i>X. Referencias bibliográficas</i>	60
<i>XI. Anexos</i>	72
11.1 Artículo publicado en <i>Animals</i>	72
11.2 Resumen publicado en <i>American Dairy Science Association</i>[®] del <i>Journal of Dairy Science</i>	74
11.3 Resumen publicado en la <i>Revista Argentina de Producción Animal</i>	76
11.4 Resumen publicado en el <i>Congreso Latinoamericano de Producción Animal</i>	77

Índice de cuadros

Cuadro 1. <i>Efectos benéficos en el humano por el consumo de CLA.....</i>	27
Cuadro 2. <i>Ingredientes y composición química de las dietas experimentales</i>	38
Cuadro 3. <i>Efecto de la inclusión de semilla molida de linaza sobre el rendimiento productivo y la composición química de la leche de vacas Holstein en estabulación</i>	43
Cuadro 4. <i>Efecto del día de muestreo sobre el rendimiento productivo y la composición química de la leche de vacas Holstein en estabulación</i>	44
Cuadro 5. <i>Efecto de la inclusión de linaza y el día de muestreo sobre el rendimiento productivo y la composición química de la leche de vacas Holstein en estabulación</i>	45

Índice de figuras

Figura 1. Molécula ácido graso palmítico (C14:0)	12
Figura 2. Clasificación de los ácidos grasos de acuerdo a la longitud de la cadena carbonada.....	13
Figura 3. Clasificación de los ácidos grasos de acuerdo al grado de saturación en su estructura.....	14
Figura 4. Síntesis de Acetil-CoA a partir de acetato.	14
Figura 5. Síntesis de Malonil-CoA a partir de Acetil-CoA.	15
Figura 6. Síntesis de los ácidos grasos.....	16
Figura 7. Estructura de un triglicérido.....	17
Figura 8. Estructura de los ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico (A, B y C, respectivamente).	19
Figura 9. Esquema del proceso de lipólisis y biohidrogenación.....	20
Figura 10. Esquema de la isomerización y reducción de los ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico.....	21
Figura 11. Incorporación de los ácidos grasos al torrente sanguíneo.....	23
Figura 12. Esquema de la síntesis de novo y desaturación de ácidos grasos	24
Figura 13. Posibles vías metabólicas para la síntesis del AG ruménico en vacas.....	28
Figura 14. Representación gráfica del tamaño de muestra	37

Resumen general

La leche es el producto lácteo que más se consume en el mundo y para los humanos es la fuente más viable para la ingesta de componentes funcionales. El objetivo fue evaluar el efecto que tienen algunos factores asociados al animal y a la dieta de vacas que fueron alimentadas con oleaginosas, sobre la concentración de los ácidos grasos benéficos en el humano y la modificación de los componentes mayoritarios de la leche, a través de una revisión sistemática y analítica, complementada con un experimento en vacas de primer parto en un sistema estabulado.

En la primera fase, una búsqueda exhaustiva y estructurada se realizó por tres expertos en Google Scholar, Primo-UAEH y PubMed con las palabras “dairy cow”, “oilseed”, “milk yield”, “CLA”, “grazing”, “indoor” y “fatty acids”. Las variables de respuesta fueron la producción de leche, el índice aterogénico, Σ omega-3 PUFA, Σ omega-6 PUFA, la grasa, la proteína, la lactosa, los ácidos grasos saturados, insaturados, linoleico (AL), linolénico (ALN), oleico (AO), vaccénico (AV) y el ácido linoleico conjugado (CLA). Las variables explicativas fueron el tipo racial, la etapa de lactancia (primera, segunda y tercera), el tipo de oleaginosa (linaza, soya, colza, algodón y girasol), la presentación en la inclusión (entera, extrusionada, molida y tostada), nivel de inclusión en la dieta (g/kg MS), diferencia del AL, ALN, AO, forraje y FDN entre la ración de intervención y la testigo, período de adaptación (lavado) y diseño experimental utilizado. Un metaanálisis se realizó con los datos obtenidos, utilizando el paquete “meta” y una meta regresión con el “metafor”, ambos del programa estadístico R.

La inclusión de semillas de oleaginosas aumenta en cada 100 g de los ácidos grasos (AG) de CLA (+0.27 g; $p < 0.0001$), AV (+1.03 g; $p < 0.0001$), AO (+3.44 g; $p < 0.0001$), ALN (+0.28 g; $p < 0.0001$) y AG insaturados (+8.32 g; $p < 0.0001$), pero disminuyen Índice de Aterogenicidad (-1.01; $p < 0.0001$), AG saturados (-6.51; $p < 0.0001$), grasa en la leche (-0.11 %; $p < 0.001$) y proteína en la leche (-0.04 %; $p < 0.007$). El contenido de grasa depende del tipo racial del animal, la etapa de lactancia, el tipo

y el procesamiento de las oleaginosas y los contenidos de FND y AL de la dieta; el CLA, AL, AO y AG insaturados dependen del tipo y procesamiento de las semillas y el nivel de inclusión en la dieta; además, la concentración de CLA y AV se modifican por el diseño experimental y el periodo de adaptación.

En la segunda fase, un experimento se realizó utilizando 12 vacas Holstein en estabulación, primíparas, en el segundo tercio de lactación, con una producción promedio de leche de 30.6 litros al día. Las vacas fueron asignadas de manera aleatoria en uno de los tratamientos. El diseño experimental fue completamente al azar con mediciones repetidas. Los efectos fijos por evaluar fueron las dietas experimentales, que fueron (Test = testigo y Linz = 3 % de semilla molida de linaza en la dieta), los días de medición (-5 d, 0 d, 5 d, 10 d, 15 d, 20 d, 25 d, 30 d, 35 d y 40 d) y su interacción; mientras que el efecto aleatorio fue la vaca. Las dietas fueron isoenergéticas (3.48 Mcal de ED/kg MS) e isoproteicas (17.8 % de PC). El registro del consumo de MS se realizó por diferencia entre oferta y rechazo, también la producción de leche de ambos ordeños se registró y se obtuvo una alícuota de 50 ml por vaca día, para posteriormente medir el contenido de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos con un analizador de leche por ultrasonido. Los datos fueron analizados con el MODEL MIXED de SAS (2002).

El rendimiento de leche y sus componentes no cambiaron ($p > 0.05$) con la inclusión de linaza molida en la dieta. El contenido de proteína, lactosa y sólidos no grasos incrementó ($p < 0.05$) conforme transcurría la lactación.

En conclusión, el meta análisis muestra que al aumentar los niveles de inclusión de semillas, especialmente con linaza, canola y soya, se obtiene una leche con mayor contenido de ácidos grasos insaturados, el nivel de forraje en la dieta tiene una alta relación con el contenido de ácidos grasos saturados, el periodo de adaptación tiene efecto sobre los ácidos grasos vaccénico, linolénico, oleico y CLA, un diseño estadístico crossover afecta el contenido del ácido graso vaccénico y grasa de la leche mientras que el diseño longitudinal beneficia al CLA. Por su parte, la inclusión

del 3% de semilla molida de linaza en la dieta de vacas primíparas en producción no afecta su comportamiento productivo ni modifica el contenido de componentes mayoritarios.

Abstract

Milk is the most consumed dairy product in the world, and for humans it is the most viable source for the intake of functional components. The objective was to evaluate the effect of some animal and dietary factors of cows fed oilseeds on the concentration of beneficial fatty acids in humans and the modification of the main components of milk through a systematic and analytical review, complemented by an experiment in first-calf cows in a stall system.

In the first phase, an exhaustive and structured search was conducted by three experts in Google Scholar, Primo-UAEH and PubMed using the terms "dairy cow", "oilseed", "milk yield", "CLA", "grazing", "indoor" and "fatty acids". Response variables were milk yield, atherogenic index, Σ omega-3 PUFA, Σ omega-6 PUFA, fat, protein, lactose, saturated, unsaturated, linoleic (AL), linolenic (ALN), oleic (AO), vaccenic (AV) and conjugated linoleic acid (CLA) fatty acids. Explanatory variables were breed, stage of lactation (first, second and third), type of oilseed (linseed, soybean, rapeseed, cotton and sunflower), inclusion presentation (whole, extruded, ground and roasted), inclusion level in the diet (g/kg DM), difference in AL, ALN, AO, forage and FDN between the intervention ration and the control, adaptation period (washout) and experimental design used. A meta-analysis and a meta-regression were performed with the "meta" and "metafor" packages, respectively, of the R statistical program.

The inclusion of oilseeds increases per 100 g CLA (+0.27 g; $p < 0.0001$), VA (+1.03 g; $p < 0.0001$), AO (+3.44 g; $p < 0.0001$), ALN (+0.28 g; $p < 0.0001$) and unsaturated FA (+8.32 g; $p < 0.0001$), but decreased atherogenicity index (-1.01; $p < 0.0001$), saturated FA (-6.51; $p < 0.0001$), milk fat (-0.11%; $p < 0.001$) and milk protein (-0.04%; $p < 0.007$). The fat content depended on the breed of animal, the stage of lactation, the type and processing of the oilseed and the NDF and LA content of the diet; CLA, LA, AO and unsaturated FA depended on the type and processing of the seed and

the level of inclusion in the diet; in addition, the concentration of CLA and VA were modified by the experimental design and the adaptation period.

In the second phase, an experiment was conducted with 12 stalled Holstein cows, primiparous, in the second stage of lactation, with an average milk yield of 30.6 liters per day. Cows were randomly assigned to one of the treatments. The experimental design was a completely randomized design with repeated measurements. The fixed effects to be evaluated were the experimental diets: 1) test = control and, 2) linseed = 3% ground linseed in the diet, the days of measurement (-5d, 0d, 5d, 10d, 15d, 20d, 25d, 30d, 35d and 40d) and their interaction, and the random factor was the cow. The diets were isoenergetic (3.48 Mcal ED) and isoproteic (17.8% CP). At each time point, DM consumption was recorded by the difference between intake and refusal, and milk production was recorded from both milkings to obtain an aliquot of 50 ml per cow per day for subsequent measurement of fat, protein, lactose and solids-non-fat content using a ultrasound milk analyzer. The data were analyzed using MODEL MIXED from SAS (2002).

No effect ($p>0.05$) on milk yield or its constituents was observed with the inclusion of ground linseed in the diet. There was a slight increase ($p<0.05$) in protein, lactose and non-fat dry matter content as lactation progressed.

In conclusion, the meta-analysis shows that increasing the level of inclusion of seeds, especially linseed, rapeseed and soya, results in milk with a higher content of unsaturated fatty acids, the level of forage in the diet has a strong relationship with the content of saturated fatty acids, the adaptation period has an effect on the content of vaccenic, linolenic, oleic and CLA fatty acids, a crossover statistical design affects the content of vaccenic fatty acid and milk fat, while the longitudinal design favors CLA. On the other hand, the inclusion of 3% ground linseed in the diet of primiparous cows in production did not affect their productive behavior, nor did it modify the content of the main components.

I. Introducción

La leche es un alimento altamente nutritivo y una fuente valiosa de minerales, grasas, aminoácidos y vitaminas para el ser humano (Fox et al., 2000). La composición de la leche influye directamente en la calidad, rendimiento, funcionalidad y valor nutricional de los productos lácteos. La grasa de la leche contiene compuestos bioactivos, ejem. ácidos grasos insaturados, de los cuales la ingesta de estos por el humano depende principalmente del consumo en la dieta (Lee y Cho, 2017).

El ácido linoleico conjugado (CLA, por sus siglas en inglés [Conjugated Linoleic Acid]) es un ácido graso insaturado (AGI) considerado esencial debido a que no puede ser sintetizado *de novo* por el humano (Bauman et al., 1999). La síntesis del CLA se realiza de manera natural en rumiantes, como un producto intermediario de la biohidrogenación ruminal; por lo tanto, se puede encontrar en sus productos principalmente leche, carne y en sus derivados (Lock y Bauman, 2004).

En diversos estudios en modelos animales, cultivos celulares y en humanos, la ingesta de CLA ha demostrado reducción del riesgo de padecer diversas enfermedades como diabetes tipo II. Además de tener propiedades antiaterogénicas, anticarcinogénicas y de reducción de masa corporal (Lock y Bauman, 2004). Sin embargo, este ácido graso (AG) se encuentra en concentraciones muy bajas en la grasa de la leche.

Actualmente las investigaciones en ciencia animal se centran en desarrollar estrategias de alimentación que permitan incrementar el contenido de CLA en la leche y carne de los mamíferos domésticos que son abastecedores de estos productos a la población humana. La inclusión de algunos ingredientes en la dieta de los animales ha tenido éxito para incrementar este AG. Por ejemplo, las vacas en pastoreo han mostrado incrementar hasta el doble de la concentración de este AG comparado con animales que están completamente en estabulación (Morales-

Almaráz et al., 2010). También con dietas adicionadas con lípidos han mostrado un incremento sustancial en el contenido de CLA en la leche de los animales (Vieyra-Alberto et al., 2017). En el mismo sentido, raciones con oleaginosas también han mostrado un efecto positivo en el contenido de ésta y otras biomoléculas funcionales (Plata-Pérez et al., 2022; Vieyra-Alberto et al., 2022).

Por tal motivo, existe una relación importante entre el contenido de los AG de cadena larga que se encuentran en los ingredientes de las dietas de vacas en producción y la concentración de biomoléculas funcionales que se encuentran en la leche. Esta estrecha relación ha permitido el desarrollo de estrategias encaminadas a incrementar la síntesis de AG vaccénico que mediante la desaturación en la glándula mamaria es transformado en CLA. La síntesis endógena de CLA ocurre por la intervención de la enzima $\Delta 9$ desaturasa, la cual es considerada la principal vía para incrementar el CLA en leche (Bauman et al., 1999).

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto que tienen algunos factores propios del animal y la dieta de las vacas alimentadas con oleaginosas, sobre la concentración de los ácidos grasos benéficos en el humano y la modificación de los componentes mayoritarios de la leche, a través de una revisión sistemática y analítica complementada con un experimento en vacas de primer parto en un sistema estabulado.

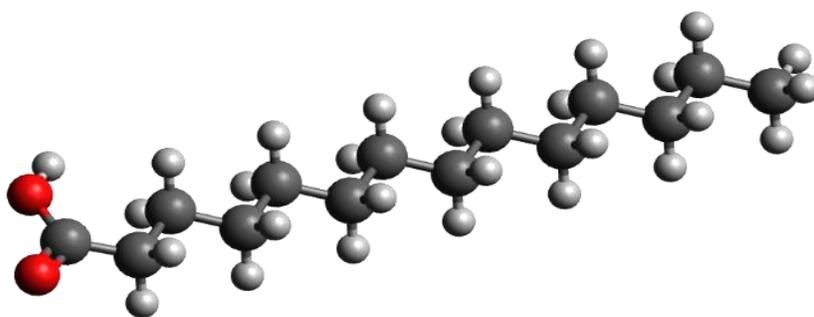
II. Antecedentes

2.1 Estructura y función de los lípidos

Los AG son sustancias orgánicas hidrófobas (que tienen la capacidad de repeler el agua). La IUPAC (2019) los define como ácidos alifáticos mono-carboxílicos naturales, derivados o contenidos en su forma esterificada en ceras, aceites o grasas animales o vegetales, con cadenas hidrocarbonadas desde 4 a 28 carbonos pudiendo ser saturadas o insaturadas. Son insolubles en agua y solubles en algunos solventes orgánicos como son el cloroformo, el éter y el hexano.

Los AG existen naturalmente en diversos organismos y se encuentran en su forma esterificada o como ácidos grasos libres, su nomenclatura deriva del número de carbonos y dobles enlaces en su estructura, comenzando a enumerarlos a partir del grupo carboxilo (Murray, 2016).

Los AG están compuestos por una cadena carbonada de longitud variable, con un grupo metilo (CH_3) en uno de sus extremos y un grupo carboxilo (COOH -) en otro, en estructuras no ramificadas (Tapia y Ruiz, 2020). La Figura 1 esquematiza la estructura del ácido graso palmítico ($\text{C}_{14}:0$), con el grupo carboxilo a la izquierda señalado por dos moléculas de oxígeno en color rojo y el grupo metilo ubicado en el extremo opuesto.



Software © Avogadro Chemistry, 2018. Versión 1.2.0.

Figura 1. Molécula ácido graso palmítico ($\text{C}_{14}:0$).

Los AG se pueden clasificar en función de la longitud de la cadena carbonada o en el grado de saturación de su estructura. En lo que respecta a su longitud se pueden identificar los ácidos grasos volátiles (C2-C4), AG de cadena corta que incluyen los de seis carbonos (C6), de cadena mediana (C8-C16) y de cadena larga que contiene más de 17 carbonos (>C17) (Kay et al., 2005). La Figura 2 muestra una representación esquemática de la clasificación de los AG en función a la longitud de su cadena.

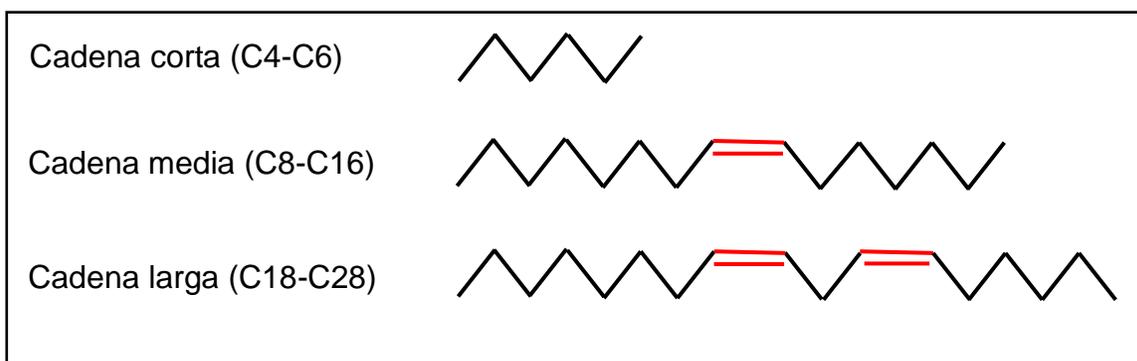


Figura 2. Clasificación de los ácidos grasos de acuerdo con la longitud de la cadena carbonada.

Por otro lado, los AG pueden clasificarse por el grado de saturación, haciendo referencia al número de dienos (dobles enlaces) encontrados en su estructura. Dicha clasificación los categoriza como AG saturados (AGS; sin enlaces dobles) y AG insaturados (AGI; con uno o más enlaces dobles); este último a su vez se categoriza como ácidos grasos monoinsaturados (AGMI; un enlace doble) y ácidos grasos poliinsaturados (AGPI; dos o más enlaces dobles). Cabe señalar que los AGPI pueden ser conjugados que además de al menos dos dobles enlaces cuentan con un grupo metilo intermedio (Yurkanis, 2008). La Figura 3 muestra la representación esquemática de distintos AG de acuerdo con el grado de saturación en su estructura o en el número de dobles enlaces en la cadena de carbonos.

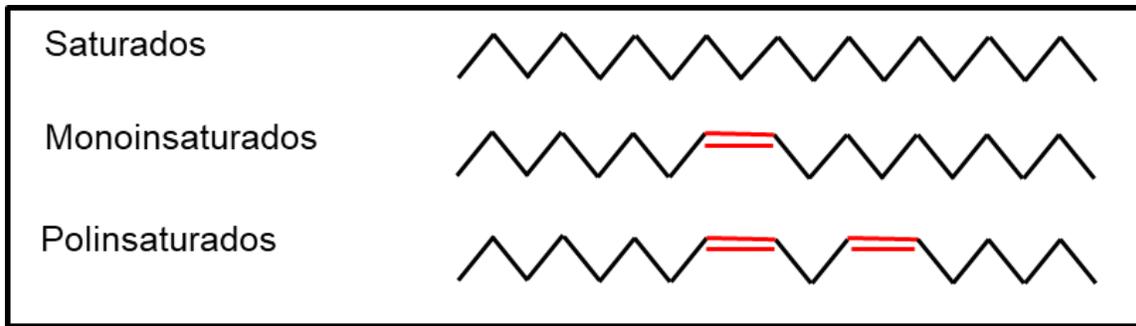


Figura 3. Clasificación de los ácidos grasos de acuerdo al grado de saturación en su estructura.

Las plantas, bacterias, hongos y los mamíferos superiores pueden realizar la síntesis *de novo* de AG, que ocurre en el citosol celular. La ruta principal utiliza como precursor a la acetil-CoA, esta molécula es producto de la glucosa en las plantas y los seres humanos, mientras que en los rumiantes el precursor mayoritario para sintetizarla es el acetato como se muestra en la Figura 4 (Murray, 2016).

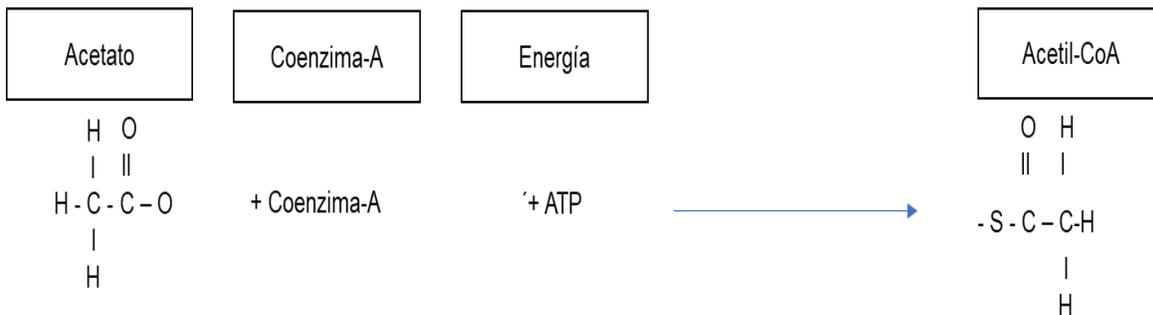


Figura 4. Síntesis de Acetil-CoA a partir de acetato.

La síntesis *de novo* de AG es similar en diferentes organismos, una vez que el acetil-CoA es transformado en Malonil-CoA por una serie de reacciones de carboxilación catalizadas por la proteína multi-enzimática acetil-CoA carboxilasa en presencia de moléculas de ATP y biotina (Yurkanis, 2005). La Figura 5 muestra el proceso de transformación en Malonil-CoA a partir de la acetil-CoA. Cabe señalar que las reacciones recurrentes de condensación, reducción, deshidratación, reducción y

elongación se desarrollan de manera cíclica y en cada ciclo existe una cesión de un par de átomos de carbono a la estructura hasta que el nuevo AG alcance la longitud requerida.

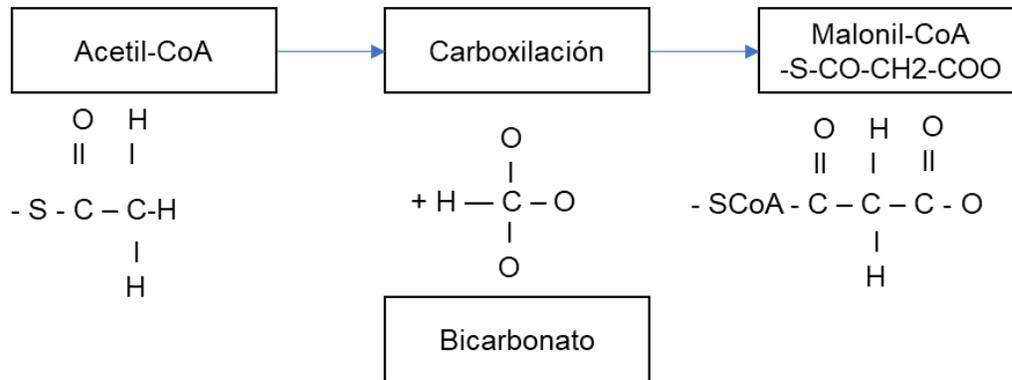
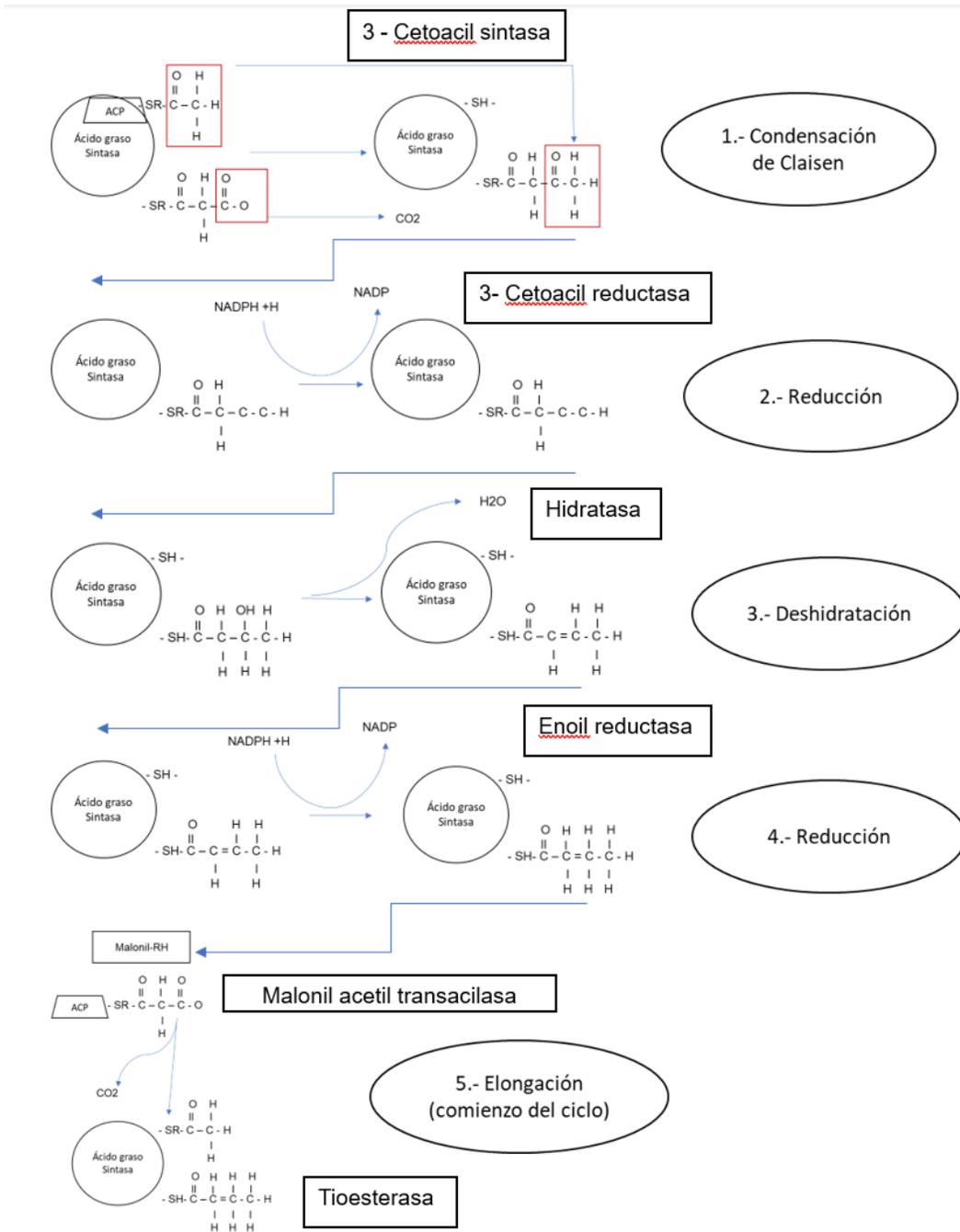


Figura 5. Síntesis de Malonil-CoA a partir de Acetil-CoA.

Entonces, los AG son el producto de la ciclicidad en la carboxilación que requiere el bicarbonato para transformar Malonil-CoA a partir de la acetil-CoA y que este a su vez tenga como precursor al acetato (Murray, 2016).

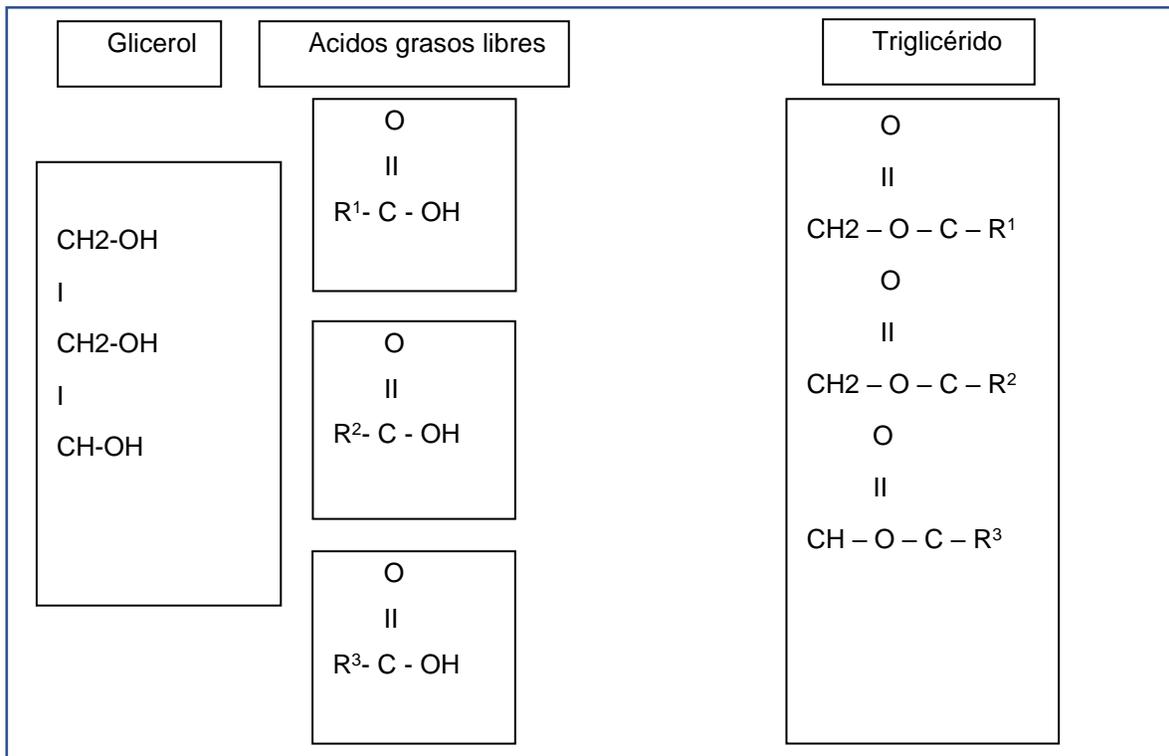
Malonil-CoA es fundamental en la síntesis de ácidos grasos debido a que al unirse a la molécula de proteína acarreadora de acilos (ACP) introduce nuevos acilos a la reacción que añadirán dos carbonos en cada ciclo. Es importante mencionar que durante todo el proceso la enzima ácido graso sintasa estará unida en dos porciones reactivas, la primera estará unida a la molécula que se elongara hasta convertirse en un ácido graso (A) y la segunda que estará recibiendo nuevas moléculas de Malonil-ACP que aportarán los 2 carbonos necesarios para cada ciclo (B), por lo tanto, la porción A se mantendrá unida hasta la liberación del AG mientras la porción B estará recibiendo los sustratos necesarios (Yurkanis, 2008; Murray, 2016) (Figura 6).



SR = porción reactiva de la molécula, SH = porción unida al ácido sintasa, A = porción fija para elongación, B = porción receptora de acilos.

Figura 6. Síntesis de los ácidos grasos (Yurkanis, 2008; Murray, 2016).

Una vez formados los ácidos grasos son transformados en moléculas más complejas como triglicéridos, fosfolípidos y glucolípidos, principalmente. Los triglicéridos son la estructura natural más común del tejido adiposo, estos se componen de tres moléculas de ácidos grasos y un glicerol unidos por un enlace tipo éster (Murray, 2016) (Figura 7).



Modificado de Yurkanis (2008).

Figura 7. Estructura de un triglicérido.

Los fosfolípidos contribuyen al transporte de otros lípidos vía sanguínea y forman parte de las membranas celulares. Por su parte, los glucolípidos tienen una estructura similar a los triglicéridos, pero con una hexosa (galactosa) unida al glicerol en el sitio de un AG (Murray, 2016).

Los lípidos en los animales, además de servir como almacenamiento energético en tejido adiposo intervienen en diversos procesos y son precursores de moléculas

orgánicas como enzimas, vitaminas liposolubles y hormonas (Murray, 2016). Éstos cumplen diferentes funciones que van desde ser aprovechados como fuente, medio de almacenamiento y reserva energética del organismo animal (Jenkins y Harvatine, 2014); además, son fundamentales para la síntesis de compuestos complejos como AG de cadena larga y hormonas, y se encuentran también en la membrana celular cumpliendo funciones estructurales (Al-Sulaiti et al., 2018).

2.2 Rutas metabólicas de los ácidos grasos contenidos en la leche

El contenido de lípidos en la leche de los rumiantes puede ser abordado desde el punto de vista de origen de los mismos, debido a que una fracción de los AG metabolizados provienen de la dieta (más de la mitad de los C16 y todos aquellos mayores a 18 carbonos), teniendo como precursor el ácido acético y butírico producto de la fermentación de la celulosa y hemicelulosa, mientras que los AG de cadena corta y media son sintetizados mediante el proceso de síntesis *de novo* a partir de la glucosa (Martínez-Marín et al., 2013); cabe señalar que una fracción de ácidos grasos saturados encontrados en leche son producto de la movilización de la grasa corporal, sobre todo al inicio de la lactación (Harvatine et al., 2009).

2.2.1 Los lípidos de origen dietario

Los AG insaturados más importantes contenidos en la dieta de las vacas son el oleico (C18:1 cis-9), el linoleico (C18:2 cis-9, cis-12) y el linolénico (C18:3 cis-9, cis-12, cis-15), encontrados en los cereales, oleaginosas, aceites y en forrajes verdes en proporciones variables (Martínez-Marín et al., 2013). En la Figura 8 se esquematiza la estructura de estos AG con ayuda del software© Avogadro Chemistry, 2018, versión 1.2.0, obsérvese la cadena de carbonos con el señalamiento de los dobles enlaces en los carbonos nueve, doce y quince, dependiendo del AG mostrado.

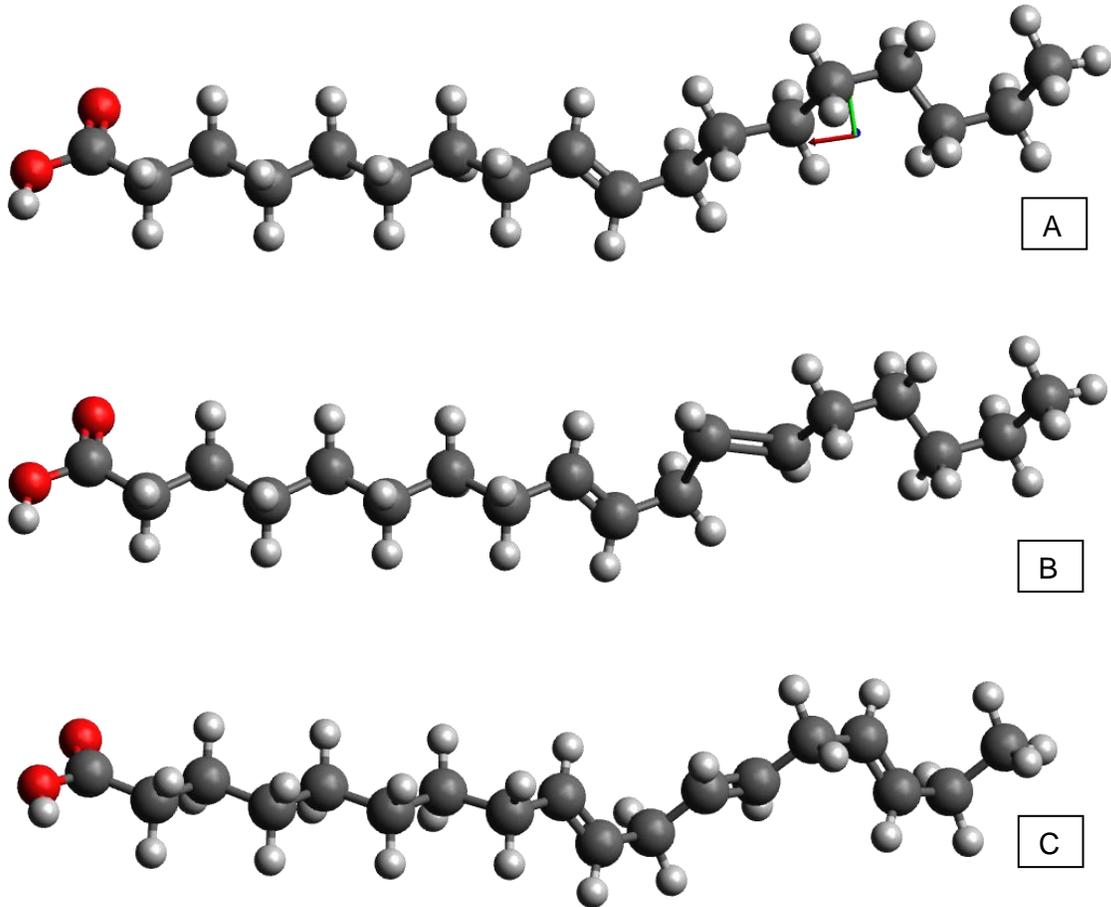
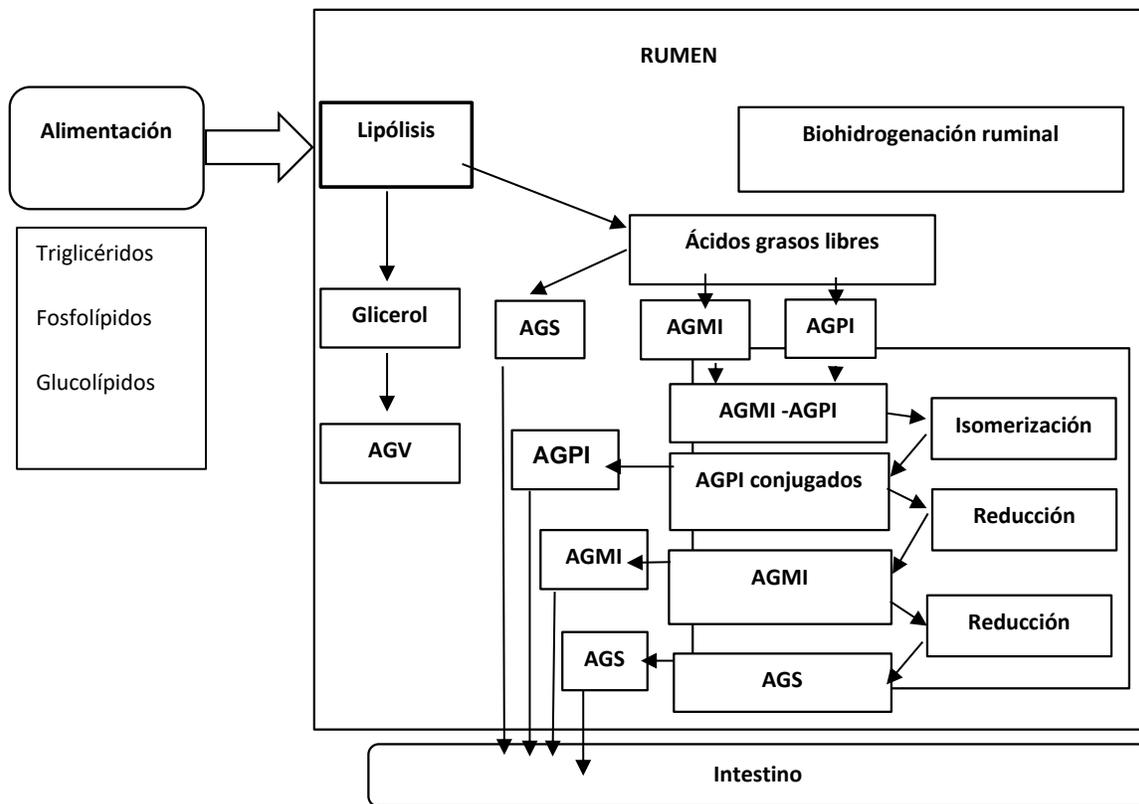


Figura 8. Estructura de los ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico (A, B y C, respectivamente).

Los lípidos provenientes de la dieta son hidrolizados en el rumen por lipasas bacterianas produciendo la ruptura de los enlaces éster, separando a los AG del glicerol (Vieyra-Alberto, 2017). El glicerol forma parte de los procesos metabólicos del microbioma ruminal siendo el sustrato para la producción de los AG volátiles (AGV) (Ángeles-Hernández et al., 2020). La Figura 9 esquematiza el proceso de lipólisis y BH provocado por las lipasas bacterianas en el ambiente ruminal.



AGV =ácidos grasos volátiles, AGS= ácidos grasos saturados, AGMI= ácidos grasos monoinsaturados, AGPI = ácidos grasos poliinsaturados.

Figura 9. Esquema del proceso de lipólisis y biohidrogenación.

La lipólisis en rumen continúa con el proceso de biohidrogenación (BH) o saturación de hidrógenos en la cadena de carbonos (Buccioni et al., 2012). El objetivo de la BH es mantener estable el poder reductor del rumen, facilitar la transformación de los AG en energía por bacterias ácido-autotróficas y reducir la toxicidad de los AG insaturados para algunos géneros específicos de bacterias (Niwa et al., 2023). La BH es el proceso natural en el rumen en el cual hasta el 90% de los AG insaturados ingeridos en la dieta son saturados (Buccioni et al., 2012). Los AG libres expuestos al ambiente ruminal sufren un proceso sucesivo de isomerización y reducción que se detiene cuando se han eliminado por completo los dobles enlaces producto de la acción de las lipasas y enzimas producidas por los microorganismos ruminales

(Dewanckele et al., 2020). Se estima que la concentración de bacterias relacionadas con el proceso de hidrogenación es 10^{7-8} por ml, con mayor actividad la *Butyrivibrio fibrisolvens* (Prieto-Manrique et al., 2016). La Figura 10 esquematiza este proceso de biohidrogenación de los AG oleico, linoleico y linolénico.

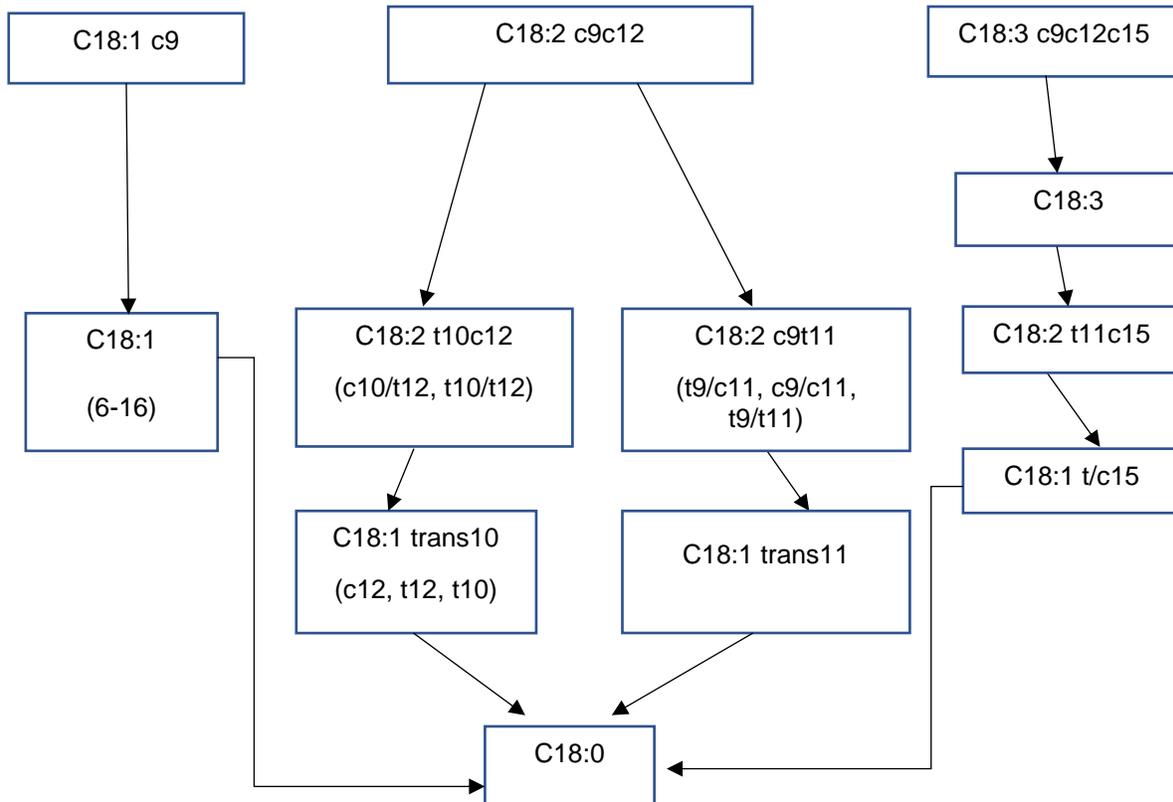


Figura 10. Esquema de la isomerización y reducción de los ácidos grasos oleico, linoleico y linolénico.

El proceso de BH consiste en una primera isomerización definida como el cambio de posición del doble enlace por acción de diversas isomerasas bacterianas, comúnmente la primera modificación ocurre de una configuración estructural cis-12 a trans-11; posteriormente, los isómeros sufren reducciones (incorporación de iones de hidrogeno en la estructura) que saturan los dobles enlaces de los AG. Estudios ruminales *in vitro* realizados por Jenkins (1993) muestran la saturación de los AG

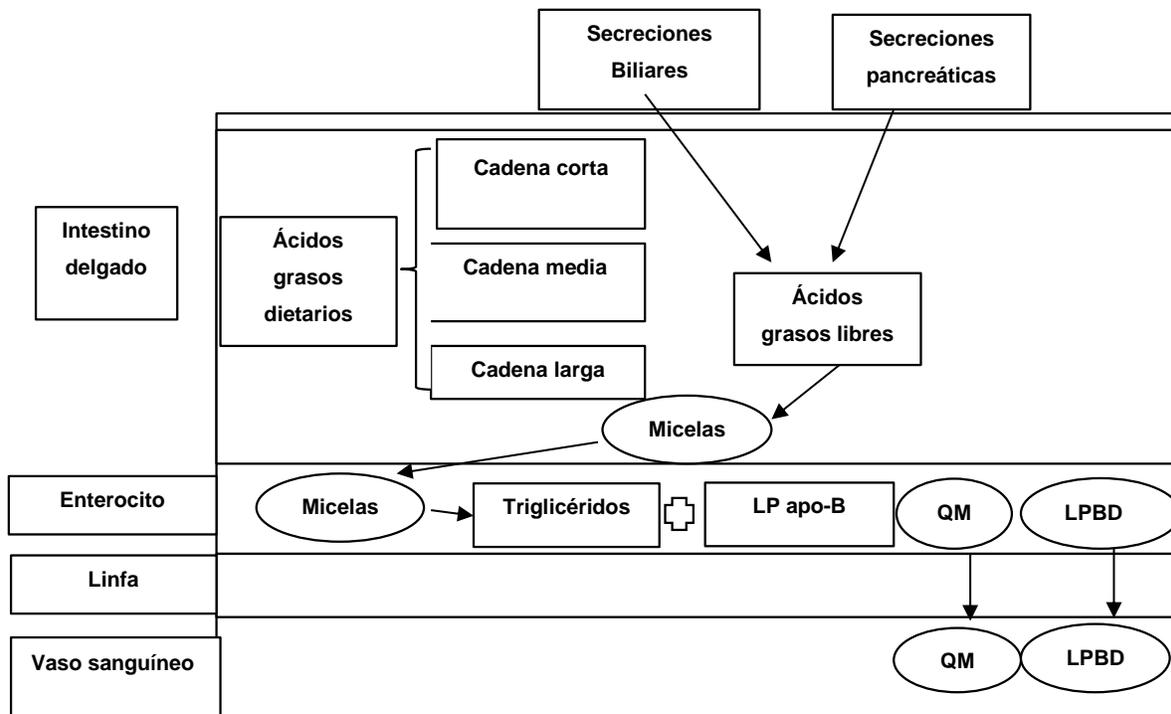
oleico en proporción de 44-68%, del linoleico de 63-79% y del linolénico del 78-90%, siendo el producto final de todos los octadecanoicos (C18) el AG esteárico (C18:0).

Algunos factores que influyen en la variación de la BH son el nivel de inclusión de lípidos en la dieta, el grado de saturación de los AG suplementados, la vitalidad microbiana y el pH ruminal. Los AG saturados (AGS) sufren un mínimo efecto en el ambiente ruminal, aunque si pueden ser metabolizados por los microorganismos.

Existe una relación entre los AG presentes en el rumen y la concentración de los AG encontrados en la leche de las vacas, esto hace suponer que la gran mayoría de estas biomoléculas que escapan de la BH pueden llegar a sumar la cantidad de estos que se secreta en la leche (Plata-Pérez et al., 2022).

2.2.2 Absorción de los ácidos grasos por el intestino

Los AG son hidrolizados y saponificados al llegar al intestino por la lipasa pancreática y sales biliares, formando pequeñas gotas de aceite que se emulsionan formando micelas que son absorbidas por los enterocitos, las micelas se disuelven comenzando la síntesis de triglicéridos, producto de la obtención de AG libres y ácido acético para síntesis de glicerol. Los triglicéridos resultantes son unidos a lipoproteínas (apolipoproteínas transportadoras) las más comunes en bovinos son Apo-B48 y Apo-B100 (Figura 11). Este proceso es necesario para que puedan atravesar la membrana del enterocito, la linfa y la pared vascular para reintegrarse al torrente sanguíneo (Uchide et al., 1999).



LP apo-B= Apo-Lipoproteína B, QM= Quilomicrón, LPBD= Lipoproteínas de muy baja densidad

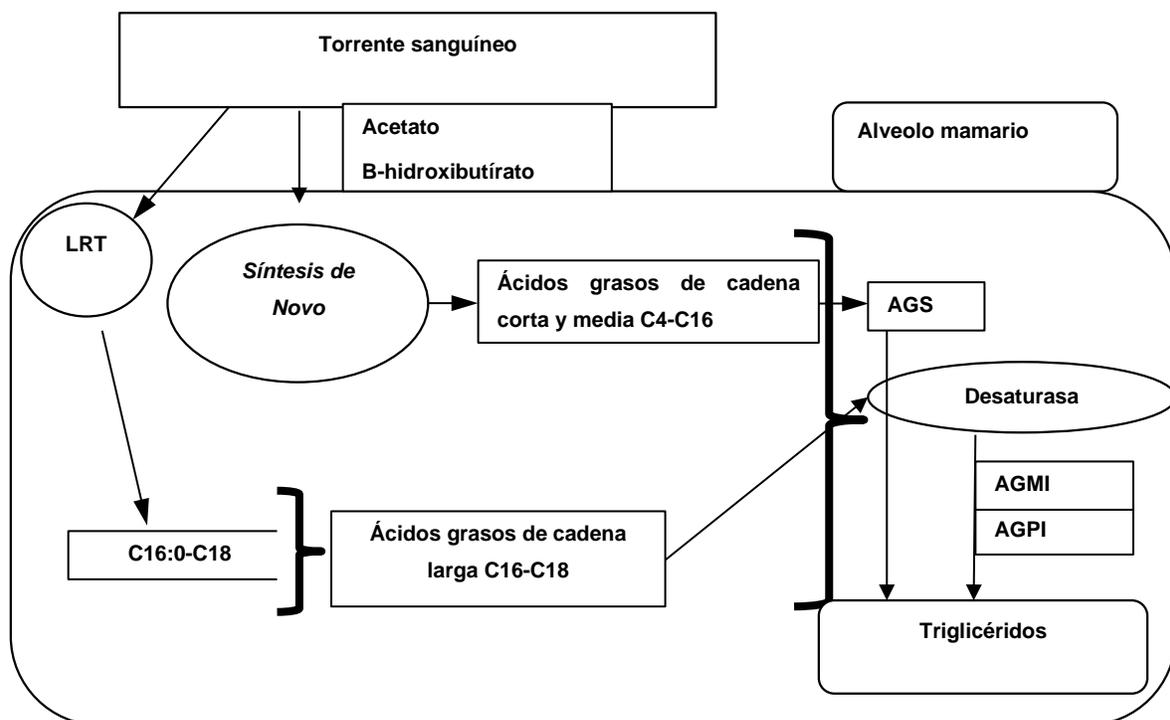
Figura 11. Incorporación de los ácidos grasos al torrente sanguíneo.

2.2.3 Secreción de ácidos grasos en la leche

La glándula mamaria de los rumiantes recibe por vía sanguínea quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad ricas en triglicéridos (Uchide et al., 1999), los cuales en su gran mayoría están compuestos de AG de cadena larga (C16-C18), por esta razón existe una relación lineal positiva entre los AGPI de cadena larga en la dieta y el contenido de los AGPI en la leche (Chilliard et al., 2007). Por otro lado, los AG de cadena corta y media (C4-C16) son sintetizados en la glándula mamaria por el proceso *de novo*, a partir del ácido acético y del beta-hidroxibutírate proveniente de torrente sanguíneo para la síntesis de Acetil-ACP y Malonil-ACP (Prieto-Manrique et al., 2016).

En la glándula mamaria existen además otras reacciones bioquímicas como la desaturación de los AG, el cual tiene lugar en el citosol, en donde la enzima estearil

CoA desaturasa o Delta-9 desaturasa (Δ^9) regula la síntesis de isómeros insaturados agregando un doble enlace en la posición cis-9 de los AG (Corl et al., 2001). La enzima Δ^9 desaturasa, que es sintetizada en glándula mamaria (Bauman y Lock, 2006), es considerada la enzima más investigada por los nutricionistas en bovinos lecheros debido a que se estima que entre el 74-80 % del ácido linoleico conjugado (CLA) encontrado en la leche es sintetizado por esta vía, añadiendo un doble enlace al ácido graso trans vaccénico (C18:1 t11) principal precursor del CLA sintetizado de manera endógena (Bauman et al., 2011; Prieto-Manrique et al., 2016). Así mismo, por este mecanismo, El ácido graso esteárico (C18:0) es desaturado a ácido graso oleico (18:1 cis9) (Collomb et al., 2004).



AGS = ácidos grasos saturados, AGMI = ácidos grasos monoinsaturados, AGPI = ácidos grasos polinsaturados, LRT= Lipoproteínas ricas en triglicéridos.

Figura 12. Esquema de la síntesis *de novo* y desaturación de ácidos grasos.

La enzima Δ^9 desaturasa en glándula mamaria actúa en los ácidos grasos sintetizados *de novo* y también en los provenientes del metabolismo ruminal por torrente sanguíneo (Collomb et al., 2004).

2.3 El ácido linoleico conjugado (CLA)

El adjetivo conjugado de los AG hace referencia a la isomería, que es una propiedad de las moléculas, particularmente las de carbono (orgánicas) que comparten la misma fórmula molecular, con proporciones de átomos relativamente iguales, pero con estructuras químicas diferentes. Los isómeros posicionales comparten el número de átomos y estructura, pero al menos un grupo funcional está ubicado en diferente posición, los isómeros geométricos son compuestos de átomos iguales y que comparten el mismo orden de enlaces, sin embargo, con ordenamientos espaciales diferentes, conocidos como *cis* y *trans* (Yurkanis, 2016).

El término ácido linoleico conjugado (CLA) hace referencia a la mezcla compleja de isómeros posicionales y geométricos octadecadienoicos del AG linoleico (C18:2 *cis* 9, *cis* 12) con dobles enlaces conjugados (Chilliard et al., 2004; Miranda et al., 2014). El CLA es un producto intermediario del proceso de bio-hidrogenación ruminal, su estructura carbonada no ha sido saturada y se pueden encontrar dienos conjugados o enlaces dobles en las posiciones 7/9, 9/11, 8/10, 10/12, 11/13, 11/12, 12/14 (Collomb et al., 2004). Para cada isómero posicional existen 4 configuraciones geométricas (*cis/cis*, *cis/trans*, *trans/cis*, *trans/trans*), por lo que el CLA incluye 28 isómeros posicionales y geométricos (Collomb et al., 2004). Los isómeros del CLA más abundantes en la grasa de la leche son el AG ruménico (C18:2 *cis* 9, *trans* 11) que representa entre 80 y 90 % del total de CLA y el AG C18:2 *trans* 10, *cis* 12 que representa entre 5 y 7 % (Chilliard et al., 2004; Bauman et al., 2006).

El contenido de CLA en la leche de los rumiantes proviene de dos procesos metabólicos; uno de ellos ocurre en rumen mediante la lipólisis y biohidrogenación incompleta de los AG linoleico (C18:2 *cis* 9, *cis* 12) y linolénico (C18:3 *cis* 9, *cis* 12,

cis 15) que proviene de la dieta (Chouinard et al., 1998; Kelly et al., 1998). Un segundo proceso ocurre en glándula mamaria por acción de la enzima Δ^9 desaturasa, en donde se utiliza el AG vaccénico como sustrato (Lock y Bauman, 2004; Bauman et al., 2006).

El contenido de estas biomoléculas en la leche es un factor determinante de su calidad nutricional en términos de sus propiedades funcionales (Chilliard et al., 2004). Cabe destacar que el CLA es exclusivo de productos derivados de rumiantes y por tanto son la principal vía de suministro dietario en humanos. Se ha calculado que alrededor del 75% de CLA que ingieren los humanos son de estos productos (Koba y Yanagita, 2014).

2.3.1 Efectos benéficos para el humano con la ingesta de CLA

Los vertebrados pueden sintetizar determinados AG *de novo*, comúnmente de cadena corta y media; sin embargo, aquellos que no son sintetizados por un organismo de manera endógena y son necesarios para sus funciones metabólicas son denominados esenciales y su presencia depende de la dieta (Murray, 2013).

El humano adquiere AG esenciales a través del consumo de lípidos encontrados en plantas, semillas y productos de origen animal. La leche y carne derivados de los rumiantes contienen altas cantidades del AG linoleico, AG linolénico y CLA; siendo este último superior en rumiantes comparado con no rumiantes domésticos (Collomb et al., 2004; Bauman et al., 2006). La fuente dietaria de bio-componentes como el CLA son los alimentos procedentes de rumiantes, específicamente la leche de bovino. El CLA ha demostrado efectos potencialmente benéficos a la salud humana. El Cuadro 1 muestra una síntesis de los efectos benéficos que tiene el humano con la ingesta de CLA. Sin embargo, es importante señalar que los principales estudios han utilizado cultivos celulares o modelos animales (Haro et al., 2006).

Cuadro 1. Efectos benéficos en el humano por el consumo de CLA

Efecto del ácido graso ruménico	Fuente bibliográfica
Reducción de la masa grasa	Belury (2002) Khanal 2004 Koba y Yanagita 2014 Hartigh 2019
Anti aterogénicos	Belury 2002 Khanal 2004 Hartigh 2019
Inmunomoduladores	Belury 2002 Khanal 2004
Anti diabetogénicas	Belury 2002 Koba y Yanagita 2014
Anti carcinogénicas	Ip 1999 Ip 2001 Belury 2002 Khanal 2004 Hartigh 2019

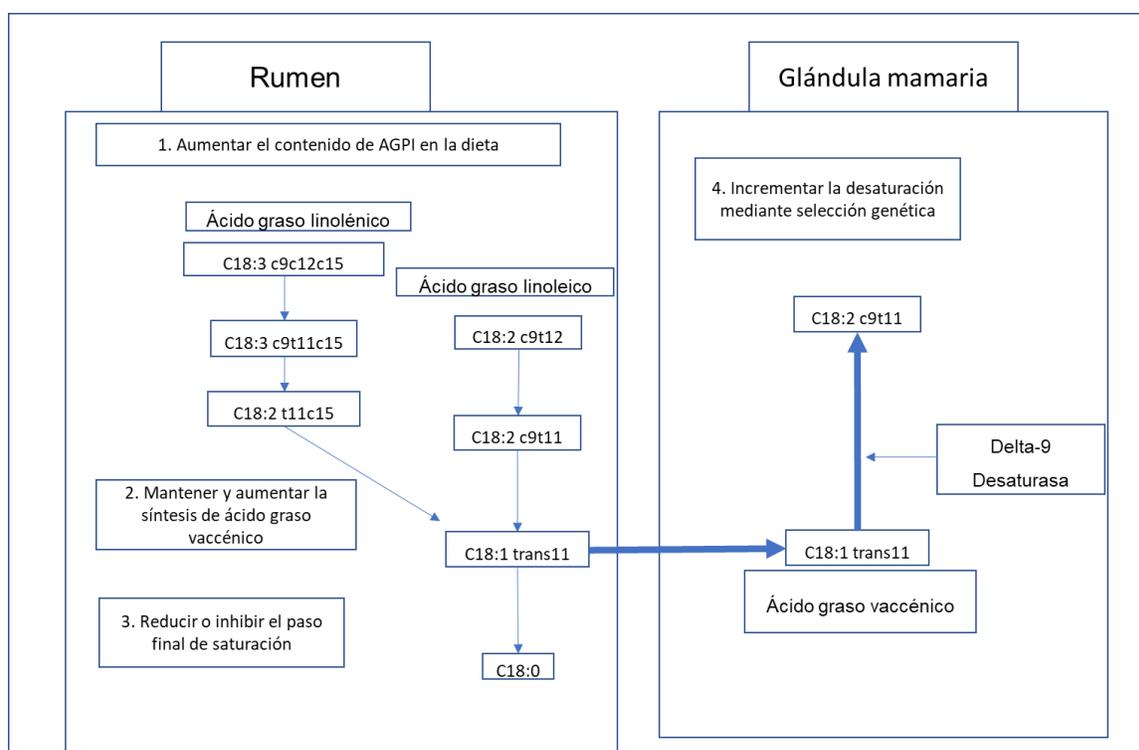
La aterogénesis es uno de los padecimientos clínicos más comunes en el mundo y el consumo de CLA ha sido reportado como una alternativa para prevenir esta enfermedad. Lock y Bauman (2004) encontraron que los suplementos de una mezcla de isómeros de CLA disminuyeron el desarrollo de lesiones ateroscleróticas e incluso indujeron la regresión en lesiones preexistentes en modelos animales (reducción del colesterol plasmático total y lipoproteínas de baja densidad). Koba y Yanagita (2014) también observaron una reducción de aterosclerosis inducidos por la génesis de colesterol en los modelos animales.

Por lo cual, AG ruménico en la leche podría tener beneficios al ser ingerido promoviendo la disminución en la incidencia enfermedades, ubicándose como una estrategia para mejorar la nutrición y salud del consumidor (Lock y Bauman, 2004). El contenido típico del AG ruménico de la grasa láctea puede aumentarse más de 3 veces con alguna estrategia de alimentación, esto permitiría ingestas dietéticas en

el humano para estar en el rango efectivo y acceder a los efectos beneficiosos (Bauman et al., 2006).

2.3.2 Manipulación de la dieta de vacas para aumentar el CLA en su leche

Las estrategias de alimentación utilizadas en vacas lecheras para el incremento del contenido del CLA en leche se enfocan en dos objetivos, por un lado, aumentar el contenido del AG vaccénico sintetizado en rumen y por el otro, incrementar la actividad de la enzima Δ^9 desaturasa (Prieto-Manrique et al., 2016; Palmquist y Jenkins, 2017). En la Figura 13 se observan cuatro de las posibles vías metabólicas para incrementar en contenido de CLA en leche.



Modificado de Prieto-Manrique et al., (2016) y adaptado de Bauman y Lock (2006).

Figura 13. Posibles vías metabólicas para la síntesis del AG ruménico en vacas

La primera vía metabólica es el incremento de los AGPI suministrados mediante la dieta. Esta vía es actualmente la más estudiada por que permite suministrar

diferentes fuentes como semillas, aceites y grasas. Sin embargo, el límite máximo recomendado de lípidos es del 6% sobre la materia seca (Palmquist y Jenkins, 2017), sobrepasar este nivel de inclusión disminuye la digestibilidad de la fibra, reduce el consumo voluntario y afecta negativamente la producción y rendimiento de grasa en la leche (Koba y Yanagita, 2014; Vieyra-Alberto et al., 2017). Una segunda vía metabólica es la selección de ingredientes de la dieta con la finalidad de modificar el ambiente ruminal y de esta forma reducir la velocidad de la biohidrogenación y su capacidad de saturación con el objetivo de aumentar la síntesis de AG vaccénico (Mahdavi et al., 2019).

La tercera vía posible es evitar el último paso en la biohidrogenación, es decir, la inhibición parcial del proceso de reducción, como consecuencia, los isómeros monoinsaturados como el AG vaccénico no se saturarán de hidrógenos.

La cuarta vía es la selección genética de vacas con una mayor producción de la enzima Δ^9 desaturasa, utilizando marcadores del gen responsable de la síntesis de la enzima y métodos para cuantificar su expresión en glándula mamaria (Lashkari et al., 2020).

2.4 El meta-análisis en ciencia animal

Actualmente, la producción científica se ha incrementado de manera constante generando un gran número de publicaciones, lo cual dificulta tener un conocimiento de los artículos totales publicados (Bolaños Díaz y Calderón-Cahua, 2014), además de que los resultados de los estudios son contrastantes y se podrían encontrar en conflicto (Lean et al., 2009). El meta-análisis es una metodología cuantitativa, formal y con un diseño de estudio epidemiológico (Lean et al., 2009) que permite buscar y compilar sistemáticamente la información generada mediante la investigación de un tema en particular para ser analizada mediante herramientas estadísticas de calidad y emitir una conclusión (Bolaños Díaz y Calderón-Cahua, 2014).

Los meta-análisis pueden proveer estimaciones sobre los factores de riesgo de una enfermedad, variabilidad y heterogeneidad de los estudios, así como estimaciones más precisas del efecto de un tratamiento conocido como tamaño del efecto (Lean et al., 2009). Este tamaño de efecto es la estimación de la magnitud de un factor de intervención específico respecto a un grupo testigo sobre las variables de interés, con ello, permite emitir una conclusión después de considerar toda la información recopilada.

El meta-análisis permite analizar una gran colección de datos de estudios individuales e integra los hallazgos mediante un análisis estadístico específico (Lean et al., 2009), cada vez utilizada como herramienta en la toma de decisiones en las ciencias agropecuarias (Bolaños Díaz y Calderón-Cahua, 2014).

La metodología para realizar un meta-análisis tiene que tener al menos el siguiente orden: la definición de las variables, elección del motor de búsqueda y buscadores, revisión sistemática, análisis de datos, evaluación de heterogeneidad e interpretación de los resultados. La mayoría de los meta-análisis están basados en la utilización de dos modelos estadísticos para su ejecución: modelo de efectos fijos y modelo de efectos aleatorios.

El modelo de efectos fijos asume que existe un solo tamaño del efecto real para todos los estudios dentro de un meta-análisis. Por lo cual, cualquier diferencia en el tamaño del efecto observado será debido al error de muestreo. Por otro lado, el modelo de efecto aleatorios asume que el verdadero tamaño del efecto puede variar entre estudios debido a las diferencias implícitas entre estos (Dettori et al., 2022). En ciencia animal múltiples factores pueden generar modificaciones en la dirección y magnitud del tamaño del efecto en estudios que evalúan el mismo factor de intervención tales como: región geográfica, clima, tamaño de muestra, diseño experimental utilizado, dosificación, vías de administración, grupo genético, edad, número de parto, época del año, etc.

III. Justificación

La leche es el producto lácteo más consumido en el mundo y es la mayor vía para la ingesta de biomoléculas funcionales comparado con otros productos derivados de los rumiantes. Los lípidos de semillas de oleaginosas pueden ser transferidos a la leche de las vacas o convertidos en otros biocomponentes con efectos nutraceuticos en el consumidor final, resultando en una leche más saludable. Sin embargo, existe incertidumbre de los efectos de algunas variables relacionadas con el animal, las características de su dieta, semillas utilizadas, nivel de inclusión. Por lo cual, es necesaria la realización de una revisión sistemática y analítica sobre la inclusión de algunas semillas de oleaginosas sobre el rendimiento y composición química de la leche y el perfil lipídico de la grasa.

El ácido linoleico conjugado (CLA) y el ácido graso vaccénico, han demostrado tener múltiples beneficios al humano cuando son consumidos en la leche de bovino y sus derivados. El CLA ha incrementado su concentración en leche hasta tres veces más mediante la manipulación de la dieta de vacas lecheras, mientras que el AG vaccénico es el principal sustrato en la glándula mamaria para incrementar la producción de CLA que posteriormente será secretado en la leche.

La semilla de linaza se utiliza como ingrediente proteico y energético en las dietas de vacas en producción, y estudios previos ha demostrado que su inclusión incrementa hasta un 14% de rendimiento lechero sin afectar el contenido de grasa, proteína y lactosa en la leche. Además, esta oleaginosa contiene altos niveles de AG poliinsaturados que pudieran ser sustrato para la producción de biomoléculas funcionales; sin embargo, existe limitada información sobre la producción de leche y la concentración de sólidos totales con la inclusión de niveles bajos de semilla de linaza.

IV. Objetivos

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de factores asociados al animal, dieta y manejo experimental de vacas que fueron alimentadas con oleaginosas, sobre la concentración de los ácidos grasos benéficos en el humano y la modificación de los componentes mayoritarios de la leche, a través de una revisión sistemática y analítica complementada con un experimento In vivo de vacas de primer parto en un sistema estabulado.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta de vacas lecheras en producción sobre su rendimiento productivo, la composición química y el perfil lipídico de la leche a través de una revisión sistemática y analítica de ensayos publicados.
- Identificar los factores asociados (variables explicativas) sobre la magnitud y dirección del tamaño del efecto de variables respuesta como el rendimiento productivo, la composición química y el perfil lipídico de la leche de vacas en producción, con la inclusión de semillas de oleaginosas en su dieta a través de un meta-análisis y una meta-regresión de ensayos publicados.
- Evaluar el efecto de la inclusión de 3% de semilla molida de linaza en la dieta de vacas Holstein primíparas, altas productoras, sobre el rendimiento lechero y el contenido de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos de su leche.

V. Hipótesis

La inclusión de niveles bajos de semillas de oleaginosas (<6 % MS) en la alimentación de vacas en producción es una opción viable para incrementar el contenido de biocomponentes funcionales; sin embargo, es indispensable considerar los factores asociados al animal y a su dieta para reducir los efectos negativos en el rendimiento y composición química de la leche.

VI. Materiales y Métodos

6.1 Meta-análisis y meta-regresión

6.1.1 Estrategia de búsqueda y criterios de elegibilidad

La búsqueda de artículos científicos en los que se evaluó el efecto de la inclusión de semillas de oleaginosas sobre el rendimiento y composición química de la leche de vacas en producción se realizó por tres expertos en las plataformas de Google académico, Primo-UAEH y PubMed. El motor de búsqueda fue ““dairy cow”, “oilseed”, “milk yield”, “CLA”, “grazing”, “indoor”, “fatty acids”. Solo se incluyeron los artículos publicados en inglés. Posteriormente, se identificaron artículos relacionados con el tema de las referencias de los artículos de la primera búsqueda anexándolas en la base de datos general.

Los artículos que se consideraron debieron de ser publicados en una revista de impacto internacional (excluyendo a los manuscritos no publicados, resúmenes en congresos y disertaciones de expertos), mostrar un grupo testigo (control negativo) y un grupo con la inclusión de semillas de oleaginosas, reportar el nivel de inclusión de la semilla, contar con un diseño experimental con algún tipo de aleatorización, reportar la media y alguna medida de variabilidad (coeficiente de variación, desviación estándar o error estándar) en cada grupo y reportar el tamaño de muestra de cada grupo.

Finalmente, se consideraron 33 artículos para realizar el procedimiento del meta-análisis, para ello, un experto extrajo los datos y los registró en una hoja de Excel® (versión 2016, Microsoft Corp., Redmond, WA), luego dos expertos más verificaron la información para evitar discrepancias. En el Excel® se vaciaron las siguientes variables de respuesta: rendimiento de leche (L/día) los contenidos en leche de grasa (g/100g), proteína (g/100 g) y lactosa (g/100 g), los AG linoleico (g/100 g de AG), linolénico (g/100 g de AG), oleico (g/100 g de AG), vaccénico (g/100 g de AG) y CLA (g/100 g de AG), la sumatoria de los AG omega⁻³ (g/100 g de AG) y omega-

6 (g/100 g de AG), por su insaturación, los saturados (g/100 g de AG) e insaturados (g/100 g de AG) y, el índice de aterogenicidad (g/100 g de AG). También se inspeccionaron algunas variables que pudieran dar explicación a la variabilidad entre estudios los cuales fueron: el tipo racial (Holstein, Jersey y Pardo Suizo), tercio de lactación al inicio del experimento (primero, segundo y tercero), semilla (linaza, soya, canola, algodón y girasol), procesamiento de la semilla (entera, extruida, tostada, molida), nivel de inclusión de la semilla, días de adaptación, tipo de diseño experimental (longitudinal o cruzado), la diferencia de la fibra detergente neutro, cantidad de forraje, los AG linoleico, linolénico y oleico entre la dieta testigo y la dieta con la inclusión de oleaginosa.

6.1.2 Procedimientos estadísticos

El meta-análisis fue realizado con el paquete “meta”, versión 4.13-0 en el programa estadístico computacional R, versión 4.0.2 (Core Team, 2020). El modelo de efectos aleatorios implementado en el presente trabajo asume que la diferencia observada entre estudios es una combinación de azar y variación genuina en los efectos de intervención, donde cada estudio es una comparación entre el grupo suplementado y el grupo testigo. El modelo del efecto aleatorio utilizado fue la aproximación propuesta por DerSimonian y Laird (2015).

Para mostrar el efecto global observado entre tratamientos se utilizó la diferencia media estandarizada (SMD). La SMD fue calculada de acuerdo con el método propuesto por Hedges (1981). Así mismo, el intervalo de confianza al 95% (95% CI) fue calculado en cada uno de los estudios y el tamaño del efecto se asumió como una distribución estándar normal.

La diferencia media bruta (RMD) se calculó para las variables de respuesta que comparten las mismas escalas, lo que permite interpretar el efecto resumen en unidades de medida originales (Appuhamy et al., 2013) La heterogeneidad se evaluó mediante la estimación de la varianza (I^2) de efectos aleatorios entre estudios

y el porcentaje de variabilidad explicada por la heterogeneidad (I^2) en lugar de la varianza simple (Higgins et al., 2003). Los valores mayores a 35 % para I^2 de los modelos de efectos aleatorios se consideraron indicativos de heterogeneidad entre estudios. El modelo de efectos aleatorios no explica la heterogeneidad, sólo la incorpora al modelo para ser explorada y reducida mediante estudios de subgrupos y meta-regresión (Serghiou y Goodman, 2019).

Para explicar la heterogeneidad, se realizó una meta-regresión a todas las variables de respuesta para encontrar el mejor modelo que explique la variabilidad entre estudios de las estimaciones del tamaño del efecto. En la meta-regresión, la variable x representa las características de los estudios (tipo racial, etapa de lactación, tipo de semilla, presentación de la oleaginosa, nivel de inclusión, período de adaptación y diseño experimental).

El primer paso del análisis de meta-regresión consistió en incorporar todas las variables explicativas en un modelo completo; en segundo lugar, los modelos de regresión múltiple se redujeron manualmente mediante selección regresiva de variables hasta que todos los predictores fueron significativos ($P < 0.05$). Los modelos de regresión de efectos mixtos (análisis de meta-regresión) se construyeron en el paquete "metafor" (Viechtbauer, 2010). Los modelos se compararon y seleccionaron mediante criterios teóricos de la información utilizando el Criterio de Información de Akaike y el Criterio de Información Bayesiano.

6.2 Inclusión de linaza molida en la dieta de vacas Holstein

Todos los procedimientos se realizaron en conformidad con las regulaciones de bienestar animal y manejo de animales experimentales descritas en la NOM-062-ZOO-1999, NOM-051-ZOO-1995.

6.2.1 Área de estudio

El trabajo experimental y recolección de muestras se realizaron de agosto a octubre del 2022 en una unidad de producción lechera de tipo comercial, ubicada en

Cuautepec de Hinojosa, Hidalgo, México, en las coordenadas 20.032798, -98.309958 según el Google Maps®, la altitud aproximada es de 2200 m y una precipitación media anual de 812 ± 287 mm (CONAGUA, 2023).

6.2.2 Tamaño de muestra y animales, diseño experimental y tratamientos

El tamaño de muestra fue determinado mediante el programa G-Power de la Universidad de Düsseldorf, los datos que se incluyeron fueron: 10 mediciones, 2 tratamientos, 0.05 como valor de α , con un tamaño de efecto de 1.28 para el CLA del estudio de Plata-Pérez et al. (2022) en el cual mostraron el meta-análisis del efecto de las semillas de oleaginosas en vacas lecheras en estabulación. Los resultados indicaron que con 12 animales se tiene una potencia cercana al 0.90 como se muestra en la Figura 14.

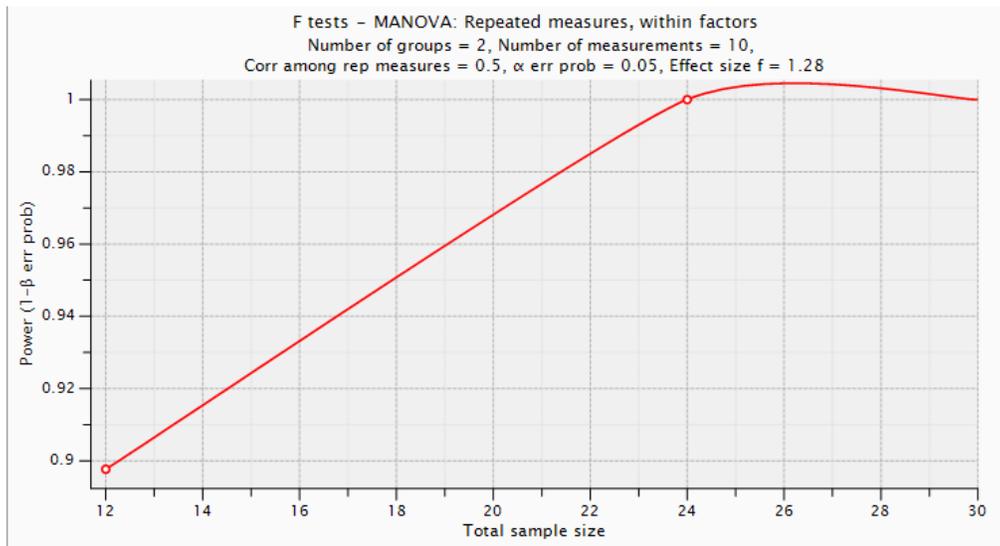


Figura 14. Representación gráfica del tamaño de muestra

6.2.3 Características de los animales, tratamientos y diseño experimental

Se utilizaron 12 vacas Holstein en estabulación, primíparas, en el segundo tercio de lactación, con una producción promedio de leche de 30.6 litros al día. Las vacas fueron asignadas de manera aleatoria en uno de los tratamientos: 1) Testigo = dieta completa mezclada; 2) Linz = dieta completa mezclada con la inclusión de 3 % sobre

la materia seca de semilla molida de linaza. El Cuadro 2 muestra los ingredientes utilizados en las dietas experimentales y análisis químico proximal calculado.

Cuadro 2. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales

Ítem	Dietas experimentales*	
	Testigo	Linz
Ingredientes, g/kg de MS		
Alfalfa verde	10.97	10.76
Alfalfa henificada	4.27	4.19
Ensilado de maíz	11.00	10.79
Avena	7.36	7.22
Salvado	7.31	7.17
Maíz rolado	37.89	37.17
Pasta de soya	14.06	12.68
Linaza	0.00	3.02
Minerales	2.51	2.46
Melaza	2.33	2.28
Grasa protegida	1.79	1.76
Buffer	0.31	0.31
Glucogen ®	0.08	0.08
Vitaminas y aminoácidos	0.06	0.06
Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	0.06	0.06
Análisis químico proximal calculado		
Proteína cruda, %	17.25	17.24
Energía digestible, Mcal/kg de MS	3.48	3.48

* Dietas experimentales: Testigo = dieta completa mezclada; Linz = dieta completa mezclada con la inclusión de 3 % sobre la materia seca de semilla molida de linaza.

El balanceo de dietas completas mezcladas se realizó con el programa Dairy NRC versión 1.1.10 (<https://nutritionmodels.com>) con 17.25 % de proteína cruda y 3.48 Mcal de energía digestible por kg de materia seca.

6.2.4 Diseño experimental y desarrollo del ensayo

El diseño experimental fue completamente al azar con mediciones repetidas. Los efectos fijos por evaluar fueron las dietas experimentales (Testigo y Linz), los días de medición (-5d, 0d, 5d, 10d, 15d, 20d, 25d, 30d, 35d y 40d) y su interacción, y el factor aleatorio fue la vaca.

En los comederos se proporcionó 5% más del consumo máximo calculado para vacas con estas características, dividido en dos ocasiones al día. El consumo de TMR se midió por diferencia entre oferta y rechazo. En todo momento se tuvo disponibilidad de agua de bebida.

En cada medición, se recolectaron dos muestras de TMR en la mañana y fueron secadas a 55°C por 48 horas, se molieron y tamizaron con malla de 2 mm y se conservaron en bolsas de nylon; también se registró la producción de leche de ambos ordeños para obtener una alícuota de 50 ml por vaca y día, se midió el contenido de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos con el analizador de leche (LAC-SSPA50®, Germany).

6.2.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de rendimiento productivo y la composición química de la leche se analizaron con el procedimiento MIXED de SAS (2002), utilizando el modelo mixto siguiente: $Y_{ijk} = \mu + T_i + D_j + (T*D)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$, donde la variable respuesta (Y_{ijk}) depende de la suma de la media general (μ), del tratamiento (T_i), del día de muestreo (D_j), de la interacción ($(T*D)_{ij}$) y del error residual (ε_{ijk}). Se consideró una significancia <0.05 , en donde hubo diferencia se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias.

VII. Resultados

7.1 Meta-análisis y meta-regresión

En la revisión analítica, la estrategia de búsqueda resultó en 581 artículos. Algunos estudios fueron excluidos por las siguientes razones: no eran considerados artículos científicos o estaban duplicados, el idioma no era en inglés, su publicación fue antes de 1999, en los ensayos hubo combinación de dos o más semillas de oleaginosas, no reportaron información sobre el nivel de inclusión en la dieta, no reportan los isómeros específicos de AG, no incluyen un grupo control en el diseño experimental, no reportan alguna medida de variabilidad de los resultados, son una revisión o un meta-análisis. Después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se analizaron 78 ensayos de 33 artículos publicados entre 1999 y 2020. La linaza es la semilla más utilizada en las raciones (57 %), seguido de la soya (17 %) y canola (13 %). El rango de inclusión de las semillas de oleaginosas en la dieta es de 2.08 hasta 17.7 %. Las vacas Holstein fueron el tipo racial más estudiado (92 %).

7.1.1. Rendimiento y composición química de la leche

La inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta de vacas en producción reduce en contenido de grasa (SMD = -0.21; $p = 0.002$) con una diferencia media bruta (RMD) de 0.11 g/100 g. Así mismo, se observó una reducción del contenido de proteína de la leche de 0.04 g/100g (SMD = -0.20; $p = 0.003$). No hubo diferencia entre el rendimiento lechero y el contenido de lactosa en la leche de vacas en producción ($p > 0.05$).

7.1.2. Perfil de ácidos grasos

Se incrementaron los AG oleico y linolénico en un 3.44 y 0.28 g/100 g de AG ($p = 0.0001$, $p < 0.05$ respectivamente) con la inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta de vacas. También se aumentó 1.03 g/100 g AG ($p = 0.0001$) el vaccénico, 0.27 g/100 g AG ($p = 0.0001$) el CLA y 0.09 g/100 g AG ($p = 0.007$) el linoleico. En

cuanto a la insaturación, los AGS se redujeron en un 26.5% y los AGI se aumentaron en 8.32 g/100 g AG ($p = 0.0001$); específicamente, los AGPI omega 3 se incrementaron en 0.46 g/100 g AG ($p = 0.0001$). Por su parte, el índice de aterogenicidad se reduce en 1.01 unidad ($p = 0.0001$).

7.1.3. Meta-regresión

La finalidad de este procedimiento estadístico fue explicar la heterogeneidad de las variables respuesta ($R^2 > 35\%$), para ello se exploraron once variables explicativas, las cuales son: 1) línea genética, 2) tercio de lactación, 3) tipo de semilla, 4) método de procesamiento de la semilla, 5) nivel de inclusión, 6) días de adaptación, 7) diseño experimental, 8) diferencia entre la FDN entre dietas, 9) diferencia entre la cantidad de forraje entre dietas, 10) diferencia entre el contenido del AG linoleico entre dietas y 11) diferencia entre el contenido del AG linolénico entre dietas.

El contenido de grasa y de los AGPI omega 3 en la leche esta positivamente vinculado con el tipo racial Jersey. La inclusión de semillas durante el primer tercio de lactación promueve un incremento del contenido de proteína ($\beta = 1.57$; $p < 0.01$) y el AG linoleico ($\beta = 0.49$; $p < 0.05$) en la leche, pero correlaciona negativamente el AG linolénico ($\beta = -2.4$; $p < 0.05$), el AGI ($\beta = -7.31$; $p < 0.001$) y el índice de aterogenicidad ($\beta = -0.89$; $p < 0.05$)

En lo que concierne al tipo de semilla, la inclusión de soya incrementa el oleico ($\beta = 3.54$; $p < 0.05$), el CLA ($\beta = 1.65$; $p < 0.05$) y los AGPI omega 6 ($\beta = 0.67$; $p < 0.01$). Alimentar con girasol reduce en contenido de grasa ($\beta = -0.46$; $p < 0.05$) pero incrementa el oleico ($\beta = 4.92$; $p < 0.01$) y el CLA ($\beta = 1.96$; $p < 0.05$). La leche de vacas suplementadas con canola tuvo un aumento de oleico ($\beta = 6.71$; $p < 0.05$) de AGI ($\beta = 12.25$; $p < 0.05$) y de AGPI omega 3 ($\beta = 1.35$; $p < 0.05$).

En cuanto al procesamiento de la semilla, se observó una relación positiva entre la semilla molida y en contenido de los AG linoleico ($\beta = 0.43$; $p < 0.05$) y oleico ($\beta = 2.63$; $p < 0.05$). Utilizar semilla completa en la ración de vacas incrementa la grasa

en la leche ($\beta = 0.21$; $p < 0.05$), el AG oleico ($\beta = 2.61$; $p < 0.05$) los AGS ($\beta = 4.25$; $p < 0.001$) y el índice de aterogenicidad ($\beta = 1.23$; $p < 0.001$) pero reduce el rendimiento de leche ($\beta = -0.28$; $p < 0.05$) el CLA ($\beta = -0.18$; $p < 0.05$) y los AGI ($\beta = -10.98$; $p < 0.05$). Finalmente, hubo respuesta positiva con el uso de semillas tostadas en los AG linolénico ($\beta = 4.16$; $p < 0.005$) y oleico ($\beta = 4.41$; $p < 0.05$), los AGPI omega 6 ($\beta = 0.49$; $p < 0.05$) y el índice de aterogenicidad ($\beta = 1.81$; $p < 0.001$).

Incrementar la diferencia de la inclusión de forraje en la dieta de vacas en producción (dieta de grupo suplementado menos dieta de grupo testigo) reduce el contenido de CLA ($\beta = -0.09$; $p < 0.05$) y AGPI omega 6 ($\beta = -0.11$; $p < 0.05$). Así mismo, incrementar la diferencia de FDN aumenta el contenido de AGI ($\beta = 0.19$; $p < 0.001$).

La meta-regresión muestra que un diseño experimental longitudinal está altamente relacionado con los altos valores de CLA ($\beta = 1.45$; $p < 0.001$) y los AGS ($\beta = 4.85$; $p < 0.001$).

7.2 Efecto de la inclusión de linaza molida en la dieta de vacas Holstein

7.2.1. Efecto debido al tratamiento

La inclusión de linaza molida en la dieta de vacas en producción no afectó ($p > 0.05$) el rendimiento productivo, se tuvo 28.4 y 28.8 litros por día en los tratamientos testigo y linaza, respectivamente. También se tuvieron valores similares ($p > 0.05$) en los contenidos de grasa (3.5 vs 3.5 %), proteína (3.2 vs 3.3 %), lactosa (4.9 vs 4.9 %) y sólidos no grasos (8.9 vs 9.0 %) de la leche de vacas alimentadas sin y con linaza.

Cuadro 3. Efecto de la inclusión de semilla molida de linaza sobre el rendimiento productivo y la composición química de la leche de vacas Holstein en estabulación

Item	Tratamiento*		EEM	p<
	Testigo	Linz		
Rendimiento de leche, kg/día	28.4	28.8	0.7321	0.6620
Grasa, %	3.5	3.5	0.1659	0.9231
Proteína, %	3.2	3.3	0.0363	0.3601
Lactosa, %	4.9	4.9	0.0509	0.3476
Sólidos no grasos, %	8.9	9.0	0.0954	0.3616

* Tratamientos: Testigo = dieta completa mezclada; Linz = dieta completa mezclada con la inclusión de 3 % sobre la materia seca de semilla molida de linaza. EEM = error estándar de la media. Valores promedios con literal distinta en la misma fila es diferente ($p < 0.05$)

7.2.2. Efecto del día de muestreo

El día de muestreo no tuvo efecto ($p > 0.05$) sobre el rendimiento de leche ni el contenido de grasa láctea. Sin embargo, si tuvo efecto ($p < 0.05$) en la proteína, la lactosa y los sólidos no grasos, conforme se incrementaron los días en lactación se redujo ligeramente la concentración de estos componentes en la leche.

Cuadro 4. Efecto del día de muestreo sobre el rendimiento productivo y la composición química de la leche de vacas Holstein en estabulación

Día de muestreo	Rendimiento de leche (kg/día)	Grasa (%)	Proteína (%)	Lactosa (%)	Sólidos no grasos (%)
-5	28.876	3.5	3.2 ^b	4.8 ^b	8.85 ^b
0	29.002	3.6	3.2 ^b	4.9 ^b	8.91 ^b
5	28.629	3.5	3.2 ^b	4.9 ^b	8.95 ^b
10	27.470	3.5	3.2 ^b	4.8 ^b	8.88 ^b
15	29.375	3.5	3.2 ^b	4.9 ^{ab}	8.93 ^b
20	28.327	3.5	3.3 ^{ab}	4.9 ^{ab}	9.03 ^{ab}
25	28.101	3.5	3.3 ^a	4.9 ^{ab}	9.05 ^{ab}
30	28.744	3.5	3.3 ^a	4.9 ^a	9.04 ^{ab}
35	28.892	3.5	3.3 ^a	5.0 ^a	9.09 ^a
40	28.747	3.6	3.3 ^a	5.0 ^a	9.17 ^a
EEM	0.709	0.132	0.028	0.041	0.075
p <	0.3115	0.9079	0.0001	0.0007	0.0001

EEM = error estándar de la media. Valores promedios con literal distinta en la misma columna es diferente ($p < 0.05$)

7.2.3. Efecto de la interacción entre la inclusión de linaza y el día de muestreo

No hubo diferencia ($p > 0.05$) en ninguna de las variables estudiadas como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Efecto de la inclusión de linaza y el día de muestreo sobre el rendimiento productivo y la composición química de la leche de vacas Holstein en estabulación

Día de muestreo	Tratamiento	Rendimiento de leche (kg/día)	Grasa (%)	Proteína (%)	Lactosa (%)	Sólidos no grasos (%)
-5	Testigo	28.586	3.6	3.2	4.8	8.8
	Linz	29.166	3.4	3.2	4.8	8.8
0	Testigo	28.921	3.6	3.2	4.8	8.8
	Linz	29.083	3.6	3.2	4.9	8.9
5	Testigo	27.341	3.5	3.3	4.9	8.9
	Linz	29.916	3.5	3.2	4.9	8.9
10	Testigo	26.607	3.4	3.2	4.8	8.7
	Linz	28.333	3.6	3.2	4.9	8.9
15	Testigo	28.668	3.6	3.2	4.9	8.9
	Linz	30.083	3.5	3.2	4.9	8.9
20	Testigo	28.570	3.5	3.2	4.9	8.9
	Linz	29.083	3.4	3.3	5.0	9.1
25	Testigo	27.805	3.6	3.2	4.9	8.9
	Linz	28.416	3.4	3.3	4.9	9.1
30	Testigo	28.823	3.5	3.2	4.9	9.0

	Linz	28.666	3.5	3.3	4.9	9.0
35	Testigo	29.827	3.5	3.2	4.9	8.9
	Linz	27.916	3.5	3.3	5.0	9.2
40	Testigo	29.245	3.5	3.3	4.9	9.0
	Linz	28.250	3.7	3.3	5.1	9.2
	EEM	1.014	0.191	0.041	0.060	0.109
	p <	0.3263	0.7376	0.1251	0.3103	0.0858

EEM = error estándar de la media. Valores promedios con literal distinta en la misma columna es diferente ($p < 0.05$)

VIII. Discusión

8.1. Meta-análisis y meta-regresión

El principal factor en la exclusión en el meta-análisis fue la ausencia de un grupo testigo resultando 33 artículos con 78 ensayos. Para este estudio, el genotipo Holstein fue el más utilizado (92 %) probablemente por considerarse la raza modelo en la producción de leche debido a las características propias del animal (NRC, 2001); se tuvo 51, 38 y 12% de ensayos en el primer, segundo y tercer tercio de lactación y tiene congruencia con el *crossover* como diseño experimental (59 %). La semilla de linaza predominó entre los ensayos (57%) seguido de soya (17%) y canola (13%); así mismo, el proceso mayormente utilizado en las oleaginosas fue extruido seguido de entero (40 y 35%). El rango de suplementación va desde 20.8 hasta 177.0 g/kg de materia seca, el cual depende principalmente de la disponibilidad del ingrediente en la zona de cada estudio.

8.1.1 Rendimiento y composición química de la leche

La inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta no afectó el rendimiento de leche debido al balance isoenergético entre las dietas mostrado en la gran mayoría de los ensayos, con ello no se comprometió el consumo de materia seca, principal factor en el comportamiento productivo de los rumiantes (Vargas-Bello-Pérez et al., 2020). Similarmente, Rabiee et al. (2012) no muestra una diferencia estadística con el uso de oleaginosas; sin embargo, si puede incrementar la producción láctea con el uso de otra fuente de lípidos, donde su variación es atribuida al consumo de materia seca y el contenido energético de la dieta.

La disminución del contenido de la grasa en leche es afectada por la reducción de la acción de enzimas fibrolíticas bacterianas precursores de la fermentación acética (Palmquist y Jenkins, 2017), la producción del Beta-hidroxibutirato y algunas enzimas lipogénicas necesarios para la síntesis *de novo* de AG de cadena corta y media en la glándula mamaria (Glasser et al., 2008; Ali-Mahdavi et al., 2019),

componentes principales en la grasa de la leche (Rabiee et al., 2012). Así mismo, a nivel ruminal, los AGI de las oleaginosas son tóxicos para algunos microorganismos (Ye et al., 2009) reduciendo las poblaciones microbianas y su actividad fermentativa (Leduc et al., 2017).

Las semillas de girasol, algodón y soya afectaron en gran medida la reducción de grasa en la leche y parece estar relacionado con la cantidad de AG linoleico (mayor a 50 g/100 g AG), aunque no es claro; sin embargo, este AG puede ser sustrato en la producción de isómeros trans que han sido relacionados con el síndrome de depresión de la grasa láctea (Bauman y Griinari, 2001). Las semillas de linaza y canola tuvieron un menor efecto en esta variable y puede estar relacionado con la proporción de sus AG principales que son saturados por vías alternas (Leduc et al., 2017) dando origen a una menor cantidad de isómeros intermediarios que inhiben la síntesis *de novo* de AG mayoritarios en la grasa de la leche.

La proteína en la leche se reduce por la disminución relativa de microorganismos ruminales (Leduc et al., 2017; Ali-Mahdavi et al., 2019) ocasionado por la presencia de AGI en el rumen (Ye et al., 2009). También, la sustitución de ingredientes energéticos en las dietas de rumiantes con carencia de almidón, como lípidos, afectan la síntesis de proteína microbiana (Palmquist y Jenkins, 2017), dando lugar a la disminución del aporte y absorción en el duodeno de aminoácidos requeridos para el contenido de proteína láctea (Petit et al., 2003).

La heterogeneidad en los resultados obtenidos para el comportamiento productivo se redujo con el modelo mixto (meta-regresión) comparado con el modelo aleatorio; probablemente se debió a que las variables moderadoras cubrieron gran parte de esa variación entre el grupo testigo y el grupo con adición de semillas, el cual debe ser considerado para diseños experimentales en estudios posteriores.

8.1.2 Perfil de ácidos grasos

El aumento del AG oleico en leche pudo deberse al aporte de los AG oleico, linoleico y linolénico de la dieta a través de las oleaginosas, donde el paso final en el rumen es la saturación a AG esteárico, pero en la glándula mamaria es desaturado por la enzima Δ^9 desaturasa en AG oleico (Rabiee et al., 2012), cabe recordar que la ruta de biohidrogenación ruminal del AG linolénico no involucra la síntesis directa del AG oleico (Wilde y Dawson, 1966) en este mismo sentido, el AG linolénico que logró escapar de la biohidrogenación en el rumen se reflejó en un aumento en su contenido en la leche (Bauman and Griinari, 2001). Similarmente, se observó un incremento de estos AG en leche con la suplementación de soya, canola, girasol y linaza en la dieta de vacas (Sterk et al., 2012). Por el contrario, Akraim et al. (2007) logró un alto consumo del AG linolénico en vacas lecheras a través de linaza, pero no se reflejó este AG en la leche.

El AG vaccénico es un intermediario de la biohidrogenación, el cual tiene una relación con la saturación incompleta de los AG linoleico y linolénico (Bauman y Griinari, 2001), AG mayoritarios de las oleaginosas mostradas en esta revisión. La teoría indica que la presencia de los AG linoleico y linolénico en el rumen favorece la aceleración del primer paso en la biohidrogenación (saturación del cis 12) y reduce el paso final de saturación hacia el AG esteárico (Khiaosa-ard et al., 2015), teniendo como resultado un mayor flujo del AG vaccénico hacia el tracto digestivo posterior y luego en la glándula mamaria para ser secretada en la leche. El AG vaccénico es sustrato en la síntesis *de novo* en la glándula mamaria por actividad de la enzima Δ^9 desaturasa para la producción de ácido linoleico conjugado (CLA) (Sun y Gibbs, 2012). Entonces, el incremento del AG vaccénico tiene una estrecha relación con el aumento del CLA en la leche con el uso de oleaginosas en la alimentación de vacas como se demuestra en esta revisión; sin embargo, el mayor efecto se observó en la semilla de girasol, soya y linaza, oleaginosas que contienen más de 57% de los AG linoleico y linolénico en conjunto. La ingesta por el humano

de AG vaccénico incrementa los niveles séricos de CLA (Turpeinen et al., 2002); ambos AG se han relacionado con la salud del hombre con la disminución de enfermedades crónicas (Nguyen et al., 2019), la ingesta de CLA y el AG vaccénico ha mostrado reducción de la enfermedad coronaria de corazón, baja incidencia de aterosclerosis (Wang et al., 2015), disminución del riesgo de hipertensión (Gholami et al., 2017), bajo riesgo de diabetes mellitus tipo II (Eussen et al., 2016) y disminución de la obesidad (Shahmirzadi et al., 2019); además el CLA se le han atribuido la reducción de cáncer inducido en animales de laboratorio (Ip et al., 1999), tiene gran potencial para mejorar los síntomas de menopausia, salud ósea, sarcopenia y obesidad sarcopénica (Kim et al., 2016).

Incluir oleaginosas en la dieta de vacas reduce el contenido de AGS en la leche e incrementa la concentración de AGI, posiblemente por la disminución de la producción de AGV en el rumen, específicamente el ácido acético, principal sustrato para síntesis *de novo* de AGS de cadena corta y media (Chilliard y Ferlay, 2004). También, los AGPI de cadena larga que escapan de la biohidrogenación y son absorbidos en el intestino permiten aumentar la proporción de AGI en la leche a expensas de una disminución de AGS (Vargas-Bello-Perez et al., 2020), esto puede estar condicionado por un efecto inhibitorio de las enzimas acetil-CoA carboxilasa y AG sintetasa a nivel de la glándula mamaria (Martínez et al., 2013).

La importancia de incrementar la proporción de AGPI en la leche radica en que el consumo de AGPI por el humano puede reducir la obesidad y mortalidad por problemas cardiovasculares hasta un 30% y disminuir la incidencia de diabetes hasta un 50% (Maki et al., 2018). Los AGPI omega 3 se demostró la reducción del 20% de la mortalidad en pacientes con problemas cardiacos (Livingstone et al., 2013). En nuestra revisión mostramos un incremento del 62% de los AGPI omega 3 en la leche de vaca con la inclusión de oleaginosas en su dieta. En este sentido, las semillas completas extruidas y molidas mostraron el mayor efecto, posiblemente por la mayor disponibilidad de estos AG que han escapado de la biohidrogenación

ruminal absorbiéndose en el intestino delgado y secretándose en leche; aunque, el pericarpio de estas semillas juega un rol importante en la protección de los AGI escapando también de la biohidrogenación (Leduc et al., 2017).

El índice de aterogenicidad propuesto por Ulbricht y Soutgate (1991) es la suma del contenido de AG hiper colesterolémicos entre la suma de los AG protectores. Un bajo índice de aterogenicidad refleja una leche con bajo contenido de AGS (Plata-Reyes et al., 2021) por tanto, el consumidor reduce el riesgo de la contribución de la grasa al desarrollo de ateromas (Chavarría et al., 2006). Esta revisión demuestra que la leche producida por vacas con la inclusión de oleaginosas en la dieta es más saludable comparada con el grupo control. Sin embargo, la composición de la leche y su perfil lipídico muestran una gran variabilidad entre estudios en respuesta a la suplementación con semillas de oleaginosas. Por tanto, considerar el papel de las covariables mediante un análisis de meta-regresión es un paso fundamental para de la estrategia de suplementación con semillas oleaginosas en vacas lecheras.

8.1.3 Meta-regresión

Nuestros resultados muestran que la vaca Jersey produce una leche con un mayor contenido de grasa comparada con la Holstein, característica típica de este tipo racial (Soyeurt et al., 2006). La grasa de la leche de la vaca Jersey tiene una elevada concentración de los AG láurico, mirístico, palmítico y esteárico como saturados y, el AG linoleico como insaturado respecto a la Holstein (Soyeurt et al., 2006). Carroll et al. (2006) no observaron diferencias entre los tipos raciales Jersey, Pardo Suizo y Holstein sobre el contenido de los AG linoleico y linolénico en leche. White et al. (2001) tampoco observaron diferencias entre Jersey y Holstein sobre AG de cadena larga en leche, incluido el AG linolénico.

La composición de la leche de vaca cambia con la etapa de lactación (Stoop et al., 2009). La meta-regresión muestra la variabilidad del efecto de la etapa de lactación sobre algunos componentes. La proteína en la leche es superior al inicio y al final

de la lactancia, posiblemente se deba a la cantidad de leche producida (Garnsworthy et al., 2006). En concordancia con nuestros resultados sobre el efecto negativo de AGI, especialmente el AG linolénico observado en el primer tercio de lactación, Karijord et al. (1982) citado por Stoop et al. (2009) muestran un menor contenido de AG C18 en leche hacia el tercer mes de la lactancia, por el contrario, ocurre una alta proporción de AG de cadena corta y media (C6:0 a C14:0) en ese tiempo, esto puede explicar el efecto negativo del índice de aterogenicidad en esta etapa de lactación.

El alto contenido de AG linoleico de la semilla de girasol (60.4% de AG) afecto el contenido de grasa en la leche. Suplementar con fuentes ricas en PUFA reduce la fermentación acética y butírica en el rumen y como consecuencia se disminuye la síntesis *de novo* en la glándula mamaria, también se provoca la inhibición de enzimas lipogénicas (Ueda et al., 2003). Por el contrario, adicionar girasol en las dietas de vacas tiene un efecto positivo en el contenido de AG oleico, posiblemente se deba a los AG que escapan de la biohidrogenación ruminal absorbiéndose en el intestino delgado para ser secretados en leche y/o por acción de la enzima Δ^9 desaturasa que tiene su acción en la glándula mamaria (Rabiee et al., 2012). Aunado a esta explicación, la inclusión de canola y soya tuvieron un efecto positivo sobre el contenido del AG oleico en leche, cabe señalar que estas semillas tienen una alta concentración de este AG (54.6 g y 22.9 g/100 g AG). También, Sterk et al. (2012) encontraron una relación positiva en el contenido del AG linoleico entre la dieta y la leche. Entonces, el tipo de oleaginosa utilizada en la dieta de vacas proveerá los sustratos para los diferentes contenidos de AG en la leche producida.

La inclusión de fuentes ricas en AGPI en la dieta de rumiantes ha mostrado incrementos de la concentración de AGPI omega 3 en carne (Palmquist y Jenkins, 2017) y leche (Abuelfatah et al., 2014). El tipo y la fuente de AGPI ingerido por el animal puede tener diferentes impactos sobre las poblaciones microbianas y la fermentación en rumen (Liu et al., 2012). Estos efectos de los AGPI pueden ser más

adversos con el uso de aceites vegetales en la dieta en comparación con las semillas (Palmquist y Jenkins, 2017). Estudios con aceite de girasol (Collomb et al., 2004) y aceite de soya (Vieyra-Alberto et al., 2017) en la dieta del ganado lechero reflejaron un incremento de la concentración del AG oleico en la leche, así como una reducción de los AGS de cadena corta y media (C10:0-C16:0). La disminución del AG vaccénico en la grasa de la leche cuando existe la suplementación con fuentes de los AG oleico, linoleico y linolénico en la dieta (AG mayoritarios en canola, soya y linaza), podría ser explicado por la baja síntesis del AG vaccénico en la biohidrogenación ruminal de AGPI; otra explicación es que el nivel de suplementación no fue suficiente para mostrar un efecto en éste AG y hubo una biohidrogenación completa de los AG oleico, linoleico y linolénico hasta el AG esteárico. El estudio demostró que los niveles más altos de respuesta a la suplementación con semillas oleaginosas se alcanzaron con inclusiones del 15% de materia seca de linaza y del 6 al 7% de materia seca de canola.

El proceso de molienda de las semillas expone a los AG a la biohidrogenación en el rumen, los mayormente afectados son los AGI y AGPI omega 3 (Leduc et al., 2017), los cuales tienen concordancia con este estudio; no obstante, algunos AG como el linoleico pueden escapar a esa biohidrogenación, llegando a la glándula mamaria (Bauman y Griinari, 2001). También, el AG oleico puede escapar de esta saturación de hidrógenos en el rumen y/o desaturar el AG esteárico en la glándula mamaria como se ha explicado con anterioridad. Valentim et al. (2017) mostró un incremento del 35.8% del AG linoleico cuando se adicionó 12% de semilla de soya molida en la dieta. Las oleaginosas sin procesar tienen un efecto negativo en la ingesta de materia seca afectado el rendimiento lechero (NRC, 2001) y como consecuencia el incremento ($\beta = 0.21$; $p < 0.05$) de la grasa de la leche. Las semillas no procesadas tienen un efecto negativo en los AGI y positivo en los AGS, esto puede deberse a una tasa de pasaje más lento y con ello, los microorganismos saturan los AGPI y a los AGMI contenidos en las oleaginosas (Palmquist and Jenkins, 2017).

El pericarpio de las semillas enteras que llegan al intestino delgado no permite la absorción de los AG contenidos (Leduc et al., 2017). En este sentido, el efecto positivo de los AGS y negativo de los AGI con esta estrategia de suplementación (semilla intacta) impacta en un mayor índice de aterogenicidad, el cual está relacionado con el mayor contenido de los AGS y por tanto una leche menos saludable (Plata-Reyes et al., 2021; Vieyra-Alberto et al., 2022). El tostado de las oleaginosas (enteras y molidas) tienen un mejor aprovechamiento por los rumiantes (Dhiman et al., 1997), pero en nuestra revisión solo se tuvo efecto positivo en los AGPI omega 6, el linoleico y el oleico, similar a los resultados reportados por (Rafiee-Yarandi et al., 2016) esto puede estar relacionado con los cambios en los componentes estructurales que aumentan en cierto grado el nivel de protección de los AG a la biohidrogenación ruminal (Glasser et al., 2008). Por el contrario, se afecta el total de AGI, especialmente los AGI omega 3, esto puede deberse a la mayor inestabilidad que tienen estos AG con el calor de la cocción. Esta afección de los AGPI omega 3 tuvo como consecuencia un mayor índice de aterogenicidad, indeseable en la leche de vaca; no obstante, se debe tomar en cuenta el tipo de semilla para tostar, por ejemplo, incluir semilla de soya tostada molida en la dieta de vacas tuvo como resultado mayor contenido de AGI y menor contenido de AGS, teniendo un índice de aterogenicidad más bajo, por tanto, una leche más saludable (Vieyra-Alberto et al., 2022).

El contenido de grasa de la leche y composición de AG es fuertemente afectado por el contenido de fibra del alimento y su habilidad para mantener la función ruminal (Loor et al., 2003; Bauman y Griinari, 2001), pero existe una diferencia de estos alcances según la calidad del forraje en la dieta. El mantenimiento de la función ruminal en condiciones óptimas por medio del consumo apropiado de forraje de alta calidad es una estrategia que puede ser usada para obtener altos niveles de AGPI en la leche.

En general, dietas con una baja relación F:C, y asociadas con un pH ruminal por debajo de 6.0, reduce la biohidrogenación de AGPI dando lugar a rutas alternativas y cambios en la producción de intermediarios de la biohidrogenación. De acuerdo con Palmquist y Jenkins (2017), la relación F:C tiene influencia en la respuesta a la suplementación de aceites. Ueda et al. (2003) observaron una importante interacción entre la alta proporción de forraje o alta de concentrado de la dieta y la suplementación de aceite de linaza sobre la digestión ruminal. En este sentido, la suplementación de aceites ricos en AGPI disminuyó la síntesis *de novo* en la glándula mamaria, lo cual podría ser debido a la reducida síntesis de acetato y butirato, o al cambio en la ruta de hidrogenación que generó AG que provocan la inhibición de enzimas lipogénicas (Ueda et al., 2003). Ciertamente, Castro et al. (2019) asumieron una reducida actividad lipogénica en la glándula mamaria por efecto de la adición de fuentes ricas de AGPI en la dieta con mezclas de forrajes conservados, reflejado en un menor contenido de grasa total en leche respecto al testigo, además, el contenido CLA en leche fue menor con la suplementación de C18:2 respecto a C18:3, procedente de la inclusión de aceite de soya y linaza en la dieta, respectivamente.

La síntesis endógena de CLA por la actividad de la enzima Δ^9 desaturasa en la glándula mamaria se correlaciona estrechamente con el contenido de vaccénico (Caroprese et al., 2010). Pero los cambios en las raciones, modificando la relación F:C o el aporte de aceites, causan cambios en la población microbiana, lo cual podría alterar la biohidrogenación ruminal de AGMI y AGPI promoviendo la formación de determinados isómeros, los cuales alteran la disponibilidad de vaccénico en la glándula mamaria (Bauman y Griinari., 2001).

En concordancia con nuestros resultados, el contenido de fibra detergente neutro (FND) de la dieta afecta la concentración de AGI en la leche, pero el grado de afectación va a depender de la forma de suplementación de fuentes ricas de ácidos grasos en la dieta (Sterk et al., 2012). El efecto del contenido de FND de la dieta

sobre el contenido de AGI en leche se potencializa cuando la fuente de AGI en la dieta está en forma de aceite libre, en contraste con la forma protegida (Sterk et al., 2012). Un bajo contenido de fibra en la dieta está relacionado con una menor biohidrogenación completa (Palmquist y Jenkins, 2005), lo cual explicaría la mayor proporción de AGI en la grasa de la leche.

El perfil de AG de la leche es producto de un conjunto de factores y de sus interacciones como la composición de la dieta, el consumo de alimento, el patrón de fermentación ruminal, el metabolismo de lípidos en el hígado, la movilización de grasa corporal, así como la absorción y síntesis de ácidos grasos en la glándula mamaria (Garnsworthy et al., 2006); además, de la formación de AG en el rumen por la biohidrogenación ruminal o degradación bacteriana (Stoop et al., 2009). Por lo tanto, se sugiere que estos factores deben considerarse a nivel de explotación y de industria en el diseño de estrategias de alimentación y en el de investigación para reducir el efecto del ruido, teniendo en cuenta el papel de estos factores como covariables cuando sea posible.

El crossover determinó la asignación de dos o más tratamientos a la misma unidad experimental, pero en periodos diferentes. En este sentido, no debe haber arrastre ni efecto duradero del tratamiento anterior. De ahí que la finalidad de los periodos de lavado sea eliminar el efecto del tratamiento anterior (Castro et al., 2019). Nuestros resultados revelaron efectos significativos del diseño experimental y de la duración de los periodos de lavado sobre algunos de los componentes de la leche, principalmente los asociados al perfil de ácidos grasos.

Los resultados de la meta-regresión mostraron que la respuesta a la suplementación con semillas oleaginosas disminuye a medida que aumenta el número de días de adaptación para los AG linoleico, oleico, vaccénico, CLA y AGI, lo que podría dilucidar un posible efecto acumulativo del tratamiento previo en el crossover cuando el período de adaptación es corto. Por lo tanto, para definir la duración de los periodos de adaptación hay que tener en cuenta la respuesta variable y la

naturaleza del tratamiento (Federer, 1986). En este sentido, los experimentos diseñados con crossover para evaluar el efecto de la inclusión de semillas oleaginosas en la composición de la leche deben considerar un período mínimo de lavado de 20 días para evitar el error de tipo I.

8.2 Efecto de la inclusión de linaza molida en la dieta de vacas Holstein

8.2.1. Efecto debido a la inclusión de linaza en la dieta

Las vacas de tipo racial Holstein son el modelo ideal para realizar pruebas de ensayos con estrategias de alimentación (NRC, 2001), es de destacar que las vacas incluidas en el experimento mantuvieron una producción superior al 28 kg al día, consideradas altas productoras (NASEM, 2021). El rendimiento lechero no se modificó con la inclusión de la semilla molida de linaza esto pudo deberse a que ambas dietas (con y sin linaza) mantuvieron la misma proporción de nutrientes (ejemplo: proteína cruda y energía digestible) y como consecuencia mantuvieron el consumo de materia seca (Vargas-Bello-Pérez et al., 2020). Nuestros resultados fueron acordes con Lerch et al. (2015); pero estos autores utilizaron 2.5% de semilla de linaza en la dieta. En los meta-análisis reportados de Rabiee et al. (2012) y Plata-Pérez et al. (2022) también mostraron similares rendimientos de leche entre el grupo testigo y el grupo con la inclusión de alguna oleaginosa.

Los contenidos de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos no fueron afectados, probablemente por la baja inclusión de la linaza molida en la dieta (3% sobre la materia seca). Entonces, con este nivel de inclusión, se tiene la teoría que no hubo modificación en la fermentación ruminal, específicamente acética, principal precursor de la grasa de la leche (Palmquist y Jenkins, 2017) ni toxicidad de algunos microorganismos susceptibles a los AGPI, precursores de la proteína microbiana (Ye et al., 2009) los cuales disminuyen el aporte y absorción en el duodeno de aminoácidos requeridos para el contenido de proteína láctea (Petit et al., 2003). Así mismo, existe la teoría que el síndrome de depresión de la grasa láctea está altamente relacionado con los AG con isomería trans (Bauman y Griinari, 2001). Los

resultados están dentro del rango establecido en el manual de leche cruda (Liconsa, 2007). Puppel et al. (2013) incluyeron 2% de linaza en la dieta de vacas en estabulación y tampoco tuvieron diferencia entre estas variables; sin embargo, estas vacas de dicho ensayo produjeron menos cantidad de leche. En ese mismo sentido, Livingstone et al. (2015) muestran que con la inclusión del 5% de semilla de linaza extruida en la dieta de vacas en producción, los contenidos de grasa, proteína y lactosa no se modificaron ($P>0.05$). En la meta-regresión de Plata-Pérez et al. (2022) concluye que el nivel de suplementación de una semilla influye directamente sobre el rendimiento y composición química de la leche.

8.2.2. Efecto debido al día de muestreo

La producción de leche y el contenido de grasa se mantuvo durante todo el periodo experimental, probablemente por la alimentación estable en la unidad de producción. Sin embargo, se observó una ligera disminución de los contenidos de proteína, lactosa y sólidos no grasos, la explicación no es clara, porque la teoría indica que existe una correlación negativa entre el incremento del contenido de sólidos en la leche y la disminución de la producción de leche, reportado también en otros estudios longitudinales (Vieyra-Alberto et al., 2022), lo que no sucedió en nuestro ensayo; probablemente este efecto inverso se debió al nivel de producción de leche, superior a los 28 kg al día, donde la alimentación es el punto clave para la producción y rendimiento de componentes mayoritarios (NRC, 2001)

IX. Conclusiones

- La inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta de vacas en producción puede tener efectos negativos en el contenido de grasa y proteína de la leche principalmente asociados con el nivel de suplementación.
- Suplementar con semillas de oleaginosas en la ración de vacas tiene efectos positivos sobre componentes para benéficos en la salud humana como son los ácidos grasos poliinsaturados de la serie omega 3, el ácido linoleico conjugado y los ácidos grasos vaccénico, oleico y linolénico.
- La mayor magnitud del tamaño del efecto derivado de la suplementación con semillas de oleaginosas en vacas sobre los componentes de la leche se alcanzó con una suplementación de 15% de semillas de linaza y 6-7% de semillas de canola en base seca.
- Factores intrínsecos como el tipo racial y el tercio de lactación tienen gran influencia sobre los componentes y perfil lipídico de la leche de vacas suplementadas con semillas de oleaginosas.
- Los experimentos diseñados con *crossover* para evaluar el efecto de la inclusión de semillas oleaginosas en la composición de la leche deben considerar un período mínimo de lavado de 20 días para evitar el error de tipo I y efecto de “arrastre”.
- Basados en los resultados del ensayo In vivo, el uso de 3% de semilla de linaza molida puede ser una opción viable como ingrediente en la dieta de vacas altas productoras ya que no afectan el rendimiento productivo ni la concentración de componentes mayoritarios en la leche.

X. Referencias bibliográficas

- Abuelfatah, K., Zakaria, M.Z.A.B.; Meng, G.Y., Sazili, A.Q. Changes in fatty acid composition and distribution of N-3 fatty acids in goat tissues fed different levels of whole linseed. *Sci World J*, 2014.
- Akram, F., Nicot, M.C., Juaneda, P., Enjalbert, F. (2007). Conjugated linolenic acid (CLnA), conjugated linoleic acid (CLA) and other biohydrogenation intermediates in plasma and milk fat of cows fed raw or extruded linseed. *Animal*, 1(6), 835-843.
- Ali-Mahdavi., Ata-Mahdavi., Babak-Darabighane., Andrew-Mead., Lee, R.F.M., (2019). Effects of soybean oil supplement to diets of lactating dairy cows, on productive performance, and milk fat acids profile: a meta-analysis. *Italian Journal of Animal Science*, 18(1):809-819.
- Al-Sulaiti, H., Diboun, I., Banu, S., Al-Emadi, M., Amani, P., Harvey, T. M., ... & Elrayess, M. A. (2018). Triglyceride profiling in adipose tissues from obese insulin sensitive, insulin resistant and type 2 diabetes mellitus individuals. *Journal of translational medicine*, 16(1), 1-13.
- Angeles-Hernandez, J.C., Vieyra-Alberto, R., Kebreab, E., Appuhamy, J.A.R.N., Dougherty, H.C., Castelan-Ortega, O., Gonzalez-Ronquillo, M. (2020). Effect of forage to concentrate ratio and fat supplementation on milk composition in dairy sheep: A meta-analysis. *Livestock Science*, 238, 104069.
- Appuhamy, J.R.N., Strathe, A.B., Jayasundara, S., Wagner-Riddle, C., Dijkstra, J., France, J.; Kebreab, E. (2013) Anti-methanogenic effects of monensin in dairy and beef cattle: A meta-analysis. *Journal Dairy Science*, 96(8), 5161-5173.

- Bauman, D. E., Baumgard, L. H., Corl, B. A. y Griinari, J. M. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. *Proceedings of the American Society of Animal Science*, 1-15.
- Bauman, D. E., Harvatine, K. J., y Lock, A. L. (2011). Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual review of nutrition*, (31), 299-319.
- Bauman, D. E., y Lock, A. L. (2006). Conjugated linoleic acid: biosynthesis and nutritional significance. In *Advanced Dairy Chemistry*, (2), 93-136.
- Bauman, D., y Griinari, J (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest. Prod. Sci.* 70:15-29.
- Belury, M. A. (2002). Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annual review of nutrition*, 22(1), 505-531.
- Bolaños Díaz, R., & Calderón Cahua, M. (2014). Introducción al meta-análisis tradicional. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 34(1), 45-51.
- Buccioni, A., Decandia, M., Minieri, S., Molle, G. y Cabiddu, A. (2012). Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology*. 174: 1-25.
- Caroprese, M.; Marzano, A.; Marino, R.; Gliatta, G.; Muschio, A.; Sevi, A. (2010). Flaxseed supplementation improves fatty acid profile of cow milk. *Journal Dairy Science*, 93, 2580–2588.
- Carroll, S.M.; DePeters, E.J.; Taylor, S.J.; Rosenberg, H.; Pere-Monti, H.; Capps, V.A. (2006) Milk composition of Holstein, Jersey, and Brown Swiss cows in response to increasing levels of dietary fat. *Anim. Feed Sci. Technol*, 131: 451-473.

- Castro, T.; Martinez, D.; Isabel, B.; Cabezas, A.; Jimeno, V. (2019). Vegetable oils rich in polyunsaturated fatty acids supplementation of dairy cows' diets: Effects on productive and reproductive performance. *Animals*, 9(5), 205.
- Chavarría, S. J., Herrera, R. C y Lutz, G. (2006). caracterización y determinación del potencial aterogénico de quesos producidos en costa rica. *Ciencia y Tecnología*, 24(1): 31-50.
- Chilliard, Y., Glasser, F., Ferlay, A., Bernard, L., Rouel, J., Doreau, M. (2007). Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109 (8), 828-855.
- Chilliard, Y., Ferlay, A. (2004). Dietary lipids and forages interactions on cow and goat milk fatty acid composition and sensory properties. *Reprod Nutr Dev*, 44(5), 467-492.
- Chouinard, P. Y., Girard, V., y Brisson, G. J. (1998). Fatty acid profile and physical properties of milk fat from cows fed calcium salts of fatty acids with varying unsaturation. *J. Dairy Sci.* 81:471–481.
- Collomb, M., Sieber, R., & Bütikofer, U. (2004). CLA isomers in milk fat from cows fed diets with high levels of unsaturated fatty acids. *Lipids*, 39(4), 355-364.
- Corl, B. A., Baumgard, L. H., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Phillips, B. S., Bauman, D. E. (2001). The role of $\Delta 9$ -desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 12 (11), 622-630.
- DerSimonian, R.; Laird, N. (2025). Meta-analysis in clinical trials revisited. *Contemp Clin Trials*, 45, 139-145.
- Dewanckele, L., Toral, P.G., Vlaeminck, B., Fievez, V. (2020). Invited review: Role of rumen biohydrogenation intermediates and rumen microbes in diet-induced milk fat depression: An update. *Journal Dairy Science*. 103(9):7655–7681.

- Dhiman T R., Korevaar, A. C., Satter, Y. L. D. (1997). Particle Size of Roasted Soybeans and the Effect on Milk Production of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*.80(8).
- Dettori JR, Norvell DC, Chapman JR. (2022). Fixed-Effect vs Random-Effects Models for Meta-Analysis: 3 Points to Consider. *Global Spine J*. Sep;12(7):1624-1626. doi: 10.1177/21925682221110527. Epub 2022 Jun 20. PMID: 35723546; PMCID: PMC9393987
- Eussen, S.J.P.M., van Dongen, M.C.J.M., Wijckmans, N., den Biggelaar, L., Oude Elferink, S.J.W.H., Singh-Povel, C.M., Schram, M.T., Sep, S.J.S., van der Kallen, C.J., Koster, A. (2016). Consumption of dairy foods in relation to impaired glucose metabolism and type 2 diabetes mellitus: The Maastricht study. *Br. Journal Nutrition*. 115, 1453–1461.
- Federer, W.T. (1986). On Planning Repeated Measure Experiments. Cornell University, pp. 1-7.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Springer. Germany.
- Garnsworthy, P.C.; Masson, L.L.; Lock, A.L.; Mottram, T.T. (2006) Variation of milk citrate with stage of lactation and de novo fatty acid synthesis in dairy cows. *J Dairy Sci*, 89(5), 1604-1612.
- Gholami, F., Khoramdad, M., Esmailnasab, N., Moradi, G., Nouri, B., Safiri, S., Alimohamadi, (2017). The effect of dairy consumption on the prevention of cardiovascular diseases: A meta-analysis of prospective studies. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*. 9, 1–11.
- Glasser, F.; Ferlay, A.; Chilliard, Y. (2008). Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. *J Dairy Sci*, 91(12), 4687-4703.

- Griinari, J. M., y Bauman, D. E. (1999). Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. *Advances in conjugated linoleic acid research*, 1(1), 180-200.
- Haro A.M., Artacho R., Cabrera-Vique C. (2006). Ácido linoleico conjugado: interés actual en la nutrición humana. *Med. Clin (Barc)*., 127(13): 508-515.
- Hartigh, L. J. (2019). Conjugated linoleic acid effects on cancer, obesity, and atherosclerosis: A review of pre-clinical and human trials with current perspectives. *Nutrients*, 11(2), 370.
- Harvatine, K.J., Boisclair, Y.R., Bauman, D.E. (2009). Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*. Jan;3(1):40-54.
- Hedges, L.V. (1981). Distribution theory for Glass's estimator of effect size and related estimators. *J Educ Behav Stat*, 6(2), 107-128.
- Higgins, J.P.; Thompson, S.G.; Deeks, J.J.; Altman, D.G. (2003). Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*, 327(7414), 557-560.
- Ip, C.; Banni, S.; Angioni, E.; Carta, G.; McGinley, J.; Thompson, H.J.; Barbano, D.; Bauman, D. (1999). Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J Nutr*, 129(12), 2135-2142.
- IUPAC. (2012). Compendium of Chemical Terminology, (2), 554.
- Jenkins, C.T., Harvatine, J.K., (2014). Lipid Feeding and Milk Fat Depression, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 30(3): 623-642.
- Jenkins, T. C. (1993). Lipid metabolism in the rumen. In Symposium of Advances in Ruminant Lipid Metabolism. *Journal of Dairy Science*. 76:3851-3863
- Kay, J.K., Weber, W. J, Moore, C. E., Bauman, D. E., Hansen, L. B., Chester-Jones, H., Crooker, B, A. y Baumgard, L. H. (2005). Effects of week of lactation and

- genetic selection for milk yield on milk fatty acid composition in holstein cows. *Journal of Animal Science*. 88:3886-3893.
- Kelly M.L., Kolver E.S., Bauman D.E., Van Amburgh M.E., Muller L.D. (1998). Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 81: 1630-1636
- Khanal, R. C. (2004). Potential health benefits of conjugated linoleic acid (CLA): A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(9), 1315-1328.
- Khiaosa-ard, R.; Kreuzer, M.; Leiber, F. (2015). Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: a meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. *J Dairy Sci*, 98(9), 6399-6414.
- Kim, J.H.; Kim, Y.; Kim, Y.J.; Park, Y. (2016). Conjugated linoleic acid: potential health benefits as a functional food ingredient. *Annu Rev Food Sci Technol*, 7, 221-244.
- Koba, K., & Yanagita, T. (2014). Health benefits of conjugated linoleic acid (CLA). *Obesity research & clinical practice*, 8(6), e525-e532.
- Lashkari, S., Moller, J. W., Theil, P. K., Weisbjerg, M. R., Jensen, S. K., Sørensen, M. T., Sejrsen, K. (2020). Regulation of mammary lipogenic genes in dairy cows fed crushed sunflower seeds. *Livestock Science*, 239 104035.
- Lean, I. J., Rabiee, A. R., Duffield, T. F., & Dohoo, I. R. (2009). Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: Methods and applications. *Journal of dairy science*, 92(8), 3545-3565.
- Leduc, M., Létourneau-Montminy, M.P., Gervais, R., Chouinard, P.Y. (2017). Effect of dietary flax seed and oil on milk yield, gross composition, and fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis and meta-regression. *J Dairy Sci*, 100(11), 8906-8927.

- Lee, K. y Cho, W. (2017). The consumption of dairy products is associated with reduced risks of obesity and metabolic syndrome in Korean women but not in men. *Nutrients*. 9, 630.
- Liu, S.J., Bu, D.P., Wang, J.Q., Liu, L., Liang, S., Wei, H.Y., Zhou, L.Y., Li, D., Looor, J.J. (2012) Effect of incremental levels of fish oil supplementation on specific bacterial populations in bovine ruminal fluid. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 96(1), 9-16.
- Livingstone, K. M., Lovegrove, J. A., Cockcroft, J. R., Elwood, P. C., Pickering, J. E., Givens, D. I. (2013). Does dairy food intake predict arterial stiffness and blood pressure in men? Evidence from the caerphilly prospective study. *Hypertension*. 61, 42–47.
- Lock, A. L. y Bauman, D. E. (2004). Modifying milk fat composition of dairy cows to enhance fatty acids beneficial to human health. *Lipids*, 39(12), 1197–1206
- Loor, J. J. y Herbein J. H. (2003). Dietary canola or soybean oil with two levels of conjugated linoleic acids (CLA) alter profiles of 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat from dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 103: 63-83.
- Mahdavi, A., Mahdavi, A., Darabighane, B., Mead, A., Lee, M. R. (2019). Effects of soybean oil supplement to diets of lactating dairy cows, on productive performance, and milk fat acids profile: a meta-analysis. *Italian Journal of Animal Science*, 18 (1), 809-819.
- Maki, C.K., Eren, F., Cassens, E.M., Dicklin, R.M. y Davidson, H.M. (2018). ω -6 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiometabolic Health: Current Evidence, Controversies, and Research Gaps, *Advances in Nutrition*. 9(6): 688–700.
- Martínez Marín, A. L., Pérez Hernández, M., Pérez Alba, L. M., Carrión Pardo, D., Gómez Castro, G., & Garzón Sígler, A. I. (2013). Efecto de los aceites y

semillas en dietas para rumiantes sobre el perfil de ácidos grasos de la leche. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 4(3), 319-338.

Miranda, J., Arias, N., Fernández-Quíntela, A., & del Puy Portillo, M. (2014). ¿Son los isómeros del ácido linolénico conjugado una alternativa a isómeros del ácido linoleico conjugado en la prevención de la obesidad? *Endocrinología y Nutrición*, 61(4), 209-219.

Morales-Almaráz, E., Soldado, A., González, A., Martínez-Fernández, A., Domínguez-Vara, I. A., Rosa-Delgado, B. y Vicente, F. (2010). Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *Journal of Dairy Research*. 77: 225-230.

Murray R., V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Weil, P. A. (2016). *Bioquímica Ilustrada de Harper*. McGraw Hill Brasil.

Nguyen, Q.V.; Malau-Aduli, B.S.; Cavalieri, J.; Nichols, P.D.; Malau-Aduli, A.E. (2019). Enhancing omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid content of dairy-derived foods for human consumption. *Nutrients*, 11(4), 743.

Niwa MVG, Luís Carlos Vinhas Ítavo, Camila Celeste Brandão Ferreira Ítavo, Rodrigo Gonçalves Mateus, Rodrigo da Costa Gomes, Hilda Silva Araújo de Melo, Lucimara Modesto Nonato, Gabriella Jorgetti de Moraes, Gabriela Oliveira de Aquino Monteiro, Antonio Leandro Chaves Gurgel & Geraldo Tadeu dos Santos. (2023). Ruminant responses, digestibility, and blood parameters of beef cattle fed diets with different oilseeds. *Tropical Animal Health and Production* volume 55, Article number: 254.

NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. National Academic Press, Washington, DC. USA; pp. 292.

Palmquist, D. L., Jenkins, T. C. (2017). A 100-Year Review: Fat feeding of dairy cows. *Journal of dairy science*, 100 (12), 10061-10077.

- Petit, H.V. (2003). Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. *J Dairy Sci*, 86(8), 2637-2646.
- Plata-Pérez, G.; Angeles-Hernandez, J.C.; Morales-Almaráz, E.; Del Razo-Rodríguez, O.E.; López-González, F.; Peláez-Acero, A.; Campos-Montiel, R.G.; Vargas-Bello-Pérez, E. Vieyra-Alberto, R. (2022) Oilseed Supplementation Improves Milk Composition and Fatty Acid Profile of Cow Milk: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Animals*, 12.
- Plata-Reyes, D.A.; Hernández-Mendo, O.; Vieyra-Alberto, R.; Albarrán-Portillo, B.; Martínez-García, C.G.; Arriaga-Jordán, C.M. (2021). Kikuyu grass in winter–spring time in small-scale dairy systems in the highlands of central Mexico in terms of cow performance and fatty acid profile of milk. *Trop Anim Health Prod*, 53(2), 1-18.
- Prieto-Manrique, E., Mahecha-Ledesma, L., Angulo-Arizala, J., Vargas-Sánchez, J. E. (2016). Efecto de la suplementación lipídica sobre ácidos grasos en leche de vaca, énfasis en ácido ruménico. *Agronomía mesoamericana*, 27(2), 421-437.
- Puppel, K., Kuczyńska, B., Nałęcz-Tarwacka, T., Grodzki, H. (2013). Influence of linseed variety on fatty acid profile in cow's milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(9), 2276-2280.
- Rabiee, A.R.; Breinhild, K.; Scott, W.; Golder, H.M.; Block, E.; Lean, I.J. (2012). Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *J Dairy Sci*, 95(6), 3225-3247.
- Rafiee-Yarandi, H., Alikhani, M., Ghorbani, G.R., Sadeghi-Sefidmazgi, A., (2016). Effects of temperature, heating time and particle size on values of rumen

undegradable protein of roasted soybean. *South African Journal of Animal Science*, 46 No. 2.

Serghiou, S.; Goodman, S.N. (2019) Random-effects meta-analysis: summarizing evidence with caveats. *Jama*, 321(3), 301-302.

Shahmirzadi, E., Ghavamzadeh y Zamani. (2019). The Effect of Conjugated Linoleic Acid Supplementation on Body Composition, Serum Insulin and Leptin in Obese Adults. *Archives of Iranian Medicine*. 1;22(5): 255-261.

Soyeurt, H.; Dardenne, P.; Gillon, A.; Croquet, C.; Vanderick, S.; Mayeres, P.; Bertozzi, C.; Gengler, N. (2006). Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *J Dairy Sci*, 89(12), 4858-4865.

Sterk, A.; Van Vuuren, A.M.; Hendriks, W.H.; Dijkstra, J. (2012). Effects of different fat sources, technological forms and characteristics of the basal diet on milk fatty acid profile in lactating dairy cows—a meta-analysis. *J Agric Sci*, 150(4), 495-517.

Stoop, W.M.; Bovenhuis, H.; Heck, J.M.L; Van Arendonk, J.A.M. (2009) Effect of lactation stage and energy status on milk fat composition of holstein-friesian cows. *J Dairy Sci*, 92:1469-1478.

Sun, X. Q. y Gibbs. (2012). Diurnal variation in fatty acid profiles in rumen digesta from dairy cows grazing high-quality pasture. *Animal Feed Science and Technology*. 177: 152-160.

Tapia, O. C., & Ruiz, V. M. (2020). Bioquímica de los procesos metabólicos. Reverte.

Turpeinen, A.M., Mutanen, M., Aro, A., Salminen, I., Basu, S., Palmquist, D.L., Griinari, J.M. (2002). Bioconversion of vaccenic acid to conjugated linoleic acid in humans. *Am J Clin Nutr*, 76(3), 504-510.

- Uchida, T., Onda, K., Bonkobara, M., Thongsong, B., Matsuki, N., Inaba, M., Ono, K. (1999). Utilization of intestinal triglyceride-rich lipoproteins in mammary gland of cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 61(10), 1143-1146.
- Ueda, K., Ferlay, A., Chabrot, J., Looor, J.J., Chilliard, Y. (2003). Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage: concentrate ratios. *J Dairy Sci*, 86(12), 3999-4007.
- Ulbricht, T. L. V., & Southgate, D. A. T. (1991). Enfermedad coronaria: siete factores dietéticos. *The Lancet*, 338(8773), 985–992.
- Valentim, E. N. M., José C. P., Vitor P. B., Fernando P. L., Raphael P. A., Leonardo, M. M., Rafael B. T., Joanis, T. Z. (2017). Influence of lipid supplementation on milk components and fatty acid profile. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(12):910-916.
- Vargas-Bello-Pérez, E., Robles-Jimenez, L.E., Ayala-Hernández, R., Romero-Bernal, J., Pescador-Salas, N., Castelán-Ortega, O.A., González-Ronquillo, M. (2020). Effects of calcium soaps from palm, canola and safflower oils on dry matter intake, nutrient digestibility, milk production, and milk composition in dairy goats. *Animals*, 10(10), 1728.
- Viechtbauer, W. Conducting meta-analyses in R with the metafor package. (2010) *J Stat Softw*, 36(3), 1-48.
- Vieyra-Alberto Rodolfo. (2017). “Estrategias De Alimentación Con Base En El Pastoreo Para Modificar El Perfil De Ácidos Grasos En Leche” (Tesis De Doctorado). Universidad Autónoma Del Estado De México. Toluca, Estado De México.
- Vieyra-Alberto, R., Arriaga-Jordán, C. M., Domínguez-Vara, I. A., Bórquez-Gastelum, J. L. y Morales-Almaráz, E. (2017). Efecto del aceite de soya

sobre la concentración de los ácidos grasos vaccénico y ruménico en leche de vacas en pastoreo. *Agrociencia*, 51: 299-313.

- Vieyra-Alberto, R., Zetina-Martínez, R. E., Olivares-Pérez, J., Galicia-Aguilar, H. H., Rojas-Hernández, S., & Ángeles-Hernández, J. C. (2022). Effect of soybean grain (*Glycine max* L.) supplementation on the production and fatty acid profile in milk of grazing cows in the dry tropics of Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 54(1), 1-9.
- Wang, H., Fox, C.S., Troy, L.M., Mckeown, N.M. y Jacques, P.F. (2015). Longitudinal association of dairy consumption with the changes in blood pressure and the risk of incident hypertension: The framingham heart study. *Br. Journal Nutrition*. 114, 1887–1899.
- White, S. L., Bertrand, J. A., Wade, M. R., Washburn, S. P., Green, J. T. y Jenkins, T. C. (2001). Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*. 84: 2295-2301.
- Wilde, P.F.; Dawson, R.M.C. (1966). The biohydrogenation of α -linoleic acid and oleic acid by rumen micro-organisms. *Biochemical Journal*, 98(2), 469.
- Ye, J.A., Wang, C., Wang, H.F., Ye, H.W., Wang, B.X., Liu, H.Y., Wang, Y.M., Yang, Z.Q., Liu, J.X. (2009). Milk production and fatty acid profile of dairy cows supplemented with flaxseed oil, soybean oil, or extruded soybeans. *Acta Agric Scand A Anim Sci*, 59(2), 121-129.
- Yurkanis Bruice, P. (2008). Química orgánica.

XI. Anexos

11.1 Artículo publicado en *Animals*

Plata-Pérez, G.; Angeles-Hernandez, J.C.; Morales-Almaráz, E.; Del Razo-Rodríguez, O.E.; López-González, F.; Peláez-Acero, A.; Campos-Montiel, R.G.; Vargas-Bello-Pérez, E.; Vieyra-Alberto, R. Oilseed Supplementation Improves Milk Composition and Fatty Acid Profile of Cow Milk: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Animals* **2022**, *12*, 1642. <https://doi.org/10.3390/ani12131642>

[PORTADA DE LA REVISTA]

Journals / Animals

animals

Submit to *Animals*

Review for *Animals*

Share

Journal Menu

- Animals Home
- Aims & Scope
- Editorial Board
- Reviewer Board
- Topical Advisory Panel
- Instructions for Authors
- Special Issues
- Topics
- Sections & Collections
- Article Processing Charge
- Indexing & Archiving
- Editor's Choice Articles
- Most Cited & Viewed
- Journal Statistics
- Journal History
- Journal Awards
- Society Collaborations

Fishy Illusions for Visual Enrichment in Zebrafish

Animals

Animals is an international, peer-reviewed, open access journal devoted entirely to animals, including zoology and veterinary sciences, published semimonthly online by MDPI. The World Association of Zoos and Aquariums (WAZA), European College of Animal Welfare and Behavioural Medicine (ECAWBM), and Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) are affiliated with *Animals* and their members receive a discount on the article processing charges.

- Open Access** — free for readers, with article processing charges (APC) paid by authors or their institutions.
- High Visibility:** indexed within Scopus, SCIE (Web of Science), PubMed, PMC, Embase, PubAg, AGRIS, Animal Science Database, CAB Abstracts, and other databases.
- Journal Rank:** JCR - Q1 (*Veterinary Sciences*) / CiteScore - Q1 (*General Veterinary*)
- Rapid Publication:** manuscripts are peer-reviewed and a first decision is provided to authors approximately 19.1 days after submission; acceptance to publication is undertaken in 2.6 days (median values for papers published in this journal in the first half of 2023).

IMPACT FACTOR 3.0 Indexed in: PubMed **CITESCORE 4.2**

E-Mail Alert

Add your e-mail address to receive forthcoming issues of this journal:

Enter Your E-Mail Address...

Subscribe

News

8 September 2023
Meet Us at the Aquaculture Europe 2023 (AE2023), 18–21 September 2023, Vienna, Austria

6 September 2023
Recap of Awards Granted to Scholars in 2022

MDPI 2022 Journal Awards Summary

Review

Oilseed Supplementation Improves Milk Composition and Fatty Acid Profile of Cow Milk: A Meta-Analysis and Meta-Regression

Genaro Plata-Pérez ¹, Juan C. Angeles-Hernandez ^{1,*} , Ernesto Morales-Almaráz ², Oscar E. Del Razo-Rodríguez ¹, Felipe López-González ³, Armando Peláez-Acero ¹, Rafael G. Campos-Montiel ¹, Einar Vargas-Bello-Pérez ⁴  and Rodolfo Vieyra-Alberto ^{1,*} 

- ¹ Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad km 1, Tulancingo de Bravo 43600, Mexico; pl429387@uaeh.edu.mx (G.P.-P.); oscare@uaeh.edu.mx (O.E.D.R.-R.); pelaeza@uaeh.edu.mx (A.P.-A.); rcampos@uaeh.edu.mx (R.G.C.-M)
- ² Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario 100 Ote, Toluca 50000, Mexico; emorales@uaemex.mx
- ³ Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales, Universidad Autónoma del Estado de México, Instituto Literario No. 100 Ote, Toluca 50000, Mexico; flopezg@uaemex.mx
- ⁴ Department of Animal Sciences, School of Agriculture, Policy and Development, University of Reading, Reading RG6 6EU, UK; e.vargasbelloper@reading.ac.uk
- * Correspondence: juan_angeles@uaeh.edu.mx (J.C.A.-H.); rodolfo_vieyra@uaeh.edu.mx (R.V.-A.)



Citation: Plata-Pérez, G.; Angeles-Hernandez, J.C.; Morales-Almaráz, E.; Del Razo-Rodríguez, O.E.; López-González, F.; Peláez-Acero, A.; Campos-Montiel, R.G.; Vargas-Bello-Pérez, E.; Vieyra-Alberto, R. Oilseed Supplementation Improves Milk Composition and Fatty Acid Profile of Cow Milk: A Meta-Analysis and Meta-Regression. *Animals* **2022**, *12*, 1642. <https://doi.org/10.3390/ani12131642>

Academic Editor: Antonio Natakello

Received: 2 May 2022

Accepted: 23 June 2022

Published: 26 June 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Simple Summary: Milk is the most consumed dairy product in the world and for humans is one of the major sources of beneficial biocomponents. Lipids from oilseeds can be transferred to milk from cows or converted to other biomolecules with nutraceutical effects, resulting in healthier milk. However, there is a great uncertainty with regard to the effect of some variables related to the animal, the seed, the level of inclusion and the characteristics of the diet. The objective of this review was to show the effect of the inclusion of oilseeds in the diet of dairy cows on milk yield, milk components and the fatty acid profile in milk. A systematized search was carried out of published articles with high scientific rigor where the feeding strategy in dairy cows was the inclusion of oilseeds in the diet. Milk from oilseed-fed cows contained a higher amount of unsaturated 18-carbon fatty acids, including omega-3 series, rumenic and vaccenic fatty acids. Overall, supplementation with oilseeds in the cow's diets increases the concentration of biomolecules in milk with potential positive effects on human health.

Abstract: Oilseed supplementation is a strategy to improve milk production and milk composition in dairy cows; however, the response to this approach is inconsistent. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of oilseed supplementation on milk production and milk composition in dairy cows via a meta-analysis and meta-regression. A comprehensive and structured search was performed using the following electronic databases: Google Scholar, Primo-UAEH and PubMed. The response variables were: milk yield (MY), atherogenic index (AI), Σ omega-3 PUFA, Σ omega-6 PUFA, fat, protein, lactose, linoleic acid (LA), linolenic acid (LNA), oleic acid (OA), vaccenic acid (VA), conjugated linoleic acid (CLA), unsaturated fatty acid (UFA) and saturated fatty acid (SFA) contents. The explanatory variables were breed, lactation stage (first, second, and third), oilseed type (linseed, soybean, rapeseed, cottonseed, and sunflower), way (whole, extruded, ground, and roasted), dietary inclusion level, difference of the LA, LNA, OA, forage and NDF of supplemented and control rations, washout period and experimental design. A meta-analysis was performed with the "meta" package of the statistical program R. A meta-regression analysis was applied to explore the sources of heterogeneity. The inclusion of oilseeds in dairy cow rations had a positive effect on CLA (+0.27 g 100 g⁻¹ fatty acids (FA); $p < 0.0001$), VA (+1.03 g 100 g⁻¹ FA; $p < 0.0001$), OA (+3.44 g 100 g⁻¹ FA; $p < 0.0001$), LNA (+0.28 g 100 g⁻¹ FA; $p < 0.0001$) and UFA (+8.32 g 100 g⁻¹ FA; $p < 0.0001$), and negative effects on AI (−1.01; $p < 0.0001$), SFA (−6.51; $p < 0.0001$), fat milk (−0.11%; $p < 0.001$) and protein milk (−0.04%; $p < 0.007$). Fat content was affected by animal breed, lactation stage, type

11.2 Resumen publicado en *American Dairy Science Association*[®] del *Journal of Dairy Science*

Plata-Pérez G., R. Vieyra-Alberto*, O. E. Del Razo-Rodríguez, E. Morales-Almaraz, F. López-González, E. Vargas-Bello-Pérez, J. C. Ángeles-Hernández. 2021. Effect of dietary oilseed supplementation on milk production, milk composition and milk fatty acids of dairy cows: a meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 104(Suppl. 1): 61 (160). <https://www.adsa.org/Publications/Journal-of-Dairy-Science>.

[PORTADA DEL SUPLEMENTO]

**Abstracts of the
2021 American Dairy Science Association[®]
Annual Meeting**

***Journal of Dairy Science*[®]
Volume 104, Supplement 1**



Ruminant Nutrition: Carbohydrates and Lipids I

159 Effect of increasing oleic acid concentration in a saturated fatty acid prill on milk yield in Holstein cows. R. Pierce, R. Bombberger, and K. Harvatine*, *Penn State University, University Park, PA.*

Fat supplements are commonly included in rations to increase energy intake and milk and milk component yield of dairy cows. Recent research indicates that the fatty acid (FA) profile of fat supplements may change fatty acid digestibility and metabolism with a resulting impact on milk production. The hypothesis of this experiment was that increased oleic acid levels in a saturated fatty acid supplement reacted with magnesium would increase milk yield without induction of milk fat depression. Eight primiparous and 8 multiparous cows (43.8 and 56.5 kg milk and 74 and 84 DIM, respectively, at the start of experiment) were arranged in a 4x4 Latin square design with 21 d periods. One multiparous cow was removed from the study due to mastitis. Treatments were a control diet with no added fat and diets which included FA supplements at 1.1% of dry matter intake. The supplements contained either 5%, 10%, and 15% oleic acid (OA) at a percent of FA. The fat supplement contained a 1.13 ratio of C16:0 to C18:0 that was maintained as OA was increased. The FA were reacted with magnesium during prilling resulting in partial formation of magnesium salts. Data were analyzed using the random effect of cow and period and the fixed effect of treatment and preplanned contrasts tested the effects of the control diet vs fat addition and the linear effect of increasing OA level. Overall, there were no significant interactions between diet and parity. Milk yield, fat yield, protein yield, and fat percent were not affected by treatment. Fat percent was increased 0.18% ($P < 0.05$) with fat supplementation in primiparous cows but was not increased in multiparous cows ($P > 0.10$). Protein percent was decreased 0.06% ($P < 0.05$) in primiparous cows fed the diets with added fat and did not differ between OA levels. Dietary fat supplements tended to decrease milk protein in multiparous cows. The study suggests that replacing a constant ratio of C16:0 to C18:0 with OA does not negatively impact milk yield and milk fat yield.

Key Words: milk fat, fat supplement, emulsifier

160 Effect of dietary oilseed supplementation on milk production, milk composition, and milk fatty acids of dairy cows: A meta-analysis. G. Plata-Perez¹, R. Vieyra-Alberto¹, O. Del Razo-Rodriguez¹, J. C. Angeles-Hernandez¹, E. Morales-Almaraz², F. Lopez-Gonzalez², and E. Vargas-Bello-Perez³, ¹Autonomous University of the State of Hidalgo, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México, ²Autonomous Mexico State University, Toluca de Lerdo, Estado de México, México, ³University of Copenhagen, Grønnegårdsvej, Frederiksberg, Denmark.

Oilseed supplementation is a strategy to improve milk production and milk composition in dairy cows, however, response to this approach are inconsistent. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of oilseeds supplementation on milk production and milk composition in dairy cows via meta-analysis and meta-regression. A comprehensive and structured search was performed using the following electronic databases: Google Scholar, Primo-UAEH and Web of Science. To avoid review-bias, 3 independent analytic reviews were carried out by 3 field experts. The final database comprised 37 peer-reviewed papers that fulfilled the inclusion criteria. The response variables considered were: milk yield (MY), Atherogenic Index of Plasma (AIP), fat, protein, lactose, conjugated linoleic acid (CLA), unsaturated fatty acids (UFA), saturated fatty acids (SFA) and vaccenic acid (VA) content.

The explanatory variables were breed, seed type (cottonseed, linseed, canola, soybean, sunflower), processing (extruded, ground, roasted, whole), intake level, experimental design, washout period and forage-to-concentrate ratio. The 'meta' package in R software was used to perform the meta-analysis. The random model was expanded to a mixed model to detect sources of heterogeneity using the 'Metfor' package. The inclusion of oilseed of dairy cow ration had a positive effect on CLA (-0.26 g/100g Fatty acids (FA); $P < 0.0001$), VA (-1.02 g/100g FA; $P < 0.0001$), UFA (-8.32 g/100g FA; $P < 0.0001$), also was observed a significant reduction of AIP (<1.01 ; $P < 0.0001$). In milk, a decrease of fat ($<0.11\%$; $P < 0.001$), protein ($<0.04\%$; $P < 0.0007$) and SFA (<7.51 g/100g FA; $P < 0.0001$) content was detected to oilseed supplemented animals. Desirable FA milk components (CLA, VA and SFA) were affected by breed, type, processing, and intake of oilseed. Animals fed sunflower showed the highest milk CLA content. Oilseed supplementation in dairy cow rations have a positive effect on desirable milk components for human consumption. However, animal response to oilseed supplementation depends on explanatory variables as type, level and processing of oilseeds and animal breed. Authors are grateful to Mexican Ministry of Education for funding this research project under grant UAEH-PTC-823

Key Words: lipids, biohydrogenation, fatty acids

161 Effect of folic acid supplementation on lactation performance of Holstein dairy cows: A meta-analysis. L. Wang*, Z. J. Li, X. J. Lei, and J. H. Yao, *College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, China.*

The purpose of this meta-analysis was to evaluate the effect of folic acid (FA) supplementation on milk production and composition in Holstein cow, which still remains controversial over published studies. China National Knowledge Infrastructure, PubMed and Science Direct databases were used for searching possible eligible studies. The screening criteria were as follows, participants were Holstein cow, interventions were FA supplementation, comparisons contained blank control with no other vitamins or amino acids added, outcomes included dry matter intake (DMI), milk yield, and milk fat, milk protein and milk lactose content. When multiple groups with different FA concentrations were designed in a study, the results of each outcome in all subgroups were combined into one group. Data were analyzed using the Stata 15.1 software, and sensitivity test, meta-regression and subgroup analysis were conducted when heterogeneity existed in outcomes. A total of 14 studies, involving 384 cows, were included in this meta-analysis. The results indicated that, with the supplementation of FA, milk yield was distinctly increased by 1.41 kg/d ($P = 0.001$), milk fat and milk protein were also significantly raised up by 0.73 g/kg ($P < 0.001$) and 0.84 g/kg ($P = 0.004$) respectively, whereas DMI and milk lactose had no obvious change ($P > 0.05$). Heterogeneity was only discovered in milk yield and milk protein, but sensitivity test showed the results were relatively stable. Year, initial weight and supplementary method were the 3 covariates that could strongly explain the heterogeneity in milk yield after meta-regression and subgroup analysis, and so as year did in milk protein. In conclusion, FA supplementation increased milk yield and milk fat and milk protein content in Holstein cow, but had no significant effect on DMI or milk lactose content. Cows in different

11.3 Resumen publicado en la *Revista Argentina de Producción Animal*

Plata-Pérez G., Vieyra-Alberto R.* , Del Razo-Rodríguez O.E., Morales-Almaraz E., López-González F., Vargas-Bello-Pérez E., Ángeles-Hernández J.C. 2021. Efecto de la suplementación de oleaginosas en la dieta de vacas sobre el rendimiento y composición química de la leche: un meta-análisis. *Revista Argentina de Producción Animal*. 41(1): 217-248.

[RESUMEN EN EL CUERPO DEL SUPLEMENTO]

NA 30 Efecto de la suplementación de oleaginosas en la dieta de vacas sobre el rendimiento y composición química de la leche: un meta-análisis.

Plata-Pérez, G.^{1*}, Vieyra-Alberto, R.¹, Del Razo, R.O.¹, Morales-Almaraz, E.², López-González, F.³, Vargas-Bello-Pérez, E.⁴ y Ángeles-Hernández, J.C.¹

¹ICAP-UAEH, Av. Universidad Km. 1, 43600, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. ²FMVZ e ³ICAR de la UAEMéx, Av. Independencia Pte., 50295, Toluca de Lerdo, Estado de México, México. ⁴University of Copenhagen (Department of Veterinary and Animal Sciences) Grønnegårdsvej 3, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark.

*E-mail: pl429387@uaeh.edu.mx; rodolfo.vieyra@uaeh.edu.mx

Effect of dietary oilseed supplementation of cows on milk yield and milk chemistry: a meta-analysis.

Introducción

La inclusión de semillas oleaginosas en la dieta de vacas ha mostrado resultados variables sobre el comportamiento productivo y los contenidos de grasa, proteína y lactosa en su leche. El alto contenido de ácidos grasos insaturados (AGI) presente en las semillas, induce la disminución de la digestibilidad de la fibra y de la actividad microbiana del rumen. El objetivo de este trabajo fue realizar un meta-análisis para evaluar el tamaño del efecto de la inclusión de algunas semillas de oleaginosas en la dieta de vacas sobre el rendimiento y los componentes mayoritarios de la leche.

Materiales y métodos

La búsqueda fue en Google académico, PubMed-NCBI y Primo-UAEH, realizada por 3 pares académicos. El motor de búsqueda fue: dairy cow, oilseed, milk yield, CLA, grazing, indoor, forage rate. Se capturaron artículos publicados entre 1999 y 2020, en idioma inglés, con un grupo testigo, mostrar la n, alguna medida de dispersión estadística, animales aleatorizados en estabulación e inclusión de un diseño experimental. La base de datos final se conformó por 37 artículos: linaza (n = 23), girasol (n = 3), soya (n = 9), colza (n = 8), algodón (n = 4). Las variables de respuesta fueron: rendimiento de leche y su contenido de grasa, proteína y lactosa. Las variables explicativas fueron: tipo racial, estado de lactación (1^o, 2^o y 3^o), tipo de semilla, procesamiento de la semilla (entera, tostada, molida), nivel de inclusión, periodo de adaptación, diseño experimental, contenido de fibra detergente neutro, porcentaje de forraje, contenidos de los ácidos grasos linoleico, linoléico y oleico entre la dieta testigo y la dieta con semilla.

El meta-análisis estimó el tamaño del efecto como la diferencia entre medias. La heterogeneidad de los modelos aleatorios se reportó como I² mediante modelos de efectos mixtos. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R (R Core Team, 2015) con el paquete 'meta' (versión 3.3.1; Schwarzer, 2016) y 'metafor' (versión 2.0; Viechtbauer, 2010).

Resultados y Discusión

La inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta de vacas no afectó el rendimiento productivo (SMD = -0,06; p=0,33) ni el contenido de lactosa en la leche (SMD = 0,07; p=0,27), pero redujo la grasa (SMD = -0,21; p=0,002) con una diferencia media cruda (RMD) de 0,11 puntos porcentuales, también afectó la proteína de la leche (SMD = -0,20; p=0,003) con una RMD de 0,04 puntos porcentuales (Cuadro 1). La disminución en el tenor de grasa láctea podría estar relacionado al aumento en el contenido del C18:2 t10c12 y C18:1 t10, productos intermedios de la biohidrogenación ruminal y que en glándula mamaria tienen un potente efecto inhibidor de la expresión de enzimas lipogénicas, afectando la síntesis de novo (Bauman y Griinari, 2001) o por la reducción en la digestibilidad de la fibra en rumen. La proteína láctea disminuye cuando existen efectos tóxicos de los AGI sobre los microorganismos del rumen y se reduce el suministro de aminoácidos a glándula mamaria (Leduc et al., 2017).

Conclusión

Incluir semillas de oleaginosas en la dieta de vacas en estabulación afecta el contenido de grasa y proteína lácteas; sin embargo, es necesario explorar si el consumo de esta leche podría sumar a la ingesta de componentes beneficios para la salud.

Agradecimientos

Al CONACYT-México, por la beca doctoral del primer autor. Los resultados son parte del proyecto: UAHE-DI-ICAP-MVYZ-20-054, bajo la dirección de Rodolfo Vieyra Alberto.

Bibliografía

- BAUMAN, D.E. y Griinari, J. M. 2001. *Livest. Prod. Sci.* 70, 15-29.
LEDUC, M. 2017. *J. Dairy Sci.* 100 (11), 8906-8927.
TEAM, R.C. 2013. (2015). R. Studio
SCHWARZER, G. 2016.
VIECHTBAUER, W. 2010. *J. Statistical Soft.* 36 (3), 1-48.

Cuadro 1. Tamaño del efecto de la inclusión de semillas de oleaginosas en la dieta de vacas lecheras sobre el rendimiento y composición de la leche.

Item	n	X control (DE)	Tamaño del efecto			Heterogeneidad		
			RMD	P <	SMD	P <	I ² RM ²	I ² MM ²
Rendimiento(L/día)	73	28,02 (± 6,59)	-0,25	0,200	-0,06	0,330	50,200	0,000
Grasa (%)	70	3,86 (± 0,46)	-0,11	0,001	-0,21	0,002	41,500	25,800
Proteína (%)	69	3,18 (± 0,2)	-0,04	0,007	-0,20	0,003	65,400	33,100
Lactosa (%)	53	4,77 (± 0,19)	0,01	0,280	0,07	0,270	43,500	19,000

DE, desviación estándar; RMD, diferencia media cruda; SMD, diferencia media estandarizada; I², proporción de la variación total de las estimaciones de efectos de tamaño que se debe a la heterogeneidad calculada como heterogeneidad residual / variabilidad no contabilizada.

² heterogeneidad del modelo de efectos aleatorios.

² heterogeneidad del modelo de efectos mixtos.

11.4 Resumen publicado en el Congreso Latinoamericano de Producción Animal

[CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN]



VIEYRA-ALBERTO R, MARTÍNEZ-UGALDE A, ACOSTA-ISLAS RG, MADRIGAL-ESPINOZA F, SALINAS-MARTÍNEZ JA, PLATA-PÉREZ G, ÁNGELES-HERNÁNDEZ JC

A:

Por su valiosa participación en la presentación del trabajo en modalidad Cartel:

*"Comportamiento productivo de vacas primíparas en estabulación con el uso de semillas de oleaginosas: el efecto de la linaza molida (*Linum usitatissimum*)"*

durante la XLVIII Reunión Científica de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria A.C., y la XXVII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Producción Animal, llevada a cabo en las instalaciones del Palacio de Convenciones del Estado de Zacatecas, con un valor curricular de 10 hrs.

Zacatecas, Zac., 28 de Abril de 2023


Dr. José Manuel Silva Ramos
Director UAMVZ


M. Sc. Abelardo Conde Pulgarín
Presidente ALPA


Dr. José Herrera Camacho
Presidente AMPA