



CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
ESTACIÓN AGRÍCOLA EXPERIMENTAL



UNIVERSIDAD DE LEÓN
DPTO. PRODUCCIÓN ANIMAL

RECRÍA DE CORDERAS DE RAZA ASSAF ESPAÑOLA

Efecto de la alimentación entre el nacimiento y los 5 meses de edad sobre el crecimiento de los animales, el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche en la primera lactación



Natalia Castañares Castro

León, Mayo 2008

RECRÍA DE CORDERAS DE RAZA ASSAF ESPAÑOLA

Efecto de la alimentación entre el nacimiento y los 5 meses de edad sobre el crecimiento de los animales, el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche en la primera lactación

AGNELLE DI RAZZA ASSAF SPAGNOLA

Effetto dell'alimentazione tra la nascita ed i 5 mesi di vita sull'accrescimento degli animali, lo sviluppo della ghiandola mammaria e la produzione di latte nella prima lattazione

SPANISH ASSAF EWE LAMBS' REARING

Effect of the feeding from birth to 5 months of age on animals' growth, mammary gland development and milk production during first lactation

Memoria de Tesis Doctoral presentada por

Dña. Natalia Castañares Castro

dirigida por

Dr. D. Gonzalo Hervás Angulo

y Dr. D. Jesús S. González Álvarez

para acceder al grado de Doctor dentro del Programa de Doctorado

“Producción y Sanidad Ovina” de la Universidad de León.

León, Mayo 2008

La autora de esta memoria ha disfrutado de una beca predoctoral del Programa I3P (Itinerario Integrado de Inserción Profesional) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (Proyecto CSI01B05).

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas e instituciones que han puesto a nuestra disposición sus conocimientos y los medios necesarios para la realización de este trabajo.

A Julia y Amado, mis padres
a Carlos e Inés, mis hermanos
a mis abuelos

por el apoyo y la confianza incondicionales.

A Javi L.

*...que estas páginas le sirvan para recordar las
incidencias de nuestra camaradería y a aquel
a quien ni el tiempo ni la distancia podrán
hacer olvidar su valía y gentileza (W. Irving)*

Cuando las palabras se unen nacen sentidos nuevos, hablan de lugares, de personas, de recuerdos, de mil partes y mil vidas, de dolores y alegrías, de horizontes y acantilados, de fronteras y vacíos, de búsquedas y encuentros... a veces tocan el alma y siempre tienen forma, alguna forma...

Por la experiencia... gracias. Grazie 😊.

ÍNDICES

ÍNDICES	i
Índice general	iii
Índice de tablas / <i>Indice delle tabelle / Table index</i>	vii
Índice de figuras / <i>Indice delle figure / Figure index</i>	xiii
ABREVIATURAS / ABBREVIATURE / ABBREVIATIONS	xix
RESUMEN	1
RIASSUNTO	9
SUMMARY	17
I. INTRODUCCIÓN	25
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	31
1. La glándula mamaria	33
1.1. Morfología externa.....	33
1.2. Estructura interna	34
1.3. Desarrollo mamario.....	38
1.3.1. Fase prenatal.....	38
1.3.2. Fase prepuberal.....	40
1.3.3. Fase pospuberal	42
1.3.4. Fase de gestación.....	42
1.3.5. Fase de lactación	45
2. Regulación del crecimiento y desarrollo mamario	46
2.1. Efecto de la alimentación.....	47
2.1.1. Efecto del nivel de ingestión de energía.....	48
2.1.1.1. Cambios en la composición de la glándula mamaria.....	49
2.1.1.2. Cambios en la producción de leche	52
2.1.2. Efecto del nivel de ingestión de proteína	56
2.1.2.1. Cambios en la composición de la glándula mamaria.....	57
2.1.2.2. Cambios en la producción de leche	60
2.2. Regulación hormonal	61
2.2.1. GH	63
2.2.2. IGF-I.....	67
2.2.3. Insulina	70
2.2.4. Prolactina.....	73
2.2.5. Leptina.....	75

3. Métodos de estudio de la morfología y estructura mamaria	78
3.1. Caracteres morfológicos	79
3.2. Índices bioquímicos	82
3.3. Índices histológicos.....	86
3.4. Índices citológicos	87
3.5. Nuevos avances tecnológicos	88
3.5.1. Ecografía	89
3.5.2. Tomografía axial computarizada	94
3.5.3. Resonancia magnética nuclear	96
III. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL.....	101
IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....	105
1. Animales experimentales	107
2. Tratamientos y diseño experimental	107
2.1. Periodo de lactancia	109
2.2. Periodo de recría	110
2.2.1. Fase de destete	110
2.2.2. Primera fase de la recría (desde el destete hasta los 5 meses de edad)	111
2.2.3. Segunda fase de la recría (desde los 5 meses de edad hasta la cubrición)	112
2.2.3.1. Sincronización de la ovulación.....	113
2.2.3.2. Cubrición de los animales.....	114
2.2.3.3. Diagnóstico de gestación	114
2.3. Periodo de gestación	114
2.4. Periodo de lactación.....	115
2.4.1. Partos y lactancia de los corderos	115
2.4.2. Fase de lactación	116
2.4.2.1. Rutina de ordeño.....	117
3. Controles y medidas	118
3.1. Ingestión, peso vivo y condición corporal	118
3.2. Estudio de la estructura interna de la glándula mamaria	119
3.3. Estudio ecográfico de la cisterna mamaria	121
3.4. Estudio de la morfología mamaria.....	122
3.5. Perfil hormonal	124
3.6. Producción de leche	124

4. Análisis químicos	125
4.1. Alimentos	125
4.2. Hormonas	125
4.3. Leche	125
5. Cálculos	126
6. Análisis estadísticos.....	127
V. RESULTADOS	131
1. Ingestión	133
2. Peso vivo y condición corporal	143
3. Estructura interna de la glándula mamaria	153
4. Estudio ecográfico de la cisterna mamaria.....	155
5. Morfología mamaria.....	155
6. Perfil hormonal	160
7. Eficiencia reproductiva.....	163
8. Producción y composición de la leche	163
VI. DISCUSIÓN	169
1. Ingestión, peso vivo y condición corporal.....	171
2. Crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria.....	185
2.1. Estructura y morfología mamaria	185
2.2. Perfil hormonal	194
3. Rendimiento productivo	200
3.1. Eficiencia reproductiva	200
3.2. Producción y composición de la leche en la primera lactación	204
VII. CONCLUSIONES / CONCLUSIONI / CONCLUSIONS	213
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	221

Tabla 1. Composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante el periodo de lactancia.	109
Tabla 2. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante la primera fase de la recría.	112
Tabla 3. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante la segunda fase de la recría.	113
Tabla 4. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante la fase de gestación.	115
Tabla 5. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) del alimento ofertado durante la fase de lactación.....	117
Tabla 6. Valores medios de la ingestión diaria de sustitutivo lácteo (MJ EB/kg PV ^{0.75} y día; g MS/kg PV ^{0.75} y día), pienso lacteado (g MS/kg PV y día) y heno de alfalfa (g MS/kg PV y día) para cada tratamiento experimental durante el periodo de lactancia.....	133
Tabla 7. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de pienso y heno de alfalfa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la fase de transición entre el periodo de lactancia y la primera fase de la recría.....	135
Tabla 8. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de pienso (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la primera fase de la recría.....	136
Tabla 9. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de paja de cebada (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la primera fase de la recría.	137
Tabla 10. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante las 12 primeras semanas de la segunda fase de la recría.	139
Tabla 11. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante las 12 últimas semanas de la segunda fase de la recría.	140
Tabla 12. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la fase de gestación.....	141
Tabla 13. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la fase de lactación.	142
Tabla 14. Valores medios (inicial y para cada semana) del peso vivo (PV; kg) de los animales para cada tratamiento experimental durante el periodo de lactancia.....	143
Tabla 15. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) para cada tratamiento experimental durante el periodo de lactancia.....	144
Tabla 16. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante el periodo de transición entre la lactancia y la recría.	145
Tabla 17. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la primera fase de la recría.....	147

Tabla 18. Valores medios (para cada mes y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la segunda fase de la recría.	148
Tabla 19. Valores medios (para cada mes y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la fase de gestación.	150
Tabla 20. Valores medios (para cada mes y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la fase de lactación.	151
Tabla 21. Evolución de la condición corporal (CC) durante las fases de gestación y lactación. ..	152
Tabla 22. Valores medios del volumen (cm ³) de la glándula mamaria, del parénquima y del tejido extraparenquimatoso medidos mediante tomografía axial computarizada (TAC) para cada tratamiento experimental a los 5 y 10 meses de edad.	154
Tabla 23. Valores medios del área cisternal (cm ²) obtenidos mediante ecografía para cada tratamiento experimental en el momento previo a la cubrición de las corderas (pregestación) y durante la gestación (90 y 135 días) y la lactación (8, 14 y 22 horas posordeño).	156
Tabla 24. Valores medios del volumen (ml), el perímetro (cm), la profundidad (cm) y la anchura (cm) de la ubre y la altura (cm) de las cisternas, en distintos momentos de la fase de lactación, para cada tratamiento experimental.	157
Tabla 25. Valores medios de la anchura (mm), la longitud (mm) y el ángulo (°) de inserción de los pezones, en distintos momentos de la fase de lactación, para cada tratamiento experimental.	159
Tabla 26. Valores medios transformados (logaritmo neperiano) de las concentraciones séricas de GH (ng/ml), IGF-I (ng/ml), insulina (μ UI/ml) y prolactina (ng/ml) para cada tratamiento experimental en el momento del destete, a los 5 y 10 meses de edad y al inicio de la fase de lactación.	161
Tabla 27. Valores medios de fertilidad (%) y prolificidad (%) para cada tratamiento experimental.	164
Tabla 28. Valores medios de la producción diaria de leche (g/animal y día) y la producción diaria de leche estandarizada en energía (PLEE; g/animal y día) para la leche ordeño, residual y total, la producción de leche normalizada a 150 días (kg/animal) y la persistencia de la lactación (g/animal y semana) para cada tratamiento experimental.	166
Tabla 29. Valores medios del contenido (%) de grasa, proteína, lactosa y extracto seco y del recuento de células somáticas (RCS; log ₁₀ /ml) en cada fracción de leche (ordeño y residual) para cada tratamiento experimental.	167
Tabla 30. Valores medios de producción diaria (g/animal y día) de grasa, proteína, lactosa y extracto seco en cada fracción de leche (ordeño y residual) para cada tratamiento experimental.	168

Tabella 1. Composizione chimica (g/kg MS, eccetto eccetto differente indicazioni) degli alimenti somministrati durante il periodo di allattamento.....	109
Tabella 2. Ingredienti (g/kg) e composizione chimica (g/kg MS, eccetto differente indicazioni) degli alimenti somministrati durante la prima fase di crescita.....	112
Tabella 3. Ingredienti (g/kg) e composizione chimica (g/kg MS, eccetto differente indicazioni) degli alimenti somministrati durante la seconda fase di crescita.....	113
Tabella 4. Ingredienti (g/kg) e composizione chimica (g/kg MS, eccetto differente indicazioni) degli alimenti somministrati durante la fase di gestazione.....	115
Tabella 5. Ingredienti (g/kg) e composizione chimica (g/kg MS, eccetto differente indicazioni) degli alimenti somministrati durante la fase di lattazione.....	117
Tabella 6. Valori medi della ingestione giornaliera di succedaneo del latte (MJ EB/kg PV ^{0.75} ; g MS/kg PV ^{0.75} e giorno), di farina lattea (g MS/kg PV e giorno) e di fieno di medica (g MS/kg PV e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante il periodo di allattamento.....	133
Tabella 7. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera di concentrato e fieno di medica (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante la fase di transizione tra il periodo di allattamento e la prima fase di crescita.....	135
Tabella 8. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera di concentrato (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante la prima fase di crescita.....	136
Tabella 9. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera di paglia d'orzo (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante la prima fase di crescita.....	137
Tabella 10. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera della razione completa (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante le prime 12 settimane della seconda fase di crescita.....	139
Tabella 11. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera della razione completa (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante le ultime 12 settimane della seconda fase di crescita.....	140
Tabella 12. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera della razione completa (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante la fase di gestazione.....	141
Tabella 13. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) della ingestione giornaliera della razione completa (g MS/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante la fase di lattazione.....	142
Tabella 14. Valori medi (iniziali e per ogni settimana) del peso vivo (PV; kg) degli animali per ogni trattamento sperimentale durante il periodo di allattamento.....	143
Tabella 15. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) dell'incremento giornaliero di peso vivo (GDPV; g/capo e giorno) per ogni trattamento sperimentale durante il periodo di allattamento.....	144
Tabella 16. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) dell'incremento giornaliero di peso vivo (GDPV; g/capo e giorno) e del peso vivo (PV) finale (kg) per ogni trattamento sperimentale durante il periodo di transizione tra l'allattamento e la fase di crescita.....	145
Tabella 17. Valori medi (per settimana e per tutto il periodo) dell'incremento giornaliero di peso vivo (GDPV; g/capo e giorno) e del peso vivo (PV) finale (kg) per ogni trattamento sperimentale durante la prima fase di crescita.....	147

Tabella 18. Valori medi (per mese e per tutto il periodo) dell'incremento giornaliero di peso vivo (GDPV; g/capo e giorno) e del peso vivo (PV) finale (kg) per ogni trattamento sperimentale durante la seconda fase di crescita della rimonta.	148
Tabella 19. Valori medi (per mese e per tutto il periodo) dell'incremento giornaliero di peso vivo (GDPV; g/capo e giorno) e del peso vivo (PV) finale (kg) per ogni trattamento sperimentale durante la fase di gestazione	150
Tabella 20. Valori medi (per mese e per tutto il periodo) dell'incremento giornaliero di peso (GDPV; g/capo e giorno) e del peso vivo (PV) finale (kg) per ogni trattamento sperimentale durante la fase di lattazione	151
Tabella 21. Evoluzione della condizione corporea (CC) durante le fase della gestazione e lattazione	152
Tabella 22. Valori medi del volume (cm ³) della ghiandola mammaria, del parenchima e del tessuto extraparenchimatico misurati mediante tomografia assiale computerizzata (TAC) per ogni tattamento sperimentale a 5 e 10 mesi d'età.....	154
Tabella 23. Valori medi dell'area della cisterna (cm ²) ottenuti mediante ecografia per ogni trattamento sperimentale nel periodo precedente la monta delle pecore (pre-gestazione) e durante la gestazione (90 e 135 giorni) e la lattazione (8, 14 e 22 h post-mungitura).	156
Tabella 24. Valori medi del volume (ml), perimetro (cm), profondità (cm) e larghezza (cm) della mammella, e altezza (cm) delle cisterne, in momenti diversi della lattazione, per ogni trattamento sperimentale.	157
Tabella 25. Valori medi della larghezza (mm), longitudine, (mm), e angolo (°) di inserzione dei capezzoli, in diversi momenti della fase di allattamento, per ogni trattamento sperimentale. .	159
Tabella 26. Valori medi e trasformati (logaritmo neperiano) delle concentrazioni seriche di GH (ng/ml), IGF-I (ng/ml), insulina (μUI/ml), e prolattina (ng/ml), per ogni trattamento sperimentale al momento dello svezzamento, ai 5 e 10 mesi di età ed all'inizio della fase di allattamento.	161
Tabella 27. Valori medi di fertilità (%) e prolificità (%) per ogni trattamento sperimentale.....	164
Tabella 28. Valori medi della produzione di latte (g/capo e giorno) e della produzione di latte standardizzato in energia (PLEE; g/capo e giorno) per il latte munto, residuale e totale, la produzione di latte stimata per 150 giorni (kg/capo) e la persistenza della lattazione (g/capo e settimana) per ogni trattamento sperimentale.....	166
Tabella 29. Valori medi del contenuto (%) di grasso, proteina, lattosio ed estratto secco e del contenuto in cellule somatiche (RCS; log ₁₀ /ml) in ogni frazione di latte (munto e residuale) per ogni trattamento sperimentale.	167
Tabella 30. Valori medi di produzione (g/capo e giorno) di grasso, proteina, lattosio ed estratto secco in ogni frazione di latte (munto e residuale) per ogni trattamento sperimentale.	168

Table 1. Chemical composition (g/kg MS, unless otherwise indicated) of the feeds offered during the suckling period.....	109
Table 2. Ingredients (g/kg) and chemical composition (g/kg MS, unless otherwise indicated) of the feeds offered during the first phase of the rearing period.....	112
Table 3. Ingredients (g/kg) and chemical composition (g/kg MS, unless otherwise indicated) of the feeds offered during the second phase of the rearing period.....	113
Table 4. Ingredients (g/kg) and chemical composition (g/kg MS, unless otherwise indicated) of the feeds offered during the phase of pregnancy.....	115
Table 5. Ingredients (g/kg) and chemical composition (g/kg MS, unless otherwise indicated) of the feeds offered during the phase of lactation.....	117
Table 6. Mean values of the daily intake of milk replacer (MJ EB/kg PV ^{0.75} and day; g MS/kg PV ^{0.75} and day), starter (g MS/kg PV and day) and lucerne hay (g MS/kg PV and day) for each experimental treatment during the suckling period.....	133
Table 7. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of concentrate and lucerne hay (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the transition from the suckling to the rearing periods.....	135
Table 8. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of concentrate (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the first phase of the rearing period.	136
Table 9. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of barley straw (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the first phase of the rearing period.	137
Table 10. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of total mixed ration (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the first 12 weeks of the second phase of the rearing period.....	139
Table 11. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of total mixed ration (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the last 12 weeks of the second phase of the rearing period.	140
Table 12. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of total mixed ration (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the pregnancy.....	141
Table 13. Mean values of the daily intake (for each week and for the whole period) of total mixed ration (g MS/animal and day) for each experimental treatment during the lactation.....	142
Table 14. Mean values (initial and for each week) of live weight (PV; kg) for each experimental treatment during the suckling period.....	143
Table 15. Mean values (for each week and for the whole period) of the live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) for each experimental treatment during the suckling period.....	144
Table 16. Mean values (for each week and for the whole period) of live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) and final live weight (PV; kg) for each experimental treatment during the transition from the suckling to the rearing periods.	145
Table 17. Mean values (for each week and for the whole period) of the live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) and the final live weight (PV; kg) for each experimental treatment during the first phase of the rearing period.	147

Table 18. Mean values (for each month and for the whole period) of the live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) and the final live weight (PV; kg) for each experimental treatment during the second phase of the rearing period.....	148
Table 19. Mean values (for each month and for the whole period) of the live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) and the final live weight (PV; kg) for each experimental treatment during pregnancy.....	150
Table 20. Mean values (for each month and for the whole period) of the live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) and the final live weight (PV; kg) for each experimental treatment during the lactation.....	151
Table 21. Evolution of the body condition score (CC) during the pregnancy and the lactation phases.	152
Table 22. Mean values of the volume (cm ³) of mammary gland, and parenchyma and extraparenchymal tissues, measured by computerized axial tomography (TAC) for each experimental treatment at 5 and 10 months of age.....	154
Table 23. Mean values of the cistern area (cm ²) measured by ultrasonography for each experimental treatment just before the pregnancy, and during the pregnancy (at days 90 and 135) and the lactation (8, 14 and 22 hours post-milking).....	156
Table 24. Mean values of the udder volume (ml), circumference (cm), depth (cm) and width (cm), and the cistern height (cm) at different moments of the lactation, for each experimental treatment.....	157
Table 25. Mean values of the teat width (mm), length (mm) and insertion angle (°) at different moments of the lactation, for each experimental treatment.....	159
Table 26. Mean transformed values (natural logarithm) of the serum concentrations of GH (ng/ml), IGF-I (ng/ml), insulin (μ UI/ml) and prolactin (ng/ml) for each experimental treatment at weaning, at 5 and 10 months of age and at the beginning of the lactation.....	161
Table 27. Mean values of fertility (%) and prolificity (%) for each experimental treatment.	164
Table 28. Mean values of milk production (g/animal and day) and energy corrected daily milk production (PLEE; g/animal and day) for the milking, residual and total milk, the estimated milk production for 150 days (kg/animal) and the lactation persistency (g/animal and week) for each experimental treatment.....	166
Table 29. Mean values of the fat, protein, lactose and total solid contents (%), and the somatic cell count (RCS; log ₁₀ /ml) at each milk fraction (milking and residual) for each experimental treatment.....	167
Table 30. Mean values of the fat, protein, lactose and total solids production (g/animal and day) at each milk fraction (milking and residual) for each experimental treatment.....	168

Figura 1. Imagen de una glándula mamaria de ganado ovino en la que se observan el surco intermamario, el pezón, el pliegue cutáneo de unión al cuerpo y el seno inguinal.	34
Figura 2. Representación esquemática de la estructura interna de la glándula mamaria (http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/La_glándula_mamaria.htm?wbc_purpose=basicabo ; último acceso 12.5.2008).	36
Figura 3. Repleción plástica de las arterias mamarias y del pezón. PE: arteria pudenda externa; RLV: ramo labial ventral; RC: ramo caudal; MM: arteria mamaria media; MC: arteria mamaria craneal; MS: arteria mamaria del seno; P: arteria papilar; PP: plexo papilar (Ruberte et al., 1994b).	37
Figura 4. Repleción plástica del sistema canalicular y del parénquima mamario. PG: parénquima glandular; GSL: porción glandular del seno lactífero; PSL: porción papilar del seno lactífero; A: alvéolos y sus conductos; CIA: conducto intralobulillar; CIE: conducto interlobulillar; CL: conducto lactífero (Ruberte et al., 1994b).....	80
Figura 5. Caracteres morfológicos mamarios del ganado ovino propuestos por Labussière (1983) y modificados por de la Fuente et al. (1996).	81
Figura 6. Escala lineal para la valoración de los caracteres morfológicos mamarios en el ovino lechero propuesta por de la Fuente et al. (1996).	82
Figura 7. Representación del crecimiento del parénquima mamario en ganado ovino (Akers, 2002).	84
Figura 8. Detalle de alvéolos (a), conducto lactífero (b) y conductos intralobulillares (c) mediante microscopía electrónica (Carretero et al., 1999).....	88
Figura 9. Medición del área de la cisterna mamaria mediante ecografía.	92
Figura 10. Corte sagital de la glándula mamaria de una oveja obtenida mediante TAC.	95
Figura 11. Corte sagital de oveja a nivel de la glándula mamaria obtenido mediante RMN.	98
Figura 12. Cronograma de las diferentes fases del estudio.	108
Figura 13. Imagen de una oveja posicionada para la realización de la TAC e imagen digital obtenida tras el estudio.	119
Figura 14. Imagen obtenida mediante TAC y analizada posteriormente con el programa <i>Osiris Imaging Software</i> , en la que se puede distinguir el parénquima mamario (P) y el tejido extraparenquimatoso (E).	120
Figura 15. Imagen obtenida mediante ecografía en la que se observa delimitada el área de la cisterna mamaria.	122
Figura 16. Vista caudal de la ubre y lateral del pezón en la que se observan las distintas medidas realizadas. P: profundidad de la ubre; O: perímetro mamario; A: anchura mamaria; Xi: ángulo de inserción del pezón izquierdo; Xd: ángulo de inserción del pezón derecho; Hi: altura de la cisterna izquierda; Hd: altura de la cisterna derecha; L1: longitud del pezón; A1: anchura del pezón.	123
Figura 17. Evolución de la ingestión diaria de sustitutivo lácteo (MJ EB/kg PV ^{0,75} y día), pienso lacteado (g MS/kg PV y día) y heno alfalfa (g MS/kg PV y día) para los tratamientos AL (□) y Rs (△) durante el periodo de lactancia (eed= 0,03; 0,87 y 0,72; respectivamente).....	172
Figura 18. Cantidad de pienso consumido (g MS/animal y día) por los animales de cada tratamiento del periodo de lactancia (AL y Rs) y primera fase de la recría (A, M y B) durante la fase de transición entre la lactancia y la primera fase de la recría (eed=30,08).	175

Figura 19. Evolución de la ingestión total de alimento (g MS/kg PV y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la primera fase de la recría (eed=2,12).....	177
Figura 20. Evolución de la ingestión de alimento (g MS/kg PV y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la segunda fase de la recría (eed=2,63).....	178
Figura 21. Ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la primera (eed=18,1) y la segunda (eed=9,6) fase de la recría.....	179
Figura 22. Evolución de la ingestión de alimento (g MS/kg PV y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la fase de gestación (eed=1,43).....	183
Figura 23. Evolución de la producción diaria de leche ordeño a lo largo de la lactación (g/animal y día) para los tratamientos (a) AL (□) y Rs (Δ) de la fase de lactancia (eed=142,6) y (b) A (■), M (▲) y B (●) de la fase de recría (eed=174,5).....	205

Figura 1. Immagine della ghiandola mammaria degli ovini in cui si può vedere il solco intermammario, il capezzolo, la piega cutanea di unione al corpo ed il seno inguinale.	34
Figura 2. Rappresentazione schematica della struttura interna della ghiandola mammaria (http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/La_glándula_mamaria.htm?wbc_purpose=basicabo ; ultimo accesso 12.5.2008).	36
Figura 3. Replezione plastica dell'arterie mammarie e del capezzolo. PE: arteria pudenda sterna; RLV: ramo labiale ventrale; RC: ramo caudal; MM: arteria mammaria media; MC: arteria mammaria craniale; MS: arteria mammaria del seno; P: arteria papilare; PP: plesso papilare. (Ruberte et al., 1994b).	37
Figura 4. Replezione plastica del sistema canalicolare e del parenchima mammario. PG: parenchima ghiandolare; GSL: porzione ghiandolare del seno lattifero; PSL: porzione papilare del seno lattifero; A: alveoli e i suoi condotti; CIA: condotto intralobulare; CIE: condotto interlobulare; CL: condotto lattifero (Ruberte et al., 1994b).	80
Figura 5. Caratteri morfologici mammari degli ovini proposti da Labussière (1983) e modificati da de la Fuente et al. (1996).	81
Figura 6. Scala lineale per la valutazione dei caratteri morfologici mammari degli ovini di latte proposta da de la Fuente et al. (1996).	82
Figura 7. Rappresentazione dell'accrescimento del parenchima mammario negli ovini (Akers, 2002).	84
Figura 8. Dettagli degli alveoli (a), del condotto lattifero (b) e dei condotti intralobulari (c) con microscopia elettronica (Carretero et al., 1999).	88
Figura 9. Misurazione dell'area della cisterna mammaria tramite ecografia.	92
Figura 10. Taglio sagittale della ghiandola mammaria di pecora ottenuto tramite TAC.	95
Figura 11. Taglio sagittale della pecora a livello della ghiandola mammaria ottenuto tramite RMN.	98
Figura 12. Cronogramma delle diverse fasi dello studio.	108
Figura 13. Immagine di una pecora posizionata per la realizzazione della TAC e immagine digitale ottenuta dallo studio.	119
Figura 14. Immagine ottenuta tramite TAC ed analizzata ulteriormente tramite <i>Osiris Imaging Software</i> , nella quale si possono distinguere il parenchima mammario (P) ed il tessuto extraparenchimatico (E).	120
Figura 15. Immagine ottenuta tramite ecografia in cui si osserva l'area delimitata della cisterna mammaria.	122
Figura 16. Visione caudale della mammella e laterale del capezzolo nella quale si possono osservare le diverse misure realizzate. P: profondità della mammella; O: perimetro mammario; A: larghezza mammaria; Xi: angolo di inserzione del capezzolo sinistro; Xa: ángolo di inserzione del capezzolo destro; Hi: altezza della cisterna sinistra; Ha: altezza della cisterna destra; L1: lunghezza del capezzolo; A1: larghezza del capezzolo.	123
Figura 17. Evoluzione dell'ingestione di succedaneo latteo (MJ EB/kg PV ^{0,75} e giorno), farina latteo (g MS/kg PV e giorno) e fieno di medica (g MS/kg PV e giorno) dei trattamenti AL (□) e Rs (Δ) durante il periodo di allattamento (eed= 0,03; 0,87 y 0,72; rispettivamente).	172

Figura 18. Quantità di mangime consumato (g MS/animale e giorno) dagli animali di ognuno dei trattamenti del periodo di allattamento (AL e Rs) e crescita (A, M e B) durante il periodo di transizione tra l'allattamento e la prima fase di crescita. (eed=30,08).	175
Figura 19. Evoluzione della ingestione totale di alimento (g MS/kg PV e giorno) dei trattamenti A (■), M (▲) y B (●) durante la prima fase della crescita (eed=2,12).	177
Figura 20. Evoluzione della ingestione di alimento (g MS/kg PV e giorno) dei trattamenti A (■), M (▲) y B (●) durante la seconda fase della crescita (eed=2,63).	178
Figura 21. Accrescimento giornaliero (GDPV; g/animale e giorno) dei trattamenti A (■), M (▲) y B (●) durante la prima (eed=18,1) e la seconda (eed=9,6) fase della crescita.	179
Figura 22. Evoluzione della ingestione di alimento (g MS/kg PV e giorno) dei trattamenti A (■), M (▲) y B (●) durante la fase di gestazione (eed=1,43).	183
Figura 23. Evoluzione della produzione di latte munto lungo la fase di lattazione (g/animale e giorno) dai trattamenti (a) AL (□) y Rs (△) del periodo di allattametno (eed=142,6) e (b) A (■), M (▲) y B (●) della prima fase della crescita (eed=174,5).	205

Figure 1. Picture of an ovine mammary gland picture showing the mammary groove, the teat, the skin fold and the inguinal sinus.....	34
Figure 2. Schematic illustration of the intern structure of the mammary gland (http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/La_glándula_mamaria.htm#wbc_purpose=basicabo ; last access 12.5.2008).....	36
Figure 3. Cast obtained by the epoxy injection and corrosion method of the mammary and the teat arteries. PE: external pudendal artery; RLV: ventral labial branch; RC: caudal mammary artery; MM: medium mammary artery; MC: cranial mammary artery; MS: sinus mammary artery; P: papillary artery; PP: papillary plexus (Ruberte et al., 1994b).	37
Figure 4. Cast obtained by the epoxy injection and corrosion method of the ductal system and the mammary parenchima. PG: glandular parenchima, GSL: glandular cistern, PSL: teat cistern; A: alveoli and lobular ducts; CIA: intralobular duct; CIE: conducto interlobular duct; CL: lobar duct (Ruberte et al., 1994b).....	80
Figure 5. Udder morphological measurements of dairy sheep proposed by Labussière (1983) and modified by de la Fuente et al. (1996).....	81
Figure 6. Lynear scores for the evaluation of the main udder morphological traits in dairy sheep proposed by de la Fuente et al. (1996).....	82
Figure 7. Mammary parenchimal growth in ewes (Akers, 2002).....	84
Figure 8. Scanning electron microscopy of the (a) alveoli, (b) the lobular duct and (c) the intralobular ducts (Carretero et al., 1999).	88
Figure 9. Measurement of the glandular cistern area by ultrasonography scan.	92
Figure 10. Sagittal section of the ovine mammary gland obtained by TAC scan.	95
Figure 11. Sagittal section of the ovine mammary gland obtained by RMN scan.	98
Figure 12. Schedule of the study different phases.....	108
Figure 13. Ewe located for a TAC scan and digital image obtained after the scan.....	119
Figure 14. TAC scan analyzed by the <i>Osiris Imaging Software</i> : mammary parenchyma (P) and extraparenchymal (E) tissue.....	120
Figure 15. Ultrasonography scan of the mammary cistern area.....	122
Figure 16. Caudal view of the udder and lateral view of the teat traits measured. P: udder depth; O: mammary circumference; A: mammary width; Xi: insertion angle of the left teat; Xa: insertion angle of the right teat; Hi: left cistern height; Ha: right cistern height; L1: teat length; A1: teat width.....	123
Figure 17. Evolution of the daily intake of milk replacer (MJ EB/kg PV ^{0.75} and day), starter (g MS/kg PV and day) and lucerne hay (g MS/kg PV and day) for the treatments AL (□) and Rs (△) during the suckling period (eed= 0.03, 0.87 y 0.72, respectively).	172
Figure 18. Concentrate consumed (g MS/animal and day) by the animals of each experimental treatment of the suckling (AL and Rs) and rearing (A, M and B) periods, during the transition from the suckling to the rearing periods (eed=30.08).	175
Figure 19. Evolution of total feed intake (g MS/kg PV and day) for the treatments A (■), M (▲) and B (●) during the first phase of the rearing period (eed=2.12).	177
Figure 20. Evolution of feed intake (g MS/kg PV and day) for the treatments A (■), M (▲) and B (●) during the second phase of the rearing period (eed=2.63).	178

Figure 21. Live weight daily gain (GDPV; g/animal and day) for the treatments A (■), M (▲) and B (●) during the first (eed=18.1) and the second (eed=9.6) phase of the rearing period..... 179

Figure 22. Evolution of feed intake (g MS/kg PV and day) for treatments A (■), M (▲) and B (●) during the pregnancy (eed=1.43). 183

Figure 23. Evolution of milk production (g/animal and day) for the treatments (a) AL (□) and Rs (Δ) of the suckling period (eed=142.6) and (b) A (■), M (▲) and B (●) of the first phase of the rearing period (eed=174.5)..... 205

ABREVIATURAS
ABBREVIATURE
ABBREVIATIONS

- A**tratamiento Alto de la primera fase de la recría (entre el destete y los 5 meses de edad)
trattamento Alto nella prima fase di crescita (tra lo svezzamento ed i 5 mesi di età)
high energy supply during the rearing period (from weaning to 5 months of age)
- ADN**ácido desoxirribonucleico
acido desossiribonucleico
deoxyribonucleic acid
- AL**tratamiento Alto Lactancia del periodo de lactancia
trattamento Alto Allattamento nel periodo di allattamento
high energy supply during the suckling period
- ARN**ácido ribonucleico
acido ribonucleico
ribonucleic acid
- ARNm**.....ácido ribonucleico mensajero
acido ribonucleico messaggero
messenger ribonucleic acid
- B**tratamiento Bajo de la primera fase de la recría (entre el destete y los 5 meses de edad)
trattamento Basso nella prima fase di crescita (tra lo svezzamento ed i 5 mesi di vita)
low energy supply during the rearing period (from weaning to 5 months of age)
- bST**.....somatotropina bovina
somatotropina bovina
bovine somatotropin
- CC**.....condición corporal
condizione corporea
body condition score
- EB**energía bruta
energia grezza
gross energy
- eed**.....error estándar de la diferencia
errore standard della differenza
standard error of the difference
- FAD**fibra ácido detergente
fibra acido deterosa
acid-detergent fibre
- FCM**.....leche corregida para el contenido en grasa
latte normalizzato
fat corrected milk
- FGA**acetato de fluorogestona
fluorogestone acetato
fluorogestone acetate

- FND**.....fibra neutro detergente
fibra neutro detergente
acid-detergent fibre
- GB**grasa bruta
estratto etereo
ether extract
- GDPV**.....ganancia diaria de peso vivo
incremento giornalero di peso vivo
live weight daily gain
- GH**.....hormona del crecimiento
ormone della crescita
growth hormone
- HU**unidades Hounsfield
unità Hounsfield
Hounsfield units
- IGF**factor de crecimiento tipo insulina
fattore di crescita insulina simile
insulina-like growth factor
- IGFBP**proteína de unión al factor de crecimiento tipo insulina
proteina di legame del fattore di crescita insulina simile
insulin-like growth factor binding protein
- L**efecto del nivel de ingestión durante el periodo de lactancia
effetto del livello di ingestione durante il periodo di allattamento
effect of the intake level during the suckling period
- M**tratamiento Medio de la primera fase de la recría (entre el destete y los 5 meses de edad)
trattamento Medio nella prima fase di crescita (tra lo svezzamento ed i 5 mesi di vita)
medium energy supply during the rearing period (from weaning to 5 months of age)
- MO**materia orgánica
sostanza organica
organic matter
- MS**materia seca
sostanza secca
dry matter
- P**probabilidad (nivel de significación)
probabilità (livello di significatività)
probability (significance level)
- PLEE**producción lechera estandarizada en energía
produzione di latte standardizzata in energia
energy corrected milk

- PNDR**..... proteína no degradable en el rumen
proteina non degradabile nel rumine
rumen undegradable protein
- PV** peso vivo
peso vivo
live weight
- PV^{0,75}** peso metabólico
peso metabolico
metabolic weight
- R**..... efecto del nivel de ingestión durante la primera fase de la recría (entre el destete y los 5 meses de edad)
effetto del livello di ingestione durante la prima fase di crescita (tra lo svezzamento ed i 5 mesi di vita)
effect of the intake level during the rearing period (from weaning to 5 months of age)
- Rs** tratamiento Restringido del periodo de lactancia
trattamento Restrizione nel periodo di allattamento
low energy supply during the suckling period
- RCS**..... recuento de células somáticas
contenuto in cellule somatiche
somatic cell count
- RMN** resonancia magnética nuclear
risonanza magnetica nucleare
nuclear magnetic resonance
- SNC**..... sistema nervioso central
sistema nervoso centrale
central nervous system
- TAC** tomografía axial computarizada
tomografia assiale computerizzata
computerized axial tomography
- UI** unidades internacionales
unità internazionali
international units

RESUMEN

El crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria es un factor determinante de la capacidad de producción de leche de los animales. Se sabe que en el ganado vacuno elevados niveles de ingestión de energía durante la etapa prepuberal pueden afectar negativamente a este desarrollo mamario y perjudicar, por tanto, la capacidad de producción de leche de los animales. Sin embargo, en el ganado ovino apenas existe información al respecto.

Por tanto, este trabajo de investigación se llevó a cabo con el objetivo general de estudiar, en corderas de raza Assaf Española, el efecto del nivel de ingestión de energía entre el nacimiento y los 5 meses de edad sobre el ritmo de crecimiento de los animales, el desarrollo de la glándula mamaria y la producción de leche en la primera lactación.

Para ello, se utilizaron 120 corderas de raza Assaf Española criadas en condiciones experimentales, de acuerdo con un diseño factorial 2x3, definido por 2 niveles de ingestión durante el periodo de lactancia [Alto Lactancia (AL: 1,5 MJ EB/kg PV^{0,75} y día) y Restringido (Rs: 0,9 MJ EB/kg PV^{0,75} y día)] y 3 niveles de ingestión entre el destete y los 5 meses de edad (primera fase de la recria) [Alto (A: pienso de recria suministrado ad libitum), Medio (M: 25 g de pienso/kg de peso vivo y día) y Bajo (B: 15 g de pienso/kg de peso vivo y día)]. Durante esta primera fase de la recria todos los animales dispusieron de paja de cebada a voluntad. Una vez concluida esta fase, los animales se alimentaron, independientemente del tratamiento previo, con una misma ración completa, suministrada ad libitum cuya composición se fue adaptando a los distintos periodos (entre los 5 meses de edad y el final de la primera lactación).

A lo largo de toda la prueba se controló semanalmente el peso vivo (PV) y la ingestión de alimento. Además, se estimó la composición de la glándula mamaria (volumen de los tejidos parenquimatoso y extraparenquimatoso) a los 5 y 10 meses de edad mediante tomografía axial computarizada (TAC), se utilizó la ecografía para valorar el área de la cisterna mamaria en el momento previo a la cubrición de las ovejas (pregestación), durante la gestación (a los 90 y 135 días) y a distintos intervalos de ordeño en la lactación (8, 14 y 22 horas posordeño), y se realizó un análisis morfométrico de la glándula mamaria mensualmente durante la fase de lactación (volumen, perímetro, anchura y profundidad de la ubre, altura de las cisternas y longitud, anchura y ángulo de inserción de los pezones). Así mismo, se analizó la concentración sérica de las hormonas GH (hormona del

crecimiento), IGF-I (factor de crecimiento tipo insulina), insulina y prolactina en el momento del destete, a los 5 y 10 meses de edad y al inicio de la lactación. Además, a lo largo de la primera lactación se controló la producción de leche y se determinó su composición (grasa, proteína, lactosa y extracto seco).

Como consecuencia del propio diseño experimental, el PV de los animales en el momento del destete, fijado para unos mínimos de edad, PV e ingestión de alimento sólido, fue diferente entre tratamientos ($P < 0,001$; con medias de 17,8 y 13,7 kg para los grupos AL y Rs, respectivamente) al igual que ocurrió con las ganancias diarias de PV (GDPV; 250 y 208 g/día; $P < 0,001$). En ninguna de las fases posteriores se observaron diferencias significativas ($P > 0,10$) ni en la ingestión de materia seca (MS) ni en la GDPV o el PV relacionadas con el nivel de alimentación recibido durante la lactancia, debido probablemente al enmascaramiento de este efecto por los niveles de ingestión de concentrado fijados para la primera fase de la recría.

Durante esta primera fase de la recría, y debido también al diseño experimental, tanto la GDPV de los animales como el PV final fueron significativamente diferentes entre tratamientos ($P < 0,001$), situándose la GDPV en valores de 261, 161 y 105 g/animal y día y el PV final en 42,2; 32,8 y 26,1 kg para los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Ni en la segunda fase de la recría (comprendida entre los 5 y los 10 meses de edad) ni en los periodos de gestación y lactación se observaron diferencias ($P > 0,10$) entre tratamientos en los valores medios de ingestión de ración completa, siendo estos de 1,76; 1,58 y 2,34 kg MS/animal y día para cada uno de los tres periodos, respectivamente. A pesar de esto, durante la segunda fase de la recría, los animales del tratamiento B tuvieron un ritmo de crecimiento un 8% superior a los del tratamiento M y estos últimos, a su vez, un 28% superior a los del tratamiento A ($P < 0,001$). Estas diferencias en la GDPV podrían deberse, por una parte, a la mayor capacidad de ingestión de los animales de los tratamientos M y B en función de su tamaño corporal, relacionado posiblemente con el elevado consumo de paja de cebada que presentaron durante la fase anterior. Por otra parte, podría también ser debido a unas menores necesidades de mantenimiento de estas corderas (M y B) como consecuencia de su menor PV, lo que unido al motivo anterior (mayor ingestión) pudo dar lugar a la manifestación de un crecimiento compensatorio.

Sin embargo, y pese a las diferencias observadas en la GDPV de las corderas entre los 5 y los 10 meses de edad, en el momento de la cubrición (10 meses de edad) el PV de

los animales todavía presentaba diferencias entre tratamientos (70,3; 64,4 y 58,9 kg en los grupos A, M y B, respectivamente; $P < 0,01$). Ni al final de la gestación ni en el momento del secado, el PV varió entre tratamientos ($P > 0,10$), alcanzando un valor medio de 83,6 y 78,0 kg para cada una de las fases.

La diferente GDPV de los animales durante la primera fase de la recría supuso que, tanto a los 5 como a los 10 meses de edad, el volumen total de la glándula mamaria y el del tejido extraparenquimatoso (estimados mediante TAC) fuesen diferentes entre tratamientos ($P < 0,001$), mientras que el del tejido parenquimatoso sólo lo fue a los 10 meses de edad ($P < 0,05$). En todos los casos, el mayor volumen se observó en los animales del tratamiento A, lo cual podría deberse, en parte, al mayor PV de estas corderas en ambos momentos. A pesar de esto, a los 5 meses de edad el porcentaje de parénquima mamario era superior ($P < 0,001$) en los animales del tratamiento B de la fase de recría (13, 19 y 38% para los tratamientos A, M y B, respectivamente) mientras que estas diferencias desaparecieron a los 10 meses de edad. Por el contrario, el volumen de tejido extraparenquimatoso en este momento fue un 38% menor en los animales del tratamiento B respecto a los otros dos (340, 293 y 196 cm³ para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente; $P < 0,01$).

El tratamiento recibido durante la fase de lactancia no ocasionó diferencias en el área de la cisterna mamaria en ninguna de las fases en que esta fue controlada ($P > 0,10$). Sin embargo, en el momento previo a la sincronización de la ovulación se observó una mayor área cisternal ($P < 0,01$) en los animales pertenecientes al tratamiento A de la fase de recría (0,60 cm²) respecto a los animales del tratamiento B (0,29 cm²), presentando los del tratamiento M un valor intermedio (0,34 cm²). Los bajos valores observados en el área de la cisterna mamaria podrían deberse al hecho de que la principal función de esta estructura es la de permitir el acúmulo de la leche secretada por el animal durante el intervalo entre dos ordeños, y en este momento de la vida del animal no existía secreción láctea. Por otra parte, las diferencias entre tratamientos podrían explicarse por el distinto volumen total de glándula mamaria señalado en el apartado anterior.

No se observaron tampoco diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,10$) en el área cisternal ni a los 90 ni a los 135 días de gestación (0,54 y 3,57 cm², respectivamente), ni durante la lactación (con valores medios de 37,8; 43,4 y 48,3 cm² a las 8, 14 y 22 horas posordeño, respectivamente). El incremento observado en el área de la cisterna mamaria a

medida que se acerca el momento del parto o que aumenta el intervalo entre dos ordeños concuerda lógicamente con su función para la acumulación de la leche.

Por lo que se refiere a la morfología mamaria durante la lactación, únicamente se observaron diferencias significativas en el perímetro de la ubre en el primer mes, cuando el mayor valor correspondió a los animales del tratamiento A de la fase de recría (56, 51 y 52 cm en los tratamientos A, M y B, respectivamente; $P < 0,05$). El resto de parámetros morfológicos no mostró diferencias significativas ($P > 0,10$), referidas a ninguno de los dos efectos principales, en ninguno de los momentos de la lactación en que se controlaron, lo cual podrían relacionarse con la ausencia de diferencias en la producción de leche a lo largo de la lactación. En este sentido, se observaron correlaciones positivas entre la producción de leche y la mayoría de los parámetros definitorios de la morfología externa de la ubre, aunque no con los relativos a los pezones.

En relación al perfil hormonal, en el momento del destete únicamente se encontraron diferencias significativas ($P < 0,01$) debidas al nivel de ingestión en la concentración de IGF-I (437 y 314 ng/ml para los animales de los tratamientos AL y Rs, respectivamente). Esta hormona también mostró diferencias entre tratamientos, al igual que la insulina, a los 5 meses de edad ($P < 0,01$), siendo mayor la concentración de ambas cuanto mayor había sido la cantidad de pienso ingerida por los animales. La GH únicamente mostró diferencias significativas debidas al tratamiento recibido durante la fase de recría a los 10 meses de edad (5,5; 7,2 y 6,8 ng/ml para los tratamientos A, M y B, respectivamente; $P < 0,05$) y al inicio de la fase de lactación ($P < 0,01$), donde el mayor valor correspondió a los animales del tratamiento B (6,6 ng/ml). Para la prolactina se observaron unos valores medios de 224, 219 y 305 ng/ml en los tratamientos A, M y B, respectivamente ($P < 0,001$) durante la lactación, mientras que en el resto de las fases no se observaron diferencias significativas ($P > 0,10$), tal y como cabría esperar dada su función lactogénica y galactopoyética.

El tratamiento recibido por los animales durante la lactancia no afectó significativamente ($P > 0,10$) ni a la fertilidad ni a la prolificidad de los animales, con tasas muy próximas al 80% y al 160%, respectivamente. Sin embargo, la ingestión de alimento durante la primera fase de la recría, aunque tampoco provocó diferencias en la prolificidad ($P > 0,10$), sí dio lugar a una tasa de fertilidad mayor ($P < 0,05$) en los animales del tratamiento B (90%), lo que podría estar relacionado con una mayor disponibilidad de progestágeno en estas corderas, ya que aunque presentaban un menor PV y condición

corporal en el momento de la sincronización de la ovulación, a todas se les aplicó la misma dosis de FGA (acetato de fluorogestona, 80 mg).

Ninguno de los tratamientos a los que fueron sometidos los animales durante las fases de lactancia y recría provocó diferencias en la producción de leche medida cada semana, observándose un valor medio de 1,59 y 0,76 kg/animal y día para las fracciones de leche ordeño y residual, respectivamente ($P>0,10$). Tampoco la estimación de la producción de leche normalizada a 150 días de ordeño y la persistencia de la lactación fueron significativamente diferentes ($P>0,10$) entre tratamientos, siendo los valores medios para estos parámetros 260 kg/animal y -22,9 g/semana, respectivamente. De acuerdo con estos resultados, parece que las variaciones observadas en la composición de la glándula mamaria a los 5 y los 10 meses de edad no se mantuvieron durante la lactación, lo cual ocasionó que no se observasen diferencias significativas en ninguno de los parámetros relativos a la producción de leche. De la misma manera, tampoco la composición de la leche fue diferente entre tratamientos ($P>0,10$), ni en el porcentaje de cada uno de sus componentes (grasa, proteína, lactosa y extracto seco) ni, lógicamente, en la cantidad producida diariamente de cada uno de ellos, ya fuera en la fracción de leche ordeño o residual.

Como conclusión final, podría decirse que en corderas de raza Assaf Española el nivel de ingestión de energía desde el nacimiento hasta los 5 meses de edad, aunque influye tanto en el crecimiento de los animales como en el desarrollo de la glándula mamaria, al menos hasta los 10 meses de edad, no afecta ni a la producción ni a la composición (grasa, proteína, lactosa y extracto seco) de la leche durante la primera lactación.

A pesar de que se trata de estudios preliminares, parece que la producción de leche de las corderas de raza Assaf Española no se ve afectada por el nivel de ingestión de concentrado durante la fase previa a la pubertad, por lo que no sería recomendable, teniendo en cuenta el actual precio de las materias primas para la alimentación del ganado, que los animales dispongan del alimento concentrado ad libitum. Además, ritmos de crecimiento moderados (en torno a 150 g/día, logrados con el tratamiento M) permiten que se alcance el PV adecuado para la cubrición a una edad temprana (8-9 meses) y no se alargue el periodo no productivo de los animales.

RIASSUNTO

L'accrescimento e lo sviluppo della ghiandola mammaria sono fattori determinanti della capacità di produzione del latte degli animali. Si è visto nei bovini che, elevati livelli di ingestione di energia durante il periodo prepuberale possono influenzare negativamente lo sviluppo mammario e, in questo modo, ridurre la capacità di produzione del latte degli animali. Negli ovini gli studi effettuati in questo senso sono pochi e frammentari.

Lo scopo di questo lavoro di ricerca è stato quello di studiare in agnelle di razza Assaf Spagnola l'effetto del livello di energia ingerita tra la nascita ed i 5 mesi di vita sull'accrescimento degli animali, sullo sviluppo della ghiandola mammaria e sulla produzione di latte nella prima lattazione.

Per raggiungere questo obiettivo sono state utilizzate 120 agnelle di razza Assaf Spagnola allevate con un disegno sperimentale fattoriale 2x3, definito da 2 livelli di ingestione di succedaneo del latte nel periodo di allattamento ["Alto" (AL: 1,5 MJ EB/kg PV^{0,75} al giorno) e "Ristretto" (Rs: 0,9 MJ EB/kg PV^{0,75} al giorno)] e 3 livelli di ingestione di mangime tra lo svezzamento e i 5 mesi di età (prima fase della crescita) ["Alto" (A: mangime di rimonta somministrato ad libitum), "Medio" (M: 25 g di mangime/kg PV al giorno) e "Basso" (B: 15 g di mangime/kg PV al giorno)]. Durante questa prima fase della crescita tutti gli animali avevano a disposizione paglia di orzo ad libitum. Dopo il compimento dei 5 mesi di età tutti gli animali sono stati alimentati, indipendentemente dal trattamento precedente, con la stessa "total mixed ration" somministrata ad libitum e con una composizione adeguata ai loro fabbisogni produttivi.

Per tutto il periodo sperimentale, è stato controllato settimanalmente il peso vivo e l'ingestione di tutti gli animali. Inoltre, è stata stimata la composizione tessutale della ghiandola mammaria (volume dei tessuti parenchimatico ed extraparenchimatico) a 5 e 10 mesi di età mediante tomografia assiale computerizzata (TAC), è stata utilizzata la tecnica ecografica per valutare l'area della cisterna mammaria prima dell'accoppiamento delle agnelle (pregestazione), nel corso della gestazione (a 90 e 135 giorni) e durante la lattazione (8, 14 e 22 ore postmungitura) ed è stata eseguita l'analisi morfometrica della ghiandola mammaria con una frequenza mensile durante la fase di lattazione (volume, perimetro, larghezza e profondità della mammella, altezza delle cisterne e lunghezza, larghezza e angolo di inserzione dei capezzoli). Inoltre, è stata analizzata la concentrazione serica degli ormoni GH (ormone della crescita), IGF-I (fattore di crescita insulino simile),

insulina e prolattina allo svezzamento, a 5 e 10 mesi di età ed all'inizio della fase di lattazione. Durante la prima lattazione è stata controllata la produzione del latte e determinata la sua composizione (grasso, proteina, lattosio e residuo secco).

Come previsto dal disegno sperimentale, il PV degli animali al momento dello svezzamento, fissato per valori minimi di età, peso vivo ed ingestione di alimento solido, è stato differente tra i trattamenti ($P < 0,001$; pari a 17,8 e 13,7 kg per i trattamenti AL e Rs, rispettivamente) e simile a quello osservato nell'incremento giornalero di PV (250 e 208 g/giorno; $P < 0,001$).

In nessuna delle fasi successive sono state osservate differenze significative ($P > 0,10$) sia per quanto riguarda all'ingestione di sostanza secca (MS) che all'accrescimento e il PV in risposta alla quantità di alimento ricevuta dagli animali nel periodo di allattamento. Probabilmente, questo risultato è imputabile ai livelli di ingestione di concentrato fissati per la prima fase della crescita i quali hanno reso poco evidenti gli effetti delle diverse quantità di alimento somministrate durante il periodo suddetto.

Durante questa prima fase della crescita, e dovuto anche al disegno sperimentale, sia l'accrescimento giornalero degli animali che il PV alla fine di questa fase sono stati significativamente diversi tra trattamenti ($P < 0,001$), essendo l'accrescimento giornalero di 261, 161 e 105 g/capo e giorno ed il PV finale di 42,2; 32,8 e 26,1 kg per i trattamenti A, M e B, rispettivamente.

Nella seconda fase della crescita (compresa tra i 5 ed i 10 mesi di età) e nei periodi di gestazione e di lattazione non sono state osservate differenze significative ($P > 0,10$) tra i trattamenti nei valori medi di ingestione di "total mixed ration", essendo questi di 1,76; 1,58 e 2,34 kg MS/capo al giorno per ognuno dei tre periodi, rispettivamente. Nonostante questo, durante la seconda fase di crescita, gli animali appartenenti al trattamento B hanno mostrato un ritmo di accrescimento dell' 8% superiore a quelli del trattamento M, mentre questi ultimi hanno evidenziato un accrescimento del 28% superiore a quello del trattamento A ($P < 0,001$). Queste differenze nell'incremento giornalero di PV potrebbero essere dovute, in parte, alla maggiore capacità di ingestione degli animali dei trattamenti M e B in relazione alla loro dimensione corporea, come conseguenza, probabilmente, dell'elevata ingestione di paglia di orzo di questi animali nella fase precedente. Oppure, potrebbe essere dovuta ai più bassi fabbisogni di mantenimento delle agnelle dei

trattamento M e B come conseguenza del loro più basso PV, che unito al fattore suddetto (maggiore ingestione) ha comportato il manifestarsi dell'accrescimento compensativo.

Tuttavia, nonostante le differenze osservate nell'accrescimento giornalero delle agnelle tra i 5 e i 10 mesi di età, al momento dell'accoppiamento (10 mesi di età) il PV degli animali era ancora diverso tra i trattamenti (70,3; 64,4 e 58,9 kg nei trattamenti A, M e B, rispettivamente; $P < 0,01$). Né alla fine della gestazione né al momento dell'asciutta il PV è stato diverso tra i trattamenti ($P > 0,10$), raggiungendo un valore medio pari a 83,6 e 78,0 kg rispettivamente.

Il differente incremento giornalero di PV degli animali durante la prima fase della crescita ha comportato che sia a 5 che a 10 mesi di età, il volume totale della ghiandola mammaria e quello del tessuto extraparenchimatico siano stati differenti tra trattamenti ($P < 0,001$), mentre il tessuto parenchimatico è stato diverso soltanto a 10 mesi di età ($P < 0,05$). In tutti i casi, il maggiore volume è stato osservato per gli animali del trattamento A, e questo potrebbe essere dovuto, in parte, al più alto PV di queste agnelle in entrambi i periodi. Nonostante questo, a 5 mesi di età la percentuale di parenchima mammario è stato maggiore ($P < 0,001$) negli animali del trattamento B della fase di crescita (13, 19 e 38% per i trattamenti A, M e B, rispettivamente) mentre queste differenze sono scomparse ai 10 mesi di età. Al contrario, il volume di tessuto extraparenchimatico in questo momento è stato del 38% minore negli animali del trattamento B rispetto agli altri due (340, 293 e 196 cm³ per gli animali dei trattamenti A, M e B, rispettivamente; $P < 0,01$).

Il trattamento ricevuto durante la fase di allattamento non ha provocato differenze nell'area della cisterna mammaria in nessuna delle fasi in cui è stato eseguito il controllo ($P > 0,10$). Tuttavia, nel momento precedente alla sincronizzazione dell'ovulazione è stata osservata una maggiore area cisternale ($P < 0,01$) negli animali appartenenti al trattamento A della fase di crescita (0,60 cm²) rispetto a quelli del trattamento B (0,29 cm²), mentre gli animali appartenenti al trattamento M hanno mostrato un valore intermedio (0,34 cm²). I bassi valori osservati nell'area della cisterna mammaria potrebbero essere dovuti al fatto che in questa fase della vita dell'animale non è presente secrezione lattea in quanto la funzione principale della cisterna è quella di permettere l'accumulo del latte secreto dall'animale nell'intervallo tra due mungiture consecutive. Inoltre, le differenze tra i trattamenti potrebbero spiegarsi con il diverso volume totale della ghiandola mammaria indicato nel punto precedente.

Non sono state osservate inoltre differenze statisticamente significative ($P>0,10$) nell'area cisternale né a 90 giorni né a 135 giorni di gestazione (0,54 e 3,57 cm², rispettivamente), e neanche durante il periodo di lattazione (con valori medi di 37,8; 43,4 e 48,3 cm² alle 8, 14 e 22 ore postmungitura, rispettivamente). L'incremento osservato nell'area della cisterna mammaria nel periodo prossimo al parto o nel momento in cui è stato aumentato l'intervallo tra mungiture è conforme alla sua funzione di accumulo del latte.

Riguardo alla morfologia mammaria nel periodo di lattazione, sono state osservate differenze significative fra i gruppi soltanto nel perimetro della mammella nel primo mese, quando il valore più alto è stato registrato negli animali del trattamento A (56, 51 e 52 cm nei trattamenti A, M e B, rispettivamente; $P<0,05$). Non sono state osservate differenze significative ($P>0,10$) negli altri parametri morfologici come risultato della diversa ingestione di energia sia nel periodo di allattamento che in quello di crescita e in nessuno dei momenti delle fasi della lattazione in cui sono stati controllati, e che potrebbe essere relazionato con l'assenza di differenze nella produzione di latte nel corso della lattazione. In questo senso, sono state osservate correlazioni positive tra la produzione del latte e i parametri che definiscono la morfologia mammaria, ma non in referento ai capezzoli.

In relazione al profilo ormonale, soltanto allo svezzamento il livello di ingestione ha comportato differenze significative ($P<0,01$) nella concentrazione di IGF-I (437 e 314 ng/ml per gli animali dei trattamenti AL e Rs, rispettivamente). L'IGF-I e l'insulina sono stati influenzati positivamente dal trattamento alimentare a 5 mesi di età ($P<0,01$) e come conseguenza dell'alimentazione tra lo svezzamento e questo periodo è stata osservata una correlazione positiva tra la concentrazione dei due ormoni e la quantità di mangime ingerita dagli animali. Per quanto riguarda il GH questo ormone ha mostrato differenze significative ($P<0,05$) dovute al trattamento ricevuto soltanto durante la prima fase della crescita ai 10 mesi di età (5,5; 7,2 e 6,8 ng/ml per i trattamenti A, M e B, rispettivamente) e all'inizio della fase di lattazione ($P<0,01$), dove il valore più alto è stato registrato per gli animali del trattamento B (6,6 ng/ml). Per la prolattina sono stati osservati valori di 224, 219 e 305 ng/ml per gli animali dei trattamenti A, M e B, rispettivamente ($P<0,001$) durante la fase di lattazione, mentre nel resto delle fasi non sono state trovate differenze significative ($P>0,10$).

Il trattamento a cui sono stati sottoposti gli animali durante il periodo di allattamento non ha causato differenze significative ($P>0,10$) né sulla fertilità degli animali né sulla prolificità, con percentuali vicine al 80% ed al 160%, rispettivamente. Tuttavia, la quantità di alimento ricevuto dagli animali durante la prima fase della crescita, anche se non ha comportato differenze sulla prolificità, ha influenzato positivamente il tasso di fertilità ($P<0,05$) negli animali del trattamento B (90%). Quest'ultimo effetto potrebbe essere posto in relazione con una maggiore disponibilità di progestagene in queste agnelle, alle quali, nonostante mostrassero un PV e una più bassa condizione corporea alla sincronizzazione dell'ovulazione, a tutte è stata applicata la stessa dose di FGA (fluorogestone acetato, 80 mg).

Nessuno dei trattamenti a cui sono state sottoposti gli animali durante l'allattamento e la crescita ha provocato differenze nella produzione del latte, con un valore medio di 1,59 e 0,76 l/capo al giorno per le frazioni di latte munto e di latte residuale, rispettivamente ($P>0,10$). La stima della produzione di latte in 150 giorni di mungitura e la persistenza della lattazione non sono state diverse ($P>0,10$) tra i trattamenti di allattamento e crescita, mostrando valori medi per questi parametri di 260 kg/capo e -22,9 g/capo e settimana, rispettivamente. Questi risultati mostrano che le variazioni osservate nella composizione della ghiandola mammaria a 5 e 10 mesi di età non sono state mantenute durante la lattazione, e questo ha comportato che non siano state osservate differenze significative in nessuno dei parametri relativi alla produzione del latte. Allo stesso modo, la composizione del latte non è stata diversa tra trattamenti ($P>0,10$), non sono state riscontrate differenze né sulle percentuali di ognuno dei componenti (grasso, proteina, lattosio e residuo secco) né sulla quantità prodotta, sia nella frazione di latte munto che su quella residuale.

Concludendo, si può affermare che in agnelle di razza Assaf Spagnola il livello di ingestione di energia tra la nascita ed i 5 mesi di vita anche se ha influenzato sia l'accrescimento degli animali sia lo sviluppo della ghiandola mammaria almeno fino ai 10 mesi di età, non ha prodotto effetti significativi sulla quantità e sulla qualità (grasso, proteina, lattosio e residuo secco) del latte prodotto durante la prima lattazione.

Anche se si tratta di uno studio preliminare, è risultato evidente che la produzione di latte delle agnelle di razza Assaf Spagnola non viene influenzata dal livello di ingestione di concentrato nel periodo prepuberale, durante il quale, pertanto, non sarebbe raccomandabile, in considerazione anche dei costanti aumenti di prezzo ai quali sono

sottoposte le materie prime utilizzate per l'alimentazione del bestiame, la somministrazione ad libitum dei concentrati agli animali di rimonta. Inoltre, ritmi di accrescimento moderati (circa 150 g/giorno ottenuti con il trattamento M) permettono di raggiungere il PV adeguato per l'accoppiamento ad un'età compresa fra gli 8-9 mesi e, di conseguenza, di non allungare il periodo non produttivo degli animali.

SUMMARY

The growth and development of the mammary gland are determinant factors of the animals' milk production capacity. In cattle, it is known that a high energy intake during the prepuberal period can reduce the mammary gland growth and, consequently, impair the milk production. However, there is a shortage of information referring to sheep.

This research study was therefore proposed with the aim to investigate, in Spanish Assaf ewe lambs, the effect of different levels of energy intake, from birth to 5 months of age, on animals' growth rate, mammary gland development and milk production in the first lactation.

One hundred and twenty Spanish Assaf ewe lambs were randomly assigned to different experimental treatments according to a 2×3 factorial design: 2 levels of intake during the suckling period [High (AL: 1,5 MJ EB/kg PV^{0,75} and day) and Low (Rs: 0,9 MJ EB/kg PV^{0,75} and day)] and 3 levels of concentrate intake, from weaning to 5 months of age (first phase of the rearing period) [High (A: concentrate *ad libitum*), Medium (M: 25 g of concentrate/kg live weight and day) and Low (B: 15 g of concentrate/kg live weight and day)]. During this phase, barley straw was offered *ad libitum* to all the animals. From 5 months of age onwards, all animals were fed *ad libitum*, regardless of previous treatment, with the same total mixed ration, which composition was adapted for the different periods (from 5 months of age to the end of the first lactation).

Throughout the whole experiment, both live weight and feed intake were weekly recorded. At 5 and 10 months of age, mammary gland composition (volume of the parenchymal and extraparenchymal tissues) was estimated by computed tomography and the ultrasonography was used to assess the mammary cistern area just before the pregnancy, at 90 and 135 days of pregnancy, and at different milking intervals during the lactation (8, 14 and 22 hours post milking). A morphometric analysis of the mammary gland was carried out during the lactation (udder volume, circumference, width and depth, cisterns height, and teats length, width and insertion angle). Moreover, the serum concentrations of the hormones GH (growth hormone), IGF-I (insulin-like growth factor), insulin and prolactin were determined at weaning, at 5 and 10 months of age and at the beginning of the lactation phase. In addition, during the first lactation, milk production and composition (fat, protein, lactose and total solids) were also studied.

As a result of the experimental design, at weaning (fixed for a minimum live weight, age and solid intake), the live weight of the animals (mean values of 17.8 and 13.7 kg for treatments AL and Rs, respectively) and the daily gains of live weight (250 and 208 g/day) differed between treatments ($P < 0.001$). However, no differences related to the level of intake during the suckling period were observed later on ($P > 0.01$) for either the dry matter intake, the daily gain or the live weight, which was probably due to the fact that the levels of concentrate intake fixed for the first phase of the rearing period, masked this effect.

During this first phase of the rearing period, and also due to the experimental design, both the daily gain and the live weight at the end of the phase were significantly different among treatments ($P < 0.001$), with daily gain values of 261, 161 and 105 g/animal and final live weights of 42.2, 32.8 and 26.1 kg for treatments A, M and B, respectively.

The total mixed ration intake was similar ($P > 0.10$) among treatments during the second phase of the rearing (from 5 to 10 months of age) and the pregnancy and lactation periods (1.76, 1.58 and 2.34 kg MS/animal and day, respectively for each of the three periods). Despite this, during the second phase of the rearing period, the animals on treatment B showed an 8% greater growth rate than those on treatment M, and the latter a 28% greater rate than those on treatment A ($P < 0.001$). These differences in the live weight daily gain might be due, on the one hand, to the higher capacity of intake of the animals on treatments M and B, in relation to their body size, possibly related to the high intake of barley during the previous phase. On the other hand, they may be due to the lower maintenance requirements of these lambs (M and B) as a consequence of their also lower live weight, which, together with the previous reason (the greater ingestion), may have given rise to a compensatory growth.

Nevertheless, in spite of the differences observed in the ewe lambs' live weight daily gain between 5 and 10 months of age, the live weight at mating (10 months of age) was still different among treatments (70.3, 64.4 and 58.9 kg for groups A, M and B, respectively; $P < 0.01$). Neither at the end of the pregnancy nor at the moment of the dry-off the live weight varied among treatments ($P > 0.10$), showing mean values of 83.6 and 78.8, respectively.

The different live weight daily gain during the first phase of rearing meant that the mammary gland and extraparenchymal tissue volumes (estimated by TAC) differed among treatments ($P < 0.001$) at 5 and 10 months of age, while the volume of parenchymal tissue

was only different at 10 months of age ($P>0.05$). In all cases, the greater volume was observed for the animals on treatment A, which may be accounted for, at least partly, by the greater live weight of these lambs at both moments. Despite that, the percentage of mammary parenchyma at 5 months of age was greater ($P<0.001$) for the animals on treatment B (13, 19 and 38% for treatments A, M and B, respectively), while these differences disappeared at 10 months of age. On the contrary, at that moment, the volume of extraparenchymal tissue was 38% lower for the animals on treatment B compared with the other two (340, 293 and 196 cm³ for treatments A, M and B, respectively; $P<0.01$).

The level of intake during the suckling period did never cause differences in the cistern area ($P>0.10$). However, just before the beginning of the pregnancy, a greater cistern area was observed ($P<0.01$) in animals on the treatment A of the rearing period (0.60 cm²) compared with the animals on treatment B (0.29 cm²), those on treatment M showing an intermediate value (0.34 cm²). The low values observed in the area of the mammary cistern are probably due to the fact that the principal function of this structure is to accumulate the milk secreted by the animal during the milking interval and, at that moment, there was no milk secretion. The differences among treatments might also be explained by the different volume of the mammary gland indicated previously.

The cistern area was not significantly affected ($P>0.10$) at 90 and 135 days of pregnancy (0.54 and 3.57 cm², respectively) or during the lactation (with mean values of 37.8, 43.4 and 48.3 cm², at 8, 14 and 22 hours post-milking, respectively). The increase observed for the cisternal area as the lambing approaches or the milking interval increases is consistent with its milk accumulation function.

The udder morphological measurements conducted during the lactation period did not show significant differences ($P>0.10$) between treatments, except for the mammary circumference at the first month of lactation, which showed greater values in the animals on the treatment A of the rearing period (56, 51 and 52 cm for treatments A, M and B, respectively; $P<0.05$). None of the other morphological traits showed significant differences associated to the two main variation factors, during the lactation ($P>0.10$), which was probably related to the absence of differences in milk production throughout the lactation. In this respect, positive correlations were observed among the milk production and most of the traits defining the external morphology of the udder, but not with those related to the teats.

Regarding the hormonal profile, significant differences ($P < 0.01$) at weaning were only observed for the IGF-I concentration (437 and 314 ng/ml for the animals on treatments AL and Rs, respectively). This hormone, as well as the insulin, were also different at 5 months of age ($P < 0.01$), as a consequence of the level of intake from the weaning to that moment: the greater the level of concentrate intake, the higher their levels. GH only showed significant differences ($P < 0.05$), due to the treatments during the rearing period, at 10 months of age (5.5, 7.2 and 6.8 ng/ml for A, M and B, respectively) and at the beginning of the lactation ($P < 0.01$), when the greatest value corresponded to the animals on treatment B (6.6 ng/ml). During the lactation, the prolactin presented mean concentrations of 224, 219 and 305 ng/ml for treatments A, M and B, respectively ($P < 0,001$). Nevertheless, given the lactogenic and galactopoietic function of this hormone, differences were neither expected nor observed at any other phase ($P > 0.10$).

The treatment received by the animals during the suckling period did not significantly affect ($P > 0.10$) their fertility or prolificacy, with rates close to 80% and 160%, respectively. The amount of feed consumed during the first phase of the rearing period did not cause differences in prolificacy either ($P > 0.10$). However, it resulted in a greater fertility ($P < 0.05$) in the animals on treatment B (90%), which may be related to a greater availability of progestagen by these ewe lambs because, even though they presented a lower live weight and body condition score at the ovulation synchronization, the same dose of FGA (fluorogestone acetate, 80 mg) was administered to all the animals.

No treatment during the suckling and the rearing period caused differences in the milk production measured weekly and the mean values observed for the milking and residual fractions were 1.59 and 0.76 kg/animal and day, respectively ($P > 0.10$). The daily milk production estimated for 150 days of lactation or the persistency of lactation were not significantly different ($P > 0.10$) among treatments either, the mean values for these parameters being 260 kg/animal and -22.9 g/week, respectively. In agreement with these results, it seems that the variations observed in the mammary gland composition at 5 and 10 months of age were not maintained during lactation, which would explained that no significant differences in the milk production parameters were observed. In line with that, the milk composition was not different among treatments ($P > 0.10$) either. Neither the percentage nor the daily yield of each component (fat, protein, lactose and total solids) was different in the milking or the residual milks.

By means of conclusion, it may be stated that, in Spanish Assaf ewe lambs, even though the level of energy intake from birth to 5 months of age affects the animals' growth and the mammary gland development, at least until 10 months of age, it does not affect the milk production and composition (fat, protein, lactose and total solids) during the first lactation.

Although these are preliminary results, it seems that, in Spanish Assaf ewe lambs, the level of concentrate intake during the prepuberal period does not influence their milk production. Therefore, taking into account the present price of the prime matters used in livestock feeding, it would not be advisable that the animals were offered the concentrate *ad libitum*. In addition, moderate growth rates (around 150 g/day, achieved with the treatment M) would allow to reach the suitable live weight for mating at an early age (8-9 months) and would not prolong the animals' non-productive period.

I. INTRODUCCIÓN

Históricamente, el ganado ovino ha sido la base principal de la ganadería española dadas las particularidades climatológicas, orográficas y edafológicas de nuestro país. De hecho, el ganado ovino constituyó el germen de la más poderosa organización ganadera de todos los tiempos, el Honrado Concejo de la Mesta, vertebrador del país y motor de la economía española durante prolongados periodos.

En la actualidad, el sector ovino sigue siendo muy importante en España, lo que queda reflejado por los 22,5 millones de animales de esta especie presentes en nuestro país (MAPA, 2007c), siendo Castilla y León la segunda comunidad autónoma en lo que a censo total de ganado ovino se refiere (19,3%) y la primera en ganado ovino de producción lechera, con 1 674 999 cabezas (el 51,6% del censo nacional). La producción de leche de oveja en nuestro país se situó en torno a las 410 000 Tn en el año 2005 (MAPA, 2007a), de las cuales más del 60% se produjo en Castilla y León (250 000 Tn).

Este tipo de producción ganadera está sufriendo, en los últimos tiempos, un profundo cambio, especialmente en el modelo de producción (Lavín, 1996; Hidalgo, 1999), experimentando una creciente profesionalización y un aumento de la dimensión de las explotaciones, unido a una desaparición progresiva de las de pequeño tamaño, principalmente por su escasa rentabilidad y por la dificultad de renovación de la mano de obra (MAPA, 2007b). En la actualidad, la explotación de ganado ovino lechero se está convirtiendo en una actividad ganadera rentable, entre otras razones, por el aumento de los rendimientos lecheros por animal debidos, por ejemplo, a la respuesta positiva a programas de mejora genética sobre razas autóctonas y a la introducción de razas foráneas de aptitud lactopoyética (Díez et al., 2001; Lavín et al., 2001; MAPA, 2007b).

Actualmente, la mayor parte de la producción ovina de leche en Castilla y León tiene lugar con ovejas de raza Assaf, de gran producción lechera, que se han ido implantando durante las últimas décadas, mediante cruzamientos por absorción de las razas Churra (Lavín, 1996; San Primitivo y de la Fuente, 2000) y Castellana (Alonso et al., 2001; Mantecón y Lavín, 2001), tradicionales en esta comunidad. Además del cambio racial, el incremento en la producción individual ha llevado consigo cambios en los sistemas de manejo y alimentación y se han establecido programas de mejora con el apoyo de instituciones regionales.

La raza Assaf es una raza de origen híbrido obtenida en Israel en la década de los cincuenta como resultado del cruzamiento de ovejas Awassi con moruecos Milchscaf, y posteriormente reproducida por nuevos cruzamientos de los descendientes (Epstein, 1985; Goot, 1986) valorados durante 15 años. La Assaf es ahora la principal raza lechera en Israel (Martínez et al., 1999) y ha sido exportada a muchos otros países, entre ellos España, donde fue reconocida en el año 2003 de forma oficial en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Orden APA/2420/2003 de 28 de agosto, Boletín Oficial del Estado de 5 de septiembre de 2003).

La implantación de la raza Assaf en nuestro país puede ser explicada por su competitividad en términos productivos y económicos en comparación con las razas autóctonas (Lavín et al., 1997; Ugarte et al., 2001) y, de hecho, ha contribuido a una mejora de las explotaciones lecheras en estos aspectos, pese a que en general no es todavía muy amplia la información de la que se dispone sobre esta raza en nuestro entorno (Martínez et al., 1999).

Por lo que se refiere a los animales jóvenes, la lactancia de las corderas, al igual que toda la fase de recría, siempre ha sido una etapa dentro de la vida del animal a la que se le ha concedido poca importancia, a pesar de la influencia que estos animales pueden ejercer sobre la producción de las explotaciones, ya que se trata de las futuras productoras de leche.

En lo que concierne al periodo anterior al destete de los animales, en los últimos años está aumentando el interés práctico de la lactancia artificial de los corderos, debido, por una parte, a la explotación de razas más prolíficas y con programas de selección y manejo que permiten el acortamiento del ciclo productivo (Heaney et al., 1982) y, por otra, a una intensificación de las explotaciones, en las que los corderos son separados de las ovejas a una edad temprana para así incrementar la cantidad de leche vendida (Demirören et al., 1995; Gootwine y Pollott, 2000; Cifuni et al., 2003).

En los sistemas de lactancia artificial, el alimento puede administrarse ad libitum o de forma restringida. En el primer caso se persigue el máximo desarrollo de los animales y su más claro exponente podríamos encontrarlo en la producción de corderos lechales. En el segundo caso, el nivel de restricción viene impuesto por el ritmo de crecimiento deseado, pese a que la reducción del aporte diario de sustitutivo lácteo y la consiguiente disminución del ritmo de crecimiento se traduce en el empeoramiento del índice de conversión (Manso

et al., 1996, 1998). Sin embargo, esta restricción podría resultar interesante en el caso de la cría de corderas para la producción de leche.

En este sentido, al incrementar el ritmo de crecimiento de los animales durante el periodo prepuberal se alcanza antes el peso vivo adecuado para la cubrición y, por tanto, se reduce el tiempo en el que el animal se encuentra en el periodo no productivo de su vida, es decir, el que transcurre desde el nacimiento hasta su primer parto (Capuco et al., 1995; Sejrsen y Purup, 1997; Davis Rincker et al., 2008).

Sin embargo, se ha observado que elevados niveles de ingestión de energía durante esta etapa pueden suponer una limitación en el desarrollo del tejido secretor mamario (Buskirk et al., 1996; Tolman y McKusick, 2001; Meyer et al., 2006a, 2006b) como consecuencia de un excesivo engrasamiento de la glándula (Johnsson y Hart, 1985; Zhang et al., 1995). De este modo, y debido a que el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria pueden ser determinantes en la capacidad de producción de leche de los animales (Stelwagen y Grieve, 1990; Buskirk et al., 1996; Sejrsen et al., 2000), un excesivo engrasamiento podría perjudicar, tal y como se ha observado en ganado vacuno, la capacidad de producción de leche (Sejrsen et al., 1982; Sejrsen y Purup, 1997; Mäntysaari et al., 2002). En ganado ovino se han encontrado resultados contradictorios en este sentido (Johnsson y Hart, 1985; Umberger et al., 1985; McFadden et al., 1990a), que podrían ser debidos, entre otros factores, al efecto de la dieta empleada o a la etapa de crecimiento abordada. No obstante, el efecto negativo observado parece estar limitado a un periodo crítico de desarrollo durante los primeros meses de edad (McFadden et al., 1990a; Tolman y McKusick, 2001), aunque existe un enorme desconocimiento sobre la importancia de las primeras semanas de vida y, además, esta etapa podría variar con la raza, debido a las diferencias importantes en la precocidad y, por consiguiente, en el patrón de crecimiento y desarrollo corporal de cada una de ellas.

Por otro lado, Sejrsen y Foldager (1992) indicaron que, probablemente, la influencia que el nivel de alimentación tiene sobre el crecimiento mamario durante la fase prepuberal sea debida, entre otros factores, a cambios hormonales. Así, como señalaron Jammes y Djiane (1988) y, posteriormente, Berry et al. (2003a), el desarrollo de la glándula mamaria en rumiantes se consigue por medio de complejas interacciones entre las hormonas sistémicas y los factores de crecimiento producidos localmente, importantes en el periodo crítico del desarrollo mamario que tiene lugar durante la fase prepuberal del crecimiento de

los animales [entre los 3 y los 9 meses de edad en las terneras (Sinha y Tucker, 1969) y entre las 4 y las 20 semanas de edad en el caso de las corderas (Jonhsson y Hart, 1985)], cuando este sigue un ritmo alométrico.

Entre las hormonas implicadas en el crecimiento mamario se incluirían: los estrógenos y progestágenos, la prolactina, la hormona del crecimiento, la insulina, la leptina, el lactógeno placentario y algún factor de crecimiento como, por ejemplo, IGF-I (*insulin-like growth factor-I*; Forsyth, 1991; Chilliard et al., 2001; Meyer et al., 2006b). Los mecanismos de acción de estas hormonas son inciertos, ya que además de las propiedades per se de cada una, se dan interacciones entre ellas, y también con diversos factores de crecimiento producidos localmente, que pueden cambiar su modo de acción.

Por otro lado, en las últimas dos décadas se han producido importantes avances en nuevas técnicas de diagnóstico por imagen, que podrían ser aplicadas con éxito al estudio del crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria, por presentar la incuestionable ventaja de ser “no invasivas”. En este sentido, diversos estudios (p. ej., Sørensen et al., 1987; Carstens et al., 1997) han puesto de manifiesto la utilidad de la tomografía axial computarizada para determinar no solo el tamaño de la glándula mamaria sino también otros parámetros relacionados con variaciones estructurales como, por ejemplo, la diferenciación del volumen total de parénquima y de estroma de la glándula (Sejrnsen et al., 1986; Carstens et al., 1997; Petitclerc y Farmer, 2003), que posiblemente se correlacionen significativamente con la producción de leche.

Además, el uso de la ultrasonografía se ha planteado como una técnica útil para el estudio de la cisterna mamaria, ya que el tamaño de la cisterna puede ser objeto de selección en los programas de mejora de la producción de leche y la aptitud al ordeño mecánico del ganado ovino (Nudda et al., 2000; Rovai, 2001), debido a la correlación observada entre dicho volumen y la producción de leche de los animales (Caja et al., 1999; Nudda et al., 2000; Ramella, 2002).

Teniendo en cuenta los planteamientos indicados hasta este momento, parece evidente el interés de conocer el efecto, en corderas de raza Assaf Española, del nivel de ingestión entre el nacimiento y los 5 meses de edad sobre el ritmo de crecimiento de los animales y sus consecuencias sobre el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria y la producción y composición de la leche.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. LA GLÁNDULA MAMARIA

La glándula mamaria es un glándula epitelial exocrina, de tipo tubuloalveolar, que deriva del ectodermo, y de secreción tanto merocrina (sin pérdida de citoplasma por parte de la célula en la secreción de proteínas e hidratos de carbono) como apocrina (las gotas lipídicas se liberan rodeadas de citoplasma) (Banks, 1996) y presente únicamente en los mamíferos (clase Mammalia).

Según la definición dada por la Nomenclatura Anatómica Veterinaria (Schaller, 1996) glándula mamaria (*GLANDULA MAMMARIA*) es “cada una de las glándulas y su sistema de conductos que se encuentran en una mama”, siendo mama (*MAMMA*) “cada uno de los complejos mamarios formado por un cuerpo y un pezón, homólogo de un pecho humano”. Se define ubre (*UBER*) como “término colectivo para designar el conjunto de las mamas en équidos y rumiantes”.

La localización y el número de las glándulas mamarias de los mamíferos, así como el número de orificios por pezón, varían en función de la especie.

1.1. Morfología externa

En el ganado ovino la ubre es una formación de aspecto globoso localizada en la región inguinal y formada por dos glándulas mamarias separadas por un surco intermedio, conocido como surco intermamario (*SULCUS INTERMAMMARIUS*). Cada glándula posee un pezón (*PAPILLA MAMMAE*) de tamaño y localización variable en función de la raza, pero normalmente situado lateralmente y con su extremo dirigido craneal o ventrolateralmente y con una sola abertura al exterior (Figura 1).

De forma general, la oveja presenta dos pezones, aunque puede llegar a presentar pezones supranumerarios. Sin selección previa, las ovejas pueden presentar un máximo de dos pezones extranumerarios que se sitúan cranealmente a los pezones normales (Ruberte et al., 1994b). Estos pezones pueden estar asociados a una glándula más pequeña, a una glándula normal o, lo que es más frecuente, a una zona aglandular, en cuyo caso solo existe la parte final, el pezón (Dyce et al., 1999b).

Lateralmente, la ubre de la oveja se relaciona con dos invaginaciones cutáneas denominadas senos inguinales (*Sinus inguinalis*; Figura 1). Estas bolsas cutáneas contienen una secreción grasa de color amarillento producida por las glándulas sebáceas y apocrinas tubulares de la pared del seno inguinal (Ruberte et al., 1994b). Esta secreción contiene

feromonas que permitirán el reconocimiento materno-filial y además reducirá el roce debido al movimiento de la ubre durante la lactación.

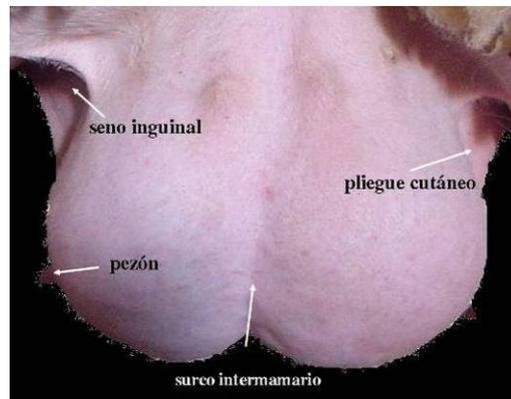


Figura 1. Imagen de una glándula mamaria de ganado ovino en la que se observan el surco intermamario, el pezón, el pliegue cutáneo de unión al cuerpo y el seno inguinal.

La piel del revestimiento de la ubre es fina, flexible y móvil sobre la fascia existente debajo de ella, excepto en los pezones, donde está unida a las capas más profundas que forman su pared (Dyce et al., 1999a). La parte superior de la ubre puede estar cubierta de lana, pero la parte que no lo está tiene generalmente una pigmentación clara y frecuentemente manchada por la secreción de las bolsas cutáneas inguinales (Dyce et al., 1999a). Los pezones, al contrario de lo que ocurre en ganado vacuno, no están completamente desprovistos de pelo.

1.2. Estructura interna

La glándula mamaria está formada por dos estructuras principales: el parénquima y el estroma. El parénquima es la parte secretora de la glándula, está constituido por tejido epitelial tubuloalveolar, derivado, como se verá más adelante, del engrosamiento lineal del ectodermo del embrión, y consta de los llamados sistemas alveolar y canalicular. El estroma está formado por tejidos complementarios de origen mesodérmico, como los sistemas vasculares sanguíneo y linfático, y los tejidos adiposo, conjuntivo y nervioso (Labadía y Tobar, 1995; Caja et al., 2000). El parénquima glandular y el estroma se distribuyen en función de la actividad secretora de la glándula, según la fase evolutiva de la ubre (Michel y Schwarze, 1984).

El tejido conjuntivo que forma parte del estroma constituye el aparato suspensor mamario (*APPARATUS SUSPENSORIUS MAMMARIUS*) y, junto con el tejido adiposo, se

encuentra rodeando el parénquima mamario. Además, una cierta cantidad de grasa se interpone entre la base de la glándula mamaria en su conjunto y las estructuras de la pared abdominal y el suelo de la pelvis, con las que se halla en contacto (Dyce et al., 1999a).

El aparato suspensor mamario es un potente sistema que junto con la piel mantiene la ubre adosada a la pared abdominal impidiendo que se descuelgue y minimizando el riesgo de lesiones (Park y Jacobson, 1993). El aparato suspensor se divide en una porción lateral y otra medial. Las láminas de la porción lateral son las responsables de la fijación de la mama al tronco y al perineo, mientras que las de la porción medial, de tejido elástico, separan los dos complejos mamaros por medio de un septo que determina externamente el surco intermamario o ligamento suspensor de la ubre. Este ligamento de fibras elásticas permite que la ubre se expanda en el proceso de almacenamiento de la leche y proporciona un efecto absorbente frente a los golpes. Con esta disposición, cada complejo mamario se encuentra rodeado por una envoltura de tejido conjuntivo que lo mantiene en posición y separa funcionalmente las dos mamas.

El parénquima es la parte secretora de la glándula y está constituido por tejido epitelial tubuloalveolar, formando un conjunto de sistemas alveolares y tubulares (conductos). El tejido secretor está organizado en lóbulos (*Lobi glandulae mammariae*), formado cada uno de ellos por muchos lobulillos (*Lobuli glandulae mammariae*). A su vez, cada uno de estos lobulillos, que se encuentran separados entre sí por tabiques de tejido conjuntivo, contiene entre 150 y 200 alvéolos microscópicos (Hurley, 2006).

El alvéolo es la unidad funcional y secretora de la glándula mamaria. En esta estructura sacular es donde se sintetiza y se secreta la leche. El lumen del alvéolo está rodeado por una única capa de células epiteliales secretoras de forma cúbica, los lactocitos. Esta monocapa de células está rodeada por un sincitio de células mioepiteliales que tienen la capacidad de contraerse como respuesta a la acción de la hormona oxitocina, determinando con ello el proceso de eyección de la leche (Dyce et al., 1999a). Estas células mioepiteliales se encuentran rodeadas por una membrana basal formada por proteínas del tejido conjuntivo. Además, existen pequeños capilares sanguíneos distribuidos por todo el espacio interalveolar que son los responsables del aporte de nutrientes (ver estructura interna de la glándula mamaria en la Figura 2). Estos nutrientes son absorbidos por las células epiteliales, transformándose en componentes de la leche y, posteriormente, son liberados en la luz de los alvéolos (Schmidt, 1974). El tamaño de los alvéolos varía según

los estadios de la actividad secretora, poseyendo así límites irregulares tras el ordeño, cuando se halla la luz parcialmente colapsada.

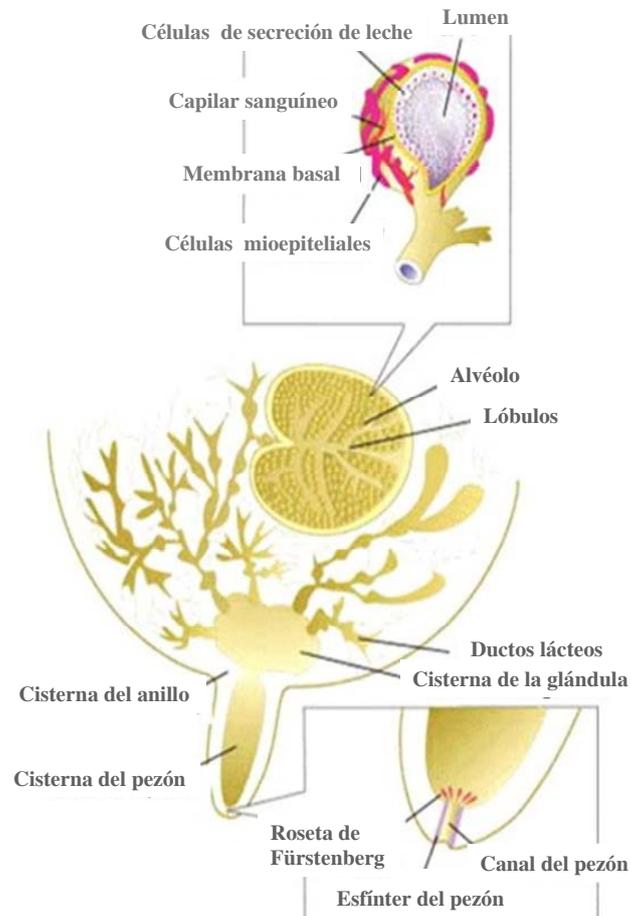


Figura 2. Representación esquemática de la estructura interna de la glándula mamaria (http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/La_glándula_mamaria.htm?wbc_purpose=basicabo; último acceso: 12.5.2008).

Los conductos alveolares, de epitelio cúbico simple, de cada uno de los alvéolos que forman un lobulillo se continúan en otros conductos llamados intralobulillares, de epitelio cúbico biestratificado, que desembocan en los conductos interlobulillares (también denominados lobulares o galactóforos), de epitelio plano poliestratificado no queratinizado, que se encuentran incluidos en los tabiques de tejido conjuntivo que delimitan los lobulillos mamarios (Ruberte et al., 1994b) y que poseen también células mioepiteliales (Hurley, 2006). Estos conductos vierten la leche en los llamados conductos lactíferos (*Ductus lactiferi*) que son tubos de diverso diámetro y longitud, con un epitelio con una o dos capas de células, rodeadas por otras de naturaleza conjuntivo-elástica y por fibras musculares que atraviesan regularmente el parénquima glandular hasta desembocar en el seno lactífero (Michel y Schwarze, 1984). El seno lactífero (*Sinus lactifer*) está

dividido en dos porciones, una en el interior del parénquima glandular (*Pars glandularis*) también llamada cisterna de la glándula, y otra en el interior del pezón (*Pars papilaris*) conocida como cisterna del pezón, separadas por un esfínter (cricoides) de fibras musculares lisas que solo permiten la salida de la leche acumulada en la cisterna mamaria en el momento del ordeño o del amamantamiento. Finalmente, la cisterna del pezón se abre al exterior, en el caso del ovino, por un único orificio papilar (*Ostium papillare*).

La ubre de la oveja está irrigada por la arteria pudenda externa, que atraviesa el canal inguinal para llegar a la base de cada mama. En el interior del tejido mamario, la arteria pudenda externa desprende una rama caudal para la porción caudal de la mama y, posteriormente, se divide en las arterias mamarias medial y craneal (Figura 3). La arteria mamaria craneal se continúa superficialmente en el abdomen como arteria epigástrica superficial caudal. La arteria mamaria medial emite generalmente la arteria medial del seno, que en el pezón se transforma en las arterias papilares que formarán dos plexos arteriales, uno en la zona media del pezón y otro a nivel del orificio papilar (Ruberte et al., 1994b).

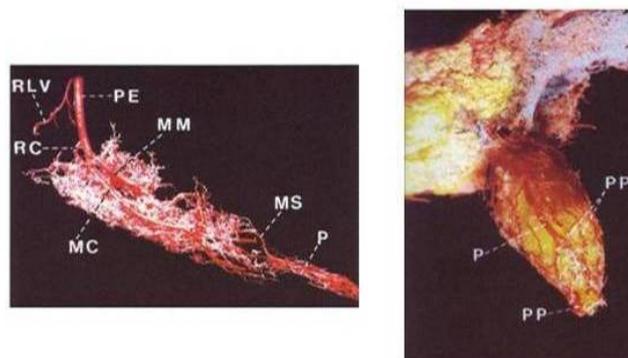


Figura 3. Repleción plástica de las arterias mamarias y del pezón. PE: arteria pudenda externa; RLV: ramo labial ventral; RC: ramo caudal; MM: arteria mamaria media; MC: arteria mamaria craneal; MS: arteria mamaria del seno; P: arteria papilar; PP: plexo papilar (Ruberte et al., 1994b).

El sistema venoso mamario es parcialmente satélite del sistema arterial, aunque las venas son más numerosas que las arterias (Ruberte et al., 1994b). El drenaje venoso más importante se efectúa a través de la vena pudenda externa. El pezón está drenado por las venas papilares que en la base del pezón forman el círculo venoso del pezón. A partir de este círculo venoso, y por medio de las venas medial y lateral del seno, la sangre puede ser vehiculada hacia la vena mamaria medial o la vena mamaria craneal, que desembocan en la vena pudenda externa, aunque también pueden hacerlo en la vena epigástrica superficial caudal.

1.3. Desarrollo mamario

Según Jammes y Djiane (1988), el término mamogénesis se refiere a la expresión completa del crecimiento de la glándula mamaria, comprendiendo el desarrollo de los conductos, su arborización y la aparición del tejido lobuloadveolar. La mayor parte de este desarrollo tiene lugar durante la gestación, sin embargo comienza cuando el animal es todavía un feto y se alarga incluso hasta una vez iniciada la lactación (Hurley, 2006).

Durante el transcurso de la vida del animal la glándula mamaria sufre en tamaño, estructura, composición y actividad más cambios y de mayor dimensión que cualquier otro órgano o tejido (Knight y Peaker, 1982). Estos cambios comienzan durante la vida fetal y continúan incluso una vez que la glándula ha alcanzado la madurez, creciendo e involucionando durante los sucesivos ciclos reproductivos. La glándula mamaria es uno de los pocos tejidos de los mamíferos que puede sufrir repetidamente ciclos de crecimiento, diferenciación funcional y regresión, y esta es una de las razones por la que su estudio despierta tanto interés (Akers, 2002).

Según Hurley (2006), el desarrollo estructural de la glándula mamaria se puede dividir en cinco fases: prenatal, prepuberal, pospuberal, gestación y lactación.

1.3.1. Fase prenatal

El embrión posee tres capas de células que darán lugar a los distintos tejidos y órganos del cuerpo: (1) el ectodermo, la capa más externa, de la que proceden la piel y el sistema nervioso; (2) el mesodermo, la capa media, que dará lugar al tejido muscular, el sistema vascular y los órganos sexuales; y (3) el endodermo, la capa interna, de la que deriva el aparato digestivo (Climent y Bascuas, 1989). La glándula mamaria proviene del ectodermo y del mesodermo (Stabenfeldt y Davidson, 2003b).

Cualquier contratiempo que se produzca durante el desarrollo de la glándula antes del nacimiento puede influenciar el desarrollo posterior y afectar, por tanto, a la función mamaria y a la producción de leche (Knight y Peaker, 1982; Hurley, 2006).

La diferenciación de las células destinadas a convertirse en un aparato mamario funcional ocurre muy temprano en el desarrollo embrionario. En una rápida sucesión, las etapas de este desarrollo mamario se conocen como banda, surco, línea, cresta, eminencia y botón (Anderson, 1985). El primer esbozo de la glándula mamaria es un engrosamiento del ectodermo en la cara ventral del embrión, a ambos lados de la línea media, llamada

banda mamaria. Posteriormente, este engrosamiento se hace mucho más evidente y diferenciado, pasando a denominarse surco mamario, que seguirá diferenciándose hasta formar la línea mamaria, que se encuentra adherida a una capa más profunda de células mesenquimales. A medida que la línea mamaria se acorta y un mayor número de células del ectodermo proliferan y crecen en la capa más interna de células del mesénquima, la estructura pasa a denominarse cresta mamaria. En esta fase todavía puede distinguirse una membrana basal que separa las células en crecimiento del ectodermo de las células del mesodermo situadas por debajo de ellas (Akers, 2002). Cuando el acortamiento de la cresta mamaria finaliza, se convierte en una estructura prominente situada únicamente en aquellas áreas en que se localizarán las glándulas en el animal adulto (la región inguinal en el caso del ganado ovino, manteniéndose solo el séptimo par mamario) (Delouis et al., 2001), aunque algunas veces el sexto par también se mantiene, dando lugar a los pezones supernumerarios. A medida que las células del ectodermo continúan su proliferación hacia el interior de la capa mesodérmica tomando forma semiesférica pasa a denominarse eminencia mamaria. Estas células ectodérmicas continúan proliferando hacia el interior y dando como resultado una formación esférica o globular que se denomina botón mamario.

En las primeras tres fases del desarrollo prenatal (banda, surco y línea) el desarrollo es bastante difuso, mientras que en las fases siguientes (cresta, eminencia y botón) el crecimiento de la glándula tiene lugar en sitios específicos.

La formación de los botones mamaros es un estado crítico en el desarrollo de la glándula mamaria y se pueden observar ya bien diferenciados en embriones ovinos de 2 cm de longitud (más o menos 30 días de gestación) (Turner, 1952). El estado de botón mamario marca el comienzo de los modelos de desarrollo que distinguen la estructura mamaria en las distintas especies. Las diferencias entre los patrones de desarrollo entre machos y hembras también aparecen en este período (Akers, 2002). Hasta este momento, el desarrollo es semejante en todos los embriones (macho y hembra), pero cuando comienza el desarrollo del pezón es cuando empiezan a manifestarse velocidades de crecimiento diferentes en uno y otro sexo (Schmidt, 1974). Una descarga de testosterona producida por los testículos fetales provoca una degeneración de las células de los canales, aislando el botón mamario e inhibiendo así la formación posterior de la glándula (Jammes y Djiane, 1988).

En este momento tiene lugar una invaginación de las células del botón mamario en el mesénquima, empujando las células mesodérmicas hacia los lados y dando lugar al brote primario (Hurley, 2006). Esta estructura será la abertura del pezón, por la cual la leche sale de la glándula al exterior del organismo y que se conoce como conducto galactóforo (Anderson, 1985). Cada conducto galactóforo está predeterminado por un brote primario creciendo desde el botón mamario, por lo que habrá tantos brotes primarios como conductos galactóforos en la glándula ya desarrollada, lo que es característico de cada especie animal (Dyce et al., 1999b).

El brote primario dará lugar a la formación de las cisternas de la glándula y del pezón, y los brotes secundarios a los conductos de mayor calibre, que drenan en la cisterna de la glándula (Akers, 2002). Al principio los brotes son cordones sólidos de células que posteriormente se canalizarán. Los mecanismos precisos para esta canalización no se conocen exactamente pero se cree que intervienen tanto mecanismos de apoptosis como de migración celular.

Una característica del desarrollo de la glándula mamaria es la aparición de una capa de células adiposas alrededor del botón mamario y las subsiguientes estructuras epiteliales a las que dará lugar en la diferenciación mamaria. Según Sheffield (1988), la primera señal de un estroma en desarrollo aparece más o menos cuando los brotes secundarios empiezan a hacerse evidentes. En este momento, y a partir de la capa mesodérmica del embrión, comienza a formarse una estructura que se conocerá como ligamento suspensorio medio, formado por tejido conectivo elástico y fibroso, que proporcionará el primer soporte a la ubre.

Al nacimiento, por tanto, estarán formados el conducto galactóforo, las cisternas de la glándula y del pezón y un rudimentario sistema canalicular. Además, todo ello estará ya rodeado también por un rudimentario estroma de la glándula. Externamente, los pezones estarán claramente diferenciados.

1.3.2. Fase prepuberal

En los rumiantes, el desarrollo posnatal del parénquima mamario tiene lugar en etapas específicas de proliferación. En el momento del nacimiento, como se ha indicado anteriormente, las estructuras básicas glandulares ya están formadas, con un único conducto primario naciendo del pezón. Sin embargo, el tejido epitelial es todavía

rudimentario, presentando algunas células mamarias de los conductos junto a la cisterna de la glándula, pero sin alvéolos (Sejrsen et al., 2000). La porción de estroma de la glándula es proporcionalmente más grande que el sistema de conductos y además se encuentra en una forma más madura (Tucker, 1987).

El crecimiento mamario prepuberal generalmente consiste en una extensión del sistema rudimentario de conductos con un simultáneo incremento de los tejidos adiposo y conectivo (Tucker, 1969).

Anderson (1975) determinó que el crecimiento mamario en el ganado ovino es lento hasta los 3 meses de edad, después hay un rápido crecimiento durante el cuarto mes, alcanzándose un pico a los 5 meses de edad y, probablemente, existe un pequeño incremento durante los meses subsiguientes.

Sin embargo, estudios posteriores en corderas (Johnsson y Hart, 1985; Sejrsen y Purup, 1997) observaron que durante el primero o los dos primeros meses de vida el crecimiento del epitelio mamario es isométrico (al mismo ritmo que el resto del cuerpo) y limitado al desarrollo de los conductos secundarios y terciarios en la zona cercana a la cisterna glandular, al mismo tiempo que crecen los tejidos no epiteliales (tejidos conectivo y adiposo). En algún momento del segundo mes de vida, la glándula mamaria de las corderas comienza una fase de crecimiento alométrico (el número de células epiteliales aumenta a un ritmo más rápido que las del total del organismo) y los conductos avanzan como una masa densa, reemplazando el tejido adiposo que los rodea a medida que van creciendo. Durante esta fase, el estroma también está creciendo, acumulando tejido adiposo y los tejidos conectivos de soporte (Sejrsen et al., 2000).

Según Knight y Peaker (1982), el crecimiento del tejido adiposo durante esta fase es primordial, ya que proporciona el soporte y espacio necesarios para el desarrollo de los canales mamarios, que posteriormente permitirán el desarrollo del sistema lobuloalveolar.

La mayoría de los estudios sugieren que esta fase de crecimiento rápido finaliza con la pubertad o poco después (Sejrsen y Purup, 1997). Sin embargo, Wallace (1953) y Anderson (1975) observaron que el desarrollo del parénquima mamario del ganado ovino sufre un periodo de crecimiento acelerado análogo al del ganado vacuno, pero que acaba alrededor de los 4 meses de edad de las corderas, aparentemente bastante antes de que alcancen la pubertad.

1.3.3. Fase pospuberal

El término pubertad se usa para definir el inicio de la vida reproductora, que en la hembra se corresponde con el momento en el que comienza la actividad cíclica del ovario, cuando se produce la primera ovulación, y que generalmente está asociada con la aparición del primer estro (Stabenfeldt y Edqvist, 1993; Stabenfeldt y Davidson, 2003a). Sin embargo, las corderas no suelen expresar su primer estro hasta, por lo menos, la tercera ovulación después del inicio de la pubertad.

En la mayoría de las especies, la pubertad supone un periodo de crecimiento alométrico para la glándula mamaria en el que se produce un rápido desarrollo, sobre todo del parénquima, como resultado de la acción de las hormonas sexuales (Akers, 2002).

Cada ciclo estral lleva consigo un cierto crecimiento mamario (Schmidt, 1974). Los estrógenos, producidos en la fase folicular del ciclo, y la progesterona, segregada por el cuerpo lúteo (fase luteal), provocan un mayor desarrollo del tejido parenquimatoso, lo que da lugar a una aceleración en el crecimiento de la glándula.

Los estrógenos originan el alargamiento y ramificación de los conductos y la formación de pequeñas masas esféricas de células (los futuros alvéolos), mientras que la progesterona estimula el crecimiento lobuloalveolar (tejido secretor). Además, para que se dé un adecuado desarrollo de la glándula mamaria en esta fase, también es necesaria la acción de la prolactina, la hormona del crecimiento (GH) y los corticoides adrenales, actuando de manera conjunta junto con los estrógenos y la progesterona (Labadía y Tovar, 1995). Según estos autores, el desarrollo de la glándula durante cada ciclo depende de la duración de la fase folicular, cuando se dan los niveles altos de estrógenos, ya que en las restantes fases del ciclo, cuando los niveles son bajos, los conductos sufren una ligera regresión.

1.3.4. Fase de gestación

La mayor parte del desarrollo de la glándula mamaria tiene lugar durante la gestación (Kelly et al., 2002). Este periodo es extremadamente importante en la determinación del número de células secretoras de la glándula durante la lactación y, por tanto, en la capacidad de producción de leche de dicha glándula (Akers, 1990; Hurley, 2006), que está determinada tanto por el número de células epiteliales como por la actividad secretora de cada una de ellas (Forsyth, 1986; Knight, 2000).

El crecimiento del tejido parenquimatoso que tiene lugar durante los sucesivos ciclos estrales continúa durante la gestación, aunque de una forma mucho más intensa.

El crecimiento de la glándula debe corresponderse con el crecimiento fetal, para permitir al recién nacido alimentarse de la leche materna una vez abandonado el medio uterino. Debido a esto, el sistema lobuloalveolar se desarrolla a un ritmo diferente en función de la especie animal, ya que la velocidad de este desarrollo es inversamente proporcional a la duración de la gestación. Sin embargo, para todas las especies, es más lento al comienzo y se va acelerando a medida que la gestación avanza, incrementándose de forma exponencial (Jammes y Djiane, 1988; Anderson, 1985) al igual que el desarrollo placentario y fetal.

La mayor parte del crecimiento mamario durante la primera mitad de la gestación se debe principalmente al crecimiento de los conductos y la formación lobular. En la segunda mitad de la gestación, el crecimiento de los conductos continúa, pero es mayor el crecimiento lobuloalveolar, formándose el epitelio secretor (Dyce et al., 1999b). El aumento del tejido secretor se produce inicialmente por hiperplasia, desplazando en su crecimiento al tejido adiposo (bastante prominente en la glándula del animal no gestante), y más tarde por hipertrofia de las células epiteliales, que además adquieren las estructuras específicas de una síntesis proteica aguda y de una secreción intensa (Jammes y Djiane, 1988).

Según Harrison et al. (1983), en ganado vacuno el peso relativo del parénquima dentro de la glándula mamaria al final de la gestación es de aproximadamente un 60%, mientras que en el inicio se sitúa más o menos en el 15% (Sejrsen et al., 1982). En ganado ovino, en torno al día 60 de gestación se hacen ya evidentes algunos alvéolos sólidos no funcionales con cuyo proceso de formación de la cavidad lumínica, además de aumentar el número y tamaño de los mismos se incrementa mucho, hacia el día 90 de gestación, la proporción de tejido parenquimatoso. Las células mioepiteliales se hacen visibles alrededor de los alvéolos a partir del día 120 de gestación, momento en que además ya se observa material secretor en el lumen (Sulochana et al., 1991). La maduración funcional del parénquima mamario se produce más o menos en el día 150 de gestación, que es cuando ya se observan glóbulos de grasa y secreciones calostrales en la cavidad alveolar (Sulochana et al., 1991).

La evolución celular a lo largo de la gestación también es muy evidente. Antes del parto, las células alveolares se caracterizan por tener un núcleo irregular, un retículo endoplasmático escaso, el aparato de Golgi mal definido, pocas mitocondrias y una elevada relación núcleo:citoplasma. En los momentos cercanos al parto hay un cambio importante en la organización celular, produciéndose una proliferación del retículo endoplasmático, una hipertrofia del aparato de Golgi, que además se orienta hacia la luz del alvéolo, y un aumento de la cantidad de mitocondrias (señal de una mayor actividad celular). En el citoplasma abundan glóbulos de grasa y micelas de caseína y se reduce la proporción de citoplasma ocupada por el núcleo, que además se sitúa en la parte basal de la célula (Jammes y Djiane, 1988).

Estas modificaciones estructurales no se dan de manera sincrónica en todos los alvéolos. Un alvéolo que presenta un epitelio característico de una gran actividad secretora y un gran lumen alveolar puede estar junto a un alvéolo aparentemente inactivo. Esto sugiere tanto la existencia de ciclos de secreción y de inactividad en los alvéolos como la presencia de alvéolos de reserva (Jammes y Djiane, 1988).

Un crecimiento mamario óptimo durante la gestación requiere la presencia tanto de estrógenos como de progesterona, así como de hormonas hipofisarias como la prolactina, la GH y la hormona adenocorticotropa (encargada de liberar los corticoides adrenales), cuya presencia favorece de forma generalizada el crecimiento de las glándulas (Forsyth, 1986; Labadía y Tovar, 1995; Hurley, 2006).

Como se dijo en la parte relativa al desarrollo pospuberal, los estrógenos y la progesterona son los responsables del crecimiento de los conductos y de la proliferación alveolar, respectivamente. Además, la GH favorece el crecimiento de los conductos y la prolactina es esencial para la función de la glándula mamaria, siendo la responsable del desarrollo de las células epiteliales secretoras en el interior del alvéolo (Delouis et al., 2001).

Durante la gestación también está presente el lactógeno placentario, sintetizado y secretado en la placenta, que tiene una acción similar a la de las hormonas hipofisarias y actúa en sinergia con estrógenos, progesterona, prolactina y GH en el desarrollo mamario (Hurley 2006). Según Pulina y Nudda (2002), elevadas secreciones de lactógeno placentario, debido a pesos altos de la placenta, estimula un mayor desarrollo lobuloalveolar y, consecuentemente, una mayor producción de leche. Esta es una de las

razones por la que las ovejas que crían dos corderos producen un 10-15% más de leche que las que crían solo uno. Forsyth (1989a) comprobó que existe una buena relación temporal entre el aumento de la concentración de lactógeno placentario y el inicio del desarrollo lobuloalveolar, con el consiguiente aumento del número de células en la glándula.

Por último, se sabe que la relaxina, otra hormona secretada durante la gestación, no solo es importante en la relajación de las estructuras conjuntivas del tracto final del aparato reproductor en el momento del parto (Hurley, 2006), sino que también tiene un papel en la estimulación de la síntesis de colágeno tipo IV, una proteína de la membrana basal que es una estructura necesaria para la multiplicación de las células epiteliales al final de los conductos de la leche (Anderson, 1985). De esta manera, la relaxina es otra hormona implicada en el complejo hormonal requerido para una mamogénesis óptima.

1.3.5. Fase de lactación

Como se ha indicado anteriormente, la producción de leche durante la lactación depende del número total de células mamarias y de su actividad secretora (Knight, 2000). En algunos rumiantes, como la vaca o la cabra, y al igual que en otras especies (por ejemplo, los roedores), estas células mamarias continúan aumentando después del parto, paralelamente al incremento del contenido en ácido desoxirribonucleico (ADN). En la vaca, el ADN aumenta un 65% entre los 10 días anteriores y posteriores al parto, mientras que en especies como la rata o la cerda, el ADN puede aumentar hasta un 100% (Tucker, 1969; Akers et al., 1981; Hurley, 2006). Según Akers (2002), la cantidad total de ADN del tejido secretor de los rumiantes se duplica en las dos semanas en torno al parto (28 vs. 46 g), pero no se indica qué parte del crecimiento tiene lugar antes o después del mismo.

Sin embargo, en el ganado ovino prácticamente no existe crecimiento del tejido secretor una vez comenzada la lactación (Anderson, 1975, 1985). Así, el aumento de la producción de leche que tiene lugar desde el comienzo de la lactación hasta el pico de producción se debe tanto a una mayor actividad secretora como a una mayor proliferación y diferenciación de las células mamarias (hiperplasia) (Knight y Wilde, 1993). En cualquier caso, una vez alcanzado el pico de lactación, ya se ha producido todo el desarrollo mamario de ese ciclo. Hasta ese momento, las mamas pueden continuar creciendo un poco, pero a partir de entonces no siguen desarrollándose y apenas se observará ya proliferación celular hasta que comience una nueva gestación (Akers, 2002). Las células destruidas o eliminadas después del pico de lactación parece que ya no son

reemplazadas, sufriendo, por tanto una progresiva apoptosis a medida que avanza la lactación (Jammes y Djiane, 1988). De esta forma, la glándula mamaria inicia un proceso de involución y reestructuración (Hennighausen y Robinson, 1998) necesario para la regeneración del tejido mamario y que dará lugar a una situación similar al estado de pubertad del animal (Schmidt, 1974).

2. REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO MAMARIO

El desarrollo del tejido mamario es un aspecto muy importante en la producción de leche de los animales debido a que la cantidad producida de esta depende tanto del número de células secretoras presentes en la glándula como de la actividad de cada una de ellas durante la fase de lactación (Tucker, 1969; Knight, 1984, 2000; Boutinaud et al., 2004).

Como ya se ha destacado anteriormente, el crecimiento mamario que tiene lugar durante el periodo anterior al inicio de la gestación es solo una pequeña parte en relación a lo que la glándula se desarrollará de ese momento en adelante. Sin embargo, existen claras evidencias de que alteraciones en el crecimiento mamario durante el periodo peripuberal pueden afectar de forma importante a la posterior funcionalidad de la glándula mamaria (Akers, 2002). Además, parece estar claro que, no solo en el periodo peripuberal del animal, sino también deficiencias ocurridas en las distintas fases del crecimiento, incluso durante la vida fetal, pueden reducir el tamaño y el potencial secretor de la glándula mamaria (Knight y Peaker, 1982).

La etapa más importante de este desarrollo es la que transcurre hasta la pubertad de los animales, en la que el tejido secretor mamario sufre un crecimiento alométrico (a un ritmo mayor al del resto del organismo) que posteriormente se convierte en isométrico (a igual ritmo que el del resto del cuerpo) en el periodo peripuberal (Meyer et al., 2006b). En ganado vacuno, se ha visto que el final de esta etapa crítica del desarrollo mamario se situaría en torno a los 10 meses de edad o los 300 kg de peso vivo (Sejrsen et al., 1982; Johnsson, 1988). En ganado ovino, este periodo crítico del crecimiento parece transcurrir entre las 4 y las 20 semanas de vida de las corderas (Johnsson y Hart, 1985). Pese a esto, no se debe olvidar el resto de las fases de desarrollo del animal, que también serán importantes en el desarrollo de la glándula mamaria y su futuro potencial de producción de leche (Akers, 2002).

Por otra parte, para una correcta evaluación e interpretación de los datos experimentales relativos al efecto de la alimentación sobre el desarrollo mamario es importante tener en cuenta la estrecha relación que existe entre el desarrollo reproductivo y el crecimiento corporal de los animales (Sejrsen y Purup, 1997). Sin embargo, estos mismos autores pusieron de manifiesto la dificultad de comparar los resultados obtenidos en distintos experimentos debido, por ejemplo, a que comparaciones hechas a la misma edad permitirán comparar animales en distinto estado de desarrollo mamario, pero dichas comparaciones frecuentemente incluirán efectos confusos causados por el distinto peso vivo de los animales. Esto se puede explicar por el hecho de que la llegada a la pubertad de un animal está más relacionada con su peso vivo y su condición corporal que con su edad. Diversos autores (Adam y Robinson, 1994; Capuco et al., 1995; Niezen et al., 1996; Radcliff et al., 1997) llegaron a esta conclusión tras haber observado que una elevada ingestión de nutrientes reduce la edad a la que se alcanza la pubertad, pero tiene poca influencia sobre el peso vivo del animal en ese momento. Así, para los animales que ya no están en el periodo de crecimiento alométrico el problema de la comparación de resultados puede minimizarse expresando estos en función del peso vivo del animal. Sin embargo, si los animales se encuentran todavía en la fase alométrica del crecimiento mamario, la comparación puede resultar más complicada, ya que habrá diferencias en la cantidad de potencial “no usado” para el crecimiento mamario.

Para Meyer et al. (2006a), la diferencia de edad de las terneras cuando alcanzan la pubertad, que con frecuencia es un artefacto de los animales que crecen a ritmos diferentes, es la causa principal de las diferencias observadas en la masa de parénquima de terneras recriadas con distintos niveles de ingestión de energía.

2.1. Efecto de la alimentación

La alimentación juega un papel importante en el desarrollo mamario de las hembras prepúberes. Este hecho se ha puesto de manifiesto en numerosos estudios realizados hasta el momento, tanto en ganado vacuno como en ganado ovino (p. ej., Johnsson y Hart, 1985; Sejrsen y Purup, 1997; Radcliff et al., 2000; Brown et al., 2005), aunque los relativos al ovino sean más escasos debido, posiblemente, al menor interés despertado por estos animales en lo que se refiere a su capacidad como animales productores de leche.

Entre los efectos que tiene la alimentación sobre el crecimiento y desarrollo mamario y sobre la posterior producción de leche resultaría interesante destacar, por un lado, el efecto del nivel de ingestión de energía y, por otro, el nivel de ingestión de proteína.

2.1.1. Efecto del nivel de ingestión de energía

Uno de los efectos que más se ha estudiado como implicado en el desarrollo del tejido mamario ha sido el nivel de alimentación y, más concretamente, el nivel de ingestión de energía de las hembras de reposición, ya que la duración de la fase alométrica del desarrollo y, por tanto, el ritmo de crecimiento del tejido lobuloalveolar están fuertemente influenciados por la alimentación (Pulina y Nudda, 2002). Este efecto ha sido estudiado más ampliamente en ganado vacuno (p. ej., Sejrsen et al., 1983; Stelwagen y Grieve, 1990; Silva et al., 2002b; Meyer et al., 2006a, 2006b), aunque también existen diversos trabajos realizados en ganado ovino (p. ej., Johnsson y Hart, 1985; Umberger et al., 1985; Zhang et al., 1995; Sormunen-Cristian y Jauhiainen, 2000).

Incrementar el ritmo de crecimiento de los animales puede reducir el tiempo en el que un animal se encuentra en el periodo no productivo de su vida, es decir, el que transcurre desde el nacimiento hasta su primer parto (Capuco et al., 1995; Sejrsen y Purup, 1997; Davis Rincker et al., 2008). Sin embargo, diversos experimentos (Harrison et al., 1983; Buskirk et al., 1996; Radcliff et al., 2000; Silva et al., 2002b; Meyer et al., 2006a, 2006b) han puesto de manifiesto que, en rumiantes, los altos niveles de alimentación que tienen como consecuencia elevados ritmos de crecimiento, sobre todo antes de la pubertad, pueden limitar el desarrollo de la glándula mamaria y, por tanto, reducir posteriormente la capacidad de producción de leche de los animales durante la fase de lactación.

Se comenzará indicando el efecto que el nivel de ingestión de energía de la dieta tiene, a lo largo de las diversas fases del crecimiento del animal, sobre el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria, para destacar, posteriormente, los efectos de estos distintos niveles de energía en la dieta sobre la producción de leche, ya que según indicaron Sejrsen y Purup (1997), para que los efectos sobre el desarrollo mamario se manifiesten en el futuro potencial de producción de leche, las diferencias en la composición de la glándula deben mantenerse también durante la lactación.

2.1.1.1. Cambios en la composición de la glándula mamaria

Por lo que se refiere al efecto de la alimentación durante la **fase de lactancia**, Sejrsen et al. (1998) observaron que en terneras sacrificadas a las 12 semanas de edad la cantidad de parénquima mamario era similar entre animales, independientemente del ritmo de crecimiento al que hubiesen estado sometidos entre el nacimiento y las 6 semanas de vida. Sin embargo, la cantidad de estroma a las 12 semanas, ajustada para el peso vivo del animal, fue mayor en los animales sometidos a un alto nivel de alimentación. Por el contrario, Brown et al. (2005) señalaron que a las 8 semanas de edad las terneras alimentadas con la dieta que contenía un alto nivel de energía tuvieron 3 veces más cantidad de parénquima que las alimentadas con la dieta moderada, que sin embargo tuvieron un 50% más de parénquima (por kg de peso vivo) a las 14 semanas, independientemente del tipo de dieta consumida entre las 8 y las 14 semanas. Por lo respecta a las cantidades de ADN y ARN (ácido ribonucleico) parenquimatoso ajustadas para el peso vivo presentes en la glándula a las 14 semanas de edad, ambas fueron más altas cuanto mayor fue el nivel de ingestión durante el periodo de lactancia, aunque no hubo diferencias en la relación ARN:ADN, al igual que lo observado por estos mismos autores durante la fase de recría.

Sin embargo, como ya se ha indicado anteriormente, el periodo en el que es más acusado el efecto negativo del nivel de alimentación sobre el desarrollo del parénquima mamario será aquel en el que el crecimiento de la glándula mamaria sufre un crecimiento alométrico, es decir, durante la **fase prepuberal** del animal, que comenzaría en torno a los 3 meses de edad en el caso del ganado vacuno (Sinha y Tucker, 1969; Little y Kay, 1979; Sejrsen et al., 1982; Johnsson, 1988) y aproximadamente a las 4 semanas de vida en el ganado ovino (Johnsson y Hart, 1985; Umberger et al., 1985; Johnsson, 1988). Este periodo crítico del desarrollo mamario se extenderá hasta unos dos meses antes del primer estro en el caso del ganado vacuno (que en razas como la Holstein correspondería a un peso vivo de unos 300 kg; Peri et al., 1993), aunque, como se señaló anteriormente, la edad al final de este periodo crítico depende del nivel de alimentación, debido a que el peso vivo del animal es el principal factor desencadenante de la pubertad (Niezen et al., 1996; Radcliff et al., 1997). En el caso del ganado ovino, esta fase crítica del desarrollo del parénquima mamario parece finalizar en torno a los 4 meses de edad (Wallace, 1953; Anderson, 1975; Tolman y McKusick, 2001).

Sejrsen y Purup (1997) establecieron que, en ganado vacuno, niveles de alimentación que promueven ritmos de crecimiento por encima de 600 ó 700 gramos diarios durante la fase prepuberal pueden dar lugar a una reducción en la edad a la que se alcanza la pubertad y provocar un impacto negativo permanente en el crecimiento mamario. Del mismo modo, Silva et al. (2002b) determinaron que las dietas altamente energéticas que provocan ritmos de crecimiento diarios superiores a 1 kg durante la fase prepuberal empeoran el desarrollo mamario en un 20%. En ganado ovino, también se ha observado que una alta ingestión de energía antes de la pubertad provoca un crecimiento excesivo del tejido graso mamario, lo que podría limitar el desarrollo de los conductos (Johnsson y Hart, 1985; Tolman y McKusick, 2001; Pulina y Nudda, 2002).

En este sentido, diversos autores han observado también que una elevada ingestión de nutrientes provoca un mayor contenido de tejido extraparenquimatoso en la glándula mamaria (Sejrsen et al., 1982; Capuco et al., 1995; Radcliff et al., 1997). De este modo, Meyer et al. (2006a) apuntaron que, a un mismo peso vivo, la edad no es un factor determinante en el desarrollo del tejido extraparenquimatoso mamario debido a que la edad al sacrificio no fue una covariable significativa en la cantidad de ADN de este. Para explicar este hecho, estos autores sugirieron que el incremento en la partición de nutrientes hacia el tejido extraparenquimatoso inducido por la dieta ocasiona, en primer lugar, una hipertrofia de los adipocitos y, posteriormente, una hiperplasia de este tipo de células. En el parénquima no se observó efecto del tratamiento en la composición de los lípidos y la proteína bruta, sugiriendo que este tejido es refractario a las señales que coordinan el incremento en la deposición lipídica, lo que está en concordancia con lo ya observado anteriormente por Sejrsen et al. (1982).

Por otro lado, ni la composición histológica del parénquima ni el desarrollo de las estructuras epiteliales o su capacidad para desplazar los adipocitos durante la invasión en el tejido extraparenquimatoso se vio afectada por el tratamiento recibido por los animales (Meyer et al., 2006b). Sin embargo, sí que se observó una tendencia hacia el aumento de la proliferación de las células epiteliales como respuesta a una elevada ingestión de nutrientes al inicio de la vida del animal. Todo esto, junto con el hallazgo de que la mayor parte de la variación en el contenido en ADN del parénquima fuera explicado por las diferencias en la edad y no por el nivel de ingestión de nutrientes, sugiere que la edad de muestreo es el

principal factor determinante del desarrollo mamario prepuberal en las terneras (Meyer et al., 2006a, 2006b).

En este mismo sentido, Silva et al. (2002b) señalaron que alimentar terneras con dietas altamente energéticas para inducir una elevada ganancia diaria de peso vivo antes de la pubertad perjudicaba el desarrollo mamario. Sin embargo, al evaluar de forma independiente la ganancia diaria de peso y el tipo de dieta, no se observó que las terneras con un crecimiento más rápido vieran empeorado este desarrollo, sino que entre las terneras alimentadas ad libitum con una dieta altamente energética, aquellas que tenían una mayor proporción de grasa corporal crecieron más despacio y tuvieron menos parénquima mamario en el momento de la pubertad. De esta forma, llegaron a la conclusión de que el único factor que explicó parte de la variación individual en el ADN del parénquima mamario fue la cantidad total de grasa en el animal, independientemente del tratamiento al que estuvieron sometidas durante la fase de recría. Así, las terneras más engrasadas tendieron a tener menos ADN parenquimatoso que aquellas más magras y la ganancia diaria de peso vivo durante la fase prepuberal, al igual que la edad a la pubertad o el peso vivo al sacrificio, no estuvieron relacionadas con el desarrollo mamario.

Brown et al. (2005) observaron que las terneras alimentadas con una dieta de un alto contenido energético entre las 8 y las 14 semanas de edad tuvieron un porcentaje más alto de grasa intraparenquimatosa en el momento del sacrificio, pero el crecimiento del tejido secretor no se vio afectado por la dieta, al igual que lo observado por Petitclerc et al. (1999), que sin embargo sí encontraron una mayor acumulación de grasa en el tejido extraparenquimatoso en terneras alimentadas ad libitum y sacrificadas a los 4 meses de edad.

Además, según Brown et al. (2005) el nivel de ingestión de energía no afecta tampoco a las cantidades absolutas o las concentraciones de ADN o ARN mamario parenquimatoso, ni a la relación ARN:ADN.

En ganado ovino, McFadden et al. (1990a) observaron igualmente que el efecto del nivel de alimentación entre las 7 y las 22 semanas de edad no afectó a la masa de tejido mamario parenquimatoso ni a su contenido en ADN, al igual que lo referido por Johnsson y Hart (1985) y Johnsson et al. (1986), aunque estos sí observaron diferencias cuando el tejido parenquimatoso se expresó como porcentaje del tejido extraparenquimatoso o cuando se ajustó para el peso vivo de los animales (Johnsson y Hart, 1985).

No obstante, y aunque el periodo prepuberal es una etapa esencial en el desarrollo mamario, el efecto de la alimentación también podría ser importante en fases posteriores de la vida del animal.

En este sentido, la información existente sobre el efecto de la alimentación en el desarrollo mamario durante la **fase pospuberal** y la **primera gestación** es bastante escasa. Así, Sejrnsen et al. (1982) en un experimento realizado con terneras entre los 300 y los 450 kg de peso vivo, no observaron ningún efecto del nivel de alimentación sobre el desarrollo del tejido mamario una vez superada la pubertad del animal y acabada la fase de crecimiento alométrico de la glándula mamaria. En ese trabajo se vio que el alto nivel de ingestión tendió a incrementar la cantidad de tejido adiposo en la glándula pero solo aumentó en un 3% la cantidad de tejido parenquimatoso, lo que en cualquier caso no supuso una diferencia significativa. Tampoco hubo diferencias en la cantidad total de ADN en la glándula cuando se ajustó para el peso vivo de los animales. En este mismo sentido, Foldager y Sejrnsen (1991), en ganado vacuno entre los 300 kg de peso vivo y 3 meses antes del parto, tampoco observaron efecto de la alimentación en el desarrollo mamario.

Por el contrario, Harrison et al. (1983) encontraron un efecto positivo sobre la mamogénesis al alimentar terneras gestantes con altos planos de ingestión de energía. Estos autores observaron que, tanto los animales que consumían durante la gestación altos niveles de energía como aquellos con un nivel de ingestión alto durante el primer año y bajo durante la gestación, presentaban un tejido parenquimatoso 10 veces más pesado a los 250 días de gestación que a los 11 meses de edad. Sin embargo, el peso del parénquima solo se vio multiplicado por 7 en los animales alimentados con un nivel bajo de ingestión de energía durante todo el periodo experimental.

Por lo tanto, y a pesar de que son pocos los trabajos en los que se ha estudiado el efecto del nivel de alimentación durante las fases pospuberales y de gestación sobre la cantidad de tejido mamario, parece que no existe un efecto perjudicial claro de la elevada ingestión de energía en estas fases sobre el desarrollo mamario.

2.1.1.2. Cambios en la producción de leche

Como ya se ha indicado anteriormente, para que el efecto de los elevados niveles de energía en la dieta sobre el desarrollo mamario se manifieste en el futuro potencial de producción de leche, las diferencias en la composición de la glándula ocasionadas durante

el crecimiento del animal deben mantenerse también durante la lactación (Sejrsen y Purup, 1997).

Por lo que se refiere a la **fase de lactancia** de los animales, no se tiene mucha información sobre el efecto que el nivel de ingestión de energía durante esta fase tiene sobre el futuro potencial de producción de leche (Brown et al. 2005). Así, estos autores sugirieron que un rápido crecimiento durante la fase de lactancia si no resulta beneficioso, al menos no parece perjudicar la producción de leche del animal adulto si el contenido de grasa intraparenquimatosa de la glándula mamaria no se ve aumentado por efecto del nivel de alimentación.

Por otro lado, algunos autores (Foldager y Krohn, 1994; Bar-Peled et al., 1997) han observado que una mayor ingestión de leche durante la fase de lactancia da lugar a un mayor peso vivo y una mayor altura a la cruz en el momento del parto y, posteriormente, a una mayor producción de leche. Igualmente, Shamay et al. (2005) observaron que, terneras sometidas a distintas ganancias diarias de peso vivo entre los 5 y los 60 días de edad, aunque tuvieron un desarrollo esquelético similar, aquellas que habían sido alimentadas ad libitum durante ese periodo alcanzaron antes la pubertad y tuvieron un mayor peso vivo adulto y, además, produjeron una mayor cantidad de leche en la primera lactación. Según esto, parecería que el efecto de la alimentación durante la fase de lactancia se debe más al peso vivo de los animales en el momento del parto que al efecto sobre el desarrollo de la glándula mamaria.

Los resultados observados en este sentido relativos a la **fase de recría** previa a la pubertad, tanto en ganado vacuno (Harrinson et al., 1983; Foldager y Sejrsen, 1991; Van Amburgh et al., 1998; Radcliff et al., 2000) como en ganado ovino (Umberger et al., 1985; McCann et al., 1989), indican que el efecto negativo de los altos niveles de alimentación durante este periodo se mantiene a lo largo tanto de la gestación como de la lactación, apreciándose el efecto a largo plazo en la producción de leche de los animales. Estos datos apoyan la concepción de que el efecto negativo del nivel de alimentación en el reducido desarrollo mamario prepuberal implica efectos a largo plazo sobre el potencial de producción de leche, ya que cualquier proceso que limite el desarrollo de estos conductos reducirá la capacidad de la glándula mamaria de producir y transportar leche (Pulina y Nudda, 2002).

En este sentido, Lammers et al. (1999) y Radcliff et al. (2000) observaron una reducción de entre un 7 y un 14% en la producción de leche en la primera lactación como consecuencia de un excesivo crecimiento de las terneras durante la fase prepuberal. No obstante, existen también numerosos experimentos en los que el efecto negativo del nivel de alimentación sobre la posterior producción de leche no se ha puesto de manifiesto (Park et al., 1987; Gaynor et al., 1995; Pirlo et al., 1997; Van Amburgh et al., 1998; Abeni et al., 2000; Carson et al., 2000; Macdonald et al., 2005). Aunque las razones de estas discrepancias en los resultados son inciertas, algunas de ellas se podrían encontrar en las diferentes condiciones de investigación en que se han llevado a cabo las diversas pruebas (Park et al., 1987; Pirlo et al., 1997; Carson et al., 2000; Müller et al., 2005): distintas dietas, diferentes razas (que entre otras cosas pueden tener distinto potencial genético para la producción de leche o para responder a los estímulos de la alimentación), la duración del periodo de tratamiento, que este se encuentre completa o parcialmente fuera del periodo crítico, o escasas diferencias en el ritmo de crecimiento observado para los distintos tratamientos. No obstante, parece estar claro que el desarrollo del parénquima mamario se ve perjudicado por el acortamiento del periodo hasta la pubertad en terneras recriadas rápidamente (Capuco et al., 1995; Meyer et al., 2004), aunque esto no tiene necesariamente por qué dar lugar a una reducción en la producción de leche, particularmente en situaciones donde el potencial genético de las vacas para este tipo de producción esté raramente explotado (Macdonald et al., 2005).

En el experimento desarrollado por Sejrsen y Purup (1997) con 3 razas de ganado vacuno y 3 niveles de ingestión diferentes para cada una de ellas desde las 6 semanas de edad y hasta los 300 kg de peso vivo, se puso de manifiesto que, aunque el efecto negativo del nivel de alimentación existe y es similar en todas las razas, el nivel de ingestión que causa una reducción en el potencial de producción de leche es diferente entre razas.

Otro de los efectos que podría hacer variar la producción de leche de los animales sería el nivel de alimentación tanto **después de la pubertad** como durante la **primera gestación**, aunque son varios los autores que no han encontrado respuesta en este sentido (Lacasse et al., 1993; Carson et al., 2000; Mäntysaari et al., 2002).

Mäntysaari et al. (1999) observaron que un elevado nivel de alimentación durante los últimos 3 meses de gestación incrementó significativamente la producción de leche después del primer parto en terneras de raza Ayrshire. Sin embargo, el nivel de

alimentación durante los 6 primeros meses de la gestación no tuvo ningún efecto sobre la cantidad de leche producida. En este sentido, se ha visto un efecto del peso vivo y la condición corporal de los animales en el momento del parto sobre la producción de leche durante la lactación (Sejrsen et al., 2000). Estos autores señalaron que cuando las terneras se alimentaban con una misma dieta, se esperaba que aquellas que tuvieran un mayor ritmo de crecimiento durante el periodo de recría, tuvieran también un mayor peso vivo al parto y una más alta producción de leche. De igual modo, Macdonald et al. (2005) observaron que el mayor peso vivo de los animales en el momento del parto como resultado de un mayor ritmo de crecimiento durante el periodo prepuberal, aumentó la producción de leche, por lo que el efecto de la alimentación durante la primera fase de la recría se vio enmascarado por ese mayor peso vivo al inicio de la lactación. De esta manera, el ajuste en función del peso vivo en el parto para valorar el efecto de la alta ingestión de alimento en la fase de crecimiento prepuberal proporciona una mejor indicación del efecto de la nutrición sobre el desarrollo mamario (Macdonald et al., 2005).

Por otro lado, Van Amburgh et al. (1998) encontraron que novillas alimentadas con una dieta formulada para conseguir una elevada ganancia diaria de peso durante la recría pueden tener un peso vivo posparto más bajo y, simultáneamente, una mayor condición corporal que las novillas alimentadas para conseguir menores ritmos de crecimiento. Para estos autores, los factores posttratamiento (como el peso vivo después del parto) influyeron más en la variación de la producción de leche que lo que lo hizo la ganancia diaria de peso durante la fase prepuberal y, por tanto, la producción de leche en la primera lactación no se vio comprometida por unas ganancias diarias de peso por encima de 1,1 kg entre los 90 y los 320 kg de peso vivo. Además, diferencias y cambios en la condición corporal también pueden producir variaciones en la producción de leche y la salud de los animales, incluso cuando el peso vivo de los mismos sea similar (Müller et al., 2005).

Por lo tanto, y según lo indicado hasta ahora, se puede decir que incrementar los niveles de alimentación por encima de un ritmo moderado de crecimiento da lugar a una reducción en la edad en que se alcanza la pubertad y puede conducir a reducir el crecimiento mamario y el potencial de producción de leche de los animales al convertirse en adultos. Sin embargo, el hecho de que el efecto negativo del nivel de alimentación no se vea en todos los experimentos deja abierta la posibilidad de que en el futuro pueda ser posible desarrollar unos regímenes de alimentación que promuevan altos ritmos de

crecimiento sin dar lugar a un efecto negativo en el potencial de producción de los animales (Sejrsen y Purup, 1997).

2.1.2. Efecto del nivel de ingestión de proteína

Como ya se ha indicado en el apartado anterior, no todos los estudios han demostrado que animales con un rápido crecimiento antes de la pubertad tengan un peor desarrollo mamario o una menor producción de leche (p. ej., Sejrsen et al., 1982; McFadden et al., 1990a; Foldager y Sejrsen, 1991; Van Amburgh et al., 1998; Macdonald et al., 2005). Una posible explicación para esta variación en la respuesta a la mayor ingestión de energía podría ser la diferente relación energía:proteína de las dietas que se utilizan para promover los rápidos ritmos de crecimiento (Pirlo et al., 1997; Whitlock et al., 2002).

Normalmente, un alto nivel de alimentación se consigue incrementando la cantidad relativa de concentrado en la dieta. Según Sejrsen y Foldager (1992) es posible que este cambio en la composición de la dieta forme parte de la influencia negativa que se ha observado en el crecimiento mamario y en la posterior capacidad de producción de leche de las terneras debido a un elevado nivel de alimentación en la fase prepuberal.

Park et al. (1987) indicaron que una elevada ingestión de proteína en la dieta puede incrementar la mamogénesis en las ratas. Ese mismo año, Kertz et al. (1987) sugirieron que el efecto negativo provocado por los altos niveles de ingestión de energía en terneras prepúberes se puede prevenir incrementando el nivel de proteína en la dieta, hipótesis que ha sido corroborada posteriormente por otros autores (Capuco et al., 1995; Radcliff et al., 1997; Dobos et al., 2000) al estudiar la mamogénesis en el ganado vacuno. Zhang et al. (1995) observaron que en ganado ovino aumentar la proteína en la dieta antes de la pubertad no producía ningún efecto sobre el crecimiento mamario hasta ese momento aunque el peso total de la glándula y la cantidad de tejido parenquimatoso sí se vieron aumentados cuando las ovejas alcanzaron la fase de lactación. En cuanto a la capacidad de producción de leche, estos mismos autores (Zhang et al., 1995) señalaron que esta producción tendió a ser mayor en la primera lactación en las ovejas alimentadas con un mayor porcentaje de proteína en la dieta antes de la pubertad. Sin embargo, en ganado vacuno, Radcliff et al. (2000) observaron una menor producción de leche en terneras criadas rápidamente a pesar del aumento de la cantidad de proteína en la dieta.

Por el contrario, otros autores han establecido que en ganado vacuno la fuente o el nivel de proteína no afectan ni al desarrollo mamario (Mäntysaari et al., 1995; Sejrsen y Purup, 1997; Van Amburgh et al., 1998; Whitlock et al., 2002; Capuco et al., 2004) ni a la producción de leche en la primera lactación (Pirlo et al., 1997; Dobos et al., 2000).

Por lo que se refiere al desarrollo mamario, Sejrsen et al. (1990) sugirieron un efecto estimulante de la proteína en la mamogénesis en el caso de las terneras, similar al observado por Park et al. (1987) en ratas y al propuesto por Johnsson y Hart (1985) en el ganado ovino. Así, la relación proteína:energía de la dieta cambiaría la composición de la ganancia de peso y sus efectos en la mamogénesis de corderas en crecimiento podrían también ser importantes y deberían, por tanto, ser considerados. Sin embargo, otros autores (Zhang y Grieve, 1993) no encontraron diferencias en la deposición de grasa en el organismo usando dietas con distinta concentración de proteína.

Posteriormente, se ha sugerido que se pueden alcanzar rápidos ritmos de crecimiento sin efectos perjudiciales para la producción de leche si este crecimiento tiene lugar sin un excesivo engrasamiento (Capuco et al., 1995; Silva et al., 2002b). En este sentido, diversos autores (Kertz et al., 1987; Radcliff et al., 1997; Lammers y Heinrichs, 2000) han indicado que el uso de sistemas de manejo que permitan conseguir elevadas ganancias diarias de peso sin aumentar el engrasamiento del animal, podrían ser útiles para prevenir los efectos perjudiciales del crecimiento acelerado sobre el desarrollo mamario y a su vez los potenciales efectos negativos sobre la producción durante la lactación. Un modo de actuación en este sentido sería incrementar el nivel de proteína de la dieta (Drackley et al., 2001; Moallem et al., 2004).

2.1.2.1. Cambios en la composición de la glándula mamaria

Durante el **periodo de lactancia**, Brown et al. (2002) observaron que en terneras entre la 2ª y la 8ª semana de edad el incremento tanto de la energía como de la proteína en la dieta hizo aumentar la masa y el total de ADN del parénquima mamario. Sin embargo, esta diferencia entre tratamientos no fue observada entre las semanas 8 y 14 de edad ni tampoco se dieron interacciones entre el nivel de alimentación y el periodo experimental.

Este mismo incremento en el ritmo de desarrollo mamario al aumentar la ingestión de energía y proteína en el periodo de lactancia fue observado por Brown et al. (2005). Sin embargo, no está claro que este incremento en el ritmo de desarrollo del parénquima

mamario entre la 2^a y la 8^a semana de edad pueda traducirse en una mayor producción de leche en el futuro dada la posterior reducción en el ritmo de proliferación celular en el parénquima mamario (Brown et al., 2005). Por lo tanto, se ha sugerido que un rápido crecimiento en las primeras fases, aunque no favorezca la mamogénesis y la posterior producción de leche, al menos no resulta perjudicial si no se ve aumentado el contenido de grasa intraparenquimatosa de la glándula mamaria.

De la misma manera, Dobos et al. (2000) observaron en ganado vacuno que aunque la ganancia diaria de peso vivo en el **periodo prepuberal** se vio influenciada por la concentración de proteína en la dieta, ya que las terneras alimentadas con una dieta con un mayor porcentaje de proteína crecieron más rápido, estas tuvieron una menor área de tejido graso mamario y una menor relación grasa:tejido secretor. Esto mismo había sido observado anteriormente por Capuco et al. (1995) en terneras recriadas a un ritmo de crecimiento superior a 900 g diarios, donde las que recibían una dieta con un 22% de proteína tenían, además de una menor cantidad de grasa mamaria, mamas más ligeras y con una mayor cantidad de ADN mamario total respecto a aquellas alimentadas con una dieta con un 15% de proteína.

Por lo que se refiere al ganado ovino, Zhang et al. (1995), partiendo de la premisa establecida por otros autores en diferentes especies de que la concentración de proteína en la dieta puede estar implicada en el control de la mamogénesis o de la deposición de grasa en la glándula (Johnsson y Hart, 1985; Park et al., 1987; Sejrsen et al., 1990), llevaron a cabo un estudio con corderas prepúberes alimentadas con dietas que contenían un 20% o un 15% de proteína. Estos autores (Zhang et al., 1995) observaron que la cantidad de proteína en la dieta no afectaba al desarrollo mamario de las corderas antes de la pubertad. Sin embargo, y como ya se ha indicado anteriormente, este aumento de la proteína en la dieta antes de la pubertad sí produjo un incremento tanto del peso mamario total como de la cantidad de tejido parenquimatoso y del contenido en ADN cuando las ovejas llegaron al estado de lactación, lo que indicaría un efecto estimulante de la proteína. Por lo tanto, estos resultados sugieren que, en corderas sometidas a elevados ritmos de crecimiento antes de la pubertad, la modificación de la cantidad de proteína en la dieta podría ser una herramienta potencial para el control de la mamogénesis. Este hecho apoyaría la sugerencia realizada por Sejrsen et al. (1982) para el ganado vacuno, donde la inhibición de la diferenciación

mamaria no era causada por un incremento en la infiltración grasa sino más bien por el efecto inhibitorio del tejido adiposo extraparenquimatoso.

Sin embargo, y a pesar de las evidencias mostradas hasta ahora sobre el efecto de la proteína en la dieta en el desarrollo mamario en hembras prepúberes, también existen estudios en los que este efecto favorecedor del desarrollo al aumentar la proteína en la dieta no se ha visto. En este sentido, Whitlock et al. (2002) no observaron ningún efecto en el desarrollo mamario (estudiado a partir de los datos del peso del tejido parenquimatoso) cuando aumentaron el nivel de proteína en la dieta (14, 16 y 19%) de terneras prepúberes alimentadas para favorecer un rápido crecimiento entre los 135 y los 320 kg de peso vivo. A pesar de esto, estos autores sugirieron que el desarrollo mamario podría empeorar en el caso de que el crecimiento acelerado de los animales se viese acompañado de un bajo nivel de proteína en la dieta. Este hecho también fue señalado por Capuco et al. (2004), indicando además que la proteína limitante sería particularmente problemática en el primer periodo posdestete.

Del mismo modo, Mäntysaari et al. (1995) señalaron que el efecto negativo del nivel de alimentación no se veía afectado por la cantidad de proteína *by-pass* administrada a terneras de raza Finnish Ayrshire con crecimientos diarios superiores a 800 g en el periodo prepuberal, similar a lo observado por Van Amburgh et al. (1998) en terneras Holstein con crecimientos por encima de 900 g/d. Igualmente, Capuco et al. (2004) observaron que el crecimiento del parénquima mamario no se veía afectado por la cantidad de proteína no degradable en el rumen (PNDR) aportada con la dieta. Así, un aumento de la cantidad de PNDR suministrada a los animales entre los 3 y los 10 meses de edad, aunque incrementaba el ritmo de crecimiento corporal, no produjo efectos perjudiciales en el crecimiento mamario ni el momento en el que los animales alcanzaron la pubertad, aunque sí influyó en el peso vivo al que la alcanzaron. Tampoco se vieron afectadas las cantidades de ADN y ARN parenquimatoso, la cantidad de lípidos o de proteína en la glándula, o la cantidad de grasa extraparenquimatoso, indicando un crecimiento mamario similar en todos los tratamientos y sugiriendo que la deposición de grasa (incluyendo en esta los adipocitos presente en el parénquima) no se vio influenciada por un elevado ritmo de crecimiento.

También en ganado vacuno, Radcliff et al. (1997) señalaron que la alimentación con una dieta con un elevado contenido tanto de energía como de proteína a partir de los cuatro

meses de edad, no afectaba al desarrollo mamario cuando se midió 70 días después de la primera ovulación. Sin embargo, sí incrementó el ritmo de crecimiento y disminuyó la edad a la pubertad, sin afectar al peso vivo o la altura a la cruz en ese momento, al contrario de lo observado por Capuco et al. (2004).

2.1.2.2. Cambios en la producción de leche

Por lo que se refiere a la producción de leche, Zhang et al. (1995) no observaron en ganado ovino en el periodo de recría un efecto claro del aumento de proteína en la ración, aunque tendió a aumentar (en torno a un 14%) cuando el porcentaje de proteína en la dieta recibida por las corderas pasó de un 15 a un 20%. En ganado vacuno, Shamay et al. (2005) indicaron que la producción de leche durante la primera lactación fue un 9% más alta (un total de 981 kg más durante los 305 días de lactación) en las terneras que durante la fase de recría fueron alimentadas con un pienso suplementado con proteína, pese a la mayor ganancia diaria de peso vivo de estas. Por lo que respecta a la composición de la leche, en las terneras criadas con una mayor cantidad de proteína en la dieta se observó un menor porcentaje tanto de grasa como de proteína, aunque no hubo diferencias en la producción diaria de grasa. Sin embargo, la cantidad de proteína producida al día fue mayor en las terneras alimentadas con una dieta con un mayor contenido en proteína, por lo que la leche corregida para el porcentaje de grasa (leche FCM) también fue mayor en los animales encuadrados dentro de este tratamiento (29,2 vs. 30,7 kg/d). Por lo tanto, y según estos autores, la suplementación con proteína durante la fase prepuberal tiene un efecto a largo plazo, iniciando una situación fisiológica esencial para alcanzar el máximo potencial de producción de leche durante la primera lactación.

Pese a lo indicado hasta ahora a favor del efecto positivo del nivel de proteína en las raciones con alta energía sobre la producción de leche, Radcliff et al. (2000) observaron un descenso en la producción de leche en terneras que durante el periodo prepuberal habían sido alimentadas con una dieta con un alto contenido en energía, pese al alto porcentaje de proteína. Sin embargo, en otros trabajos no se observa ningún efecto del aumento de la cantidad de proteína en la dieta sobre la producción de leche. Así por ejemplo, en un trabajo llevado a cabo por Pirlo et al. (1997) en el que se estudiaron los efectos de dos niveles de alimentación, cada uno de ellos con dos niveles de proteína, los resultados pusieron de manifiesto que las terneras Holstein italianas toleraban bien, entre los 100 y los 300 kg de peso vivo, las ganancias diarias de peso vivo de hasta 800 g que se obtuvieron

con el máximo nivel de alimentación ofertado, sin que se observase un efecto perjudicial para la producción de leche. Además, estos autores también destacaron que esta producción tampoco se veía afectada por la cantidad de proteína presente en la dieta. Resultados similares en la producción de leche en la primera lactación fueron obtenidos por Dobos et al. (2000), aunque estos autores encontraron que la concentración de proteína en la dieta en el periodo prepuberal sí afectaba a la ganancia diaria de peso vivo, que fue más alta para los animales con un mayor aporte proteico, al igual que lo observado por Pirlo et al. (1997).

Por otro lado, Waldo et al. (1998) no observaron diferencias en ninguno de los parámetros relativos al crecimiento durante la fase prepuberal de terneras Holstein en función de la cantidad de proteína digestible en la dieta, ni tampoco en la producción de leche en la primera lactación. Del mismo modo, Capuco et al. (2004) tampoco observaron ningún efecto en la producción y composición de la leche durante la primera lactación en terneras alimentadas con distintas cantidades de PNDR y proteína total presente en la dieta, al igual que lo señalado anteriormente en otros trabajos (Capuco et al., 1995; Silva et al., 2002b), aunque numéricamente la leche producida fue un 7% superior en las terneras suplementadas con PNDR.

2.2. Regulación hormonal

La mayor parte del crecimiento mamario tiene lugar en determinados momentos del ciclo reproductivo: pubertad, gestación y un corto periodo durante el posparto. Cambios en la secreción de determinadas hormonas durante estos periodos pueden afectar al desarrollo de la glándula mamaria (Tucker, 1985; Pulina y Nudda, 2002). En este sentido, Sejrsen y Foldager (1992) indicaron que, probablemente, la influencia que el nivel de alimentación tiene sobre el crecimiento mamario durante la fase prepuberal sea debida, entre otros factores, a cambios hormonales. Así, entre las hormonas implicadas en el crecimiento mamario durante la pubertad y la gestación se incluirían (Reynolds, 1982; Tucker, 1985, 2000; Jammes y Djiane, 1988; Forsyth, 1991; Purup et al., 2000; Chilliard et al., 2001; Akers, 2002; Farmer et al., 2004; Meyer et al., 2006b): los estrógenos y progestágenos, la prolactina, la hormona del crecimiento (GH), la insulina, la leptina, el lactógeno placentario y algún factor de crecimiento como, por ejemplo, IGF-I (*insulin-like growth factor-I*).

El control del crecimiento de las estructuras mamarias y de la adquisición de su funcionalidad se debe a la asociación de varias hormonas que actúan simultáneamente o de manera secuencial y a la relación, bien definida, entre las concentraciones de cada una de ellas (Jammes y Djiane, 1988; Pulina y Nudda, 2002). Diversos estudios de ablación de órganos seguidos de aportes hormonales han puesto de manifiesto el papel que juegan estas hormonas en el desarrollo mamario. En este sentido, en 1958, Lyons et al. usando ratas ovariectomizadas, hipofisectomizadas y adrenalectomizadas observaron que la inyección de estrógenos y GH inducía el crecimiento de los canales mamarios y que el aporte complementario de progesterona y de prolactina estimulaba el desarrollo del sistema lobuloalveolar. Además, la inyección de glucocorticoides, junto con estas cuatro hormonas, permitía la obtención de una glándula mamaria funcional. En ganado vacuno se ha observado también la necesidad de los estrógenos para el desarrollo mamario (Wallace, 1953; Forsyth, 1991; Purup et al., 1993; Akers, 2002) ya que la extirpación del ovario a terneras prepúberes provocaba una reducción en el desarrollo del tejido mamario parenquimatoso. Sin embargo, en ganado ovino, la ovariectomía y, por tanto, la ausencia de estrógenos en el periodo prepuberal no afecta al desarrollo mamario de las corderas (Ellis et al., 1998).

Como indicaron Jammes y Djiane (1988) y, posteriormente, Berry et al. (2003a), el desarrollo de la glándula mamaria en rumiantes se consigue por medio de complejas interacciones entre las hormonas sistémicas y los factores de crecimiento producidos localmente. Aunque la mayor parte del desarrollo mamario ocurre durante la gestación, un periodo crítico tiene lugar durante la fase prepuberal del crecimiento de los animales: entre los 3 y los 9 meses de edad en las terneras (Sinha y Tucker, 1969) y entre las 4 y las 20 semanas de edad en el caso de las corderas (Jonhsson y Hart, 1985), momento en el que el crecimiento mamario sigue un ritmo de crecimiento alométrico.

Según lo indicado en el apartado anterior, un rápido crecimiento antes de la pubertad puede dar lugar a un reducido desarrollo mamario y, posteriormente, a una menor producción de leche (Sejrsen et al., 2000). Por tanto, conocer la biología del crecimiento mamario prepuberal puede permitir la aparición de nuevas estrategias que favorezcan el desarrollo de la glándula mamaria y, consecuentemente, la posterior producción de leche (Berry et al., 2003a).

En este sentido, como ya se ha indicado anteriormente, la influencia que el nivel de alimentación tiene sobre el crecimiento mamario durante la fase prepuberal puede ser debida, entre otros factores, a cambios hormonales (Sejrsen y Foldager, 1992).

El presente trabajo se centrará principalmente en el papel que tienen GH, IGF-I, insulina, prolactina y leptina en el desarrollo mamario y sobre todo durante la fase prepuberal del crecimiento, haciendo un mayor hincapié en el ganado ovino, pero sabiendo que la mayor parte de los estudios en este sentido se han realizado en ganado vacuno.

2.2.1. GH

La GH (hormona del crecimiento o somatotropina) es una hormona de naturaleza proteica secretada por la adenohipófisis (Greco y Stabenfeldt, 2003). Su acción más importante es la de favorecer el crecimiento tisular, lo que depende mucho del estado de desarrollo del animal, puesto que la sensibilidad a esta hormona va aumentando a medida que el animal va creciendo (Eckert, 1991).

El crecimiento de los tejidos estimulado por la GH tiene lugar por incremento del número de células, aunque su efecto no consiste únicamente en la acción directa sobre las células, sino que también actúa sobre otros órganos, como el hígado, favoreciendo la producción de factores de crecimiento como las somatomedinas (Forsyth, 1996; Tucker, 2000), que también ejercen su acción sobre las células estimulando su crecimiento (Eckert, 1991; Dickson, 1993).

Son varios los estudios que indican que la GH juega un papel central en la mediación de los efectos de la dieta sobre el desarrollo mamario, tanto en ganado vacuno como en ganado ovino (Johnsson et al., 1986; Sejrsen et al., 1986, 2000; Sandles et al., 1987). Se sabe que la GH es una hormona necesaria para el desarrollo mamario prepuberal (Cowie et al., 1966; Niezen et al., 1996; Sejrsen et al., 2000; Sejrsen, 2005) y que además se ve afectada por el nivel de alimentación al que están sometidos los animales (Sejrsen, 2005). En este sentido, diversos estudios han mostrado que los niveles sistémicos de esta hormona se reducen en los animales con una elevada ingestión de nutrientes (Sejrsen et al., 1983; Johnsson et al., 1985b; Houseknecht et al., 1988; Buskirk et al., 1996; Niezen et al., 1996), lo que puede provocar una reducción en el crecimiento mamario durante la etapa prepuberal (Sejrsen et al., 1983; Johnsson et al., 1985b) y, por otra parte, se ha observado también el papel estimulador que la GH endógena tiene en el crecimiento del parénquima

mamario en terneras (Sejrsen et al., 1983). Además, en muchos trabajos se ha puesto de manifiesto que la administración exógena de GH estimula el crecimiento de este parénquima, tanto en corderas (Johnsson et al., 1986) como en terneras (Sejrsen et al., 1986; Sandles et al., 1987; Purup et al., 1993; Capuco et al., 2002), y el número total de células en la mama (Radcliff et al., 1997; Berry et al., 2001). En estos trabajos, la GH hizo aumentar el peso del parénquima glandular, pero el tamaño total de la glándula disminuyó debido a la reducción en el tejido extraparenquimatoso. Sin embargo, algunos autores han observado en ganado ovino una ausencia de efecto tras la administración de GH en la etapa prepuberal (McFadden et al., 1990a).

Según estos datos, parecería probable que la baja concentración sanguínea de esta hormona como resultado de una elevada ingestión de nutrientes redujese el desarrollo mamario prepuberal (Harrison et al., 1983; Mäntysaari et al., 1995; Carson et al., 2000), causado por un empeoramiento de la proliferación de las células epiteliales (Sejrsen, 1978, 2005; Sejrsen et al., 1999) y provocado quizás por una estimulación de la hipertrofia celular o una inhibición de la hiperplasia (Niezen et al., 1996). En este sentido, Johnsson (1988) indicó que las concentraciones de GH en la sangre son significativamente más bajas en terneras con ritmos de crecimiento alto antes de la pubertad (cuando los planos de nutrición elevados pueden deprimir la mamogénesis) que, sin embargo, no se ven afectadas por el ritmo crecimiento después de la pubertad (cuando la sensibilidad mamogénica al nivel de alimentación ha descendido). De este modo, tanto en terneras (Sejrsen et al., 1983) como en corderas (Johnsson et al., 1985a), el nivel absoluto de GH en la sangre y la sensibilidad de la concentración de GH a la ingestión de energía descienden marcadamente con el incremento de la edad (Johnsson, 1988).

No obstante, para que la GH tenga un efecto directo sobre la glándula mamaria, es necesario que existan en esta receptores específicos. Sin embargo, no se ha mostrado la unión de la somatotropina al tejido mamario (Sejrsen et al., 2000) ni la presencia de receptores en el tejido mamario de rumiantes prepúberes, al igual que tampoco se han observado en el tejido mamario de vacas u ovejas gestantes o en lactación (Akers, 2002), aunque sí se ha señalado la presencia de ARN mensajero (ARNm) para el receptor de GH en el tejido mamario (Sejrsen et al., 2000; Sinowatz et al., 2000; Akers, 2002; Sejrsen, 2005). Además, se ha visto que esta hormona no estimula el crecimiento celular mamario *in vitro* (Sejrsen y Purup, 1997; Sejrsen et al., 2000). De esta manera, las evidencias

acumuladas en este sentido indican que el efecto in vivo de la GH en el desarrollo mamario es indirecto y está mediado por otras hormonas o factores de crecimiento (principalmente IGF-I) (Akers, 1990, 2002; Forsyth, 1996; Sejrsen y Purup, 1997; Weber et al., 2000a; Boutinaud et al., 2004; Sejrsen, 2005).

Por otro lado, son muchos los estudios en los que se ha observado una estimulación del desarrollo mamario de terneras y corderas prepúberes tras la administración exógena de GH (Sejrsen et al., 1983, 1986, 1999; Johnsson et al., 1986; Sandles et al., 1987; Purup et al., 1993; Weber et al., 2000a; Capuco et al., 2002), debido al aumento de la concentración sérica de GH tras dicha administración (Buskirk et al., 1996), lo que provoca un aumento en el número de células mamarias y en su actividad metabólica (Radcliff et al., 1997). Así, Radcliff et al. (1997) observaron que la administración de somatotropina bovina (bST) a terneras en la fase prepuberal provocó un incremento de la cantidad total de ADN parenquimatoso aunque no su concentración. Por otro lado, en este trabajo, la inyección de bST no afectó a la cantidad de grasa extraparenquimatosa de la glándula mamaria, al igual que lo observado por Capuco et al. (2004), pero tendió a hacer disminuir el tejido graso extraparenquimatoso ajustado para el peso vivo, efecto también señalado por Carstens et al. (1997).

Sin embargo, algunos autores (Buskirk et al., 1996; Capuco et al., 2004) no han encontrado efecto de la administración de bST sobre el desarrollo mamario de terneras prepúberes, aunque sí se ha observado un mayor ritmo de crecimiento (Capuco et al., 2004) y un mayor peso de los animales en el momento en el que alcanzaron la pubertad (Buskirk et al., 1996; Radcliff et al., 1997). De este modo, Capuco et al. (2004) señalaron que favorecer el crecimiento de los animales mediante la administración de bST antes de la pubertad no perjudicaba el crecimiento mamario y que el crecimiento corporal y esquelético fueron promovidos sin un excesivo engrasamiento corporal o un efecto perjudicial para la producción de leche.

En este sentido, Johnsson (1988) y, posteriormente, Radcliff et al. (2004) señalaron que tratar terneras prepúberes con bST y, además, alimentarlas con una dieta alta en energía puede ser un modo de aumentar el crecimiento de los animales y reducir la edad a la pubertad, sin incrementar la deposición de grasa mamaria ni comprometer la futura producción de leche. Sin embargo, el incremento del desarrollo mamario antes de la pubertad inducido por la GH y observado en algunos trabajos (p. ej., Sejrsen et al., 1983;

Johnsson et al., 1986; Sandles et al., 1987; Purup et al., 1993; Radcliff et al., 1997; Weber et al., 2000a; Capuco et al., 2002) no se traduce necesariamente en una mayor producción de leche (Johnsson, 1988; Peri et al., 1993; Vicini et al., 1995; Sejrsen et al., 1999; Akers, 2002), aunque Capuco et al. (2004) observaron que pese a no existir diferencias significativas en la producción de leche de las terneras tratadas con bST respecto a las del grupo control, la producción de las primeras fue superior en un 7%.

Por el contrario, algunos estudios sugieren que el tratamiento con GH durante la última fase de la gestación estimula el crecimiento mamario y provoca también un incremento de la producción de leche durante la subsiguiente lactación (Sejrsen et al., 1999; Akers, 2002). Durante el inicio de la lactación se ha indicado, sin embargo, que el crecimiento mamario no se ve afectado por el tratamiento con bST, mientras que parece que incrementa la masa de parénquima mamario en las fases media y final de la lactación, lo que se traduce en una mayor producción de leche (Sejrsen et al., 1999; Boutinaud et al., 2004). En este sentido, Akers (2006) señaló que el aumento de la secreción de leche comienza al día siguiente de la primera inyección de bST y se maximiza una semana después. Además, la producción de leche se mantiene mientras continúe el tratamiento, pero vuelve a los niveles control cuando la hormona deja de administrarse. La magnitud de la respuesta a una dosis dada de bST depende del animal, del estado de lactación y del manejo al que se ven sometidos los animales.

En ganado caprino, Baldi et al. (2002) señalaron que la administración de bST en la fase final de la lactación puede modular la actividad de la glándula mamaria y mejorar la persistencia de la lactación, lo que se encuentra asociado con el mantenimiento del peso del parénquima mamario y los alvéolos funcionales. Boutinaud et al. (2004) señalaron que después de una semana de tratamiento con bST, se estimula la expresión de tres genes para proteínas de leche, lo que ayudaría a explicar que al inicio de la administración de dicha hormona, cada célula secretora ajuste su capacidad de síntesis para permitir un incremento en la producción de leche. Además, se han realizado estudios sobre la capacidad de la GH para modificar el número de las células productoras de leche. Como ya se ha indicado anteriormente, la administración de GH causa un incremento en el volumen o masa de la ubre de los animales (Knight et al., 1990; Kann, 1997; Baldi et al., 2002). En este sentido, parece que la GH limita progresivamente la pérdida celular, ya que Knight et al. (1990) destacaron que tras 22 semanas de tratamiento, la cantidad de ADN en la ubre de las cabras

lecheras tratadas con bST permaneció constante, mientras que disminuyó en los animales control, lo que podría explicarse más por un efecto proliferativo que por un efecto de supervivencia celular (Boutinaud et al. 2004).

Además, se ha visto que en ganado vacuno en la fase final de la lactación, la GH estimula la proliferación celular y aumenta claramente el peso de la glándula mamaria (Capuco et al., 2001), sin tener ningún efecto significativo sobre el número de células epiteliales de los alvéolos, por lo que no actuaría del mismo modo que un incremento en la frecuencia de ordeño (Boutinaud et al., 2004). Según Baldi et al. (2002), más que actuar sobre el número de células de los alvéolos y el diámetro alveolar, la GH incrementa el número total de alvéolos, y más particularmente de los alvéolos activos.

2.2.2. IGF-I

Los factores de crecimiento tipo insulina (IGFs; *insulin-like growth factors*; IGF-I e IGF-II) son péptidos con función endo-, auto- y paracrina que regulan el crecimiento y la diferenciación celular, el mantenimiento de las funciones de la célula y la prevención de la apoptosis de múltiples tipos celulares (Clemmons y Underwood, 1991; Le Roith et al., 2001b; Akers 2002; Brameld, 2005).

En un principio estos factores de crecimiento se denominaron somatomedinas, debido a la hipótesis inicial de que eran mediadores endocrinos de los efectos de la GH en el crecimiento posnatal (Forsyth, 1989b; Le Roith et al., 2001b). Desde esos primeros experimentos, la visión ha evolucionado y las somatomedinas, ahora llamadas IGFs, se ha visto que son importantes en su acción local como estimuladoras de la función celular (Bachman et al., 1999; Baumrucker y Erondy, 2000; Akers, 2006). Además, y aunque es cierto que muchas de las funciones anteriormente atribuidas a la GH se sabe que están mediadas por la IGF-I, entre ellas la producción de leche (Sharma et al., 1994), no se debe olvidar que muchos tejidos también expresan receptores para la GH (Butler y Le Roith, 2001; Le Roith et al., 2001a, 2001b; Akers, 2006).

La cantidad de GH unida a sus receptores en el torrente sanguíneo es el principal regulador fisiológico de la IGF-I circulante, ya que promueve la liberación de esta última tanto por el hígado (Tucker, 2000; Le Roith et al., 2001b; Plath-Gabler et al., 2001; Akers, 2002; Taylor et al., 2006) como por otros tejidos, como por ejemplo la glándula mamaria (Forsyth, 1996; Tucker, 2000; Berry et al., 2003a; Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005).

Sin embargo, se sabe que la IGF-I también se produce localmente en tejidos diversos al hígado (como las células del estroma y el parénquima mamario; Akers, 2002) y, en ocasiones, en cantidades tan importantes que pueden llegar a suplementar o incluso sustituir la IGF-I procedente del hígado (Akers et al., 2000; Akers, 2002, 2006), por lo que el nivel circulante de esta hormona no se ve necesariamente reflejado en su concentración en la ubre (Nørgaard et al., 2008).

Por lo que se refiere al efecto de la IGF-I en la glándula mamaria, diversos estudios han destacado la necesidad de la presencia de este factor de crecimiento para que el desarrollo mamario tenga lugar (Akers, 1990, 2002; Campbell et al., 1991; Kleinberg et al., 2000; Etchebarne et al., 2003; Farmer et al., 2004), ya que se ha observado que induce una respuesta dosis dependiente en el incremento de la síntesis de ADN en el tejido mamario de terneras prepúberes (Shamay et al., 1990; Kleinberg et al., 2000; Purup et al., 2000; Farmer et al., 2004), de vacas y ovejas gestantes (Baumrucker y Stemberger, 1989; Winder et al., 1989; Stelwagen et al., 1993; Forsyth et al., 1998; Baumrucker y Erondy, 2000) y de vacas en lactación (Baumrucker y Stemberger, 1989; Baumrucker y Erondy, 2000; Accorsi et al., 2002; Gulay et al., 2004).

En este sentido, como se ha indicado anteriormente, parece que la IGF-I, de acuerdo con la hipótesis de la somatomedina, actúa también como mediadora de los efectos de la GH en el crecimiento mamario (Holly y Wass, 1989; Akers, 2000; Forsyth, 1996; Sejrsen, 2005). Esto podría apoyarse en varios hechos, entre los que destacarían (Purup et al., 1993, 1995; Niezen et al., 1996; Sejrsen et al., 1999, 2000): (1) que el nivel circulante de IGF-I se incrementa por el tratamiento de los animales con GH exógena, (2) que existen receptores de IGF-I en el tejido mamario y (3) que la IGF-I estimula el crecimiento mamario *in vitro*. Además, también se ha visto que el efecto mitogénico del suero en el crecimiento de las células mamarias *in vitro* está muy relacionado con la concentración de IGF-I en él (Sejrsen et al., 2000) y que la expresión de IGF-I incrementa con el comienzo de la fase alométrica del crecimiento mamario en ganado ovino (Hovey et al., 1998).

Sin embargo, según Sejrsen (2005), estas conclusiones no pueden explicar el efecto negativo del nivel de alimentación sobre el crecimiento mamario, debido a que la concentración sérica de IGF-I aumenta, al contrario de lo que hace la GH, como consecuencia de los altos niveles de alimentación (Weber et al., 2000b; Berry et al., 2003a, 2003b). Por lo tanto, y al contrario de lo que sucede *in vitro*, el crecimiento *in vivo* de las

células mamarias está positivamente correlacionado con la concentración sérica de GH y negativamente con la de IGF-I (Sejrsen et al., 2000; Berry et al., 2003b; Sejrsen, 2005).

Son numerosos los estudios que han señalado a la nutrición como el principal factor que afecta a la mamogénesis en la fase prepuberal del desarrollo, ejerciendo su acción a través del eje GH/IGF-I/IGFBPs (Sejrsen et al., 1995; Weber et al., 1999; 2000b; Knight, 2000). En este sentido, hay que destacar la importancia de las IGFBPs (*insulin-like growth factor binding proteins*) en la modulación de la respuesta sobre el crecimiento mamario (Buskirk et al., 1996; Sejrsen y Purup, 1997), aunque tampoco se deben dejar de mencionar otros factores, tales como la sensibilidad del tejido a la IGF-I y los posibles papeles de otras hormonas y factores de crecimiento (Peri et al., 1993; Plaut, et al., 1993; Purup et al., 1993, 2000; Sejrsen et al., 1995, 2000; Weber et al., 2000a; Stull et al., 2002; Hovey et al., 2003; Sejrsen, 2005).

Purup et al. (2000) encontraron in vitro que el tejido mamario de terneras alimentadas con un alto nivel de energía respondía peor a la IGF-I que el perteneciente a terneras alimentadas a un nivel moderado, aunque no se observaron diferencias en el número de receptores de IGF-I o en la cantidad de ARNm para el receptor de IGF-I en el tejido mamario, lo que sugiere una inhibición de la acción de IGF-I a un nivel posreceptor (Sejrsen et al., 2005). Sin embargo, los extractos celulares de glándula mamaria de las terneras alimentadas con un elevado nivel de ingestión estimularon la proliferación celular menos de lo que lo hicieron los pertenecientes a las terneras alimentadas de manera moderada, lo que puede ser debido al incremento de la producción local de uno de los 6 subtipos de IGFBPs (IGFBP-3; Purup et al., 2000; Sejrsen et al., 2000). Además, la adición de IGFBP-3 a las células en cultivo inhibió el efecto de la adición de IGF-I, suero y extracto de glándula mamaria (Weber et al., 1999; Akers et al., 2000; Purup et al., 2000; Berry et al., 2001), lo que sugiere que el efecto negativo del nivel de alimentación sobre el crecimiento mamario está causado, al menos en parte, por una reducción en la sensibilidad del tejido mamario a la IGF-I (Purup et al., 2000; Weber et al., 2000a; Sejrsen, 2005) debido a un incremento de la producción local de IGFBP-3, que provoca la inhibición del efecto del mayor nivel sérico de IGF-I. En este sentido, Berry et al. (2001) observaron un incremento en la proliferación de las células mamarias epiteliales asociado a un incremento en el nivel de IGF-I y una reducción de IGFBP-3 en el tejido mamario. Además, estos autores destacaron que un incremento en la relación IGF-I:IGFBP-3 en la glándula

mamaria provoca un aumento de la proporción de IGF-I mamaria disponible para estimular la proliferación celular. Los cambios en la disponibilidad local de IGF-I e IGFBP-3 pueden mediar una parte de los efectos de la GH y el nivel de alimentación en el desarrollo mamario en rumiantes prepúberes (Weber et al., 2000b).

Por otra parte, las IGFbps, sintetizadas también por la glándula mamaria (Clemmons, 1998; Weber et al., 2000b), tienen efectos tanto dependientes como independientes de IGF-I (Flint et al., 2000), entre los que se incluyen (Thissen et al., 1994; Vestergaard et al., 1995, 2003; Plath-Gabler et al., 2001; Akers, 2002; Brameld, 2005): funcionar como sitio o forma de almacenamiento para las IGFs (la unión incrementa la vida media), ayudar al transporte de IGFs hacia sus receptores (p. ej., favoreciendo los efectos de las IGFs), impedir que las IGFs se unan a sus receptores (inhibiendo los efectos de las IGFs) y actuar de forma directa (independiente de IGF) sobre las células.

Según todo esto se puede decir que la regulación de la mamogénesis durante el periodo prepuberal en los rumiantes se ve influenciada por diversos factores, entre los que destaca la nutrición, que afecta a la expresión de hormonas y factores de crecimiento, además de receptores y proteínas de unión (McGuire et al., 1992; Weber et al., 2000b; Akers, 2002; Radcliff et al., 2004; Thorn et al., 2006).

Por lo que se refiere al efecto de IGF-I en la glándula mamaria en el periodo de lactación, diversos autores (Plath-Gabler et al., 2001; Akers, 2002) han señalado que tanto la IGF-I como las IGFbps son poco importantes en esta fase, aunque aparecen en las secreciones mamarias (principalmente IGFBP-3), y se ha sugerido que debido a su presencia en la leche o el calostro pueden influenciar el crecimiento y desarrollo neonatal. En este sentido, Baumrucker y Erondy (2000) señalaron que la concentración en el calostro es alrededor de 100 veces más alta que en la leche normal. Así mismo, Plath-Gabler et al. (2001) y Nørgaard et al. (2008) señalaron una disminución progresiva en la presencia de IGF-I en la glándula a medida que avanzaba la lactación y un aumento de la misma durante el proceso de involución, al igual que lo observado por Flint et al. (2001), acompañado también por cambios en las concentraciones de las IGFbps.

2.2.3. Insulina

La insulina es una hormona de origen proteico producida en el páncreas y que actúa en varios lugares de las rutas metabólicas de los hidratos de carbono, los lípidos y las

proteínas (Dickson, 1993). Debido a su importancia en el metabolismo de estos nutrientes, la insulina participa en la regulación del crecimiento y desarrollo de los animales (Brameld, 2005), aunque se ha señalado que este hecho también puede deberse a su capacidad para unirse a su propio receptor o al de la IGF-I (Tucker, 2000; Akers, 2006). Los estudios realizados *in vitro* muestran, en este sentido, efectos similares a los que presentan las IGFs, aunque las concentraciones de insulina requeridas son con frecuencia más altas y deben ser suprafisiológicas (Brameld et al., 1998; Wood et al., 2000). Por otro lado, parece que esta hormona también participa en la regulación de la expresión de la IGF-I en el hígado (Pell et al., 1993; Vestergaard et al., 2003) y puede tener algún efecto indirecto vía este mecanismo (Brameld, 1997; Taylor et al., 2006). Además, se ha observado que la insulina es un potente regulador de la síntesis proteica (Greco y Stabenfeldt, 2003), lo que también se encuentra relacionado con la hipertrofia celular (Brameld, 2005).

Por lo general, se ha observado que en los rumiantes las concentraciones sanguíneas de insulina están positivamente correlacionadas con el nivel de ingestión (Bassett, 1974; Johnsson, 1988; Peri et al., 1993; Yelich et al., 1995; Carson et al., 2000; Ford y Park, 2001; Reist et al., 2003). Sin embargo, aunque esta correlación positiva ha sido señalada específicamente para la etapa prepuberal de los animales, tanto en lo que se refiere al nivel de ingestión de energía (Sejrsen et al., 1983; McFadden et al., 1990b; Mäntysaari et al., 1995; Vestergaard et al., 2003) como al de proteína (Holcombe et al., 1992), algunos trabajos han destacado la ausencia de diferencias en este sentido (Johnsson et al., 1985b; Sejrsen y Foldager, 1992; Zhang et al., 1995). Estas discrepancias pueden deberse al hecho de que las fluctuaciones en los niveles circulantes de insulina en animales jóvenes son mayores a las observadas en adultos (Bassett, 1974; Johnsson et al., 1985b), lo que puede sugerir que la ausencia de relación entre el nivel circulante de insulina y la ingestión de alimento antes de la pubertad se deba a que la ruta metabólica de regulación se desarrolle con la edad (Johnsson et al., 1985b). En este sentido, diversos autores han señalado que en terneras, las diferencias observadas en las concentraciones de insulina sérica fueron mayores en el periodo prepuberal de crecimiento respecto al periodo pospuberal (Sejrsen et al., 1983; Stelwagen y Grieve, 1992).

Por lo que se refiere a la glándula mamaria, se ha visto que aunque la insulina es esencial para el crecimiento *in vitro* de este órgano, debido a que estimula la mitosis de las

células epiteliales del parénquima mamario (Tucker, 1985; Borellini y Oka, 1989), aparentemente no tiene acción mamotrófica in vivo (Knight y Peaker, 1982; Tucker, 1985, 2000; Neville et al., 2002). En este sentido, se han observado resultados contradictorios en la relación entre los niveles sanguíneos de insulina y la mamogénesis en el periodo prepuberal. Por una parte, algunos trabajos han señalado que no existe relación entre ambos parámetros (Sejrsen et al., 1983; Johnsson et al., 1985b; Peri et al., 1993; Mäntysaari et al., 1995) aunque, por otra, también se ha indicado que una elevada concentración plasmática de insulina provoca una reducción en el desarrollo mamario (Reynolds, 1982). En este mismo sentido, Tucker (2000) señaló que una alta dosis de esta hormona puede evitar o hacer disminuir la secreción de IGF-I inducida mediante la GH y, por tanto, la mamogénesis en animales hipofisectomizados. Por el contrario, Sejrsen y Foldager (1992) señalaron que la materia seca libre de grasa de la glándula mamaria estaba positivamente correlacionada con la concentración plasmática de insulina, al igual que lo observado por Stelwagen y Grieve (1992), que también destacaron una correlación positiva entre la insulina y la cantidad de proteína bruta de la glándula mamaria. Sin embargo, y aunque en este último trabajo los animales podrían haber alcanzado ya la pubertad en el momento de la toma de muestras (tal y como indicaron los propios autores), no existen evidencias claras que puedan indicar un papel de la insulina durante el periodo prepuberal en el crecimiento mamario de los rumiantes (Sejrsen y Foldager, 1992; Carson et al., 2000), a pesar de que no se haya encontrado ninguna relación entre el nivel de insulina circulante durante el periodo prepuberal del ganado vacuno con la producción de leche en las tres primeras lactaciones (Peri et al., 1993; Taylor et al., 2006). Según Hurley (2006), una concentración de insulina en la sangre dentro de los valores normales no limita el desarrollo mamario y actúa junto con los estrógenos y la progesterona para incrementar este desarrollo.

Por otro lado, aunque está claro que la insulina no es esencial ni para la lactogénesis ni para la lactación (Neville et al., 2002), esta hormona juega un importante papel en la regulación de la producción de leche (Vicini et al., 1991) debido a su influencia en el flujo de nutrientes que llegan a la glándula mamaria en el animal en lactación (Griinari et al., 1997; Tucker, 2000; Neville et al., 2002; Taylor et al., 2006). Así, durante la primera parte de la lactación las concentraciones de insulina son bajas como consecuencia del balance energético negativo que presentan los animales en este periodo (Reist et al., 2003; Taylor et al., 2006). Este bajo nivel de insulina, unido a los altos niveles circulantes de GH,

debido a la correlación negativa entre estas dos hormonas en esta fase (Vicini et al., 1991; Chilliard et al., 1998), permite el uso de la mayor parte de la glucosa para la síntesis de leche, mientras que su oxidación y su utilización en los tejidos extramamarios se ven reducidas (Bauman et al., 1988; Chilliard et al., 1998; Chilliard, 1999; Tucker, 2000), por lo que a pesar de la baja concentración de insulina en este periodo no existe una reducción en el aporte de glucosa a la glándula mamaria, lo que podría indicar que este aporte es independiente de la insulina (Nielsen et al., 2001a). Además, la relación entre las concentraciones de insulina y GH promueve la lipólisis, por lo que también existe un mayor aporte de ácidos grasos a la glándula mamaria (Chilliard, 1999; Taylor et al., 2006).

Por tanto, aunque la insulina es necesaria para la síntesis de leche, su concentración en la sangre está relacionada negativamente con la cantidad que se produce (Vicini et al., 1991; Tucker, 2000). En este sentido, se ha observado que la administración de insulina al inicio de la lactación incrementa la concentración plasmática de IGF-I (Taylor et al., 2006), y se ha visto que existe una relación negativa entre la IGF-I en el periodo inmediatamente posparto y la posterior producción de leche (Taylor et al., 2004). De este modo, se apoya la teoría de que las vacas más productoras son aquellas capaces de movilizar los tejidos corporales para la producción de leche y así alcanzar un mayor balance energético negativo al inicio de la lactación, lo que está asociado a una concentración más baja de insulina (Taylor et al., 2006). Por tanto, según estos mismos autores parece que la selección genética para la producción de leche está asociada con un descenso en los niveles circulantes de insulina en las vacas lecheras. Sin embargo, y a pesar de todo, ninguna medida de IGF-I, insulina o glucosa a los 6 meses de edad fue útil para predecir la futura producción de leche (Taylor et al., 2006).

2.2.4. Prolactina

La prolactina es una hormona de naturaleza proteica secretada por la adenohipófisis (Greco y Stabenfeldt, 2003), cuya función principal es la de controlar la producción de leche durante la lactogénesis y la galactopoyesis (Jammes y Djiane, 1988; Hennighausen et al., 1997; Tucker, 2000; Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005). Además, esta hormona resulta esencial para el paso de una glándula mamaria en proliferación a una glándula productora de leche, pese a que, en el caso de los rumiantes, el papel dominante en esta función sea para la GH (Flint y Knight, 1997; Knight, 2001). Por otro lado, se ha observado que uno de los efectos de la prolactina, junto a la GH, en la regulación de la

síntesis de leche en la glándula mamaria es el de favorecer, al menos en parte, la supervivencia de las células mamarias epiteliales (Travers et al., 1996), ya que ambas hormonas regulan tanto la muerte celular como la remodelación del tejido (Tonner et al., 2000a, 2000b). Sin embargo, parece que, aunque la pituitaria es esencial para un desarrollo mamario normal, su efecto es dependiente de la especie animal (Akers, 2002).

En este sentido, son varios los trabajos que han señalado el poco efecto que tiene la prolactina en el crecimiento mamario en rumiantes (Sejrsen et al., 1983, 1986; Johnsson et al., 1985b, 1986; McFadden et al., 1990b). Por ejemplo, y aunque se ha señalado que durante la gestación la prolactina actúa directamente en el epitelio mamario de los ratones produciendo el desarrollo lobuloalveolar (Brisken et al., 1999) y la diferenciación funcional de las células alveolares (Henninghausen et al., 1997), en rumiantes se ha visto que su concentración en sangre no varía significativamente durante esta fase (Tucker, 1985; Smith et al., 1989), cuando la glándula mamaria se desarrolla más velozmente, aunque aumentan considerablemente sus receptores en el último mes (Smith et al., 1989). No obstante, diversos autores (Tucker, 2000; Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005) han puesto de manifiesto que no existe actividad mamogénica en ausencia de prolactina, por lo que su presencia es necesaria, aunque no limitante, en el proceso de mamogénesis (Tucker, 1985; Akers, 2002), a pesar de que dicha hormona puede inducir un pequeño desarrollo mamario por sí misma (Knight, 2001).

En el periodo de lactación de muchas especies de mamíferos (incluyendo el ganado ovino y porcino, así como roedores y humanos) se ha visto que una disminución de la concentración de la prolactina en sangre impide o disminuye la secreción de leche (Knight, 2001). Sin embargo, según este mismo autor, en especies como el vacuno y el caprino no sucede así y el tejido mamario desarrolla una gran afinidad por la prolactina presente en la circulación, por lo que puede responder adecuadamente incluso a niveles muy bajos de esta hormona. Además, se ha observado que la propia glándula mamaria puede producir localmente prolactina (Steinmetz et al., 1993; Ginsburg et al., 1997; Knight, 2001).

Por otro lado, son varios los trabajos en los que se ha señalado que la concentración de prolactina en sangre está relacionada con la temperatura ambiental y el fotoperiodo (Johnsson et al., 1985b, 1986; Berry et al., 2003a; Accorsi et al., 2005) y, en este sentido, se ha sugerido también el efecto de esta hormona como mediador del papel del fotoperiodo en el crecimiento de los animales (Petitclerc et al., 1983). Además, Akers et al. (1981)

destacaron que la prolactina induce, en parte, la diferenciación de las células epiteliales mamarias en el periodo periparto y que el crecimiento del parénquima se veía potenciado en los momentos en los que el fotoperiodo aumentaba (Petitclerc et al., 1984), lo que puede estar mediado por la prolactina, aunque los mecanismos de acción son inciertos (McFadden et al., 1990b).

Por lo que se refiere al efecto de la prolactina en el desarrollo mamario antes de la pubertad, algunos autores han observado que la concentración sérica de esta hormona es más alta en las terneras criadas rápidamente tanto antes de la pubertad (Sejrsen et al., 1983; Johnsson, 1988) como después (Sejrsen et al., 1983). En ganado ovino, Johnsson et al. (1986) señalaron igualmente que después de las 20 semanas de edad, momento en el que parece que la glándula vuelve a un crecimiento isométrico (Johnsson et al., 1985b), no existe efecto aparente del nivel de alimentación sobre la concentración de prolactina en sangre, que sin embargo sí se había observado que disminuía en corderas con alimentación restringida en el periodo previo a las 20 semanas de vida.

En contraposición con esto, otros trabajos realizados en ganado vacuno (Sejrsen et al., 1983; Sejrsen y Foldager, 1992; Peri et al., 1993; Mäntysaari et al., 1995; Petitclerc et al., 1999) observaron que la concentración de prolactina no se veía afectada por el nivel de alimentación y tampoco afectaba al desarrollo de la glándula mamaria en terneras prepúberes. Sin embargo, Peri et al. (1993) sí encontraron diferencias en el periodo postpuberal, observando una mayor concentración de prolactina en los animales a los que se suministró la dieta de forma restringida.

De este modo, tal y como señalaron McFadden et al. (1990b) y posteriormente Petitclerc et al. (1999), el papel de la prolactina en la mediación de algún efecto nutricional en el periodo prepuberal del desarrollo de la glándula mamaria parece incierto. A pesar de todo, parece que los rumiantes menos seleccionados para la producción de leche (como, por ejemplo, la oveja) muestran una mayor dependencia de la prolactina (Knight, 2001).

2.2.5. Leptina

La leptina es una hormona de naturaleza proteica producida principalmente por los adipocitos del tejido adiposo blanco (Zhang et al., 1994), aunque se sabe que también se expresa en tejidos no adiposos (Chilliard et al., 2001). Así, en rumiantes, se ha visto que el gen de la leptina se expresa en el tejido adiposo blanco, el músculo esquelético, los tejidos

fetales, la glándula mamaria, el rumen, el abomaso, el duodeno y la glándula pituitaria (Chilliard et al., 2001; Bonnet et al., 2002b; Smith y Sheffield, 2002; Yonekura et al., 2002, 2003; Bartha et al., 2005; Thorn et al., 2007). La leptina puede actuar no solo como una señal endocrina en el cerebro y en un gran número de tejidos periféricos que expresan su receptor, sino también como una señal auto- y paracrina dentro de los tejidos donde es producida (Chelikani et al., 2003a; Chilliard et al., 2005).

A través de sus efectos en el sistema nervioso central (SNC) o en las glándulas endocrinas, la leptina hace disminuir la insulina y los glucocorticoides y estimula la producción de la GH, las catecolaminas y la secreción de las hormonas tiroideas (Chilliard, et al., 2005). De este modo, incrementa el gasto energético de los tejidos y la lipólisis en el tejido adiposo y, además, provoca un descenso de la lipogénesis en el tejido adiposo y el hígado. Por otro lado, la leptina también actúa directamente sobre los tejidos periféricos estimulando la lipólisis e inhibiendo la lipogénesis en el tejido adiposo, incrementando la sensibilidad a la insulina y la utilización de la glucosa en el músculo y la oxidación de los ácidos grasos en músculo, hígado y tejido adiposo. Este último es probablemente el evento clave de los efectos de la leptina sobre el descenso en el contenido lipídico y la sensibilización a la insulina de los tejidos (Chilliard et al., 2005). Además, la leptina está implicada en diversas rutas metabólicas que regulan, entre otras funciones básicas del organismo, la ingestión de energía y la división celular (Houseknecht et al., 1998) lo que, a través del SNC, provoca una reducción de la ingestión de alimento (Friedman y Halaas, 1998; Farmer et al., 2004).

Se ha señalado que tanto en animales jóvenes como en adultos las concentraciones plasmáticas de leptina están reguladas por la adiposidad y la nutrición (Ehrhardt et al., 2003; Chilliard et al., 2005; Zieba et al., 2005) y que una elevada ingestión de nutrientes provoca un incremento de la leptina plasmática (Block et al., 2003b), aunque se ha visto que en corderos en crecimiento la síntesis de leptina en el tejido adiposo aumentará solo cuando se haya alcanzado un nivel umbral de energía disponible (Ehrhardt et al., 2003). Esto parece indicar que, al contrario de lo que sucede en la vida adulta del animal, en la vida posnatal prevalecen los efectos de la nutrición sobre la adiposidad del organismo en la regulación de la síntesis de leptina (Ehrhardt et al., 2003).

Por otra parte, se ha observado que la perfusión de leptina intramamaria en terneras prepúberes bloquea la proliferación de células epiteliales en la glándula mamaria (Silva et

al., 2003). De este modo, son varios los estudios que han señalado que la leptina podría intervenir en la mamogénesis, mediando el efecto inhibitorio de las dietas altamente energéticas en el desarrollo mamario previo a la pubertad (Silva et al., 2002a, 2003; Davis et al., 2005; Meyer et al., 2006b). Esto podría explicarse por el hecho de que, aunque una elevada ingestión de energía en terneras prepúberes incrementa la concentración de IGF-I en el suero sanguíneo, también incrementa la deposición de grasa (Radcliff et al., 1997) y se ha visto que, incluso cuando las terneras se alimentan con la misma dieta, aquellas más engrasadas alrededor de la pubertad presentan un menor desarrollo del parénquima mamario (VandeHaar et al., 2001). Además, también se ha observado que el incremento de la grasa en el organismo provoca un aumento de la concentración de leptina en el suero (Delavaud et al., 2000; Ehrhardt et al., 2000; Zieba et al., 2005) y esta provoca una inhibición de los efectos de estimulación que la IGF-I tiene sobre las células epiteliales mamarias (Silva et al., 2002a, 2003; VandeHaar et al., 2002).

Además, tal y como se ha señalado anteriormente, también las células del parénquima mamario son capaces de sintetizar leptina (Chilliard et al., 2001; Smith y Sheffield, 2002; Yonekura et al., 2006), por lo que es posible que la concentración local de esta hormona en la glándula mamaria sea más alta que en el suero y, por tanto, se vea más acentuado su efecto inhibitorio de la mamogénesis (Silva et al., 2002a). Sin embargo, y aunque la síntesis de leptina se ve aumentada en terneras que crecen rápidamente (Block et al., 2003b; Thorn et al., 2006), puede que esta no actúe directamente sobre las células epiteliales mamarias, ya que no se ha observado que estas células expresen el receptor para la leptina (Thorn et al., 2006).

Durante la fase de gestación se ha visto que tanto en ganado vacuno como en ovino y caprino, los niveles de leptina plasmática son altos (Chelikani et al., 2003b; Sauerwein et al., 2004; Bonnet et al., 2005; Chilliard et al., 2005) como consecuencia del incremento en el tejido adiposo observado en esta fase (Neville et al., 2002; Bonnet et al., 2005). Por otra parte, se ha señalado también que la concentración de leptina disminuye en el periodo periparto (Block et al., 2001; Holtenius et al., 2003; Liefers et al., 2003) y sus niveles se mantienen bajos durante la lactación (Sorensen et al., 2002; Block et al., 2003a; Reist et al., 2003; Bonnet et al., 2005; Nørgaard et al., 2008), contribuyendo posiblemente a la hiperfagia de la lactación (Neville et al., 2002). En este sentido, se ha observado que durante la lactación existe una correlación positiva entre los niveles de insulina y de leptina

(Block et al., 2001, 2003a; Holtenius et al. 2003; Govoni et al., 2005), ya que aunque la insulina estimula la expresión del gen de la leptina (Accorsi et al., 2005), las bajas concentraciones de insulina observadas al inicio de este periodo (Reist et al., 2003; Taylor et al., 2006) pueden ser uno de los factores responsables de la reducción en los niveles de leptina en esta fase (Accorsi et al., 2005).

3. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA MAMARIA

Como se ha indicado anteriormente, el número de células epiteliales secretoras de la glándula mamaria es uno de los principales elementos que limita la producción de leche (Akers, 2002). El incremento de estas células del alvéolo mamario tiene la capacidad de aumentar la producción de leche (Tucker, 1987). Del mismo modo, el incremento de las proporciones de fibroblastos y adipocitos está normalmente asociado con una reducida producción lechera. En este sentido, durante años se ha observado que existen animales con ubres voluminosas pero que, sin embargo, secretan muy poca cantidad de leche, debido a que la proporción de tejido conjuntivo es mucho más elevada que la proporción de conductos y tejido secretor (Schmidt, 1974).

Por lo tanto, conocer toda la información relativa a la fisiología mamaria, determinando sus patrones de crecimiento y cómo esta se va desarrollando, puede ayudar a incrementar la futura producción de leche. Para ello existen numerosas técnicas y la utilización de cada una de ellas dependerá tanto de la especie animal en estudio como del estado de desarrollo glandular (Knight y Peaker 1982).

Sin embargo, según lo indicado por muchos autores (Schmidt, 1974; Tucker, 1981; Sejrsen y Purup, 1997; Akers, 2002) es muy difícil, si no imposible, obtener una estimación real del crecimiento mamario en un animal vivo. Por una parte, hay que tener en cuenta que la mayoría de los procedimientos (con la excepción de la medida del volumen mamario) son métodos invasivos, lo que dificulta mucho su aplicación en animales en producción que, por otra, parte siguen un patrón de desarrollo diferente al de los pequeños animales de laboratorio. Por otro lado, hay que considerar que, además de las células epiteliales responsables de la producción de leche, existen otras células presentes en la glándula mamaria (como leucocitos, fibroblastos y células lipídicas) que pueden complicar las estimaciones del número de células mamarias (Tucker, 1969).

Normalmente, el estudio del desarrollo de la glándula mamaria se enfoca más al tejido parenquimatoso, pero los cambios en el resto de la glándula (*fat pad* o tejido extraparenquimatoso) son también importantes y no siempre se corresponden con cambios en el parénquima (Akers, 2002). Por lo tanto, y sobre todo en periodos de marcado crecimiento mamario, solo serán útiles las técnicas que permitan distinguir entre estos dos tejidos. Sin embargo, en momentos como la lactación, medidas mucho más simples como el peso o el volumen pueden resultar de utilidad. De este modo, la metodología a utilizar debería elegirse en función de las circunstancias, aunque según Akers (2002) para poder obtener una total caracterización del parénquima lo más indicado sería incluir más de una de estas técnicas.

En este apartado, por lo tanto, se estudiarán diversas maneras de cuantificar tanto la morfología como el desarrollo mamario. Para ello, se describirán los distintos caracteres morfológicos de la glándula y también, las diferentes técnicas bioquímicas, histológicas y citológicas, además de los nuevos avances tecnológicos, que permiten determinar la estructura y el crecimiento de la glándula mamaria.

3.1. Caracteres morfológicos

Un método reciente para el estudio del sistema lobuloalveolar y las cisternas de la glándula mamaria es la utilización de moldes de resina plástica (Ruberte et al., 1994b, Carretero et al., 1999). Para ello es necesario sacrificar al animal, habiendo primero retirado toda la leche de la ubre mediante el ordeño con oxitocina (Carretero et al., 1999). Posteriormente, y una vez escindida la glándula del animal sacrificado, se inyecta una resina epoxi fluida a través del esfínter del pezón hasta obtener la repleción completa de todo el sistema tubuloalveolar. Una vez endurecida la resina, las ubres son sumergidas en una solución de hidróxido de potasio que corroe el tejido orgánico. Los moldes obtenidos (Figura 4) se pueden utilizar en estudios macroscópicos y microscópicos para observar con detalle la morfología mamaria (Carretero et al., 1999).

Sin embargo, la mayoría de los métodos morfológicos se caracterizan por ser no invasivos, no siendo necesario el sacrificio del animal para la obtención de los datos. Durante muchos años se ha utilizado el método de la palpación como una manera de evaluar el desarrollo de la ubre en terneras o novillas (Anderson, 1985), permitiendo comparar, de manera subjetiva, animales de la misma edad. Sin embargo, la desventaja de

estos métodos no invasivos es que los datos obtenidos a partir de ellos son de un valor limitado debido a su carácter subjetivo.

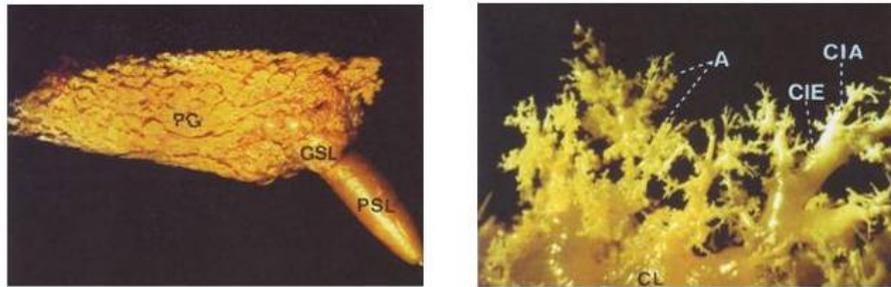


Figura 4. Repleción plástica del sistema canalicular y del parénquima mamario. PG: parénquima glandular; GSL: porción glandular del seno lactífero; PSL: porción papilar del seno lactífero; A: alvéolos y sus conductos; CIA: conducto intralobulillar; CIE: conducto interlobulillar; CL: conducto lactífero (Ruberte et al., 1994b).

Como ya se comentó anteriormente, cuando se vayan a utilizar los datos obtenidos de este modo ha de tenerse en cuenta tanto el estado fisiológico del animal como la especie a la que pertenece. Así por ejemplo, la medida del volumen de la glándula mamaria obtenido durante la lactación mediante el método del desplazamiento de agua da una indicación relativamente fiable del tamaño funcional de la glándula en algunas especies como los rumiantes, pero no en otras, como en el hombre (con un elevado coeficiente estroma:parénquima) ni tampoco en el caso de animales jóvenes o en especies en las que las glándulas son relativamente inaccesibles como es el caso del ganado porcino (Knight y Peaker, 1982).

El interés por el conocimiento de la morfología mamaria radica en su influencia sobre la adaptación al ordeño, en especial al ordeño mecánico (Caja et al., 2000), que ha determinado que sea utilizada como un criterio de selección genética cada vez más importante, aunque no sea fácil de introducir en los programas de selección (de la Fuente et al., 1996).

Para la caracterización de la morfología mamaria se pueden utilizar tanto medidas directas de las distintas partes de la glándula, como medidas indirectas, estableciendo tipologías mamarias a partir de la integración de diversos parámetros morfológicos (de la Fuente et al., 1996).

En el caso de los caracteres morfológicos de la ubre se ha generalizado la propuesta de Labussière (1983), con alguna modificación posterior (de la Fuente et al., 1996), en la que las medidas más utilizadas son el volumen, la profundidad, la anchura y el perímetro de la ubre, la altura de las cisternas, y la longitud, la anchura y el ángulo de inclinación de los pezones (ver Figura 5). Sin embargo, y debido a que se trata de una metodología lenta y laboriosa y, por lo tanto, difícil de introducir en los programas de selección genética, diversos autores (Sagi y Morag, 1974; Jatsch y Sagi, 1979; Gallego et al., 1983) han propuesto diversas “tipologías de ubres” que consisten en evaluaciones subjetivas de la conformación de la ubre mediante tipos ya establecidos.

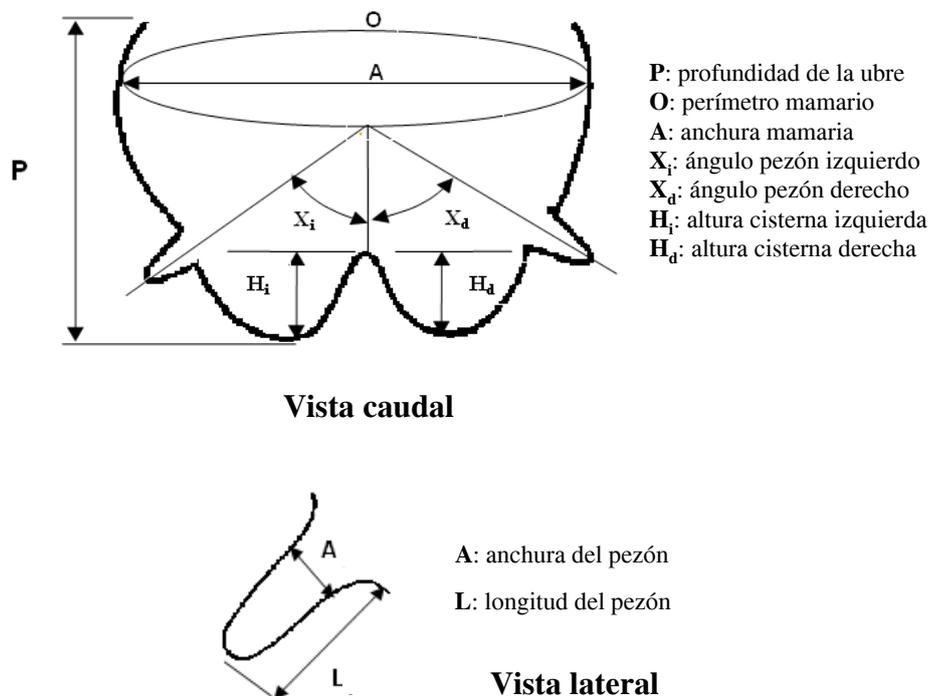


Figura 5. Caracteres morfológicos mamarios del ganado ovino propuestos por Labussière (1983) y modificados por de la Fuente et al. (1996).

Además de estas tipologías, en los últimos años se han desarrollado otros métodos de clasificación de las ubres mediante la utilización de un sistema de valoración lineal. Así, de la Fuente et al. (1996) propusieron un modo de caracterización de las ubres de ovejas de raza Churra que valoraba distintos caracteres morfológicos bajo una escala de 1 a 9 puntos, en las que el valor 5 correspondía a una morfología de tipo medio. Los caracteres considerados en esta metodología, que según los autores son importantes para el ordeño

mecánico, son la profundidad e inserción de la ubre, la verticalidad y el tamaño de los pezones, y la conformación general de la ubre (Figura 6).

En ovejas de raza Sarda, Carta et al. (1999) también propusieron una clasificación mediante escala lineal, en este caso con valores de 1 a 7 en función de la distancia entre el punto de implantación del pezón y el punto más bajo de la cisterna, lo que Labussière (1983) denominó altura de la cisterna.

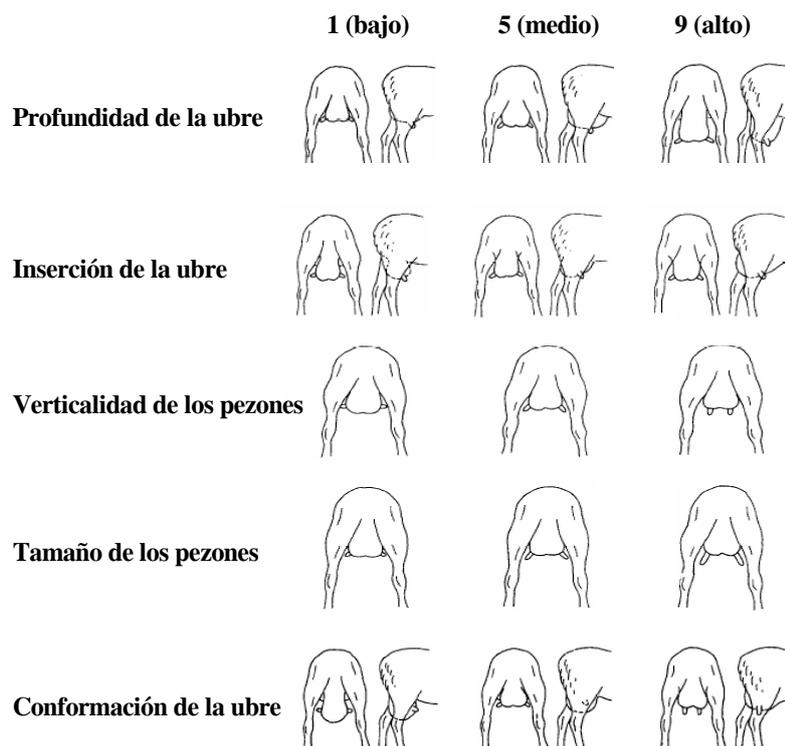


Figura 6. Escala lineal para la valoración de los caracteres morfológicos mamarios en el ovino lechero propuesta por de la Fuente et al. (1996).

3.2. Índices bioquímicos

El estudio del desarrollo glandular experimentó un gran avance a partir de los años sesenta, momento en el que se determinó que el contenido de ADN del núcleo celular es más o menos constante, independientemente del tipo de célula, y no cambia con los distintos estados de gestación, lactación e involución (Knight y Peaker, 1982). Estos mismos autores señalaron que un método simple para determinar cambios en el número de células sería medir el contenido total de ADN en el tejido.

Este método, sin embargo, tiene una limitación importante, que es la de determinar cuales de las células medidas son específicamente células secretoras, ya que no permite la cuantificación de la proporción de los diversos tipos celulares dentro de la glándula mamaria. A pesar de esas limitaciones, el ADN refleja directamente el número de células del tejido y facilita mucho el conocimiento de la regulación del crecimiento mamario (Tucker, 1987).

Para Akers (2002) este método es especialmente valioso cuando se combina con la disección cuidadosa de la glándula mamaria, lo que permite distinguir la porción de parénquima mamario del estroma.

Por otra parte, tanto el desarrollo de otro tipo de medidas indirectas, de las que se hablará con detalle más adelante, como la determinación de la cantidad de adipocitos y fibroblastos en la glándula mamaria en función de su contenido en lípidos e hidroxiprolina, respectivamente, ha permitido tener un mayor conocimiento de los cambios en los componentes epiteliales de la glándula independientes del estroma (Tucker, 1987).

En opinión de Schmidt (1974), aunque la determinación del contenido en ADN no puede constituir un índice preciso del número de células de la glándula mamaria, puede usarse como una medida comparativa del desarrollo alcanzado en diferentes estados fisiológicos por los que va pasando el animal y de su respuesta, en términos de crecimiento, a diversos tratamientos experimentales. Así por ejemplo, en la Figura 7 se muestran los importantes cambios en el crecimiento mamario desde el nacimiento hasta la lactación en ganado ovino (Akers, 2002). Se observa una relativa ausencia de cambios en la cantidad de ADN desde el final de la gestación hasta la lactación, que también se da en ganado vacuno, lo que sugiere que la cantidad de ADN es la mejor medida del crecimiento celular, ya que un incremento en el peso de la glándula puede deberse a secreciones acumuladas.

Debido a que la cantidad de ADN es constante y de aproximadamente 6 pg por célula (Lehninger, 1975), Nielsen et al. (2001b) establecieron que, en el caso de ganado porcino, la correlación entre el ADN mamario y la ganancia diaria de peso vivo (GDPV) de los lechones indica que la producción de leche está determinada por el número de células productoras de leche.

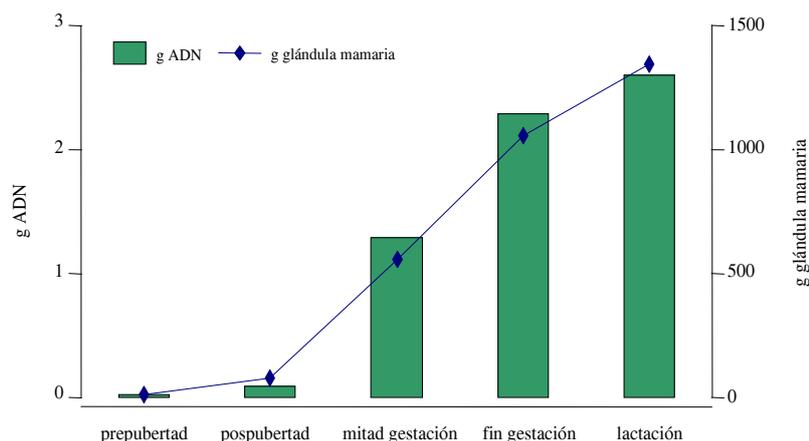


Figura 7. Representación del crecimiento del parénquima mamario en ganado ovino (Akers, 2002).

Otro método bioquímico utilizado para estudiar el desarrollo de la glándula mamaria es la determinación de la cantidad de timidina marcada con ^3H que durante la mitosis celular se incorpora al ADN. Esta metodología permite conocer el ritmo de crecimiento en un momento dado y, también, la duración de la síntesis de ADN, indicativo de la división celular (Knight y Peaker, 1982; Tucker 1987; Sheffield, 1988). Una de las ventajas que presenta este método es la determinación de la síntesis de ADN de un tipo celular determinado. Sin embargo, se trata de una medida del ritmo instantáneo y no cuantifica la cantidad de crecimiento durante un tiempo prolongado. Además, no es fácil de aplicar a grandes animales debido al alto coste de su aplicación y a la necesidad, como en el resto de métodos de valoración mediante índices bioquímicos, de escisión de la glándula (Tucker 1987).

En 1964, Munford asoció la cantidad de ARN en los distintos tejidos con la intensidad de la síntesis proteica. En distintos trabajos de Tucker (1966, 1969) se sugirió que el ARN podía usarse como índice de la actividad funcional de la glándula mamaria ya que se había observado una correlación muy alta entre el contenido mamario de ARN y la ganancia de peso vivo durante la recría. En un trabajo reciente, sin embargo, Nielsen et al. (2001b) obtuvieron una correlación entre el ARN mamario y la GDPV de la camada de una magnitud menor a la que se obtiene entre esa ganancia de peso y el contenido en ADN, indicando que el número de células mamarias es más determinante para la producción de leche que la actividad celular. En consonancia con esto, Knight et al. (1984) constataron que el incremento en el número de células del tejido mamario explicaba el 75% del

incremento en la producción de leche durante el periodo de lactación en ratas, mientras que el 25% restante se debía al incremento de la actividad celular.

Pese a esto, han sido muchos los autores que han hablado de la importancia del ARN en la determinación del desarrollo celular. Akers (2002) señaló que la medida de la capacidad de síntesis proteica a partir del contenido en ARN de las células mamarias es el modo más útil de evaluar el desarrollo total de la glándula mamaria. Esta utilidad del ARN se debe, sobre todo, al interés de la relación ARN:ADN en las diferentes fases de desarrollo de la glándula durante la gestación y la lactación. Según Schmidt (1974) y Akers (2002), durante la lactación el contenido en ARN de las células epiteliales aumenta mucho, lo que determina que dicha relación pase de ser menor que 1 en las últimas fases de la gestación, a ser mayor de 2 y llegar incluso a 3. Este brusco cambio en la relación ARN:ADN indica el inicio de la síntesis y secreción de proteína por parte de las células de la glándula mamaria en el momento del parto.

Existen, además, otros métodos para determinar la diferenciación de las células secretoras. Entre ellos se encuentran aquellos que miden la cantidad de tres enzimas mamarias claves en la síntesis de leche: acetil-CoA carboxilasa, ácido graso sintetasa y galactosiltransferasa (Knight y Wilde, 1993). Cambios en una de ellas, en relación con los cambios en las otras dos, dan una buena indicación de la diferenciación celular, sobre todo si se combina con el estudio de los ritmos de síntesis de lactosa, caseína y proteína total (Wilde et al., 1986).

Por otro lado, en el desarrollo mamario no solo es importante el crecimiento del parénquima, sino también la evolución del estroma durante dicho desarrollo glandular y para ello es útil conocer la cantidad del aminoácido hidroxiprolina en el tejido mamario (Akers, 2002). La hidroxiprolina es un aminoácido específico e importante del colágeno, que es el principal componente proteico del tejido conjuntivo mamario (Anderson, 1985). Por lo tanto, los estudios que permitan conocer el contenido de hidroxiprolina en el tejido darán una medida cuantitativa del estroma de la glándula, que debe asociarse también a una medida de la cantidad de grasa presente en el tejido (Akers, 2002).

Por último, hay que indicar que todas estas medidas son más útiles si pueden ser aplicadas sobre la base de la glándula mamaria en su totalidad, lo que es difícil de llevar a cabo en animales dedicados a la producción de leche. Para este tipo de animales, como los

rumiantes, las muestras de biopsia pueden ser útiles, aunque su interpretación, sobre todo si se quiere relacionar con la capacidad de producción de leche, debería tomarse con cautela.

3.3. Índices histológicos

Como ya se ha explicado previamente, para entender el desarrollo mamario y la producción de leche se requieren medidas detalladas del total y de la proporción de los diversos tipos celulares presentes en la glándula (Akers, 2002). Probablemente, el estudio de la glándula mamaria mediante técnicas histológicas sea el método más simple, ya que consiste en evaluar microscópicamente la glándula examinando delgadas láminas de tejido, normalmente teñidas con colorantes y a las que se les ha eliminado la grasa. Además, esta técnica puede ser muy útil debido a que aporta mucha información sobre la estructura interna de la glándula y sus diferentes tejidos.

Cuando comenzó a utilizarse esta técnica se observaban principalmente preparaciones enteras, es decir, cortes histológicos de mamas enteras de animales de laboratorio, que son más fáciles de estudiar ya que poseen glándulas relativamente delgadas (Schmidt, 1974; Anderson, 1985). Sin embargo, el estudio del desarrollo mamario en otros animales, como la vaca o la oveja, es más limitado debido a que poseen glándulas tridimensionales, aunque la preparación de láminas secuenciales permite la separación entre el parénquima y el tejido graso mamario. De este modo, se puede determinar mediante planímetro el área correspondiente al tejido secretor (Schmidt, 1974). Posteriormente, y conociendo el grosor de dichas láminas, es posible calcular el volumen del parénquima de la glándula.

El principal problema que presenta esta técnica es tanto ético, debido a la necesidad de sacrificar el animal en el estado de desarrollo que se quiere estudiar, como económico en el caso, sobre todo, de grandes animales (Knight y Peaker, 1982). En este caso, lo frecuente es utilizar pequeñas muestras de tejido (biopsias), lo que no deja de representar un problema debido al tamaño de la muestra tomada, ya que cuanto más grande sea la muestra más representativa resulta de la masa total pero, sin embargo, puede afectar al desarrollo del resto del tejido. Por otro lado, la utilización de muestras pequeñas puede no afectar al desarrollo posterior, pero también puede resultar que no sea representativa del total de la mama.

En cualquier caso, según Akers (2002), esta metodología facilita el estudio de la estructura de una glándula que no está produciendo leche, ya que una glándula en lactación está aumentada de grosor, los alvéolos están más compactados y las secreciones y las células se tiñen muy densamente, lo que dificulta en gran medida su estudio.

3.4. Índices citológicos

El conocimiento de la proporción de los diversos tipos celulares presentes en la glándula mamaria que aportan los métodos histológicos no resulta demasiado útil para estimar la funcionalidad del parénquima, ya que pueden contener muchas células epiteliales con una capacidad limitada para la síntesis o la secreción de los componentes de la leche (Akers, 2002).

Con el desarrollo de la microscopía electrónica a partir de los años sesenta, se evidenció la organización básica de los orgánulos dentro de las células mamarias epiteliales y esto contribuyó, entre otras cosas, al actual entendimiento de los efectos de las hormonas en la diferenciación celular (Tucker, 1981).

Un estudio detallado mediante microscopía electrónica permite estimar la proporción de células alveolares que se encuentran en cada una de las distintas fases de diferenciación estructural (Akers, 2002). Así por ejemplo, al final de la gestación, las células alveolares están muy pobremente diferenciadas, carecen de polaridad, presentan una gran relación núcleo:citoplasma y poseen grandes gotas de grasa, pero pocas vacuolas citoplasmáticas. La diferenciación intermedia está caracterizada por una relación más pequeña núcleo:citoplasma, pocas vacuolas apicales y un núcleo desplazado hacia la zona medial-apical. Las células totalmente diferenciadas, una vez que la lactación ya está establecida, muestran abundantes vacuolas supranucleares, gotas de grasa en la zona apical, un núcleo esférico localizado basalmente y una gran relación citoplasma:núcleo (Schmidt, 1974).

Mediante esta técnica, Carretero et al. (1999) identificaron diferentes grados de desarrollo del sistema canalicular de la glándula mamaria durante la lactación en ovejas de raza Manchega y Lacaune (Figura 8). Las estructuras encontradas variaron en frecuencia y tipo según el estado de la lactación, pero en todos los casos, presentaron la apariencia típica en racimo de uvas.

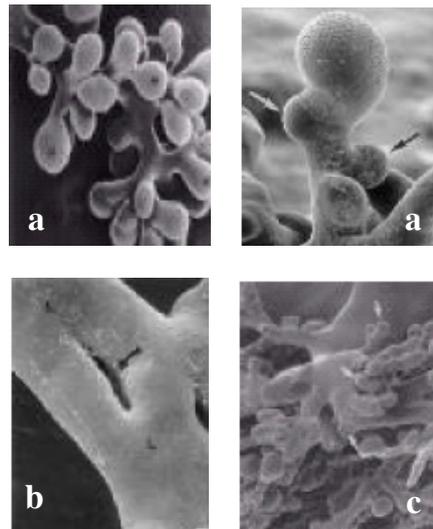


Figura 8. Detalle de alvéolos (a), conducto lactífero (b) y conductos intralobulillares (c) mediante microscopía electrónica (Carretero et al., 1999).

3.5. Nuevos avances tecnológicos

La necesidad de encontrar métodos no invasivos que permitan el estudio del desarrollo de la glándula mamaria ha supuesto siempre un reto para los investigadores que trabajan en esta materia. En 1985, Welsch et al. utilizaron el análisis de imagen por ordenador para observar el desarrollo y calcular el área epitelial de diversos cultivos de glándula mamaria de ratón. Sin embargo, no fue hasta el comienzo de los años noventa, con los avances en los campos de la tecnología y de la informática, cuando estas técnicas comenzaron a desarrollarse ampliamente, primero en el estudio de patologías humanas (como es el caso de la mamografía) y más tarde en el campo de la medicina e investigación veterinaria, cuando los avances tecnológicos comenzaron a hacerse más accesibles. A pesar de todo, hoy por hoy resulta a veces difícil aplicar determinadas técnicas en grandes animales (p. ej., ganado vacuno) debido a su elevado precio y a una gran diversidad de impedimentos logísticos (Akers, 2002).

En los últimos años, se han realizado estudios de la estructura interna de la ubre de diferentes rumiantes, mediante el uso técnicas como la ecografía (Ruberte et al., 1994a; Pulina et al., 1996; Caja et al., 1999) y la radiación X (González-Romano et al., 2000), o la utilización de escáneres de alta resolución como la tomografía axial computarizada (TAC; Sørensen et al., 1987) y la resonancia magnética nuclear (RMN; Fowler et al., 1990a). Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han llevado a cabo en glándulas escindidas con posterioridad al sacrificio del animal, por lo que los resultados obtenidos pueden no

corresponderse con la realidad, debido a la falta de tonicidad en este tipo de muestras, muy diferente a la que se puede encontrar en la glándula de un animal vivo.

En este sentido, la ecografía ha resultado un buen método para el estudio de la estructura interna de la ubre en sus distintos momentos de repleción lactífera, debido a que se trata de un método rápido, preciso y económico (Nudda et al., 2000), y que ha sido utilizado con éxito tanto en ovejas (Ruberte et al., 1994a; Pulina et al., 1996; Bruckmaier et al., 1997; Caja et al., 1999) como en vacas (Bruckmaier et al., 1997) y cabras (Wojtowski et al., 2006).

Por otro lado, de una forma más precisa la TAC y la RMN permiten distinguir entre las porciones de parénquima y estroma de la glándula, medir densidades y a partir de ahí estudiar diferencias estructurales (Sørensen et al., 1987; Fowler et al., 1990a).

Tanto la ecografía, como la TAC y la RMN, no solo permiten conocer mejor el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria en sus distintas fases, sino que también ofrecen la posibilidad de comparar entre ellas y saber cuál resulta más útil en cada momento del desarrollo. Tanto la TAC como la RMN generan imágenes con una buena discriminación entre hueso, músculo y tejido adiposo (Fuller et al., 1994). Las imágenes obtenidas mediante ultrasonografía, sin embargo, tienen una menor calidad, pero debido a que se trata de una técnica segura y mucho más accesible económicamente, es mucho más utilizada.

3.5.1. Ecografía

La ecografía o ultrasonografía utiliza ondas sonoras de alta frecuencia o ultrasonidos en un intervalo entre 1 y 10 MHz, que es considerablemente más alto que el intervalo de frecuencias audibles para el oído humano (Goddard, 2000).

El fundamento de su aplicación clínica se basa en la emisión de estas ondas hacia los tejidos orgánicos, que los atravesarán o serán rechazadas en función de su densidad, y cuyos ecos de retorno son transformados en imagen mediante un ordenador.

Entre los diferentes modos de ecografía, el más utilizado es el modo B (*brightness*) en tiempo real, que permite la representación en cada momento (provocando la sensación de movimiento) de las estructuras anatómicas mediante una imagen bidimensional en escala de grises y en el que cada uno de los ecos de los ultrasonidos reflejados se representa mediante un punto en la pantalla. La posición del punto indica su lugar de

origen y el brillo representa la intensidad del eco (Barr, 1999). De esta manera, se pueden conocer la morfología y la textura de los órganos.

La escala de grises tiene sus extremos en el blanco y en el negro. Las áreas en negro corresponden a aquellas estructuras llenas de líquido que no reflejan los ecos de los ultrasonidos y que se denominan anecoicas o anecogénicas. Las estructuras ecogénicas, ecoicas o hiperecogénicas son aquellas que permiten una máxima reflexión o retorno de ecos, cuyo ejemplo más claro son el hueso o el gas, y que en la imagen se presentan blancas (en el caso del hueso por su densidad y en el caso del gas por la dispersión de sus partículas, que impiden la conducción del ultrasonido). La presencia de una baja reflexión, que se produce en tejidos blandos, se denomina hipoecogenicidad o hipoecoicidad (González de Bulnes et al., 1999).

La frecuencia de vibración de la onda sonora que se utiliza dependerá de la finalidad del estudio, ya que la frecuencia es inversamente proporcional a la penetración en los tejidos y directamente proporcional a la resolución o capacidad de diferenciar entre dos estructuras próximas pero diferentes (González de Bulnes et al., 1999).

Para una mejor transmisión de los ultrasonidos es fundamental el uso de un agente de contacto (gel de acoplamiento) entre la materia y el transductor, debido a que las ondas no atraviesan el aire con facilidad. El uso de este gel facilitará la propagación del sonido y mejorará por tanto la calidad de imagen (Goddard, 2000).

Entre los diferentes usos de la ecografía en el campo de la veterinaria, aparte de su aplicación en el diagnóstico clínico (Barr, 1999), están el diagnóstico precoz de gestación de la hembra, la determinación del número de fetos (Ruberte et al., 1994a) y la verificación de la estructura y la función testicular en el macho (Chandolia et al., 1997). Además, esta técnica se utiliza también en la valoración de la cantidad de tejido muscular y adiposo en los animales vivos, con el fin de estudiar las reservas corporales de los animales o para la identificación de los animales que han alcanzado el nivel de engrasamiento óptimo para el sacrificio, ámbito en el que se han alcanzado óptimos resultados sobre todo en la medida del espesor de la grasa dorsal en el porcino (Gresham et al., 1994) y en los programas de mejora genética de producción de carne tanto de ganado porcino como ovino, donde se pueden reducir los tiempos de selección (Russel, 2000). Además, en los últimos años se ha introducido también en el estudio de la morfología interna de la glándula mamaria (Bruckmaier y Blum, 1992; Pulina et al., 1996; Caja et al., 1999; Ayadi et al., 2003).

En relación a su utilidad en el estudio de la glándula mamaria diversos autores (Cartee et al., 1986; Hosper y Seeh, 1997; Franz et al, 2001; Klein et al 2005) han descrito en detalle el uso de los ultrasonidos como método de diagnóstico de las posibles alteraciones de la estructura de la ubre o del pezón en el bovino lechero. Por otro lado, este método también se ha desarrollado para aplicarlo en la valoración de los cambios en el volumen de la cisterna mamaria tanto en vacuno lechero, como en cabras y ovejas (Bruckmaier y Blum, 1992; Ruberte et al., 1994a; Pulina et al., 1996; Caja et al., 1999).

En este sentido, la ultrasonografía se planteó como una tecnología útil en el estudio de la glándula mamaria, debido a que se trata de un método rápido, preciso y económico, que además no tiene efectos perjudiciales en el animal (Caja et al., 1999). Su uso se basa en la posibilidad de diferenciar mediante distintos tonos de grises, las estructuras de la glándula que contienen líquidos (cisternas) de las partes sólidas (parénquima y estroma) (Bruckmaier y Blum, 1992; Ruberte et al., 1994a; Pulina et al., 1996; Caja et al., 1999; González de Bulnes et al., 1999; Nudda et al., 2000). Caja et al. (1999) diferenciaron en una imagen ecográfica: piel y capas fibrosas (ecogénicas), parénquima glandular (ecogénico) y lumen de las cisternas de la glándula y del pezón (anecogénicas).

La grasa posee una baja ecogenicidad, al igual que las estructuras que contienen líquidos, y se encuentra distribuida por todo el parénquima, lo que facilita su diferenciación de la cisterna. Por otro lado, la leche almacenada en la cisterna mamaria es un líquido que no se presenta del todo anecoico debido a la presencia de micelas de caseína y glóbulos de grasa (Bruckmaier y Blum, 1992; Caja et al., 1999).

Todo esto, permite aplicar el método ecográfico al estudio del volumen de la cisterna mamaria (Figura 9), ya que el tamaño de la cisterna puede ser objeto de selección en los programas de mejora de la producción de leche y la aptitud al ordeño mecánico del ovino lechero (Nudda et al., 2000), debido a la correlación observada entre dicho volumen y la producción de leche de los animales (Fancellu, 2002).

En la valoración de la estructura interna de la glándula mediante ecografía existen diferentes técnicas. Entre ellas la más utilizada es la puesta en contacto del transductor con la piel del animal a través de un gel de contacto (Ruberte et al., 1994a; Caja et al., 1999; Nudda et al., 2000; Ayadi et al., 2003) que, como ya se ha dicho, facilita la transmisión de las imágenes. Sin embargo, otros autores han utilizado la técnica de inmersión en agua en el estudio de la glándula (Bruckmaier y Blum, 1992; Bruckmaier et al., 1997) o de los

pezones (Franz et al., 2001, 2004; Klein et al., 2005), ya que es el medio ideal de transmisión de los ultrasonidos y, además, evita la deformación de la estructura debida a la presión que pueda ejercer el ecografista.



Figura 9. Medición del área de la cisterna mamaria mediante ecografía.

En cuanto a los distintos modos de colocación de la sonda para la obtención de imágenes, existen diferencias en función tanto del autor como de la especie en estudio, aunque en todos los casos se usa como referencia en la imagen obtenida el eje del pezón. En este sentido, en el estudio de la cisterna glandular, Bruckmaier y Blum (1992) colocaron la sonda lateralmente en cada uno de los cuarterones del ganado vacuno, mientras que en cabras lo hicieron caudalmente y lateral o ventralmente en ovejas. Sin embargo, Ruberte et al. (1994a) y Caja et al. (1999), trabajando con ganado ovino, situaron la sonda en la parte caudal de la ubre, en el punto más alto del surco intermamario, dirigiéndola hacia el pezón, mientras que Nudda et al. (2000) la situaron en el pliegue inguinoabdominal de una de las mamas para visualizar la mama controlateral a la primera. En el caso del vacuno, Ayadi et al. (2003) se basó en la posición utilizada por Ruberte et al. (1994a), pero situó la sonda cranealmente a la inserción del pezón, pegada y paralela a él, y apuntando hacia la cisterna de la ubre. Por otra parte, en el estudio del pezón de glándulas escindidas (Franz et al., 2001, 2004; Klein et al., 2005), este fue sumergido en un recipiente con agua y la sonda fue colocada, previa impregnación con gel, en contacto con la pared externa del recipiente.

En relación a la utilidad de esta técnica en la determinación del volumen cisternal para su posterior uso en programas de selección debido a la correlación observada entre

dicho volumen y la producción de leche de los animales (Fancellu, 2002), cabría decir que el tamaño de las cisternas varía mucho en función del tiempo transcurrido desde el último ordeño (Caja et al., 1999). En relación con esto, Ramella (2002) realizó un estudio de valoración del área cisternal de ovejas de raza Assaf Española a distintos intervalos de ordeño y observó que, para intervalos entre ordeños superiores a 16 horas, parecen existir limitaciones físicas para la producción de leche ya que a partir de ese momento el área de la cisterna medida mediante ultrasonografía no aumentó.

En ganado vacuno lechero se han observado correlaciones altas y significativas entre el área cisternal y la leche almacenada en la cisterna en todos los intervalos de ordeño, registrándose los valores más altos en los intervalos de 8 y 12 horas ($r = 0,84$ y $0,88$, respectivamente; Ayadi et al., 2003). De la misma manera, en ganado ovino de diferentes razas también se han encontrado correlaciones positivas, como las desatacadas por Caja et al. (1999) en ovejas de raza Ripollesa ($r = 0,90$), Nudda et al. (2000) en ovejas de raza Sarda ($r = 0,82$) y Rovai (2001) en ovejas de raza Manchega ($r = 0,44$) y Lacaune ($r = 0,68$). Estos resultados, por tanto, demuestran la validez del método ecográfico para analizar la capacidad de almacenamiento de la cisterna mamaria tanto en ganado ovino y como en ganado vacuno (Caja et al., 1999; Nudda et al., 2000; Rovai, 2001; Ayadi et al., 2003).

Por otra parte, se han realizado también estudios para comparar el área de la cisterna de ovejas de distintas razas. Así, Rovai (2001) comparando ovejas de raza Manchega y Lacaune encontró que la raza influía significativamente sobre el área de la cisterna medida, presentando una mayor superficie las ovejas Lacaune en relación a las de raza Manchega (con valores de $23,6$ y $14,0$ cm^2 , respectivamente), lo que está en consonancia con diferencias en la producción de leche entre ambas razas. Por otro lado, Bruckmaier et al. (1997) no encontraron diferencias entre las razas Lacaune y Ostfriesian en cuanto al área de la cisterna, pero sí en su localización respecto a los pezones, lo que puede explicar que la primera de ellas sea más apta al ordeño mecánico que la otra.

Además, también existen estudios que comparan el tamaño de la cisterna mamaria determinado mediante ecografía con el estimado por otros métodos. Así por ejemplo, Bruckmaier et al. (1994b) utilizaron cortes de ubres congeladas y el método de repliación plástica. Estos autores observaron que el área medida mediante ecografía era ligeramente superior, pero que se encontraba altamente correlacionada ($r = 0,84$) con el medido a partir

de secciones congeladas, al igual que con el medido mediante repleción plástica ($r = 0,94$), lo que indica que el área medida mediante ultrasonografía es una medida muy próxima al tamaño real de la cisterna mamaria.

Por último, también se ha visto una correlación positiva entre la ecografía de la cisterna mamaria y las medidas externas de la ubre. En el estudio realizado por Rovai (2001) se observó que el área ecográfica mostraba una correlación significativa tanto con la profundidad y la longitud de la ubre, como con la distancia entre pezones, al igual que con las medidas del pezón y la altura de las cisternas mamarias, lo que indica que las ubres voluminosas o con pezones grandes y gran altura de cisternas tienden a poseer una mayor superficie cisternal. Ramella (2002) también observó una correlación positiva entre el área de las cisternas y diversos parámetros morfométricos de la ubre.

3.5.2. Tomografía axial computarizada

Otro avance tecnológico que puede resultar útil en el estudio de la composición de la glándula mamaria es la TAC, que permite la presentación y cuantificación de la información anatómica mediante la síntesis por ordenador de los datos originados por rayos X. Inicialmente, esta técnica se desarrolló con fines diagnósticos en medicina humana, pero se puede usar también para estimar la composición química y anatómica de animales vivos o en muestras de tejido (Sørensen et al., 1987).

La TAC es una técnica radiológica que, al igual que las convencionales, se basa en la diferente capacidad que tienen los tejidos de atenuar los rayos X que los atraviesan. Así, los tejidos de distinta densidad tienen diferentes valores de atenuación (Carstens et al., 1997). La medida de estas atenuaciones es recogida mediante detectores que rotan 360° alrededor del cuerpo en estudio, en sincronía con la fuente emisora de la radiación (Szabo et al., 1999) de forma que inciden en él en múltiples ángulos, lo que permite la obtención de los valores de atenuación a lo largo de todo el recorrido en su plano de corte. El grado de atenuación de los rayos X se expresa en unidades Hounsfield (HU) donde el aire, el agua y el hueso tienen asignados valores de -1000 , 0 y $+1000$ HU, respectivamente (Hounsfield, 1980).

La imagen sintetizada por el ordenador, a partir de la información proporcionada por los detectores, es la representación de los valores de atenuación para cada punto de la sección anatómica estudiada. A cada valor numérico le corresponde en la pantalla un tono

de gris, dentro de una escala que va del negro (-1000 HU, aire) al blanco (+1000 HU, hueso) (Barreiro et al., 1996). Los tejidos blandos ocupan solo una pequeña parte de este rango, pero suficiente para permitir la discriminación entre ellos. Así por ejemplo, la grasa tiene una baja absorbancia de rayos X y por eso se distingue muy bien de otros tejidos (Foster et al., 1988).

Como ya se ha dicho, esta técnica no se utiliza únicamente con fines diagnósticos sino que también puede resultar útil para el estudio de la composición de la canal de animales para sacrificio o en programas de mejora. En este sentido, son diversos los autores que han trabajado usando esta tecnología tanto en ganado porcino (Allen y Leymaster, 1985; Vangen, 1991; Luiting et al., 1995; Kolstad, 2001) como en ganado ovino (Karamichou et al., 2006; Macfarlane et al., 2006).

En lo que respecta a la estructura de la glándula mamaria, los primeros estudios en los que se usó la técnica de la TAC, fueron los realizados por Sejrsen et al. (1986) y Sørensen et al. (1987). En ellos, se utilizaron únicamente las mamas, una vez que fueron escindidas del animal previamente sacrificado, ya que el uso de la TAC in vivo solo es aplicable a animales de pequeño tamaño debido a la escala humana de los equipos (Standford et al., 1998) (Figura 10). Posteriormente, se han realizado más estudios de este tipo, tanto en vacuno lechero (Carstens et al., 1997) como en cabras (González-Romano, 2000) y en cerdas lactantes (Petitclerc y Farmer, 2003).

Todos los estudios realizados en este campo concluyen que la TAC es una buena técnica para el estudio del desarrollo de la glándula mamaria, debido a su buena capacidad para diferenciar el tejido parenquimatoso del extraparenquimatoso y, por tanto, permitir cuantificar la composición del tejido mamario.



Figura 10. Corte sagital de la glándula mamaria de una oveja obtenida mediante TAC.

Pese a todo esto, al realizar estudios de desarrollo mamario mediante esta técnica se debe tener en cuenta tanto el estado fisiológico del animal como los factores hormonales, ya que se sabe que provocan tanto diferenciación celular como cambios en el volumen y densidad de los tejidos (Petitclerc y Farmer, 2003), lo que puede afectar a las medidas realizadas.

Sin embargo, este método también presenta varias ventajas. Por un lado, se trata de una técnica menos laboriosa que la disección o el análisis químico y además evita la subjetividad de la primera de ellas. Por otro lado, este procedimiento de estudio permite describir de un modo preciso la manera en que se llevan a cabo las estimaciones, lo que facilita la realización de comparaciones más exactas con otros estudios que utilicen la misma técnica (Sørensen et al., 1987).

Por lo que respecta a los valores de atenuación escogidos por los distintos autores para diferenciar entre tejidos, Sørensen et al. (1987) determinaron el contenido de tejido parenquimatoso de la ubre estableciendo 3 límites inferiores 0, 20 y 40 HU, encontrando una correlación entre los valores de tejido obtenidos del 98%, y siendo además similares las estimaciones obtenidas para cada uno de los valores con los observados mediante disección. Carstens et al. (1997) en vacuno lechero y Petitclerc y Farmer (2003) en porcino estimaron el volumen de tejido parenquimatoso como la proporción de unidades de píxel con valores de atenuación > 0 HU y el tejido extraparenquimatoso como la proporción de unidades de píxel con valores de atenuación < 0 HU.

Cuando esta técnica se utiliza para estudios de composición de la canal los valores de atenuación son algo más variados, dando para el tejido adiposo valores superiores entre -15 y -30 HU e inferiores de entre -120 y -190 HU (Allen y Leymaster, 1985; Vangen, 1991; Starck et al., 1998) y para el tejido muscular con rangos entre 20 y 180 HU (Allen y Leymaster, 1985; Vangen, 1991).

3.5.3. Resonancia magnética nuclear

La RMN es una nueva forma de obtener imágenes anatómicas sin la necesidad de utilizar radiación ionizante. Esta técnica proporciona imágenes tomográficas en cualquier región del organismo y en el plano de corte deseado, basándose en la distribución de protones y en sus propiedades respecto a la resonancia y, además, ofrece un alto contraste entre los tejidos blandos (Akers, 2002). Generalmente, se usa como técnica diagnóstica en

humana y pequeños animales (Barreiro et al., 1996), aunque en ciencia animal ha sido utilizada también como técnica *in vivo* para la determinación de la composición corporal (Ross et al., 1991; Stanford et al., 1998; Szabo et al., 1999).

Se trata de una técnica por la cual, al someter la materia a un fuerte campo magnético uniforme y con la aplicación de una radiofrecuencia determinada, las partículas atómicas se alinean por absorción de la energía electromagnética y, posteriormente, al relajarse emiten otra nueva energía de una determinada frecuencia que dependerá de la composición y características de la materia (Szabo et al., 1999). Esta energía emitida es detectada mediante una bobina donde se induce una corriente, creándose una señal de RMN que posteriormente creará una imagen que permitirá la discriminación entre tejidos (Fowler et al., 1990a). La velocidad con que los protones liberan la energía electromagnética después de la excitación depende del número de protones que intervienen y de la interacción de los mismos entre sí y con el medio que les rodea. En la actualidad, el isótopo más empleado para la RMN es el átomo de hidrogeno (^1H) debido a su abundancia en el organismo y a su alta sensibilidad (Barreiro et al., 1996).

Las características de las imágenes obtenidas mediante esta técnica dependen principalmente de 3 factores: del eje según el cual se estudia la relajación, de la densidad de los protones de cada tejido y de los tiempos de repetición y de eco.

Las particularidades de las imágenes anatómicas obtenidas mediante esta técnica permiten diferenciar entre tejidos (Fowler et al., 1990a), siendo la grasa, los tejidos blandos y la médula ósea, los que emiten una mayor señal debido a la gran densidad de protones existentes y que, por tanto, aparecen en una tonalidad clara (Figura 11). En los líquidos, los tiempos de relajación son más largos, por lo que la señal emitida es débil y en la imagen aparecen muy oscuros (Barreiro et al., 1996).

Esta herramienta de estudio, al igual que la TAC, presenta, sin embargo, la desventaja de ser una técnica cara y de difícil portabilidad por lo que únicamente pueden resultar útiles para su aplicación en investigación y en programas de mejora genética (Szabo et al., 1999). Según estos mismos autores, este tipo de técnicas que permiten el estudio de los tejidos mediante métodos de evaluación de la imagen resultarían útiles para permitir la comparación entre diversos trabajos usando estas técnicas altamente desarrolladas como instrumentos de medida para la estimación de la composición corporal.



Figura 11. Corte sagital de oveja a nivel de la glándula mamaria obtenido mediante RMN.

Pese a esto, y al contrario que en la TAC, en la RMN no hay valores estandarizados debido a los cambios en las condiciones y parámetros entre medidas (Standford et al., 1998), por lo que puede resultar más complicado el hecho de comparar los datos obtenidos en los diferentes estudios.

En 1984, Foster et al. usando cadáveres de cerdos demostraron que la RMN produce imágenes de alta calidad que pueden usarse para discriminar entre magro y tejido graso. En este sentido, Klein Zeggelink et al. (2002) indicaron que mientras la grasa se visualiza de una forma brillante, las estructuras relativamente oscuras se corresponderían con tejido glandular en el caso de la glándula mamaria.

Por lo que respecta a la utilización de esta técnica para el estudio de la glándula mamaria son varios los estudios que han probado su utilidad. Así, Tucker (1987) utilizó esta tecnología en el estudio del crecimiento mamario en ganado caprino, aunque el elevado coste y la limitación impuesta por el tamaño de los animales que se pueden utilizar restringen mucho su empleo (Akers, 2002).

En este sentido, Fowler et al. (1990b) revisaron las aplicaciones potenciales de la RMN en investigación en el área de análisis de la composición corporal e indicaron que la técnica podrá ser útil para el estudio del desarrollo de los tejidos individuales en el caso de la glándula mamaria. Esto es debido a que la RMN permite hacer estimaciones precisas del volumen de parénquima y, hechas de forma repetida en animales individuales, puede permitir estudios seriados a lo largo de ciclos reproductivos o periodos de tratamiento.

Por otro lado, Fowler et al. (1990a) observaron que las estimaciones del volumen de parénquima de cabras mediante RMN fueron mayores que las estimadas post mórtem, pero que estuvieron altamente correlacionadas entre ellas. Estos autores fueron también capaces de cuantificar cambios en el volumen de parénquima durante la gestación (Fowler et al., 1990b) y en respuesta a la inducción hormonal en la lactación (Fowler et al., 1991). Tanto durante la lactación natural como durante la inducida mediante hormonas, el volumen de parénquima estuvo positivamente correlacionado con la producción de leche.

Por tanto, se podría decirse que la RMN es un buen método para discriminar entre el tejido secretor y no secretor dentro de la glándula mamaria, y que también resultaría útil para cuantificar la cantidad bruta de tejido secretor dentro de la misma. Sin embargo, según Knight y Wilde (1993) no puede dar una medida precisa del grado de diferenciación de ese tejido secretor.

III. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

El presente trabajo se planteó con el objetivo general de estudiar, en corderas de raza Assaf Española, el efecto del nivel de ingestión en las primeras etapas de crecimiento (lactancia y principio de la recría, hasta los 5 meses de edad) sobre:

- la ingestión de alimento,
- las variaciones ponderales,
- el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria y
- la producción y composición de la leche en la primera lactación.

Para lograr este objetivo se utilizaron corderas de raza Assaf Española, separadas de sus madres en el momento del nacimiento y criadas en condiciones experimentales, de acuerdo con un diseño factorial 2x3 (2 niveles de ingestión durante el periodo de lactancia y 3 niveles de ingestión entre el destete y los 5 meses de edad). Además, para permitir el estudio de los caracteres productivos de interés en cada una de las fases, el desarrollo experimental de esta prueba fue dividido en 4 periodos consecutivos: lactancia, recría, gestación y lactación.

1. Periodo de lactancia

En este periodo, 120 corderas se dividieron en dos tratamientos experimentales, distribuidos en 12 lotes de 5 animales cada uno: Alto Lactancia (**AL**), diseñado para conseguir una ingestión diaria de sustitutivo lácteo que aportase aproximadamente 1,5 MJ energía bruta/ kg $PV^{0,75}$ y día, y Restringido (**Rs**), diseñado para alcanzar una ingestión diaria aproximada de sustitutivo lácteo de 0,9 MJ energía bruta/kg $PV^{0,75}$ y día. A partir de la segunda semana, se les ofertó ad libitum pienso lacteado de iniciación, heno de alfalfa y agua. En el momento del destete se tomaron muestras de sangre para conocer la concentración de algunas de las hormonas implicadas en el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria (GH, IGF-I, insulina y prolactina).

2. Periodo de recría

Hasta los 5 meses de edad, las corderas de cada tratamiento del periodo anterior se distribuyeron en tres nuevos grupos experimentales: Alto (**A**), estos animales recibieron paja de cebada y un pienso ad libitum (con el que se pretendía que la GDPV fuese superior a 200 g); Medio (**M**), estos animales recibieron 25 g de pienso por kg de peso vivo y paja de cebada a libre disposición (GDPV \approx 150 g); y Bajo (**B**), estos animales recibieron 15 de pienso por kg de peso vivo y paja de cebada ad libitum (GDPV \approx 100 g). Posteriormente, desde los 5 hasta los 10 meses de edad, a todos los animales se les suministró ad libitum una ración completa. A los cinco meses de edad, se recogieron muestras de sangre para analizar la concentración de diferentes hormonas y, en 2 animales de cada lote experimental, se realizó un estudio de la glándula mamaria mediante TAC.

3. Periodo de gestación

A los 10 meses de edad, todas las corderas se cubrieron mediante monta controlada. Además, justo antes de la sincronización de la ovulación se tomaron nuevamente muestras de sangre para conocer la concentración de algunas de las hormonas implicadas en el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria, se realizó un nuevo diagnóstico por imagen de la glándula mamaria mediante TAC y se estudió mediante ecografía el área de la cisterna mamaria. Este estudio ecográfico, también se llevó cabo los días 90 y 135 de la gestación. Durante este periodo, todos los animales se alimentaron ad libitum con una ración completa.

4. Periodo de lactación

Durante la lactación, las corderas fueron alimentadas ad libitum con una ración completa. El control semanal de la producción y la composición (grasa, proteína, lactosa y extracto seco) de la leche comenzó una vez destetadas las crías (en torno a las 5 semanas posparto) y se prolongó durante 14 semanas. En el momento del destete de los corderos se tomaron nuevamente muestras de sangre para conocer la concentración de algunas de las hormonas implicadas en el crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria. Además, durante la fase de lactación propiamente dicha, y con una frecuencia mensual, se llevó a cabo un análisis morfométrico de la ubre. También se midió el volumen de la cisterna glandular mediante ecografía a distintos intervalos entre ordeños (8, 16 y 22 horas posordeño).

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

El completo desarrollo de toda la fase experimental que condujo a la realización de esta Tesis Doctoral se llevó a cabo en las dependencias de la Estación Agrícola Experimental (EAE) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de León, cumpliendo con la legislación vigente referente a la experimentación animal (Directivas 86/609/CEE de 24 de noviembre, Diario Oficial de las Comunidades Europeas de 18 de diciembre de 1986 y 2003/65/CE de 22 de julio, Diario Oficial de la Unión Europea de 16 de septiembre de 2003).

1. ANIMALES EXPERIMENTALES

Para llevar a cabo de esta prueba se utilizaron 120 corderas de raza Assaf Española provenientes de una explotación ganadera de la provincia de León, separadas de sus madres al día siguiente de su nacimiento tras una primera toma de calostro y previa desinfección del cordón umbilical. Una vez en las instalaciones de la EAE, a cada animal se le administró por vía intramuscular un complejo vitamínico/mineral (Selevit[®], Laboratorios Syva, España). Posteriormente, todos los animales recibieron una toma de calostro artificial (Immuno-Bac[®], Laboratorios Calier, S.A., España), reconstituyendo 30 g del calostro desecado en 150 ml de agua a 37°C.

A la segunda y a la cuarta semana de edad las corderas fueron vacunadas para prevenir enterotoxemias (Miloxan[®], Merial Laboratorios, España). Esta vacuna se les administró de nuevo seis meses después y al inicio de la fase de lactación. Así mismo, durante la fase de recría todos los animales fueron tratados con Panacur[®] (Intervet, España), Ivomec F[®] (Merial Laboratorios, España) y Seponver[®] (Esteve Veterinaria, España) para prevenir posibles parasitosis internas. Además, en torno a los 9 meses de edad se realizó la esquila de los animales y se les administró mediante baño un antiparasitario externo (Ectaz[®], Intervet, España).

2. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

En función de los objetivos planteados, el desarrollo experimental de esta prueba fue dividido en 4 periodos consecutivos: lactancia, recría, gestación y lactación.

En la Figura 12 se muestra un cronograma en el que se detalla la duración de cada uno de los periodos de la prueba experimental y algunos de los controles realizados en cada uno de ellos.

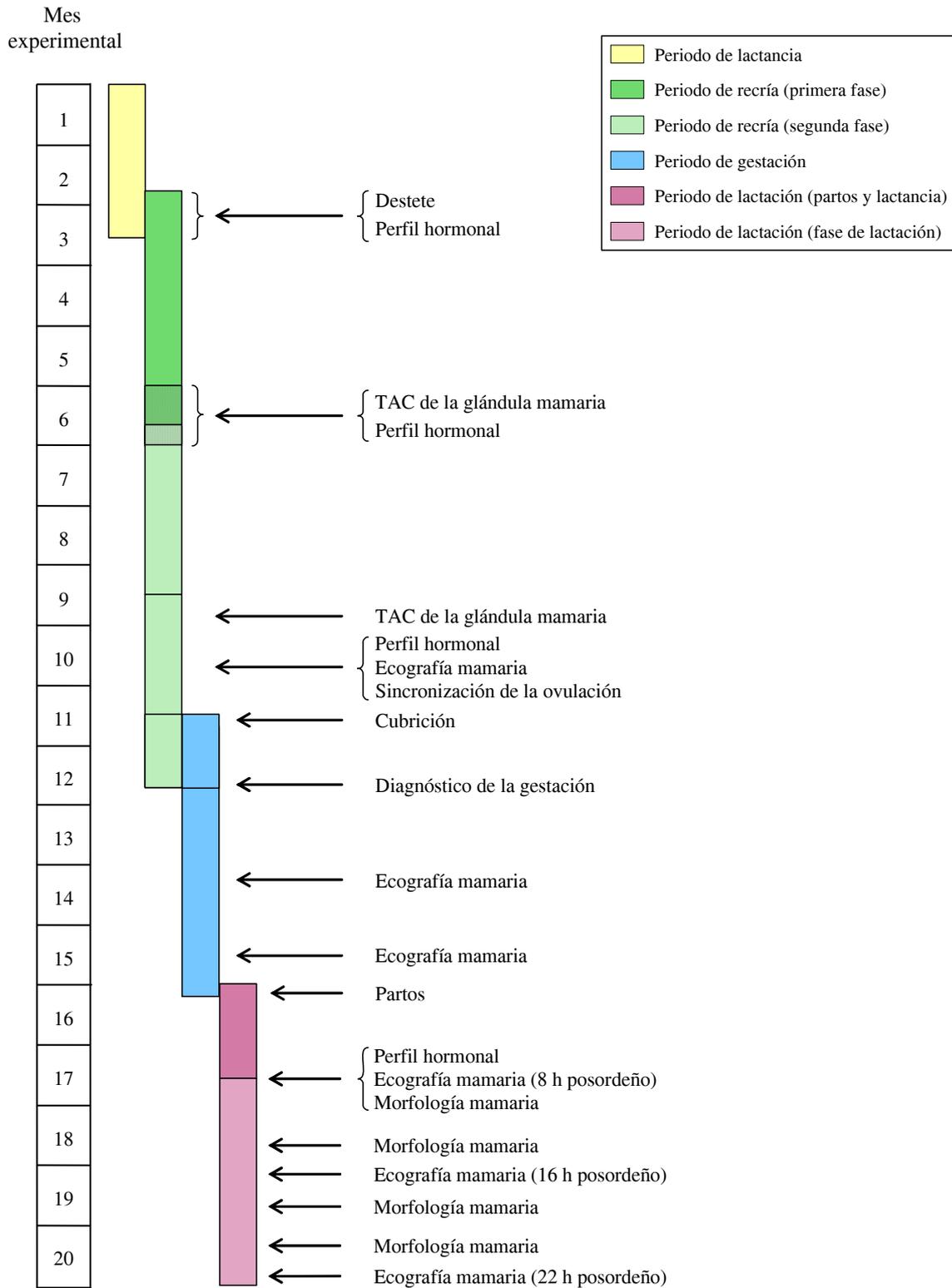


Figura 12. Cronograma de las diferentes fases del estudio.

2.1. Periodo de lactancia

Para el desarrollo de la prueba durante el periodo de lactancia, los 120 animales fueron divididos en lotes de 5 animales cada uno y alojados en jaulas de 2 m². Todos los animales fueron alimentados con un sustitutivo lácteo comercial (Gaher cabritos y corderos 63, Gaherproga, España) en la cantidad correspondiente a su tratamiento experimental durante esta fase. En función de la cantidad de sustitutivo lácteo ofertada, los tratamientos (formados cada uno de ellos por 12 lotes) fueron los siguientes:

- **Alto Lactancia (AL):** diseñado para conseguir una ingestión diaria de sustitutivo lácteo que aportase aproximadamente 1,5 MJ energía bruta/kg PV^{0,75} y
- **Restringido (Rs):** diseñado para alcanzar una ingestión aproximada de sustitutivo lácteo de 0,9 MJ energía bruta/kg PV^{0,75}.

La reconstitución de la leche (ver composición química en la Tabla 1) se realizó inmediatamente antes de su administración a los animales, utilizando un homogeneizador eléctrico para lograr una disolución adecuada de los componentes. Para ello, se utilizó agua a 37 °C y una concentración de sustitutivo lácteo del 19%. Esto fue suplementado con 1500 UI de vitamina A, 300 UI de vitamina D₃ y 0,6 mg de vitamina E (Vitamina AD₃E Oral, Industrial Veterinaria S.A., España) por cada kg de leche. Los animales se alimentaron mediante el sistema de calderos con tetinas, en dos momentos del día, a las 8:30 y a las 18:30 horas.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante el periodo de lactancia.

	Sustitutivo lácteo	Pienso lacteado de iniciación	Heno de alfalfa
Materia seca (MS; g/kg)	960	896	863
Materia orgánica (MO)	935	927	892
Proteína bruta (PB)	236	167	232
Grasa bruta (GB)	252	58	nd
Fibra neutro detergente (FND)	-----	nd	363
Fibra ácido detergente (FAD)	-----	nd	236
Energía bruta (EB; MJ/kg MS)	23	19	19

nd: no determinado

A partir de la segunda semana de vida de las corderas, y con el objetivo de favorecer el paso a la alimentación sólida, todos los animales recibieron agua a libre disposición y se les comenzó a ofertar ad libitum pienso lacteado de iniciación (Babimix[®], Inatega, España) y heno de alfalfa. La composición química de ambos alimentos puede observarse en la Tabla 1.

El lote completo se destetó cuando al menos 3 de las 5 corderas que lo componían alcanzaron los 13 kg de peso vivo (PV), habían superado todas los 30 días de edad y cada lote ingería como mínimo 1,5 kg de alimento sólido al día (heno de alfalfa y pienso lacteado de iniciación).

2.2. Periodo de recría

2.2.1. Fase de destete

El destete se realizó de forma brusca, retirando la administración de sustitutivo lácteo una vez que las corderas de cada lote cumplieron los requisitos necesarios descritos en el apartado anterior. A partir de ese momento, los lotes de la fase de lactancia fueron agrupados de dos en dos para obtener 12 lotes, 6 por cada uno de los dos tratamientos de la fase anterior, que fueron a su vez divididos en otros 3 nuevos tratamientos experimentales según lo establecido en la primera fase de recría (ver apartado 2.2.2.), quedando por tanto configurada la prueba con un diseño factorial 2×3 (2 tratamientos durante el periodo de lactancia y 3 tratamientos durante la primera fase de la recría).

El número total de animales durante esta fase fue de 115 (debido a las bajas sufridas por distintas causas en alguno de los lotes de lactancia).

Esta fase tuvo una duración de dos semanas, durante las cuales las corderas sufrieron un cambio progresivo en la dieta para conseguir una adecuada adaptación a los alimentos que recibirían hasta los 5 meses de vida (primera fase de la recría). De este modo y durante la primera semana, todos los animales recibieron únicamente pienso lacteado de iniciación y heno de alfalfa (los mismos que los utilizados durante la fase de lactancia, Tabla 1), mientras que en la segunda semana se fue sustituyendo progresivamente el pienso lacteado por el pienso que recibirían durante la primera fase de la recría (ver composición química detallada en la Tabla 2). El forraje, que durante esta fase continuó siendo heno de alfalfa, se suministró siempre a libre disposición. La cantidad de pienso suministrado a los

animales fue la misma que la fijada para el primer periodo de recría (ver apartado 2.2.2.), comprendido entre la fase de destete y los 5 meses de edad.

2.2.2. Primera fase de la recría (desde el destete hasta los 5 meses de edad)

Todos los animales (que en esta fase fueron 114) se mantuvieron distribuidos del mismo modo que en la fase anterior, es decir, en 12 lotes, dos por cada uno de los tratamientos experimentales en que quedó dividida la prueba a partir del momento del destete de las corderas.

Los tratamientos experimentales durante esta fase fueron diseñados para conseguir distintas ganancias diarias de peso vivo (GDPV):

- **Alto (A):** pienso suministrado ad libitum con el objetivo de conseguir una GDPV superior a 200 g,
- **Medio (M):** el nivel de ingestión de pienso en este tratamiento se situó en 25 g/kg PV, con el objetivo de conseguir una GDPV de aproximadamente 150 g, y
- **Bajo (B):** en este tratamiento el nivel de ingestión de pienso se estableció en 15 g/kg PV, con el objetivo de conseguir una GDPV de aproximadamente 100 g.

Además, durante esta fase se ofertó a todos los animales paja de cebada a libre disposición. La composición química de los alimentos suministrados puede observarse en la Tabla 2.

La oferta del alimento (pienso y forraje) se realizó en una única toma al día, aproximadamente a las 9:00 horas.

Tabla 2. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante la primera fase de la recría.

	Pienso de recría	Paja de cebada
<i>Ingredientes</i>		
Cebada en grano	740	-----
Torta de soja 44 en escamas	170	-----
Melaza	40	-----
Corrector vitamínico-mineral	30	-----
Bicarbonato	20	-----
<i>Composición química</i>		
MS (g/kg)	892	912
MO	931	952
PB	166	18
FND	163	854
FAD	51	461
EB (MJ/kg MS)	18	18

2.2.3. Segunda fase de la recría (desde los 5 meses de edad hasta la cubrición)

Esta fase del experimento comprendió el periodo entre los 5 meses de edad de las corderas y el diagnóstico de gestación, para saber cuales de ellas continuarían en el experimento, y tuvo una duración total de 24 semanas.

Los animales (un total de 114) fueron los mismos que en la fase anterior y se encontraban distribuidos en los lotes de igual manera, en función del tratamiento experimental al que pertenecían según el diseño descrito en la fase de lactancia y en la primera fase de la recría.

Durante las 12 primeras semanas de esta fase experimental, las corderas recibieron una ración completa suministrada ad libitum en forma de briquetas. Tanto los ingredientes como la composición química de dichas briquetas puede observarse en la Tabla 3.

Durante las 12 semanas siguientes, la alimentación consistió en una ración completa suministrada también ad libitum a todos los animales y cuya composición química e ingredientes aparecen detallados en la Tabla 3.

Al igual que en la fase anterior, el alimento fue suministrado una vez día, en torno a las 9:00 horas.

Tabla 3. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante la segunda fase de la recría.

	Briquetas	Ración completa
<i>Ingredientes</i>		
Paja de cereal (tamaño de partícula \approx 2 cm)	300	-----
Heno de alfalfa deshidratada (tamaño de partícula 3-4 cm)	-----	305
Cebada en grano	520	150
Maíz en grano	-----	160
Torta de soja 44 en escamas	120	160
Pulpa de remolacha granulada (1,5 cm)	-----	80
Avena en grano	-----	50
Melaza	30	65
Corrector vitamínico-mineral	20	20
Bicarbonato	10	10
<i>Composición química</i>		
MS (g/kg)	889	893
MO	923	905
PB	132	155
FND	410	281
FAD	193	134
EB (MJ/kg MS)	18	18

2.2.3.1. Sincronización de la ovulación

Con el objetivo de que todos los partos se concentraran en la misma época del año, se decidió sincronizar e inducir la ovulación de los animales mediante la colocación de esponjas vaginales. En el momento de la colocación de dichas esponjas, los animales tenían entre 9 y 10 meses de edad y habían alcanzado en todos los casos el 70% de su PV adulto. Además, la sincronización de la ovulación tuvo lugar entre los meses de julio y agosto, por lo que se trataba ya de una época favorable para el inicio de la gestación de las corderas desde el punto de vista fisiológico.

Para cada una de las corderas presentes en el experimento, se utilizaron 80 mg de Cronolone (FGA, acetato de fluorogestona, Crono-gest[®], Intervet, España) por vía vaginal, para lo que fue necesario la introducción de dos esponjas vaginales, que fueron retiradas 14 días después.

El día de la retirada de las esponjas, a los animales se les inyectó por vía intramuscular 500 UI de PMSG (gonadotropina sérica de yegua preñada; Folligon®, Intervet, España).

2.2.3.2. Cubrición de los animales

La monta de los animales tuvo lugar de forma controlada, con 18 sementales de raza Assaf Española pertenecientes a una explotación ganadera de la provincia de León. Todos los machos estuvieron presentes en todos los tratamientos.

En torno a las 48 horas de la retirada de las esponjas, y tras la comprobación visual de que las corderas estaban en celo, se introducía uno de los machos en el recinto en el que estaban las hembras. Cuando ese macho cubría una de las corderas, ambos eran retirados del recinto. Posteriormente, otro macho era introducido en el recinto hasta que cubría otra de las corderas y ambos eran retirados. Así se continuó hasta que todas las ovejas fueron cubiertas.

Además, y durante las 24 horas posteriores a la monta controlada de las corderas, se dejó un macho en cada uno de los lotes experimentales para intentar que todas las corderas eran cubiertas.

2.2.3.3. Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de la gestación de los animales se realizó 30 días después de la monta controlada mediante ecografía transabdominal utilizando para ello un ecógrafo con sonda sectorial (LOGIC™ α 100, GE Medical Systems, Francia).

2.3. Período de gestación

Esta fase de la prueba experimental abarcó el periodo comprendido entre el diagnóstico de la gestación y el parto de las corderas.

Con el objetivo de que tanto durante esta fase como durante el periodo de lactación los tratamientos se mantuvieran equilibrados, una vez realizado el diagnóstico de gestación de las corderas, se decidió dejar 6 animales gestantes en cada uno de los lotes experimentales y sacar del experimento aquellos animales que no estaban preñados o que desequilibraban la prueba en el caso de que la fertilidad dentro del lote hubiese sido superior al 70%.

Por tanto, en esta fase se utilizaron 72 animales (6 en cada uno de los 12 lotes en los que, desde el destete de las corderas, quedó dividida la prueba).

Durante esta fase se utilizaron dos tipos de raciones completas en función del momento de la fase de gestación (ver composiciones en la Tabla 4), suministradas ad libitum a todos los animales. El paso de una ración a otra se realizó de forma progresiva durante la semana 15 de la gestación y en todos los lotes a la vez.

Tabla 4. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) de los alimentos ofertados durante la fase de gestación.

	Ración completa 1	Ración completa 2
<i>Ingredientes</i>		
Heno de alfalfa deshidratada (tamaño de partícula 3-4 cm)	305	246
Paja de cereal granulada (1,2 cm)	-----	200
Maíz en grano	160	128
Torta de soja 44 en escamas	160	128
Cebada en grano	150	120
Pulpa de remolacha granulada (1,5 cm)	80	64
Avena en grano	50	40
Melaza	65	52
Corrector vitamínico-mineral	20	14
Bicarbonato	10	8
<i>Composición química</i>		
MS (g/kg)	893	895
MO	905	903
PB	155	139
FND	281	369
FAD	134	206
EB (MJ/kg MS)	18	18

2.4. Periodo de lactación

2.4.1. Partos y lactancia de los corderos

Esta fase del experimento comprendió el periodo de partos de las ovejas y la cría mediante lactancia natural de los corderos, que permanecieron con sus madres hasta el momento del destete, que se realizó en torno a las 5 semanas de vida.

Desde el parto y hasta una semana antes del destete, las ovejas se alimentaron ad libitum con la misma ración completa que recibieron durante la última etapa del periodo de gestación (ver composición en la Tabla 4, Ración completa 2). Durante la semana previa al destete de los corderos se fue cambiando de forma progresiva el tipo de ración suministrada a las ovejas, para evitar un paso brusco de la ración de gestación a la que posteriormente recibirían durante la lactación y cuya composición se detalla en la Tabla 5.

Tras el nacimiento y el posterior reconocimiento y limpieza por parte de sus madres, a todos los corderos se les desinfectó el cordón umbilical y se les administró por vía intramuscular un complejo vitamínico/Selenio (Selevit[®], Laboratorios Syva, España).

Dos semanas antes de la fecha estimada para el destete, todos los corderos pasaron a estar alimentados a media leche, con acceso libre a un pienso lacteado de iniciación (Babimix[®], Inatega, España) cuando permanecían aislados y al alimento de sus madres cuando estaban con ellas. La composición química de ambos piensos aparece detallada en la Tabla 1 y en la Tabla 5.

Durante este periodo, las ovejas fueron ordeñadas una vez al día (por la mañana) para vaciar completamente la ubre y acostumbrar a los animales a la entrada en la sala de ordeño. El alimento se les suministró dos veces al día, después del ordeño de la mañana y tras la separación de los corderos de sus madres por las tardes.

2.4.2. Fase de lactación

Durante esta fase de la prueba se utilizaron un total de 64 animales de los 72 que se habían utilizado durante la fase de gestación, mantenidos siempre en los mismos lotes a los que habían pertenecido en función del tratamiento que recibieron durante las fases previas de lactancia y primera fase de la cría.

El periodo de lactación comenzó una vez que fueron destetados todos los corderos que, como ya se ha comentado, se mantuvieron con sus madres aproximadamente durante 5 semanas. La duración de esta fase fue de 14 semanas a partir del momento en que se destetaron los corderos y que fue considerada como semana 0.

Los animales recibieron durante todo el periodo de lactación una ración completa a libre disposición, cuyos ingredientes y composición química se detallan en la Tabla 5. El alimento se suministró dos veces al día, inmediatamente después de cada ordeño.

Tabla 5. Ingredientes (g/kg) y composición química (g/kg MS, excepto los señalados de distinta forma) del alimento ofertado durante la fase de lactación.

	Ración completa
<i>Ingredientes</i>	
Heno de alfalfa deshidratada (tamaño de partícula 3-4 cm)	270
Maíz en grano	250
Torta de soja 44 en escamas	180
Cebada en grano	120
Pulpa de remolacha granulada (1,5 cm)	70
Melaza	60
Sales ¹	45
Corrector vitamínico-mineral	5
<i>Composición química</i>	
MS, g/kg	887
MO	894
PB	166
FND	226
FAD	118
EB (MJ/kg MS)	17

¹ NaHCO₃ (1,5%), CaCO₃ (1,5%); Ca₂HPO₄ (0,8%); sal de mina (0,7%).

2.4.2.1. Rutina de ordeño

Los animales fueron ordeñados dos veces al día (aproximadamente a las 8:30 y a las 18:30 horas). Para realizar el ordeño se utilizó una ordeñadora portátil (Alfa-Laval[®], DeLaval Equipos, España), provista de pulsadores neumáticos, pezoneras de silicona y recipiente de recogida, situada en una sala de ordeño de 12 puntos. La presión de vacío proporcionada por la bomba fue de 42 kPa, con 120 pulsaciones por minuto y una relación de pulsación del 50%. La rutina de ordeño fue la denominada “con masaje intermedio” (Callejo y Aldeanueva, 1998), constando de los siguientes pasos: (1) colocación de pezoneras y obtención de la “leche máquina”, (2) breve masaje de la ubre y obtención de la “leche de apurado-máquina” y (3) retirada de pezoneras. Finalmente, se pulverizó una solución antiséptica comercial (Alfadine[®], DeLaval Equipos, España) sobre los pezones, para evitar el riesgo de mamitis.

3. CONTROLES Y MEDIDAS

3.1. Ingestión, peso vivo y condición corporal

Durante la fase de lactancia, la ingestión de sustitutivo lácteo para cada uno de los lotes se controló individualmente en cada toma mediante el control del alimento rehusado por los animales. Para este control se utilizó una balanza con una precisión de ± 5 gramos (Tanita TLC-100, Japón).

El control de la ingestión del pienso lacteado y del heno de alfalfa de cada lote se realizó semanalmente. Para ello, los restos de alimento fueron retirados diariamente en el caso del pienso y tres veces por semana en el caso del heno de alfalfa. Para este control se utilizó igualmente una balanza con una sensibilidad de 5 gramos.

El mismo procedimiento se siguió durante la fase de destete para controlar la ingestión de pienso y heno de alfalfa de cada uno de los lotes y durante la primera fase de la recría para la ingestión de pienso y paja de cebada, utilizando para ello una balanza con una sensibilidad de 5 gramos en el caso del pienso y de 20 gramos (Sartorius EA 150 FEG-L, Alemania) en el caso del forraje.

A partir de los 5 meses de edad y hasta el final de la lactación, todos los animales recibieron ad libitum una ración completa cuya ingestión se controló semanalmente para cada uno de los lotes mediante la pesada de los restos de alimento no consumido, siguiendo los procedimientos descritos para las fases anteriores.

Durante toda la prueba se tomó una muestra de los alimentos rehusados semanalmente por los cada uno de los lotes para determinar su contenido de MS.

Para el control del peso de las corderas durante el periodo de lactancia se utilizó una balanza con precisión de ± 20 gramos (Sartorius EA 150 FEG-L, Alemania). En esta fase, las corderas se pesaron dos veces por semana para permitir ajustar al máximo la ingestión de sustitutivo lácteo al peso de los animales en cada momento. Durante la primera semana de la fase de destete, y para controlar una posible crisis en los animales debido a la retirada brusca de la administración de sustitutivo lácteo, el peso de los animales se controló diariamente, con una báscula de precisión ± 100 gramos (Magriña 102 III, España), mientras que durante la segunda semana solo se controló el peso al inicio y al final de la semana, que coincidió con el final de la fase de destete.

A partir del comienzo de la primera fase de la recría y hasta el final de la lactación, el control del peso vivo de los animales, que se realizó siempre antes de la administración del alimento y justo después del ordeño de la mañana durante el periodo de lactación, se llevó a cabo semanalmente, utilizando una báscula con una sensibilidad de 100 gramos.

La condición corporal (CC) de las ovejas se determinó, en el momento en que se controlaba el PV de los animales, mediante palpación lumbar según el método descrito por Russel et al. (1969), con una periodicidad mensual durante la gestación y semanal en la fase de lactación.

Durante la fase de partos y lactancia de los corderos, el PV de las crías se controló en el momento del nacimiento y una vez por semana hasta el destete, utilizando para ello una báscula con una precisión de ± 20 gramos. En ningún momento se controló la ingestión de alimento por parte de los corderos.

3.2. Estudio de la estructura interna de la glándula mamaria

Al cumplir los 5 meses de edad y justo antes de la sincronización de la ovulación previa a la cubrición (aproximadamente a los 10 meses de edad; ver Figura 12), dos corderas de cada uno de los 12 lotes experimentales (las mismas en ambos momentos) fueron trasladados a la Unidad de Cirugía del Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria de la Universidad de León para realizar un estudio de la estructura interna de la glándula mamaria de los animales mediante la técnica de la tomografía axial computarizada (TAC; Tomoscan M, Philips, Países Bajos; Figura 13).



Figura 13. Imagen de una oveja posicionada para la realización de la TAC e imagen digital obtenida tras el estudio.

Para este estudio, de las corderas presentes en la prueba se escogieron las dos dentro de cada lote que durante los 5 meses transcurridos de periodo experimental habían seguido un crecimiento más homogéneo y representativo del tratamiento al que pertenecían.

Antes de su traslado a las instalaciones de la Universidad de León, a las corderas se les denegó el acceso a alimento sólido durante 48 horas y al agua durante las últimas 24 horas. De este modo, se pretendía disminuir al mínimo el riesgo de muerte del animal como consecuencia de la anestesia a la que debían ser sometidas para el normal desarrollo del estudio.

Una vez en la Unidad de Cirugía, y antes de la realización del estudio, los animales fueron premedicados con xilacina (Rompun[®], Bayer Ag, Alemania; 0,2 mg/kg PV, por vía intramuscular). Tras 10-15 minutos de espera para que el tranquilizante hiciese efecto, a las corderas se les administró ketamina (Imalgène[®] 1000, Merial, France; 2 mg/kg PV, por vía endovenosa), tras lo cual permanecieron bajo el efecto de la anestesia alrededor de unos 20 minutos, suficientes para la realización del estudio. La recuperación de los animales del efecto de la anestesia se produjo de forma espontánea en todos los casos.

El estudio mediante TAC se realizó dando una distancia de separación y una anchura de corte de las imágenes en esta fase de 3 mm. La secuencia de imágenes obtenida se analizó mediante el programa *Osiris Imaging Software* (versión 4.19; *Departement de Radiology et Informatique Medicale, Hôpitaux Universitaires de Genève, Suiza*). Este programa permite diferenciar distintos intervalos en las tonalidades de grises que aparecen en la imagen en función del grado de atenuación de los rayos X al atravesar los diferentes tejidos y que se miden en unidades Housfield (HU). De esta forma, y de acuerdo con las densidades determinadas previamente por Carstens et al. (1997) y Petitclerc y Farmer (2003), se puede establecer qué superficie de la imagen corresponde a parénquima o tejido glandular (entre 0 y +200 HU) y cuál a tejido extraparenquimatoso (*fat pad*; entre -200 y 0 HU; Figura 14).

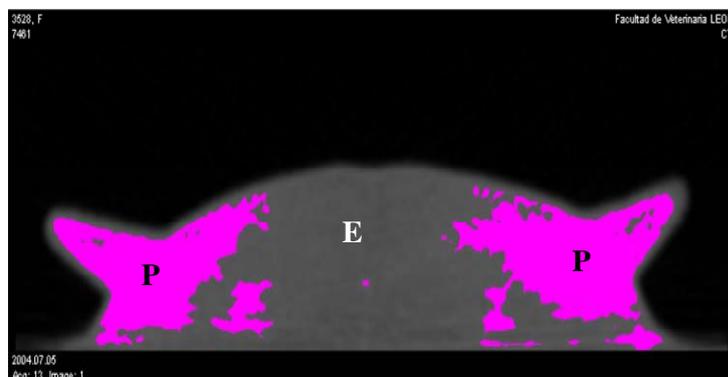


Figura 14. Imagen obtenida mediante TAC y analizada posteriormente con el programa *Osiris Imaging Software*, en la que se puede distinguir el parénquima mamario (P) y el tejido extraparenquimatoso (E).

Posteriormente, y tras conocer la superficie de cada tejido en cada una de las imágenes de la glándula y la distancia de separación entre ellas, se calculó el volumen tanto de parénquima como de tejido extraparenquimatoso, así como del total de la glándula mamaria en cada uno de los animales sometidos al estudio.

3.3. Estudio ecográfico de la cisterna mamaria

Con el objetivo de estudiar la evolución del área cisternal de la ubre a lo largo de la gestación se realizó una ecografía de la glándula mamaria de las ovejas en diferentes momentos de la misma. La primera ecografía se realizó el día anterior a la colocación de las esponjas vaginales para la sincronización de la ovulación. Posteriormente, se realizaron otras dos medidas los días 90 y 135 de la gestación (ver Figura 12).

Además, también se realizó una ecografía de la glándula mamaria de las ovejas en distintos momentos de la fase de lactación, y a diversas horas tras el ordeño, con el fin de estudiar la evolución del área cisternal de la ubre a lo largo del periodo de lactación y en función del tiempo transcurrido tras el ordeño. El primer estudio ecográfico se realizó la semana posterior al destete de los corderos (coincidiendo con la semana 7 tras el parto) y una vez transcurridas 8 horas tras el ordeño de la mañana. Posteriormente, en la semana 14 después del parto, las ecografías se realizaron justo antes del ordeño de la mañana, es decir, transcurridas 14 horas desde el último ordeño. Finalmente, en la semana 21 tras el parto, y una vez realizado el último de los controles de producción de leche, se realizó un tercer estudio ecográfico de la glándula mamaria tras 22 horas del último ordeño (ver Figura 12).

Para la realización de las ecografías se utilizó un ecógrafo modelo LOGIC™ α 100 (GE Medical Systems, Francia), equipado con una sonda sectorial de 4,76 MHz de frecuencia, profundidad variable de 5 a 15 cm y ganancia ultrasónica de -20 a $+20$ dB (con intervalo de 5 dB).

Las imágenes de la estructura interna de la ubre se obtuvieron mediante la colocación de la sonda en la cara ventral de la misma, dirigiéndola posteriormente desde el punto medio de la intersección de las dos mamas (surco intermamario) hacia la extremidad del pezón. Se realizaron al menos dos ecografías de cada media glándula mamaria para poder escoger la más adecuada para realizar la medición. A la vez que se visionaban las imágenes en la pantalla del ecógrafo estas se iban grabando en un vídeo con formato analógico.

Posteriormente, las imágenes fueron transformadas a formato digital y poder así trabajar con ellas en un ordenador. De la secuencia de imágenes obtenida con el ecógrafo (incluida una imagen “congelada” de la cisterna en el momento que se consideró más oportuno) se extrajeron, con ayuda de los programas informáticos *PowerDVD* (versión 5.0; Cyberlink Corporation, Estados Unidos) y *Adobe® Photoshop®* (versión 7.0; Adobe System Inc, Estados Unidos), las imágenes más adecuadas (es decir, aquellas en las que se observaba con mayor claridad la cisterna mamaria tomando como referencia el canal del pezón). Posteriormente, en las imágenes elegidas se midió el área cisternal con ayuda del programa informático *Osiris Imaging Software* (versión 4.19; *Departament de Radiology et Informatique Medicale, Hôspitaux Universitaires de Genève, Suiza*; Figura 15).

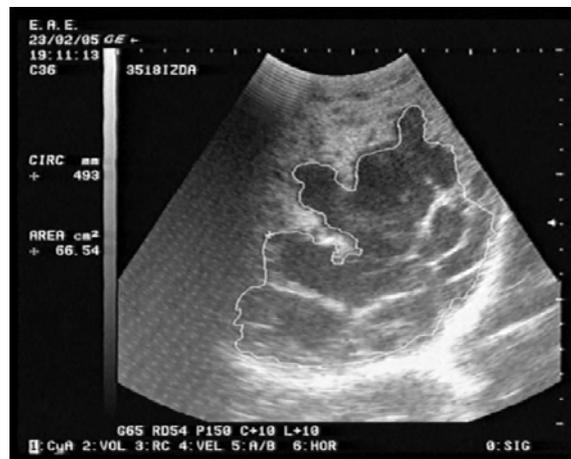


Figura 15. Imagen obtenida mediante ecografía en la que se observa delimitada el área de la cisterna mamaria.

3.4. Estudio de la morfología mamaria

Durante la fase de lactación y con una periodicidad mensual, en el transcurso de las semanas 1, 5, 9 y 13 de control de producción (correspondientes a las semanas 6, 10, 14 y 18 de la lactación de los animales; ver Figura 12) se realizó un estudio morfológico de la ubre de todas las ovejas justo antes del ordeño de la mañana. Se midió el volumen, la profundidad, el perímetro y la anchura de la ubre, la altura de las cisternas, y el ángulo de inclinación, la longitud y la anchura de los pezones. El procedimiento utilizado para dicho estudio fue el descrito por Labussière (1983), modificado por de la Fuente et al. (1996), tal y como se detalla en la Figura 16.

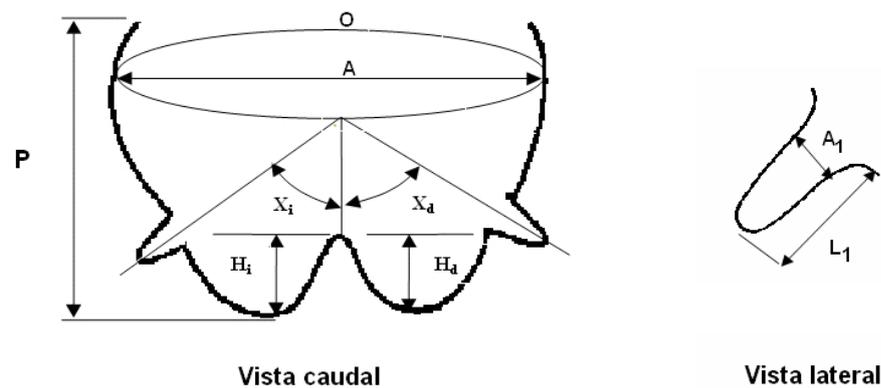


Figura 16. Vista caudal de la ubre y lateral del pezón en la que se observan las distintas medidas realizadas. P: profundidad de la ubre; O: perímetro mamario; A: anchura mamaria; X_i : ángulo de inserción del pezón izquierdo; X_d : ángulo de inserción del pezón derecho; H_i : altura de la cisterna izquierda; H_d : altura de la cisterna derecha; L_1 : longitud del pezón; A_1 : anchura del pezón.

El volumen de la ubre se determinó utilizando un recipiente de volumen conocido y lleno de agua tibia donde se sumergió la ubre, para posteriormente medir el volumen que permanece tras el desplazamiento del agua.

La profundidad de la ubre se midió (con una cinta métrica) como la distancia vertical entre la inserción perineal posterior que separa la mama izquierda de la derecha y la base de la ubre.

También se utilizó la cinta métrica para determinar el perímetro de la ubre, que corresponde a la medida de la circunferencia en la zona más ancha de la ubre.

La anchura de la ubre se midió (con un calibre) en la región más ancha de la glándula, en sentido horizontal entre las dos caras laterales de la misma.

Para obtener la medida de la altura de las cisternas se hizo externamente (con ayuda de una cinta métrica) midiendo la distancia entre la inserción del pezón y la zona más baja de la cisterna.

La longitud y anchura de los pezones se midieron con un calibre, siendo la longitud la distancia comprendida desde la base de implantación hasta la extremidad libre y la anchura la distancia entre las dos caras del pezón en su parte más ancha.

El ángulo de inclinación de los pezones se obtuvo (con ayuda de un transportador de ángulos) desde la cara posterior de la ubre y tomando como referencia el plano vertical (ángulo de 0°).

3.5. Perfil hormonal

El día del destete de las corderas, al final de la primera fase de la recria (cuando cumplieron los 5 meses de edad), justo antes de la sincronización de la ovulación de las ovejas (en torno a los 10 meses de edad) y coincidiendo con el comienzo de la fase de lactación (una vez destetados los corderos) (ver Figura 12) se tomó una muestra de sangre de cada uno de los animales para determinar la concentración sérica de GH (hormona del crecimiento), IGF-I (factor de crecimiento tipo insulina-I), insulina y prolactina. La extracción de sangre se realizó a primera hora de la mañana y antes de la administración del alimento, mediante punción en la yugular. Las muestras de sangre se recogieron en tubos Venoject® (Terumo®, Bélgica) de 10 ml de capacidad, sin ningún tipo de anticoagulante. Una vez realizada la extracción, las muestras se dejaron coagular durante 12 horas a 4 °C y posteriormente se centrifugaron (Centronic, P Selecta®, España) durante 15 minutos a 3000 rpm para permitir una mejor separación del suero sanguíneo. Las muestras de suero fueron almacenadas a -30 °C hasta su posterior análisis de laboratorio.

3.6. Producción de leche

El control de la producción de leche se realizó semanalmente, una vez destetados los corderos (semana 5 posparto) alternando con la misma frecuencia los controles de mañana y de tarde.

Además de la leche ordeño, en todos los controles de producción se obtuvo también la leche residual mediante la administración de oxitocina (3 UI; Divasa Farmavic S.A., España) por vía intramuscular a todos los animales.

En los días de control se registró individualmente el peso de la leche obtenida, utilizando una balanza con una precisión de $\pm 0,1$ gramos (Sartorius QS4000, Alemania) tanto de la fracción ordeño como de la fracción residual, y se tomó una muestra de las mismas para su análisis químico (contenido de grasa, proteína, lactosa y extracto seco), así como el recuento de células somáticas. Las muestras de leche obtenidas, a las que se añadió como conservante Bromopol® (D & F Control Systems Inc., Estados Unidos), se mantuvieron a 4°C hasta su posterior análisis de laboratorio en el Centro de Selección y Reproducción Animal de la Junta de Castilla y León (CENSYRA) de Villaquilambre (León). El análisis de estas muestras se realizó dentro de las 24 horas siguientes a su obtención.

4. ANÁLISIS QUÍMICOS

4.1. Alimentos

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado, sobre muestras molidas en molino centrífugo (Retsch ZM[®] 1000, Alemania) utilizando una malla de 1 mm de paso. Sobre las muestras de sustitutivo lácteo y pienso lacteado de iniciación se llevó a cabo la determinación de materia seca (MS; ISO 6496:1999), cenizas (ISO 5894:2002), proteína bruta (PB; ISO 5983-2:2005), grasa bruta (GB; ISO 6492:1999) y energía bruta (EB; ISO 9831:1998). En las muestras de pienso de recría, heno de alfalfa, paja de cebada y las distintas raciones completas suministradas se determinaron además los contenidos en fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) de acuerdo con las técnicas descritas por Goering y Van Soest (1970) y Van Soest et al. (1991), utilizando para ello un analizador de fibra Ankom[®] 220 (Estados Unidos), mientras que no se determinó el contenido de GB. En las muestras recogidas del alimento rehusado por los animales se determinó únicamente el contenido de MS.

4.2. Hormonas

El análisis de laboratorio de las muestras de suero sanguíneo de las corderas se realizó en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de León.

Para la determinación de la concentración sanguínea de las hormonas GH, IGF-I, insulina y prolactina se utilizó la técnica de inmunoquimioluminiscencia, utilizando para ello un autoanalizador Immulite[®] (DPC[®] Dipesa, Estados Unidos).

4.3. Leche

La determinación del contenido de grasa, proteína y extracto seco en las muestras de leche se realizó de acuerdo con la metodología de referencia descrita por la *International Dairy Federation* (IDF 141C:2000) utilizando para ello un autoanalizador Milko-Scan 255 (Foss Electric, Dinamarca). El contenido de lactosa se calculó restándole al extracto seco el contenido de grasa y proteína.

Para el recuento de las células somáticas (RCS) de la leche se utilizó un autoanalizador Fossomatic 90 (Foss Electric, Dinamarca) siguiendo el procedimiento de referencia IDF 148-2:2006 (*International Dairy Federation*, Bruselas, Bélgica).

5. CÁLCULOS

La ganancia diaria de peso vivo para cada una de las fases se estimó por regresión lineal, en función del peso vivo y la edad de los animales utilizando el procedimiento REG del programa estadístico SAS (SAS, 1999).

La fertilidad para cada uno de los lotes se determinó una vez finalizado el periodo de partos y se calculó como el cociente entre el número de ovejas paridas y el número de ovejas cubiertas tras la sincronización de la ovulación.

La prolificidad se estableció como el cociente entre el número de corderos nacidos y el número de ovejas paridas en cada uno de los lotes.

La producción de leche diaria para cada semana se calculó mediante la suma de la producción obtenida durante el control de ordeño de esa semana, fuese de mañana o de tarde, más la obtenida en el control de la semana siguiente, de tarde o de mañana según los casos.

La cantidad de leche producida (ordeño, residual y total) se corrigió para el porcentaje de grasa y proteína (producción de leche estandarizada en energía, PLEE), utilizando la ecuación propuesta por Bocquier et al. (1993):

$$PLEE = PL \times [(0,0071 \times CG) + (0,0042 \times CP) + 0,2224],$$

donde PL es la producción de leche registrada, CG el contenido en grasa (g/l) y CP el contenido en proteína (g/l) de la leche.

El cálculo de la producción de leche normalizada a 150 días se realizó siguiendo las indicaciones del *International Committee for Animal Recording* (ICAR; www.icar.org).

El coeficiente de persistencia de producción de leche (g/semana) se estimó, por regresión lineal, como el coeficiente de regresión (pendiente) entre la producción diaria de leche y el tiempo (en semanas) transcurrido desde el inicio del experimento. Para ello, se utilizó en procedimiento REG del programa estadístico SAS (SAS, 1999).

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para analizar el efecto del nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante la fase de lactancia sobre la variación de peso vivo dentro de cada semana y en el conjunto del periodo de lactancia se utilizó el procedimiento MIXED (Littell et al., 2002) del programa estadístico SAS (SAS, 1999), utilizando como covariable el peso vivo inicial (Wang y Goonewardene, 2004), de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + G_j + A_k + cov_k + \varepsilon_{ijk}$$

siendo:

Y_{ijk} , la variable dependiente,

μ , la media,

L_i , el efecto fijo debido al tratamiento durante la fase de lactancia,

G_j , el efecto aleatorio debido al lote,

A_k , el efecto aleatorio debido al animal,

cov_k , covariable (PV inicial) y

ε_{ijk} , el error residual.

También para la fase de lactancia, los datos de la ingestión semanal de sustitutivo lácteo, pienso lacteado de iniciación y heno de alfalfa se analizaron dentro de cada semana y en el conjunto del periodo experimental mediante el procedimiento MIXED (Littell et al., 2002) del programa estadístico SAS (SAS, 1999), de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + L_i + G_j + \varepsilon_{ij}$$

siendo:

Y_{ij} , la variable dependiente,

μ , la media,

L_i , el efecto fijo debido al tratamiento durante la fase de lactancia,

G_j , el efecto aleatorio debido al lote y

ε_{ij} , el error residual.

Para el análisis de la concentración de las hormonas GH, IGF-I, insulina y prolactina en el suero sanguíneo en el momento del destete (previa transformación de los valores a su logaritmo neperiano para que se distribuyesen de acuerdo a una función normal) se utilizó el procedimiento MIXED (Littell et al., 2002) del programa estadístico SAS (SAS, 1999), de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + G_j + A_k + \varepsilon_{ijk}$$

siendo:

Y_{ijk} , la variable dependiente,

μ , la media,

L_i , el efecto fijo debido al tratamiento durante la fase de lactancia,

G_j , el efecto aleatorio debido al lote,

A_k , el efecto aleatorio debido al animal y

ε_{ijk} , el error residual.

Dentro de cada una de las fases posteriores al destete de las corderas en que quedó dividido el experimento, los datos relativos a la evolución del peso se analizaron para cada semana y para el conjunto de cada fase experimental utilizando el procedimiento MIXED (Littell et al., 2002) del programa estadístico SAS (SAS, 1999), de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijkl} = \mu + L_i + R_j + L \times R_{ij} + G_k + A_l + \varepsilon_{ijkl}$$

siendo:

Y_{ijkl} , la variable dependiente,

μ , la media,

L_i , el efecto fijo debido al tratamiento durante la fase de lactancia,

R_j , el efecto fijo debido al tratamiento durante la primera fase de la recría,

$L \times R_{ij}$, el efecto fijo debido a la interacción entre los tratamientos durante las fases de lactancia y primera de la recría,

G_k , el efecto aleatorio debido al lote,

A_l , el efecto aleatorio debido al animal y

ε_{ijkl} , el error residual.

Este mismo modelo se utilizó para analizar la concentración hormonal (GH, IGF-I, insulina y prolactina, previa transformación de los valores a su logaritmo neperiano para conseguir que siguiesen una distribución normal) en el suero sanguíneo de las corderas al cumplir los 5 meses de edad, justo antes de la sincronización de la ovulación y al inicio de la fase de lactación; los volúmenes de la glándula mamaria, el parénquima y el tejido extraparenquimatoso medidos mediante TAC, a los 5 meses de edad y antes de la sincronización de la ovulación; la superficie de la cisterna mamaria obtenida mediante ecografía a lo largo de la gestación y de la lactación; la morfología mamaria para cada mes (en el caso de la altura de las cisternas y la longitud, anchura y ángulo de inserción de los pezones se utilizó el valor medio de los obtenidos en ambos lados de la ubre, izquierdo y derecho); los datos relativos a la evolución de la CC en la gestación y en la lactación; y la producción y composición de la leche, el coeficiente de persistencia de la lactación, y el RCS (cuyos valores fueron transformados para conseguir una distribución normal de los datos; \log_{10}/ml).

La ingestión semanal de cada lote, tanto de pienso como de forraje durante las fases de destete y primera de la recría y de ración completa en el resto de los periodos, así como los valores obtenidos de fertilidad y prolificidad para cada uno de los lotes, se analizaron dentro de cada semana y para cada una de las fases experimentales utilizando el procedimiento MIXED (Littell et al., 2002) del programa estadístico SAS (SAS, 1999), de acuerdo con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + R_j + L \times R_{ij} + G_k + \varepsilon_{ijk}$$

siendo:

Y_{ijk} , la variable dependiente,

μ , la media,

L_i , el efecto fijo debido al tratamiento durante la fase de lactancia,

R_j , el efecto fijo debido al tratamiento durante la primera fase de la recría,

$L \times R_{ij}$, el efecto fijo debido a la interacción entre los tratamientos durante las fases de lactancia y primera de la recría,

G_k , el efecto aleatorio debido al lote y

ε_{ijk} , el error residual.

En todos los casos, la comparación entre medias se realizó mediante el test de las diferencias mínimas significativas (SAS, 1999).

Además, se realizó un análisis de correlación entre la producción de leche, el área de la cisterna mamaria medida mediante ecografía y los distintos parámetros de la morfología mamaria mediante el procedimiento CORR del programa estadístico SAS (SAS, 1999).

V. RESULTADOS

En las tablas de resultados de este trabajo se presenta el valor medio de los parámetros analizados para cada tratamiento experimental en función de los efectos estudiados, ya que en la mayoría de los casos la interacción entre los tratamientos de lactancia (L) y de recría (R) no fue significativa ($P > 0,05$), y el error estándar de la diferencia (eed). Además, se muestra el nivel de significación estadística (probabilidad; P) debido al efecto de los niveles de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y su interacción (L×R).

1. INGESTIÓN

En la Tabla 6 se muestran los valores medios de ingestión de sustitutivo lácteo, pienso lacteado y heno de alfalfa de los animales en cada uno de los dos niveles de ingestión durante el periodo de lactancia (AL y Rs). Como puede observarse, la cantidad ingerida (tanto de sustitutivo lácteo como de alimento sólido) es, en todos los casos, diferente entre tratamientos. Las diferencias estadísticas ($P < 0,001$) observadas en la ingestión de sustitutivo lácteo se deben al propio diseño experimental y, en consecuencia, también las encontradas para el pienso y el heno de alfalfa, que fueron significativamente superiores ($P < 0,001$) en los animales que recibieron el sustitutivo lácteo en cantidad restringida (tratamiento Rs).

Tabla 6. Valores medios de la ingestión diaria de sustitutivo lácteo (MJ EB/kg PV^{0,75} y día; g MS/kg PV^{0,75} y día), pienso lacteado (g MS/kg PV y día) y heno de alfalfa (g MS/kg PV y día) para cada tratamiento experimental durante el periodo de lactancia.

	AL ¹	Rs ¹	eed ²	Probabilidad ³
<u>Sustitutivo lácteo</u>				
MJ EB/kg PV ^{0,75} y día	1,3	0,9	0,03	<0,0001
g MS/kg PV ^{0,75} y día	55,1	38,0	1,12	<0,0001
<u>Pienso lacteado</u>				
	6,4	12,0	0,87	<0,0001
<u>Heno de alfalfa</u>				
	6,0	9,0	0,72	0,0005

¹ Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

² eed: error estándar de la diferencia.

³ Nivel de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia.

La ingestión, tanto de pienso como de heno de alfalfa, durante las dos semanas de transición entre el momento del destete y el inicio de la primera fase de la recría se muestran en la Tabla 7. Se observa que no hubo diferencias significativas ($P>0,10$) entre tratamientos en la ingestión de heno de alfalfa debidas al efecto del nivel de alimentación recibido, ni durante el periodo de lactancia ni durante la primera fase de la recría. Por lo que se refiere a la ingestión de pienso durante estas dos semanas, la interacción entre los efectos de lactancia y de recría resultó significativa ($P<0,05$) tanto para las semanas 1 y 2 del periodo de transición como para la media de todo el periodo. Respecto a los efectos principales, la cantidad de sustitutivo lácteo recibido durante la lactancia provocó diferencias significativas entre tratamientos en la ingestión de pienso, tanto en la primera semana de transición ($P<0,01$) como en la media de todo el periodo ($P<0,05$). Además, y como consecuencia del propio diseño experimental, la ingestión de pienso también fue significativamente diferente ($P<0,001$) entre los tratamientos de la fase de recría.

Los valores medios de ingestión, tanto de pienso como de paja de cebada, observados durante la primera fase de la recría se muestran, respectivamente, en la Tabla 8 y en la Tabla 9. Se observa que en ninguno de los casos existió efecto estadísticamente significativo ($P>0,05$) del nivel de ingestión recibido durante la lactancia. Por lo que respecta al nivel de alimentación durante la primera fase de la recría, se observó un claro efecto ($P<0,001$) del tratamiento sobre la ingestión de pienso (Tabla 8) como consecuencia del diseño experimental. Así, la ingestión media de pienso de los animales del tratamiento A fue un 108% superior a la del tratamiento M y un 304% superior a la del tratamiento B, con valores de 1,12; 0,54 y 0,28 kg MS/animal y día, respectivamente. Por lo que se refiere a la ingestión de paja (Tabla 9), también se encontraron diferencias significativas entre tratamientos de recría ($P<0,001$) a partir de la segunda semana de esta fase, siendo de media un 82% menor la correspondiente a los animales del tratamiento A respecto a la de los animales de los tratamientos M y B (78; 414 y 456 g MS/animal y día, respectivamente).

Tabla 7. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de pienso y heno de alfalfa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la fase de transición entre el periodo de lactancia y la primera fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Pienso</u>									
Semana 1	306	353	464 ^a	334 ^b	192 ^c	16,8	0,0028	<0,0001	0,0001
Semana 2	354	393	556 ^a	363 ^b	202 ^c	43,7	0,1673	<0,0001	0,0490
<i>Media</i>	330	373	510 ^a	348 ^b	197 ^c	30,1	0,0227	<0,0001	0,0002
<u>Heno de alfalfa</u>									
Semana 1	260	212	228	252	228	55,1	0,1833	0,7795	0,6166
Semana 2	262	293	330	246	255	87,8	0,5650	0,3965	0,1945
<i>Media</i>	261	252	279	249	242	63,1	0,8235	0,6984	0,2818

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 8. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de pienso (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la primera fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	446	469	776 ^a	383 ^b	214 ^c	44,3	0,5483	<0,0001	0,9996
Semana 2	504	487	852 ^a	410 ^b	224 ^c	72,0	0,7034	<0,0001	0,9747
Semana 3	547	551	972 ^a	444 ^b	229 ^c	57,8	0,9226	<0,0001	0,6962
Semana 4	559	549	1027 ^a	457 ^b	238 ^c	43,8	0,0926	<0,0001	0,3712
Semana 5	621	594	1090 ^a	482 ^b	251 ^c	108,6	0,7524	<0,0001	0,8817
Semana 6	623	578	1030 ^a	508 ^b	262 ^c	77,2	0,3515	<0,0001	0,6126
Semana 7	627	622	1064 ^a	533 ^b	275 ^c	100,6	0,9337	<0,0001	0,9525
Semana 8	708	625	1158 ^a	553 ^b	289 ^c	69,2	0,0849	<0,0001	0,1642
Semana 9	714	681	1206 ^a	582 ^b	304 ^c	124,3	0,6567	<0,0001	0,8796
Semana 10	737	715	1259 ^a	610 ^b	310 ^c	31,7	0,2852	<0,0001	0,7337
Semana 11	750	794	1348 ^a	645 ^b	323 ^c	35,1	0,0673	<0,0001	0,0394
Semana 12	781	804	1386 ^a	663 ^b	328 ^c	78,3	0,6196	<0,0001	0,5687
Semana 13	790	786	1335 ^a	695 ^b	335 ^c	112,3	0,9514	<0,0001	0,9745
<i>Media</i>	650	635	1116 ^a	536 ^b	276 ^c	65,6	0,7116	<0,0001	0,9735

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 9. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de paja de cebada (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la primera fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	171	169	160	150	202	45,4	0,9436	0,3016	0,2140
Semana 2	149	176	64 ^b	216 ^a	207 ^a	38,6	0,2479	0,0028	0,2934
Semana 3	207	207	72 ^b	277 ^a	273 ^a	42,0	0,9968	0,0007	0,3333
Semana 4	220	239	97 ^b	268 ^a	324 ^a	34,9	0,3831	0,0002	0,3960
Semana 5	246	273	80 ^b	336 ^a	364 ^a	47,9	0,3662	0,0003	0,7754
Semana 6	286	303	64 ^b	375 ^a	444 ^a	40,8	0,4830	<0,0001	0,8497
Semana 7	307	327	64 ^c	363 ^b	523 ^a	42,0	0,4856	<0,0001	0,5354
Semana 8	343	379	64 ^c	454 ^b	566 ^a	40,2	0,1742	<0,0001	0,2253
Semana 9	402	404	70 ^b	551 ^a	588 ^a	51,3	0,9389	<0,0001	0,6832
Semana 10	410	440	61 ^b	638 ^a	578 ^a	60,6	0,5190	<0,0001	0,8062
Semana 11	429	419	55 ^b	602 ^a	615 ^a	57,4	0,7715	<0,0001	0,9694
Semana 12	405	424	82 ^b	562 ^a	601 ^a	48,2	0,5061	<0,0001	0,7332
Semana 13	421	454	84 ^b	585 ^a	644 ^a	33,6	0,2791	<0,0001	0,4457
<i>Media</i>	308	324	78 ^b	414 ^a	456 ^a	37,7	0,4361	<0,0001	0,6676

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Durante las 12 primeras semanas de la segunda fase de la recría, y una vez alcanzados los 5 meses de edad, las corderas recibieron una ración completa en forma de briquetas suministrada ad libitum cuya ingestión se muestra en la Tabla 10. El tratamiento durante el periodo de lactancia no produjo diferencias estadísticamente significativas ($P>0,10$) en la cantidad de alimento ingerido por los animales durante esta fase, salvo en la semana 3 de experimento ($P<0,05$). Por lo que respecta al efecto del tratamiento hasta los 5 meses de edad, en las semanas 1, 2, 9, 10 y 11 no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($P>0,05$), mientras que en las restantes, las ingestiones de los animales de los 3 tratamientos no siguió un criterio uniforme. Como media de las 12 semanas, la ingestión de los animales del tratamiento M fue superior en un 12% a la de los animales de los tratamientos A y B, con valores de 1,64; 1,84 y 1,64 kg MS/animal y día en los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Posteriormente, y siempre dentro de la segunda fase de la recría, los animales recibieron durante otras 12 semanas una ración completa cuya ingestión se muestra en la Tabla 11. Como se puede apreciar, no existieron diferencias estadísticamente significativas ($P>0,10$) en la ingestión en ninguna de las 12 semanas que duró esta fase, ni debidas al tratamiento durante el periodo de lactancia ni tampoco como consecuencia del efecto de la alimentación durante la primera fase de la recría, con un valor medio de 1,81 kg MS/animal y día.

La evolución de la ingestión de la ración ofertada a los animales durante la fase de gestación se muestra en la Tabla 12. No se observaron diferencias significativas ($P>0,10$) en relación a los tratamientos durante el periodo de lactancia y únicamente en las dos últimas semanas (semanas 13 y 14) de este periodo los animales pertenecientes al tratamiento A de la fase de recría mostraron una ingestión menor ($P<0,05$) a la de los animales de los tratamientos M y B. El valor medio de ingestión durante todo el periodo de gestación no difirió entre tratamientos ($P>0,10$), siendo de media 1,58 kg MS/animal y día.

Los valores medios de ingestión de ración completa para cada una de las semanas de la fase de lactación se muestran en la Tabla 13. En ninguna de las 14 semanas en las que se controló la cantidad de alimento ingerida por los animales se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P>0,05$) debidas al efecto de la alimentación durante el periodo de lactancia o la primera fase de la recría, siendo la ingestión media de 2,34 kg MS/animal y día.

Tabla 10. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante las 12 primeras semanas de la segunda fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	1154	1141	1088	1245	1109	78,8	0,7821	0,0600	0,2851
Semana 2	1270	1318	1281	1353	1248	87,3	0,3793	0,2955	0,6448
Semana 3	1363	1450	1372 ^b	1471 ^a	1375 ^b	48,5	0,0210	0,0458	0,4284
Semana 4	1420	1403	1283 ^c	1525 ^a	1429 ^b	47,3	0,5681	0,0010	0,9429
Semana 5	1534	1519	1404 ^b	1586 ^a	1591 ^a	50,4	0,6248	0,0030	0,5139
Semana 6	1659	1643	1449 ^c	1837 ^a	1669 ^b	77,2	0,7265	0,0012	0,3923
Semana 7	1804	1812	1597 ^b	1921 ^a	1907 ^a	94,4	0,8881	0,0046	0,9827
Semana 8	1953	1898	1850 ^b	2220 ^a	1707 ^b	140,9	0,5267	0,0053	0,4945
Semana 9	2043	2062	2043	2190	1926	150,8	0,8345	0,1196	0,5815
Semana 10	2122	2121	2182	2241	1940	143,2	0,9892	0,0532	0,6275
Semana 11	2057	2038	1993	2169	1982	163,0	0,8427	0,2665	0,8994
Semana 12	2063	2073	2158 ^a	2261 ^a	1785 ^b	104,7	0,8678	0,0015	0,3855
<i>Media</i>	1703	1706	1642 ^b	1835 ^a	1639 ^b	103,3	0,9600	0,0102	0,8721

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 11. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante las 12 últimas semanas de la segunda fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	1921	1899	1835	2033	1863	223,0	0,8728	0,4470	0,7748
Semana 2	1692	1681	1633	1780	1649	154,9	0,9075	0,3968	0,8758
Semana 3	1758	1726	1769	1867	1591	174,8	0,7632	0,1568	0,5928
Semana 4	1908	1920	1896	1930	1916	161,4	0,9045	0,9576	0,6328
Semana 5	1842	1755	1766	1809	1820	190,0	0,7016	0,7597	0,9374
Semana 6	1750	1722	1784	1726	1698	188,5	0,8078	0,8127	0,7040
Semana 7	1833	1744	1816	1774	1775	196,4	0,4648	0,9431	0,8086
Semana 8	1809	1767	1791	1788	1785	129,2	0,9540	0,9812	0,9728
Semana 9	1961	1910	1873	2000	1934	123,0	0,4930	0,4065	0,3431
Semana 10	1889	1806	1851	1917	1775	95,1	0,1827	0,1873	0,3761
Semana 11	1701	1620	1683	1684	1614	97,3	0,1961	0,5425	0,7690
Semana 12	1885	1876	1910	1917	1815	76,5	0,8368	0,1881	0,2807
<i>Media</i>	1829	1786	1800	1852	1769	132,7	0,5912	0,6906	0,8144

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

Tabla 12. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la fase de gestación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	1491	1493	1527	1488	1461	55,9	0,9368	0,3166	0,2882
Semana 2	1461	1402	1397	1456	1442	120,1	0,4263	0,7809	0,7505
Semana 3	1435	1374	1421	1446	1346	157,1	0,5229	0,6653	0,4423
Semana 4	1517	1506	1503	1532	1500	154,2	0,9071	0,9488	0,2498
Semana 5	1592	1557	1550	1630	1545	130,3	0,6500	0,6222	0,5418
Semana 6	1699	1607	1634	1707	1618	110,6	0,1978	0,5200	0,1815
Semana 7	1824	1724	1763	1785	1774	193,3	0,4103	0,9893	0,0959
Semana 8	1806	1741	1735	1821	1765	164,9	0,5453	0,7618	0,3694
Semana 9	1810	1774	1752	1815	1810	137,2	0,6707	0,7778	0,3984
Semana 10	1785	1771	1728	1817	1790	112,3	0,8253	0,5417	0,4370
Semana 11	1676	1731	1665	1698	1748	138,3	0,4026	0,8011	0,3790
Semana 12	1686	1632	1562	1711	1703	120,6	0,4401	0,2215	0,4413
Semana 13	1676	1585	1505 ^b	1713 ^a	1673 ^a	86,9	0,1131	0,0327	0,3844
Semana 14	1440	1407	1172 ^b	1518 ^a	1580 ^a	112,9	0,6438	0,0042	0,8080
<i>Media</i>	1598	1561	1520	1619	1599	93,3	0,5121	0,3508	0,3162

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 13. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ingestión diaria de ración completa (g MS/animal y día) para cada tratamiento experimental durante la fase de lactación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	2330	2122	2325	2145	2208	148,8	0,0515	0,2943	0,7938
Semana 2	2335	2260	2463	2155	2275	332,2	0,7093	0,4657	0,6879
Semana 3	2440	2383	2650	2183	2403	296,5	0,7518	0,1632	0,8470
Semana 4	2603	2412	2785	2343	2395	290,9	0,2972	0,1411	0,7750
Semana 5	2465	2418	2663	2353	2315	278,4	0,7965	0,2326	0,8405
Semana 6	2272	2180	2383	2200	2095	282,9	0,5950	0,4041	0,7484
Semana 7	2342	2198	2475	2170	2165	207,8	0,2773	0,1301	0,5751
Semana 8	2383	2297	2463	2268	2290	252,6	0,5740	0,5271	0,4326
Semana 9	2535	2308	2470	2448	2348	240,2	0,1532	0,7548	0,2855
Semana 10	2530	2282	2420	2483	2315	206,1	0,0819	0,5441	0,1023
Semana 11	2482	2235	2398	2420	2258	213,5	0,0923	0,5418	0,0801
Semana 12	2508	2227	2395	2413	2295	248,2	0,0970	0,7787	0,1313
Semana 13	2225	2100	2145	2233	2110	231,1	0,3851	0,7526	0,2487
Semana 14	2330	2262	2403	2245	2240	219,1	0,6086	0,5282	0,1894
<i>Media</i>	2413	2263	2460	2290	2265	129,3	0,2064	0,3293	0,4554

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

2. PESO VIVO Y CONDICIÓN CORPORAL

En la Tabla 14 se muestran las variaciones en el PV de las corderas a lo largo de todo el periodo de lactancia. El PV inicial de los animales no mostró diferencias entre tratamientos ($P>0,10$). A partir de ese momento se observaron diferencias significativas ($P<0,05$) durante todas las semanas del periodo de lactancia. El PV final de las corderas (semana 7) fue claramente diferente entre tratamientos ($P<0,001$), siendo de 17,8 kg en las corderas del tratamiento AL y de 13,7 kg en las corderas del tratamiento Rs.

Tabla 14. Valores medios (inicial y para cada semana) del peso vivo (PV; kg) de los animales para cada tratamiento experimental durante el periodo de lactancia.

	AL ¹	Rs ¹	eed ²	Probabilidad ³
PV Inicial	4,51	4,66	0,108	0,1973
Semana 1	5,12	4,83	0,132	0,0369
Semana 2	6,06	5,48	0,184	0,0048
Semana 3	7,79	6,79	0,225	0,0002
Semana 4	10,12	8,76	0,276	<0,0001
Semana 5	12,53	10,91	0,339	<0,0001
Semana 6	15,05	12,96	0,433	<0,0001
Semana 7	17,81	13,68	1,144	<0,0001

¹ Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

² eed: error estándar de la diferencia.

³ Nivel de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia.

En la Tabla 15 se muestran los valores medios de GDPV de los animales de cada uno de los dos tratamientos experimentales del periodo de lactancia, para cada semana y para el conjunto del periodo. Esta GDPV fue diferente entre tratamientos ($P<0,05$), debido al propio diseño experimental, ya en la primera semana del experimento. A partir de la cuarta semana las corderas comienzan a ingerir cantidades significativas de alimento sólido, siendo estas cantidades mayores, como se ha indicado anteriormente, en los animales del tratamiento Rs, por lo que comienzan a desaparecer las diferencias en la GDPV. El valor medio obtenido para el conjunto del periodo fue diferente entre tratamientos ($P<0,001$), siendo un 20% superior en los animales del tratamiento AL, con valores medios de 250 y 208 g/día para los animales de los tratamientos AL y Rs, respectivamente.

Tabla 15. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) para cada tratamiento experimental durante el periodo de lactancia.

	AL ¹	Rs ¹	eed ²	Probabilidad ³
Semana 1	75	35	18,6	0,0438
Semana 2	132	96	13,4	0,0126
Semana 3	244	191	15,2	0,0020
Semana 4	329	284	12,5	0,0005
Semana 5	341	310	19,1	0,1212
Semana 6	372	306	19,7	0,0028
Semana 7	343	313	40,6	0,4893
<i>Media</i>	250	208	10,0	<0,0001

¹ Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

² eed: error estándar de la diferencia.

³ Nivel de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia.

En la Tabla 16 se muestran los valores medios de la GDPV para los animales de cada uno de los tratamientos de lactancia y de recría durante las dos semanas de la fase de transición entre el destete y la primera fase de la recría, el valor medio para todo el periodo y el PV de los animales al final del mismo. Únicamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en los valores relativos a la GDPV en función del tratamiento recibido durante la fase de recría y no en función del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia. Como media de todo el periodo, la GDPV de los animales del tratamiento A fue un 52% superior a la de las corderas del tratamiento M y a su vez la de estas últimas un 58% superior a la de los animales del tratamiento B. Por lo que se refiere al PV final, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,10$) entre tratamientos al final de la fase de transición entre la lactancia y la recría (17,7 kg).

Tabla 16. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante el periodo de transición entre la lactancia y la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	216	237	321 ^a	214 ^b	145 ^c	48,6	0,4878	0,0057	0,1665
Semana 2	196	196	291 ^a	188 ^b	109 ^c	72,8	0,9921	0,0335	0,9993
<i>Media</i>	206	217	306 ^a	201 ^b	127 ^c	28,5	0,5535	0,0004	0,2390
PV final	18,3	17,1	18,4	18,2	16,6	1,25	0,1367	0,1449	0,4996

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

En la Tabla 17 se recogen los valores medios de la GDPV de los animales, para cada semana de la primera fase de la recría y para el conjunto del periodo, de cada uno de los tratamientos experimentales. Además, se muestra también el valor medio del PV al final de esta fase. Se puede advertir que, al igual que lo observado para las ingestiones de pienso y de paja, no existieron diferencias significativas ($P>0,10$) en la GDPV semanal de los animales en función del tratamiento recibido durante el periodo de lactancia, ni tampoco en el PV de los mismos a los 5 meses de edad. Sin embargo, debido a las diferencias que existieron en la ingestión de pienso durante esta fase, destacadas en el apartado anterior, sí se observaron diferencias ($P<0,001$) en el ritmo de crecimiento de los animales de los distintos grupos durante esta primera fase de recría que se vieron plasmadas en la GDPV de los animales de los distintos tratamientos existentes durante esta fase. En este sentido, se observó que los valores medios de GDPV (g/animal y día) durante la primera fase de la recría fueron de 261 para los animales del tratamiento A, 161 para los del tratamiento M y 105 para los del tratamiento B, lo que supuso que el PV al final de esta fase fuera un 29% superior en los animales del tratamiento A respecto a los del M y un 26% de estos últimos respecto a los del tratamiento B.

Los valores medios de la GDPV para cada tratamiento experimental durante los 5 meses de la segunda fase de la recría, así como el valor medio para todo el periodo y el PV de los animales en el momento en que se procedió a la sincronización de la ovulación se muestran en la Tabla 18. Se observa que en esta fase no hubo diferencias significativas ($P>0,10$) ni para la GDPV ni para el PV final en función del tratamiento recibido durante el periodo de lactancia. Sin embargo, por lo que se refiere al efecto del tratamiento recibido en la primera fase de la recría, durante los tres primeros meses de esta segunda fase la GDPV de los animales de los tratamientos M y B fue superior ($P<0,05$) a la de los animales del tratamiento A. En el cuarto mes, los animales del tratamiento B crecieron diariamente un 21% más que los de los tratamientos A y M ($P<0,001$) y en el quinto mes desaparecieron las diferencias entre tratamientos ($P>0,10$). Como media de todo el periodo, los animales del tratamiento B tuvieron un ritmo de crecimiento un 8% superior a los del tratamiento M y estos últimos a su vez un 28% superior a los del tratamiento A ($P<0,001$). A pesar de esto, al final de este periodo el PV de los animales del tratamiento A seguía siendo un 9% mayor al de los animales del tratamiento M y un 19% superior al de los animales del tratamiento B ($P<0,01$), con pesos vivos finales de 70,3; 64,4 y 58,9 kg para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Tabla 17. Valores medios (para cada semana y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la primera fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Semana 1	189	191	262 ^a	219 ^a	89 ^b	61,3	0,9434	0,0170	0,5757
Semana 2	149	156	273 ^a	136 ^b	34 ^c	64,7	0,9306	0,0059	0,7204
Semana 3	159	188	285 ^a	112 ^b	124 ^b	69,8	0,4889	0,0227	0,1579
Semana 4	201	205	298 ^a	172 ^b	140 ^b	80,6	0,9329	0,0704	0,7363
Semana 5	175	187	284 ^a	150 ^b	110 ^b	53,8	0,7091	0,0092	0,2919
Semana 6	157	141	215 ^a	96 ^b	136 ^b	48,2	0,5830	0,0362	0,6296
Semana 7	228	211	264	220	175	10,5	0,7865	0,5194	0,4553
Semana 8	162	189	221	172	133	74,4	0,5615	0,3203	0,2647
Semana 9	179	163	254 ^a	208 ^a	52 ^b	73,7	0,7260	0,0189	0,5748
Semana 10	166	190	241	156	137	92,1	0,6776	0,3075	0,2779
Semana 11	166	147	224 ^a	181 ^a	65 ^b	10,7	0,7704	0,1747	0,8245
Semana 12	184	194	349 ^a	165 ^b	54 ^c	75,3	0,8128	0,0041	0,2536
Semana 13	141	157	224 ^a	108 ^b	115 ^b	61,4	0,6800	0,0659	0,4102
<i>Media</i>	174	178	261 ^a	161 ^b	105 ^c	18,1	0,7023	<0,0001	0,9301
PV final	34,1	33,3	42,2 ^a	32,8 ^b	26,1 ^c	2,26	0,5511	0,0002	0,8509

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 18. Valores medios (para cada mes y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la segunda fase de la recría.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Mes 1	174	164	114 ^b	188 ^a	204 ^a	25,6	0,5019	0,0053	0,7254
Mes 2	234	246	201 ^b	272 ^a	247 ^a	27,7	0,4963	0,0282	0,4266
Mes 3	139	137	95 ^b	140 ^a	177 ^a	28,4	0,9120	0,0183	0,8159
Mes 4	199	190	171 ^b	192 ^b	219 ^a	15,9	0,3523	0,0002	0,6628
Mes 5	124	130	129	118	135	25,6	0,6869	0,6541	0,5995
<i>Media</i>	174	173	142 ^c	182 ^b	197 ^a	9,6	0,9292	<0,0001	0,5810
PV final	65,1	64,1	70,3 ^a	64,4 ^b	58,9 ^c	2,99	0,6420	0,0094	0,8176

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Los valores medios mensuales de la GDPV durante la fase de gestación y la media de todo el periodo, así como el PV en el momento del parto se muestran en la Tabla 19. Se observa que durante el segundo y el tercer mes de gestación no existieron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0,10$), ni en función de la alimentación recibida durante el periodo de lactancia ni tampoco en función de la cantidad de concentrado aportado durante la primera fase de la recría. Sin embargo, tanto en el cuarto como en el quinto mes de gestación, la GDPV fue mayor en los animales de los tratamientos M y B, respecto a los del tratamiento A. La GDPV media durante todo el periodo mostró una interacción significativa ($P < 0,01$) entre los efectos principales, siendo, pese a todo, un 12% menor en los animales del tratamiento A respecto a la de los tratamientos M y B. El PV al final de la gestación no mostró diferencias ($P > 0,05$) ni en función de la cantidad de sustitutivo lácteo recibida durante el periodo de lactancia ni tampoco debidas al tratamiento durante la primera fase de la recría, observándose un valor medio de 83,6 kg.

En la Tabla 20 se presentan los valores medios de la GDPV durante la fase de lactación para cada uno de los tratamientos experimentales. Como puede apreciarse, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) en ningún momento de la lactación, ni en función del nivel de alimentación recibido durante el periodo de lactancia ni tampoco debidas al tratamiento durante la fase de recría. El PV en el momento del secado (Tabla 20) tampoco fue diferente entre tratamientos ($P > 0,10$), con un valor medio de 78 kg.

Los valores medios de la CC para cada tratamiento experimental durante las fases de gestación y lactación se muestran en la Tabla 21. En ninguno de los casos se observaron diferencias significativas debidas a los distintos niveles de ingestión durante la fase de lactancia ($P > 0,10$). Sin embargo, el tratamiento recibido durante la fase de recría provocó que durante la fase de gestación, tanto el valor medio de CC como los mostrados entre el inicio y el tercer mes de gestación, fueran menores para los animales del tratamiento B respecto a los otros dos ($P < 0,05$). En el cuarto y quinto mes de gestación no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,10$) entre tratamientos, observándose siempre el menor valor para los animales del tratamiento B. Durante la fase de lactación no se observaron diferencias significativas referidas al tratamiento durante la primera fase de la recría en la CC de los animales, siendo el valor medio para todo el periodo de 1,35.

Tabla 19. Valores medios (para cada mes y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la fase de gestación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Mes 2	157	156	140	193	135	63,9	0,9812	0,4169	0,5935
Mes 3	251	244	230	259	254	37,8	0,7570	0,5498	0,1287
Mes 4	251	254	226 ^b	278 ^a	255 ^a	28,4	0,8813	0,0415	0,1219
Mes 5	176	158	111 ^b	197 ^a	192 ^a	43,6	0,50538	0,0284	0,9056
<i>Media</i>	211	208	186 ^b	232 ^a	209 ^a	18,5	0,8153	0,0024	0,0094
PV final	84,6	82,5	86,0	85,2	79,5	3,75	0,3788	0,0949	0,5877

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b}Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 20. Valores medios (para cada mes y para todo el periodo) de la ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) y del peso vivo (PV) final (kg) para cada tratamiento experimental durante la fase de lactación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Mes 1	110	101	124	80	114	32,3	0,6305	0,1495	0,2076
Mes 2	138	90	96	109	137	34,7	0,0545	0,2894	0,1321
Mes 3	109	125	132	110	111	38,4	0,5177	0,6663	0,5613
<i>Media</i>	120	105	118	99	121	25,8	0,3766	0,4835	0,1913
PV final	78,7	77,2	77,6	78,8	77,5	3,51	0,4727	0,8538	0,7587

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

Tabla 21. Evolución de la condición corporal (CC) durante las fases de gestación y lactación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Gestación</u>									
Inicial	3,08	3,03	3,10 ^b	3,57 ^a	2,50 ^c	0,228	0,6899	<0,0001	0,9384
Mes 1	3,10	2,85	3,30 ^a	2,95 ^{ab}	2,68 ^b	0,232	0,1168	0,0222	0,3635
Mes 2	3,25	2,99	3,52 ^a	3,10 ^b	2,73 ^c	0,218	0,0921	0,0084	0,4755
Mes 3	3,18	3,06	3,49 ^a	3,05 ^{ab}	2,81 ^b	0,272	0,5028	0,0337	0,3593
Mes 4	2,90	2,81	2,95	3,00	2,63	0,426	0,7338	0,4575	0,5909
Mes 5	1,62	1,76	1,72	1,70	1,64	0,216	0,3198	0,8695	0,7074
<i>Media</i>	2,87	2,79	3,07 ^a	2,90 ^a	2,51 ^b	0,171	0,4355	<0,0001	0,5120
<u>Lactación</u>									
Inicial	1,31	1,37	1,26	1,42	1,34	0,122	0,4676	0,3292	0,9607
Semana 5	1,17	1,21	1,21	1,24	1,13	0,116	0,5465	0,3402	0,5514
Semana 9	1,33	1,29	1,32	1,35	1,27	0,164	0,6801	0,7980	0,9477
Semana 14	1,57	1,58	1,60	1,62	1,52	0,107	0,8737	0,3856	0,7143
<i>Media</i>	1,36	1,35	1,32	1,41	1,33	0,105	0,9297	0,4813	0,9554

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.³eed: error estándar de la diferencia.⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

3. ESTRUCTURA INTERNA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

En la Tabla 22 se muestran los valores medios del volumen total de la glándula mamaria, del parénquima y del tejido extraparenquimatoso, registrados mediante TAC, para cada tratamiento experimental, tanto a los 5 como a los 10 meses de edad.

En el volumen total de la glándula mamaria a los 5 meses de edad no se encontraron diferencias significativas ($P>0,10$) en función del nivel de alimentación recibido por las corderas durante el periodo de lactancia. Sin embargo, la cantidad de pienso suministrado desde el destete de las corderas y hasta los 5 meses de edad sí produjo diferencias significativas ($P<0,001$) en el volumen de la ubre en ese momento, con valores de 251, 142 y 73 cm³ en los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Cuando este volumen se separa por componentes se observa que la cantidad de parénquima dentro de la glándula no es diferente ($P>0,10$) entre tratamientos, ni para la lactancia ni para la recría. Sin embargo, el volumen de tejido extraparenquimatoso sí difirió entre tratamientos durante la fase de recría ($P<0,001$), siendo mayor (al igual que el volumen total de la glándula) cuanto mayor era la ingestión de pienso durante esta fase.

A los 10 meses de edad se observa que el nivel de ingestión durante el periodo de lactancia produjo diferencias significativas ($P<0,05$) en el volumen total de la glándula mamaria, siendo un 21% mayor el volumen medido en las corderas pertenecientes al tratamiento AL. Del mismo modo, también se produjeron diferencias en el volumen total de la ubre en función del tratamiento durante la primera fase de la recría, observándose que este fue mayor cuanto mayor fue la cantidad de pienso ofertada a los animales ($P<0,001$), con valores de 416, 341 y 245 cm³ para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Respecto al volumen de parénquima mamario a los 10 meses de edad, no hubo efecto del nivel de ingestión durante la lactancia pero sí durante la recría, observando un mayor volumen en las corderas del tratamiento A ($P<0,05$) respecto a las de los tratamientos M y B. El tejido extraparenquimatoso fue diferente tanto en función del tratamiento recibido durante el periodo de lactancia ($P<0,01$), como en función del recibido durante la primera fase de la recría ($P<0,001$), observándose en este último caso un menor volumen en los animales pertenecientes al tratamiento B (-38%).

Tabla 22. Valores medios del volumen (cm³) de la glándula mamaria, del parénquima y del tejido extraparenquimatoso medidos mediante tomografía axial computarizada (TAC) para cada tratamiento experimental a los 5 y 10 meses de edad.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>5 meses</u>									
Glándula mamaria	162,8	147,8	251,2 ^a	141,7 ^b	73,0 ^c	31,12	0,4133	<0,0001	0,6221
Parénquima	26,6	31,2	32,9	26,4	27,4	6,50	0,2375	0,3393	0,3388
Tej. extraparenquimatoso	136,2	116,3	218,3 ^a	115,2 ^b	45,2 ^c	29,06	0,2518	<0,0001	0,5334
<u>10 meses</u>									
Glándula mamaria	364,4	302,4	415,9 ^a	340,7 ^b	244,7 ^c	36,22	0,0133	<0,0001	0,4264
Parénquima	55,9	58,3	76,1 ^a	47,6 ^b	48,5 ^b	14,68	0,7852	0,0266	0,1061
Tej. extraparenquimatoso	308,5	244,1	339,8 ^a	293,0 ^a	196,2 ^b	32,82	0,0041	<0,0001	0,1609

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

4. ESTUDIO ECOGRÁFICO DE LA CISTERNA MAMARIA

La evolución del área cisternal de la glándula mamaria obtenida mediante ecografía para los animales de cada uno de los tratamientos experimentales, tanto en el momento previo a la cubrición de las ovejas (pregestación) como en la fase de gestación (90 y 135 días) y de lactación (8, 14 y 22 horas posordeño), se muestra en la Tabla 23.

En el momento previo a la sincronización de la ovulación (pregestación) se observa una mayor área cisternal ($P < 0,01$) en los animales pertenecientes al tratamiento A de la fase de recría respecto a los animales del tratamiento B, presentando los del tratamiento M un valor intermedio. A partir de este momento no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,10$) en el área cisternal de la glándula mamaria ni a los 90 ni a los 135 días de gestación.

Tampoco se observaron diferencias significativas ($P > 0,10$) después de 8, 14 ó 22 horas tras el ordeño de la mañana en distintos momentos del periodo de lactación, ya sea en función del tratamiento recibido durante el periodo de lactancia o durante la primera fase de la recría, observándose unos valores medios de 37,8; 43,4 y 48,3 cm² a las 8, 14 y 22 horas posordeño, respectivamente.

5. MORFOLOGÍA MAMARIA

En la Tabla 24 se muestran los valores medios del volumen, el perímetro, la profundidad y la anchura de la ubre y la altura de las cisternas en cuatro momentos del periodo de lactación. Únicamente se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en el perímetro de la ubre en el primer mes de lactación, donde el mayor valor correspondió a los animales del tratamiento A de la fase de recría (56, 51 y 52 cm en los tratamientos A, M y B, respectivamente). El resto de parámetros de la morfología mamaria no mostró diferencias significativas ($P > 0,10$) en ninguno de los momentos de la fase de la lactación en que se controlaron, ni referidas al tratamiento recibido durante el periodo de lactancia ni tampoco al recibido durante la primera fase de la recría.

Los valores medios de la anchura, la longitud y el ángulo de inserción de los pezones para cada tratamiento experimental se presentan en la Tabla 25, no observándose diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,10$) ni debidas al nivel de ingestión durante el periodo de lactancia, ni tampoco al recibido durante la primera fase de la recría.

Tabla 23. Valores medios del área cisternal (cm²) obtenidos mediante ecografía para cada tratamiento experimental en el momento previo a la cubrición de las corderas (pregestación) y durante la gestación (90 y 135 días) y la lactación (8, 14 y 22 horas posordeño).

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Pregestación</u>	0,39	0,44	0,60 ^a	0,34 ^{ab}	0,29 ^b	0,139	0,5258	0,0015	0,5320
<u>Gestación</u>									
90 días	0,50	0,57	0,68	0,54	0,39	0,130	0,3713	0,1130	0,0870
135 días	3,42	3,72	3,82	3,72	3,17	1,599	0,7104	0,7898	0,6569
<u>Lactación</u>									
8 horas posordeño	37,20	38,44	42,96	33,37	37,10	7,014	0,7761	0,2487	0,5334
14 horas posordeño	43,29	43,56	47,32	40,95	42,01	5,285	0,9344	0,3136	0,5569
22 horas posordeño	48,60	47,91	50,13	46,45	48,19	8,667	0,8973	0,8531	0,6773

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 24. Valores medios del volumen (ml), el perímetro (cm), la profundidad (cm) y la anchura (cm) de la ubre y la altura (cm) de las cisternas, en distintos momentos de la fase de lactación, para cada tratamiento experimental.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Volumen de la ubre</u>									
Mes 1	2681	2762	2957	2559	2649	501,4	0,7951	0,5631	0,4053
Mes 2	2340	2566	2860	2228	2270	407,3	0,3919	0,1544	0,2755
Mes 3	2439	2639	2990	2242	2384	507,9	0,5263	0,1818	0,8478
Mes 4	2618	2286	2524	2516	2316	394,4	0,1725	0,7086	0,6211
<u>Perímetro de la ubre</u>									
Mes 1	52,6	53,2	55,9 ^a	50,7 ^b	52,1 ^b	2,36	0,6495	0,0181	0,0239
Mes 2	47,3	49,6	49,9	46,9	48,6	2,71	0,1770	0,3467	0,5708
Mes 3	48,2	47,5	48,7	46,6	48,2	3,50	0,7555	0,7077	0,5136
Mes 4	46,7	46,3	47,2	46,2	46,1	3,65	0,5291	0,3438	0,7454

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 24. Continuación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Profundidad de la ubre</u>									
Mes 1	16,4	17,7	17,1	16,4	17,3	1,49	0,2103	0,8247	0,3020
Mes 2	16,9	18,7	18,5	16,7	18,1	1,56	0,1089	0,3458	0,3330
Mes 3	17,1	19,0	18,3	17,5	18,3	1,41	0,3222	0,6488	0,1904
Mes 4	17,6	19,1	18,5	17,7	18,7	1,44	0,5362	0,5743	0,5677
<u>Anchura de la ubre</u>									
Mes 1	16,0	16,3	16,4	15,7	16,4	0,76	0,4401	0,3026	0,0456
Mes 2	15,5	15,8	15,8	15,4	15,7	0,78	0,4827	0,8323	0,2023
Mes 3	15,8	15,8	16,0	15,4	15,7	0,71	0,5710	0,5398	0,7934
Mes 4	16,0	16,1	16,4	16,0	15,8	0,92	0,8340	0,6679	0,7715
<u>Altura de las cisternas</u>									
Mes 1	6,0	6,3	5,8	6,6	6,2	0,68	0,5350	0,3116	0,5189
Mes 2	6,5	6,6	6,7	6,4	6,5	0,70	0,9400	0,7975	0,8739
Mes 3	5,3	4,2	5,2	5,2	4,9	0,77	0,4894	0,8329	0,8126
Mes 4	5,3	5,4	5,9	5,1	5,1	0,80	0,8463	0,3314	0,9123

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

Tabla 25. Valores medios de la anchura (mm), la longitud (mm) y el ángulo (°) de inserción de los pezones, en distintos momentos de la fase de lactación, para cada tratamiento experimental.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Anchura</u>									
Mes 1	22,2	19,7	23,0	19,7	20,2	2,41	0,1318	0,2166	0,9790
Mes 2	20,6	19,1	19,9	20,1	19,7	2,26	0,3002	0,9645	0,9463
Mes 3	21,5	19,8	21,4	20,7	19,9	2,13	0,2392	0,6396	0,6887
Mes 4	21,1	21,1	21,1	21,2	21,0	1,93	0,9525	0,9918	0,8902
<u>Longitud</u>									
Mes 1	33,6	31,7	34,4	31,2	32,4	3,67	0,4046	0,5490	0,8173
Mes 2	31,6	31,2	32,2	30,2	31,9	2,87	0,8152	0,6105	0,6407
Mes 3	33,5	32,5	34,9	31,1	33,0	2,81	0,5648	0,2912	0,7378
Mes 4	32,6	33,4	34,1	31,5	33,4	2,80	0,6726	0,5009	0,8340
<u>Ángulo de inserción</u>									
Mes 1	77,1	76,9	75,7	78,8	76,5	3,33	0,9045	0,4286	0,6545
Mes 2	76,8	74,9	73,7	77,0	76,9	3,10	0,3629	0,3617	0,7333
Mes 3	77,7	75,4	75,4	77,9	76,3	2,73	0,1762	0,4908	0,7590
Mes 4	77,6	75,3	76,6	77,5	75,2	3,08	0,2545	0,6127	0,2790

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

6. PERFIL HORMONAL

Los valores medidos transformados (logaritmo neperiano) de las concentraciones séricas de GH, IGF-I, insulina y prolactina para cada tratamiento experimental en el momento del destete, a los 5 y 10 meses de edad y al inicio de la fase de lactación se muestran en la Tabla 26.

Por lo que se refiere a la concentración de GH únicamente se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) debidas al tratamiento durante el periodo de lactancia en la muestras recogidas a los 10 meses de edad. Sin embargo, y en relación al tratamiento durante la fase de recría, se observaron diferencias significativas tanto a los 10 meses ($P < 0,05$), donde los animales del tratamiento A presentaron una menor concentración de GH respecto a los animales de los tratamientos M y B (5,5; 7,2 y 6,8 ng/ml para los tratamientos A, M y B, respectivamente), como al inicio de la fase de lactación ($P < 0,01$), donde el mayor valor correspondió a los animales del tratamiento B (6,6 ng/ml) frente a los de los tratamientos A y M (4,3 y 4,2 ng/ml, respectivamente).

La concentración de IGF-I en el momento del destete fue diferente entre tratamientos ($P < 0,01$) siendo un 39% mayor la observada para los animales del tratamiento AL. El nivel de ingestión recibido durante la fase de recría, produjo diferencias en la concentración sérica de IGF-I únicamente a los 5 meses de edad ($P < 0,01$) observándose el valor más alto en los animales del tratamiento A y el más bajo en los del tratamiento B (392, 224 y 137 ng/ml en los tratamientos A, M y B, respectivamente).

Los niveles séricos de insulina no mostraron diferencias significativas ($P > 0,10$) en función del tratamiento recibido durante el periodo de lactancia en ninguna de las fases en las que fueron analizados. Respecto al efecto de la alimentación recibida durante la primera fase de la recría, se observaron diferencias significativas solamente a los 5 meses de edad ($P < 0,001$), donde los niveles más altos correspondieron a los animales del tratamiento A, observándose los más bajos en los animales del tratamiento B, con valores de 9,9; 4,8 y 2,1 μ UI/ml en los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente).

Por lo que se refiere a los niveles de prolactina, solo se encontraron diferencias significativas en el inicio de la lactación y referidas al tratamiento recibido durante la fase de recría, observándose un mayor valor en los animales del tratamiento B, respecto a los de los animales de los tratamientos A y M ($P < 0,001$). Los valores medios fueron de 224, 219 y 305 ng/ml para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Tabla 26. Valores medios transformados (logaritmo neperiano) de las concentraciones séricas de GH (ng/ml), IGF-I (ng/ml), insulina (μ UI/ml) y prolactina (ng/ml) para cada tratamiento experimental en el momento del destete, a los 5 y 10 meses de edad y al inicio de la fase de lactación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>GH</u>									
Destete	1,86	1,79	---	---	---	0,046	0,4204	---	---
5 meses	1,74	1,65	1,58	1,82	1,68	0,112	0,2791	0,0723	0,1352
10 meses	1,96	1,76	1,70 ^b	1,97 ^a	1,91 ^a	0,101	0,0231	0,0336	0,1021
Lactación	1,58	1,60	1,46 ^b	1,43 ^b	1,88 ^a	0,124	0,8425	0,0037	0,3501
<u>IGF-I</u>									
Destete	6,08	5,75	---	---	---	0,088	0,0035	---	---
5 meses	5,50	5,36	5,97 ^a	5,41 ^b	4,92 ^c	0,152	0,1712	0,0040	0,5829
10 meses	5,91	5,89	5,87	5,89	5,94	0,097	0,7202	0,6185	0,8386
Lactación	5,91	5,87	5,79	5,84	6,04	0,098	0,5595	0,0914	0,5724

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

Tabla 26. Continuación.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Insulina</u>									
Destete	0,85	0,38	---	---	---	0,408	0,3016	---	---
5 meses	1,50	1,58	2,29 ^a	1,57 ^b	0,76 ^c	0,415	0,7325	<0,0001	0,3813
10 meses	3,39	3,40	3,52	3,54	3,12	0,223	0,9445	0,0898	0,1386
Lactación	3,41	3,65	3,54	3,29	3,76	0,219	0,3322	0,3429	0,6596
<u>Prolactina</u>									
Destete	5,43	5,39	---	---	---	0,191	0,5016	---	---
5 meses	5,38	5,31	5,39	5,33	5,32	0,107	0,3185	0,6753	0,4613
10 meses	5,34	5,35	5,31	5,30	5,37	0,083	0,7927	0,4366	0,8719
Lactación	5,36	5,31	5,41 ^b	5,39 ^b	5,72 ^a	0,108	0,9153	<0,0001	0,3564

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b, c} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

7. EFICIENCIA REPRODUCTIVA

Los datos relativos a la fertilidad y prolificidad para cada uno de los tratamientos experimentales se muestran en la Tabla 27.

En lo que se refiere a la fertilidad de los animales de cada uno de los tratamientos, no se observaron diferencias ($P>0,10$) en función del tratamiento durante el periodo de lactancia, dándose en ambos casos (tratamientos AL y Rs) tasas muy próximas al 80%. Sin embargo, sí se observaron diferencias en función de la cantidad de alimento recibido durante la primera fase de la recría ($P<0,05$), presentando la tasa más alta de fertilidad los animales del tratamiento B (90%), siendo la más baja la de los animales del tratamiento M (71%) y encontrándose un valor intermedio en el tratamiento A (79%).

Por lo que se refiere a la prolificidad de cada uno de los grupos, no se observaron diferencias en el número de corderos nacidos por oveja entre los tratamientos AL y Rs de el periodo de lactancia ($P>0,10$) ni tampoco entre los tratamientos A, M y B de la fase de recría ($P>0,10$), obteniéndose un valor medio de 1,6 corderos por oveja.

8. PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

En la Tabla 28 se muestran los valores medios de producción de leche ordeño, de leche residual y la suma de ambas fracciones (leche total) correspondientes a la totalidad de la fase de lactación para cada tratamiento experimental. Ni el tratamiento recibido por los animales durante el periodo de lactancia, ni tampoco el recibido durante la fase de recría, provocó diferencias significativas ($P>0,10$) en la cantidad de leche de las diversas fracciones producida cada semana, observándose un valor medio de 1,59 y 0,76 kg/animal y día para las fracciones de ordeño y residual, respectivamente.

La producción de leche estandarizada para el contenido en energía (PLEE) de cada una de las fracciones (Tabla 28) tampoco mostró diferencias significativas ($P>0,10$) entre tratamientos, observándose un valor medio de 1,28 kg/animal y día para la leche de ordeño.

Tabla 27. Valores medios de fertilidad (%) y prolificidad (%) para cada tratamiento experimental.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
Fertilidad	80,2	79,8	79,0 ^{ab}	71,3 ^b	89,8 ^a	5,56	0,9438	0,0426	0,2599
Prolificidad	169	151	166	165	150	22,2	0,3552	0,7379	0,8457

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

^{a, b} Para la fase de recría, valores con distintos superíndices en la misma fila difieren significativamente (P<0,05).

En la Tabla 28 se muestran también los valores estimados de la producción de leche normaliza a 150 días de ordeño. Se observa que tampoco en este caso existieron diferencias significativas ($P>0,10$) referidas al tipo de tratamiento recibido por los animales durante el periodo de lactancia o la primera fase de la recría, obteniéndose una producción media de 260 kg/animal y lactación.

La persistencia de la lactación, considerada como la tasa de disminución de la producción de leche después de alcanzado el pico de producción, cuyos valores para cada uno de los tratamientos experimentales se muestran en la Tabla 28, tampoco mostró diferencias significativas ($P>0,10$) entre tratamientos, ni para la fracción de leche ordeño, ni para el total (-22,9 y -36,6 g/animal y semana, respectivamente).

Los porcentajes medios de cada componente analizado tanto en la leche ordeño como en la residual (grasa, proteína, lactosa y extracto seco) así como el recuento de células somáticas en cada una de las fracciones se muestran en la Tabla 29.

En ninguno de los casos se observaron diferencias significativas ($P>0,10$) ni en función del tratamiento recibido durante el periodo de lactancia, ni tampoco como consecuencia del tratamiento en la primera fase de la recría, observándose para la fracción de leche ordeño unos valores medios de 5,3; 5,0; 5,7 y 16,0% de grasa, proteína, lactosa y extracto seco, respectivamente para la fracción de leche ordeño.

Del mismo modo, tampoco la cantidad de alimento recibido por los animales entre el nacimiento y los 5 meses de edad produjo diferencias significativas ($P>0,10$) en los valores medios de producción de diaria de grasa, proteína, lactosa o extracto seco en las fracciones de leche ordeño y residual (Tabla 30).

Los valores medios del RCS recogidos a lo largo de la lactación fueron relativamente constantes y se encontraron, para todos los tratamientos, en valores inferiores a a 270 000 células/ml (Tabla 29).

Tabla 28. Valores medios de la producción diaria de leche (g/animal y día) y la producción diaria de leche estandarizada en energía (PLEE; g/animal y día) para la leche ordeño, residual y total, la producción de leche normalizada a 150 días (kg/animal) y la persistencia de la lactación (g/animal y semana) para cada tratamiento experimental.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Leche</u>									
Ordeño	1510	1663	1742	1425	1593	237,4	0,3250	0,2869	0,8435
Residual	745	777	743	747	793	229,3	0,8261	0,9449	0,9999
Total	2256	2439	2483	2173	2385	378,4	0,4503	0,5635	0,9254
<u>PLEE</u>									
Ordeño	1216	1340	1381	1162	1290	161,0	0,2091	0,2130	0,7263
Residual	824	861	819	823	885	219,3	0,7908	0,8962	0,9535
Total	2039	2199	2195	1987	2175	296,0	0,4126	0,6125	0,8210
<u>Leche 150 días</u>	248	272	286	236	257	34,6	0,2207	0,1435	0,7608
<u>Persistencia</u>									
Ordeño	-16,5	-29,4	-35,1	-12,8	-20,9	16,14	0,2398	0,2740	0,1045
Total	-30,4	-42,8	-43,3	-31,9	-34,6	20,31	0,3230	0,7498	0,1355

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

Tabla 29. Valores medios del contenido (%) de grasa, proteína, lactosa y extracto seco y del recuento de células somáticas (RCS; log₁₀/ml) en cada fracción de leche (ordeño y residual) para cada tratamiento experimental.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Leche ordeño</u>									
Grasa	5,32	5,25	5,19	5,34	5,32	0,338	0,7101	0,8240	0,8023
Proteína	5,00	5,01	4,95	5,07	4,98	0,152	0,9165	0,5583	0,2342
Lactosa	5,69	5,72	5,68	5,68	5,75	0,083	0,5575	0,4607	0,7519
Extracto seco	16,01	15,97	15,83	16,09	16,05	0,331	0,8381	0,5606	0,4481
RCS	5,19	5,17	5,43	5,10	5,01	0,247	0,9253	0,1418	0,5239
<u>Leche residual</u>									
Grasa	9,77	9,64	9,76	9,55	9,80	0,745	0,7851	0,8835	0,7343
Proteína	4,66	4,66	4,60	4,74	4,63	0,122	0,9903	0,2772	0,2770
Lactosa	5,49	5,53	5,49	5,50	5,55	0,903	0,4800	0,6557	0,7906
Extracto seco	19,92	19,84	19,85	19,80	19,98	0,640	0,8418	0,9157	0,5442
RCS	5,37	5,35	5,58	5,29	5,21	0,350	0,9145	0,3520	0,5024

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

Tabla 30. Valores medios de producción diaria (g/animal y día) de grasa, proteína, lactosa y extracto seco en cada fracción de leche (ordeño y residual) para cada tratamiento experimental.

	Lactancia ¹		Recría ²			eed ³	Probabilidad ⁴		
	AL	Rs	A	M	B		L	R	L×R
<u>Leche ordeño</u>									
Grasa	78,7	86,4	88,6	75,3	83,8	11,27	0,2338	0,2470	0,6161
Proteína	75,1	83,6	85,9	72,9	79,3	11,88	0,2842	0,4204	0,8192
Lactosa	86,2	95,5	99,4	81,2	91,9	14,76	0,3336	0,3272	0,8908
Extracto seco	239,6	264,9	272,9	228,9	254,9	35,96	0,2665	0,3072	0,7984
<u>Leche residual</u>									
Grasa	71,6	74,9	77,4	70,7	77,6	18,13	0,7604	0,8331	0,8701
Proteína	35,0	36,3	34,0	36,3	36,7	11,05	0,8436	0,9382	0,9962
Lactosa	41,2	42,9	41,0	41,1	44,0	13,33	0,8347	0,9353	0,9973
Extracto seco	147,8	154,2	146,5	148,0	158,4	41,60	0,8033	0,9090	0,9772

¹Tratamientos Alto Lactancia (AL) y Restringido (Rs) correspondientes al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo durante el periodo de lactancia.

²Tratamientos Alto (A), Medio (M) y Bajo (B) correspondientes al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría.

³eed: error estándar de la diferencia.

⁴Niveles de significación estadística para el efecto del nivel de alimentación durante el periodo de lactancia (L), la primera fase de la recría (R) y la interacción de ambos efectos (L×R).

VI. DISCUSIÓN

1. INGESTIÓN, PESO VIVO Y CONDICIÓN CORPORAL

Durante el **periodo de lactancia** de las corderas, las diferencias en la ingestión de sustitutivo lácteo entre los animales de los tratamientos AL y Rs estuvieron condicionadas por el diseño experimental, situándose en 1,3 y 0,9 MJ EB/kg PV^{0,75} y día para los animales de los tratamientos AL y Rs, respectivamente. La evolución de la ingestión de sustitutivo lácteo para cada uno de los tratamientos a lo largo de este periodo se muestra en la Figura 17. Los animales del tratamiento Rs no consumieron la totalidad del alimento ofertado hasta la semana 3 de esta fase, mientras que los del tratamiento AL (cuya ingestión trató de situarse en 1,5 MJ EB/kg PV^{0,75} y día) no lo hicieron durante todo el periodo, alcanzando la máxima ingestión de sustitutivo lácteo en la semana 4 de la prueba (1,4 MJ EB/kg PV^{0,75} y día), manteniéndose en valores similares hasta el final de esta fase.

La ingestión de los animales del tratamiento AL se situó en valores inferiores a los observados por Manso et al. (1998), que ofertando la misma cantidad de sustitutivo lácteo consiguió que corderos machos de raza Churra ingiriesen la totalidad del alimento ofertado, y en valores intermedios a los encontrados por Penning et al. (1977) en corderos de ambos sexos de raza Finnish × Dorset o por Sanz Sampelayo et al. (1994) en corderos machos de raza Segureña. Estas diferencias pueden deberse a varias causas, entre ellas la distinta capacidad de ingestión, ya que según Hodge (1974) la ingestión voluntaria de alimento está probablemente asociada con la capacidad de ingestión del animal y sus necesidades energéticas de mantenimiento, y estas pueden ser diferentes entre razas y entre sexos dentro de la misma raza (Mantecón, 1986).

Al igual que lo observado por otros autores (Sanz Sampelayo et al., 1994; Greenwood et al., 1998), la ingestión de MS de sustitutivo lácteo en relación al PV de los animales fue disminuyendo con la edad, pero cuando se expresa en función del peso metabólico, los cambios con la edad son mucho menores, independientemente del tratamiento. En este sentido, Hodge (1974) estableció que en corderos existe una relación lineal entre la ingestión de energía de la leche y el peso metabólico.

Otra de las causas de las diferencias observadas en la ingestión de sustitutivo lácteo respecto a otros autores puede ser que en esta prueba las corderas dispusieron de alimento sólido a partir de la segunda semana de vida. En este sentido, a partir de la cuarta semana la ingestión tanto de pienso lacteado como de heno de alfalfa comienza a hacerse

importante, aunque en todos los casos la mayor ingestión de alimento sólido correspondió a los animales del tratamiento Rs (ver Figura 17), siendo como media un 88% mayor para el pienso lacteado y un 50% superior para el heno de alfalfa respecto a los animales del tratamiento AL. Al igual que lo observado por Penning et al. (1973) y Morgan y Owen (1972a, 1972b), la ingestión total de concentrado estuvo inversamente relacionada con la cantidad de sustitutivo lácteo consumida.

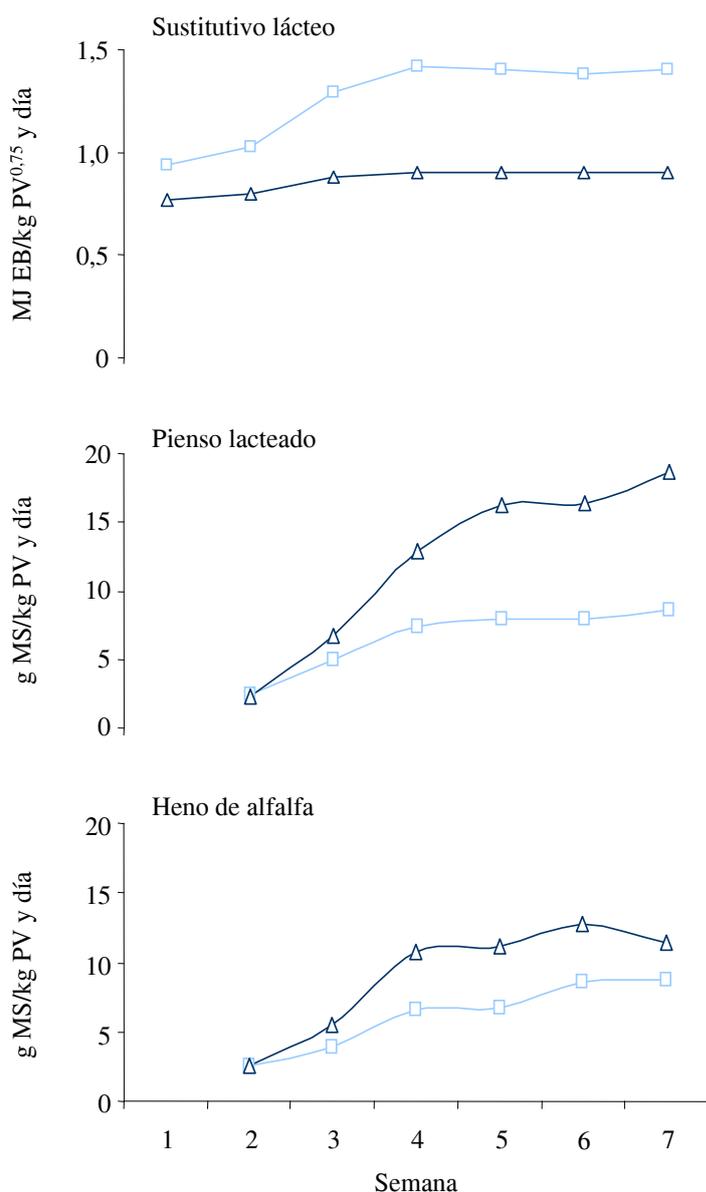


Figura 17. Evolución de la ingestión de sustitutivo lácteo (MJ EB/kg PV^{0.75} y día), pienso lacteado (g MS/kg PV y día) y heno alfalfa (g MS/kg PV y día) para los tratamientos AL (□) y Rs (Δ) durante el periodo de lactancia (eed= 0,03; 0,87 y 0,72; respectivamente).

Por otro lado, el comienzo de la ingestión de concentrado parece estar asociado con la edad de los animales, ya que Owen et al. (1969) y Penning et al. (1973) observaron que los corderos no ingerían cantidades apreciables de alimento sólido hasta los 21 días de vida. Davies y Owen (1967) mostraron que los corderos tratan de conseguir una ingestión de energía constante y solo comen alimento sólido cuando la cantidad de leche es inadecuada para cubrir sus necesidades energéticas, lo que provoca un efecto beneficioso sobre el rendimiento del animal durante el periodo posdestete (Manso et al., 1998).

Por lo que se refiere al PV de las corderas durante la fase de lactancia, desde la primera semana del experimento las diferencias fueron estadísticamente significativas entre tratamientos, siendo el PV al final de este periodo un 30% superior para las corderas del tratamiento AL (17,8 y 13,7 kg para los animales de los tratamientos AL y Rs, respectivamente).

En cuanto a la GDPV, los valores medios obtenidos para el conjunto del periodo fueron de 250 y 208 g/día para los animales de los tratamientos AL y Rs, respectivamente. Sin embargo, y al igual que lo observado por Morgan y Owen (1972b), estas diferencias entre tratamientos no se mantuvieron constantes a lo largo de todo el periodo, siendo mayores al principio del mismo, como consecuencia de la compensación en la ingestión de MS por parte de los animales del tratamiento Rs cuando dispusieron de pienso lacteado de iniciación y heno de alfalfa. En este sentido, Morgan y Owen (1972a, 1972b, 1973) señalaron que la oferta total de sustitutivo lácteo afectaba tanto al ritmo de crecimiento como a la ingestión total de alimento sólido de los corderos entre el nacimiento y los 15 kg de PV. Sin embargo, Davies y Owen (1967) observaron que los corderos alimentados ad libitum tuvieron un ritmo de crecimiento mayor hasta los 11,4 kg y una mayor ingestión de leche, mientras que aquellos alimentados de forma restringida consumieron menos leche por kg de PV ganado. Esta mayor eficiencia puede ser atribuida, por un lado, al mayor consumo de concentrado antes del destete ya que, según Morgan y Owen (1972b), la restricción en la oferta de leche reduce el crecimiento temprano de los corderos, aunque el efecto puede verse parcialmente compensado por el mayor consumo de concentrado en los corderos alimentados de forma restringida. Por otro lado, el aumento del nivel de ingestión da lugar a un incremento de las necesidades energéticas diarias para el crecimiento como consecuencia, por una parte, del mayor ritmo de crecimiento y, por otra, del mayor contenido energético de la ganancia de peso (Mantecón, 1986).

Manso et al. (1998) con animales de raza Churra a los que se ofertaban cantidades de sustitutivo lácteo que aportaban 1,5 y 0,9 MJ EB/kg PV^{0,75} y día obtuvieron crecimientos de 200 y 99 gramos diarios, respectivamente. Estas ganancias son menores a las observadas en esta prueba con corderas de raza Assaf Española debido, probablemente, al distinto sexo y genotipo de los animales. Además, las diferencias más claras entre tratamientos pueden deberse a que los animales de raza Churra no dispusieron de alimento sólido para compensar la carencia de energía que suponía el nivel más bajo de alimentación.

La GDPV observada en el presente trabajo durante el periodo de lactancia de las corderas alimentadas con el nivel alto de sustitutivo lácteo (250 g/día) se encontró en valores muy próximos a los obtenidos por otros autores en corderos de raza Assaf criados mediante lactancia tanto natural como artificial (Eyal et al., 1986; Gootwine et al., 1993; Rodríguez et al., en prensa). Por otro lado, Degen y Benjamin (2003) obtuvieron crecimientos diarios de 256 g/día en corderos de raza Awassi, mientras que en animales de raza Milchschaaf McKusick et al. (2001) observaron crecimientos de 351 g/día y Thomas et al. (1998) de 310 g diarios. Según esto podría decirse que la raza Assaf, originada a partir de sucesivos cruzamientos de las razas Milchschaaf y Awassi (Epstein, 1985), es más parecida a la segunda de ellas en lo que a ritmo de crecimiento se refiere.

En relación a las dos semanas de **transición entre el destete y la recría** de las corderas, se observa que el nivel de ingestión de pienso de los animales alimentados ad libitum se vio influenciado por el nivel de ingestión de sustitutivo lácteo recibido durante la fase de lactancia. Los valores medios de ingestión de pienso para los animales de cada tratamiento se muestran en la Figura 18. Así, se observa que dentro de los animales del tratamiento A de la primera fase de la recría, aquellos que previamente habían pertenecido al tratamiento Rs presentaron una mayor ingestión de pienso debido, probablemente, a que se encontraban más habituados al consumo de alimento sólido como consecuencia de la mayor ingestión de este alimento presentada por estos animales durante el periodo anterior y que también ha sido señalado por otros autores (Bar-Peled et al., 1997; Terré et al., 2006, 2007).

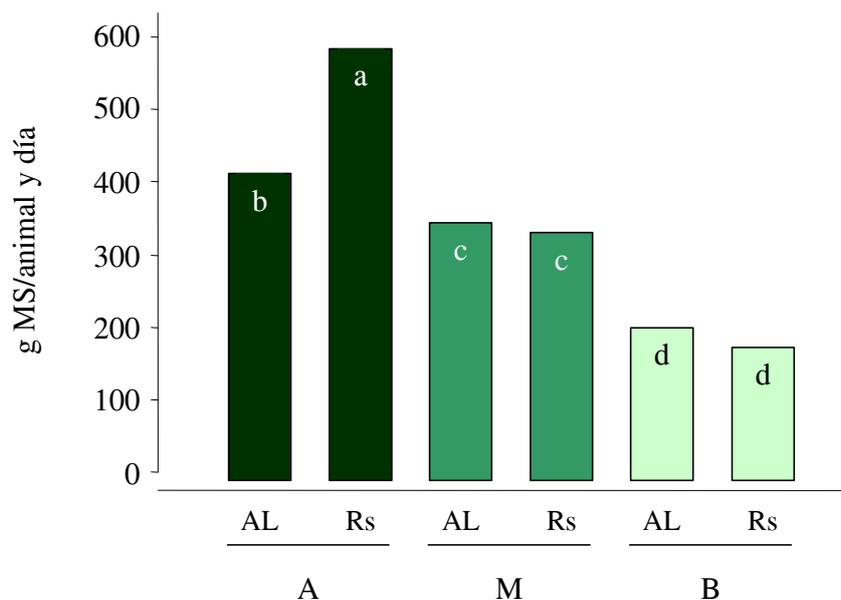


Figura 18. Cantidad de pienso consumido (g MS/animal y día) por los animales de cada tratamiento del periodo de lactancia (AL y Rs) y primera fase de la recría (A, M y B) durante la fase de transición entre la lactancia y la primera fase de la recría (eed=30,08).

^{a, b, c, d} Barras con distinta letra presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

La GDPV durante esta fase mostró diferencias significativas únicamente como consecuencia del tratamiento que los animales empezaron a recibir durante este periodo, observándose (tal y como se esperaba) una mayor GDPV cuanto mayor era la cantidad de pienso consumido por los animales (306, 201 y 127 g/animal y día para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente). El PV al final de esta fase (17,7 kg) no difirió entre los animales de los distintos tratamientos de recría, como consecuencia, probablemente, de la corta duración de la misma que, sin embargo, fue suficiente para enmascarar las diferencias observadas al final de la fase de lactancia debidas al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo.

Por otro lado, y a pesar de que normalmente los animales sufren la llamada “crisis del destete” al serles retirados de forma repentina el sustitutivo lácteo (Manso et al., 1996), este hecho no se observó en este experimento debido, posiblemente, a que en el momento de la retirada del alimento líquido los animales ya estaban habituados a la ingestión de alimento sólido (tanto pienso lacteado como heno de alfalfa).

En ninguna de las 13 semanas de duración de la **primera fase de la recría** (desde las dos semanas posdestete hasta los 5 meses de edad) se observaron diferencias significativas en la ingestión de pienso o de paja referidas al nivel de ingestión de sustitutivo lácteo

durante la fase de lactancia. Esta ausencia de diferencias en la ingestión de alimento sólido fue observada también por Terré et al. (2007) una vez superado el periodo de transición posterior al destete. Además, en el presente estudio, las grandes diferencias en la cantidad de pienso de recría ofertado durante esta fase pueden enmascarar el posible efecto de la lactancia.

Sin embargo, la ingestión de pienso de los animales de cada uno de los tratamientos de la primera fase de la recría (A, M y B) estuvo condicionada por el diseño experimental, observándose en los animales del tratamiento A (con el alimento suministrado ad libitum) una ingestión media de 38 g/kg PV y día, frente a los 22 y 13 g/kg PV y día de los animales de los tratamientos M y B, respectivamente.

Por lo que se refiere a la ingestión de paja, esta fue mínima en el caso de los animales alimentados ad libitum (78 g MS/animal y día), salvo en la primera semana, donde se encontraron valores muy similares a los observados para los animales de los otros dos tratamientos (171 g MS/animal y día). Durante esta fase, el consumo medio de paja de cebada representó el 6,5% del consumo total de materia seca. Este escaso consumo de paja observado en los animales del tratamiento A está en consonancia con lo observado previamente por otros autores en razas Talaverana, Merina y Assaf (Cañeque et al., 2003; Bodas, 2004; Fernández et al., 2005; López-Campos, 2007). En los animales de los tratamientos M y B el consumo de paja de cebada supuso el 43,6 y el 62,3% de la ingestión total de MS.

La ingestión total de alimento (g MS/animal y día) fue siempre mayor cuanto mayor era la cantidad de pienso ofertado a los animales (1194, 950, 732 g MS/animal y día para los tratamientos A, M y B, respectivamente). Sin embargo, cuando esta ingestión se expresa en función del PV de los animales (ver Figura 19) se observa que hasta la primera mitad de esta fase la ingestión de MS fue mayor cuanto mayor era la cantidad de pienso ofertada a los animales (45,8; 33,8 y 28,5 g MS/kg PV y día para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente) mientras que a partir de la semana 6 de este periodo se igualó entre tratamientos (38,8 g MS/kg PV y día). Esto puede deberse al hecho de que los animales de los tratamientos M y B, más habituados a la ingestión de paja de cebada para suplir la carencia energética que suponía la baja ingestión de pienso, desarrollaron una mayor capacidad de ingestión lo que les permitió una mayor ingesta de paja de cebada y, por tanto, similar ingestión de MS que los animales del tratamiento A.

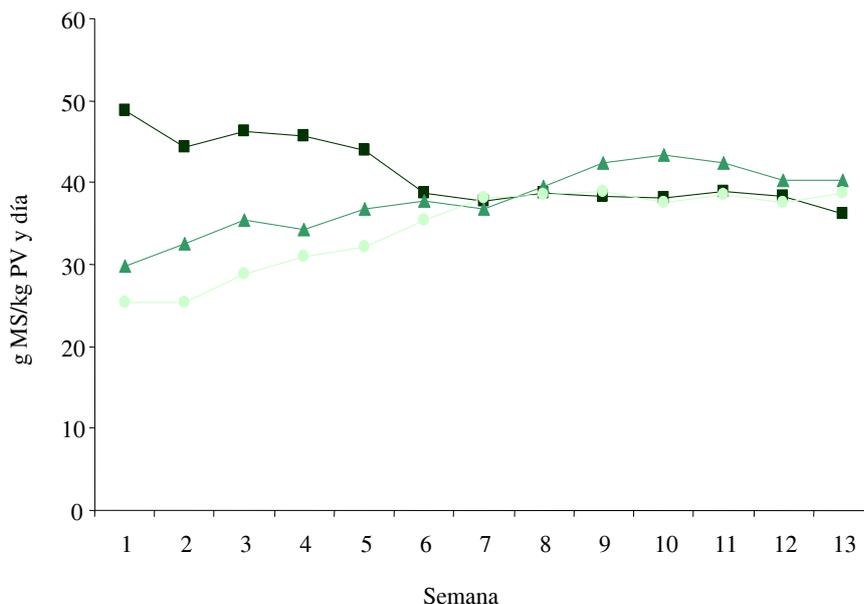


Figura 19. Evolución de la ingestión total de alimento (g MS/kg PV y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la primera fase de la recría (eed=2,12).

La GDPV en esta fase está en consonancia con la cantidad de pienso consumida por las corderas, alcanzándose en los tres tratamientos los objetivos propuestos (con GDPV superiores a los 200 y en torno a 150 y 100 g/día, para los tratamientos A, M y B, respectivamente). Así, en el periodo comprendido entre el destete y los 5 meses de edad se registraron unos valores medios de 261, 161 y 105 g/día para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente. Los valores de GDPV observados en los animales alimentados ad libitum (tratamiento A), al igual que el PV final a los 5 meses de edad (42,2 kg) son similares a los observados por otros autores con animales de la misma raza (Gootwine et al., 1993; Fernández et al., 2005).

Por lo que se refiere al PV al final de esta fase, y como consecuencia de la mayor ingestión de pienso, los animales del tratamiento A llegaron a los 5 meses de edad con un PV superior en un 29% a los del tratamiento M y en un 62% a los del tratamiento B (42,2; 32,8 y 26,1 kg, respectivamente).

Durante la **segunda fase de la recría** (entre los 5 meses de edad y el inicio de la gestación de las corderas), todos los animales recibieron la misma ración completa suministrada ad libitum. Como era de esperar, debido a la ausencia de diferencias observadas en la primera fase de la recría, en esta segunda fase tampoco hubo efecto del

nivel de ingestión de sustitutivo lácteo recibido durante la fase de lactancia en la cantidad de MS ingerida por los animales.

Por lo que se refiere al efecto del tratamiento durante la primera fase de la recría, la ingestión de alimento (g MS/kg PV y día; Figura 20) a lo largo de esta segunda fase fue inferior en los animales que habían sido alimentados ad libitum hasta los 5 meses de edad (tratamiento A). Además, durante el primer tercio de esta fase, se observaron claras diferencias en la ingestión entre los animales de los tratamientos M y B, diferencias que desaparecieron posteriormente, a pesar de que se mantuvieron entre los animales de estos dos tratamientos y los del tratamiento A. Estas diferencias en la ingestión de alimento, entre los animales previamente alimentados de forma restringida y los alimentados de forma continua, han sido también destacadas por otros autores (Ferrell et al., 1986; Iason et al., 1992; Iason y Mantecón, 1993; Barash et al., 1994; Brusa, 1998; Mahouachi y Atti, 2005), aunque diversos trabajos han señalado también la ausencia de diferencias en este sentido (Kabbali et al., 1992; Manso et al., 1998; Atti y Ben Salem, en prensa).

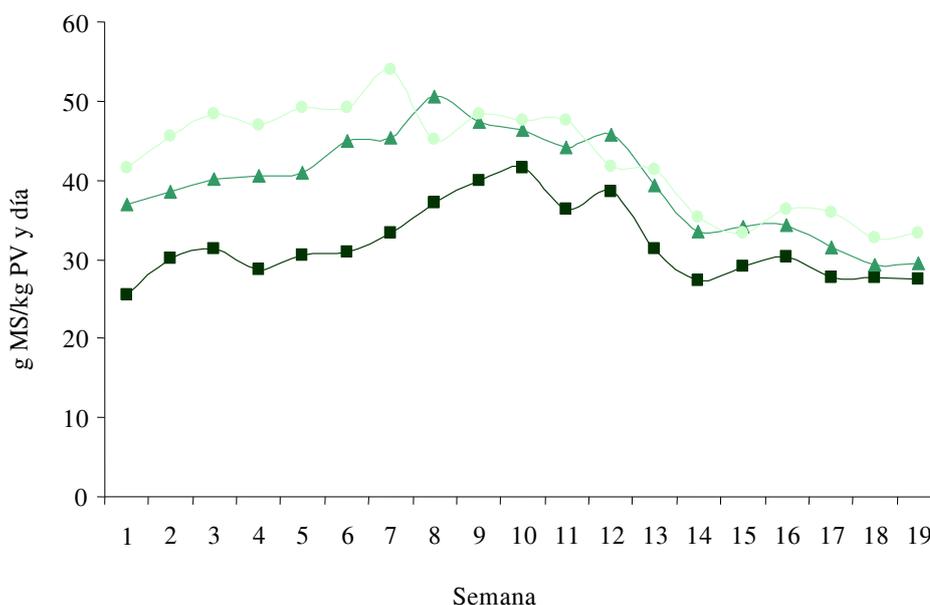


Figura 20. Evolución de la ingestión de alimento (g MS/kg PV y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la segunda fase de la recría (eed=2,63).

En la presente prueba, la mayor ingestión de alimento observada en los animales a los que se les restringió el consumo de pienso en la fase anterior puede deberse a una mayor capacidad digestiva en relación con el tamaño corporal, al igual que lo destacado por otros autores, tanto en ganado ovino (Ferrell et al., 1986; Drouillard et al., 1991; Ryan

et al., 1993a; Lawrence y Fowler, 1997) como en ganado vacuno (Park et al., 1987; Peri et al., 1993; Barash et al., 1994), debido a la elevada ingestión de paja de cebada consumida por estos animales durante la primera fase de la recría.

Por otro lado, según Epstein (1985) la GDPV de corderas Assaf en el periodo entre el destete y la cubrición debe situarse en un valor medio en torno a 160 g/día, de modo que este crecimiento permita alcanzar los 50 kg de PV (aproximadamente el 70% del PV adulto del animal) en el momento de la cubrición (en torno a los 8 - 10 meses de edad). Como se ha señalado anteriormente, este ritmo de crecimiento se consiguió en los animales del tratamiento M de la primera fase de recría, por lo que se podría decir que las corderas del tratamiento A sufrieron un periodo de sobrealimentación entre el destete y los 5 meses de edad (GDPV=261 g/animal y día), mientras que los del tratamiento B estuvieron sometidos a un periodo de restricción nutritiva que hizo que creciesen a un ritmo menor del deseado para este tipo de animales (GDPV=105 g/animal y día). Como consecuencia de este menor ritmo de crecimiento experimentado por los animales de los tratamientos M y B respecto de los del tratamiento A durante la fase anterior, al igualar la oferta de alimento para los 3 tratamientos a partir de los 5 meses de edad se produce un aumento en el ritmo de crecimiento (ver Figura 21) conocido como crecimiento compensatorio.

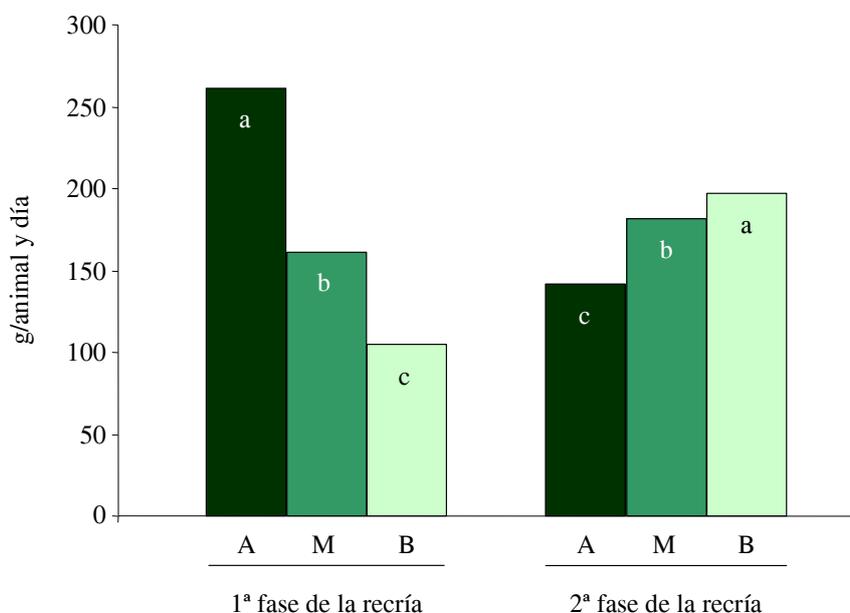


Figura 21. Ganancia diaria de peso vivo (GDPV; g/animal y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la primera (eed=18,1) y la segunda fase de la recría (eed=9,6).

^{a, b, c} Para cada fase, barras con distinta letra presentan diferencias significativas (P<0,05).

El crecimiento compensatorio se define como el aumento en el ritmo de crecimiento que experimentan los animales al pasar de una fase de restricción alimenticia a otra con un mayor nivel de alimentación (Ailden, 1970; Lawrence y Fowler, 1997; Oddy y Sainz, 2002). Este aumento en el ritmo de crecimiento viene explicado por diferentes factores, algunos dependientes del animal y otros referidos a la alimentación (Ryan, 1990; Lawrence y Fowler, 1997; Brameld, 2005). Entre los factores dependientes del animal destacarían, principalmente, su grado de madurez al inicio de la restricción alimenticia y su genotipo, mientras que entre los referidos a la alimentación habría que señalar la intensidad y duración de la restricción, la densidad energética del alimento ofertado durante el periodo de subnutrición y la cantidad de alimento ingerido por el animal durante el periodo de realimentación. Además, se ha observado que en rumiantes cuando junto con un aumento en la cantidad de alimento ofertada hay un cambio en el tipo de dieta suministrada la expresión del crecimiento compensatorio tiende a ser mayor.

Por otra parte, son diversos los mecanismos que explican este crecimiento compensatorio. El mayor ritmo de crecimiento que se observó en los corderos después de una restricción alimenticia, en comparación con el que tiene lugar cuando los animales crecen ininterrumpidamente, puede deberse a una mayor disponibilidad de energía para el crecimiento, la cual puede obtenerse por una disminución de las necesidades de mantenimiento, una mejora en la eficiencia de utilización de los nutrientes, cambios en la composición de los aumentos de peso o un aumento en la ingestión de nutrientes (Ryan et al., 1993a; Lawrence y Fowler, 1997; Brameld, 2005).

Como se ha señalado anteriormente, la mayor GDPV observada en los animales sometidos a un plano de alimentación menor que ad líbitum (tratamientos M y B) hasta los 5 meses de edad puede deberse al hecho de la mayor ingestión de alimento observada para estos animales, además de unas menores necesidades de mantenimiento debido a su menor PV, por lo que además de presentar una mayor ingestión de energía absoluta disponen también de una mayor cantidad de ella para destinar al crecimiento.

Sin embargo, si la restricción ocurre en una fase temprana del crecimiento o durante largos periodos de tiempo, los animales pueden no llegar a alcanzar el PV o la CC de los animales no restringidos (Ryan et al, 1993a; Lawrence y Fowler, 1997; Oddy y Sainz; 2002). En este caso, en ninguno de los dos periodos en que se dividió la segunda fase de la recría el PV de los animales de los tres tratamientos llegó a igualarse, siendo el PV de los

animales en el momento de la sincronización de la ovulación de 70,3; 64,4 y 58,9 kg para los tratamientos A, M y B, respectivamente. La GDPV de los animales del tratamiento B fue, durante las 12 primeras semanas, un 4,6% mayor a la de los animales del tratamiento M y un 20,5% superior a la de los pertenecientes al tratamiento A. A partir del momento del cambio de ración durante esta fase, que se produjo entre las semanas 12 y 13, y hasta el momento de la cubrición de las corderas se ralentizó el ritmo de crecimiento de los animales de todos los tratamientos. Sin embargo, el descenso en el ritmo de crecimiento no fue igual para todos los animales, observándose en los del tratamiento B una GDPV un 16,6% menor a la observada durante las semanas anteriores, mientras que para los animales del tratamiento M fue del 21,6%. La disminución del ritmo de crecimiento para los animales del tratamiento A se situó en valores intermedios a los de los otros dos grupos (18,2%).

El menor descenso en el ritmo de crecimiento observado en los animales del tratamiento B podría explicarse todavía por alguno de los mecanismos descritos para el crecimiento compensatorio, ya que estos animales siguieron ingiriendo elevadas cantidades de alimento (ver Tabla 11) pero similares a las de los animales de los tratamientos M y B. Sin embargo, y debido a su menor PV, sus necesidades de mantenimiento seguían siendo menores y por tanto disponían de mayor energía para el crecimiento. A pesar de esto, parece que la composición de la ganancia de peso tampoco fue igual entre tratamientos, ya que la CC de los animales en el momento de la sincronización de la ovulación fue diferente entre ellos ($P < 0,001$), observándose valores de 3,1; 3,6 y 2,5 para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente. De esta manera, parece que los animales del tratamiento M, aunque no llegaron a alcanzar (una vez finalizada la restricción de alimento) el PV de las corderas del tratamiento A, presentaron un mayor grado de engrasamiento. Este resultado parece contradecir la afirmación de diversos autores (Ryan et al., 1993b; Iason et al., 1992; Hegarty et al., 1999; Oddy y Sainz, 2002) de que la composición de la ganancia de peso en los animales realimentados contiene más proteína que la de los animales con un crecimiento continuo, mientras que el ritmo de deposición de grasa no varía entre ellos. Sin embargo, otros autores (Abdalla et al., 1988; Coleman et al., 1993) señalan un aumento en el acúmulo de grasa en aquellos animales cuya alimentación había sido previamente restringida, debido posiblemente a la mayor ingestión de alimento (Ryan et al., 1993b).

El caso contrario se presenta al comparar la CC de los animales del tratamiento B respecto a los otros dos. Así, parece confirmarse, como ya se ha destacado anteriormente, la gran variabilidad existente en la bibliografía sobre este hecho debido, posiblemente, a las diversas razas utilizadas en los distintos trabajos, las cuales pueden presentar diferentes patrones de madurez y, por tanto, diferencias en la composición de la ganancia de peso en función de la edad (Iason et al., 1992; Kabbali et al., 1992; Lawrence y Fowler, 1997). De todos modos, es importante destacar que la segunda fase de la recría de este experimento es un periodo largo (5 meses) y la estimación del grado de engrasamiento del animal que se hace mediante la CC se realiza únicamente al final de la misma, por lo que podrían influir en ella diversos factores y no solo el crecimiento compensatorio observado en los animales sometidos a una restricción de alimento hasta los 5 meses de edad.

Durante la **fase de gestación** la ingestión no fue diferente entre tratamientos, tal y como era de esperar (1,6 kg MS/animal y día). Esta ingestión no se vio afectada por el tratamiento al que habían estado sometidos los animales durante las fases de lactancia y recría, salvo en las dos últimas semanas de este periodo debido a que la disminución de la ingestión propia de las últimas semanas de gestación fue más acusada en los animales del tratamiento A de la fase de recría. Este descenso en la ingestión de alimento por parte de los animales en las últimas fases de la gestación se debe, principalmente, al hecho de la menor capacidad de ingestión en estos momentos debido al crecimiento del feto, que ocupa gran parte del abdomen del animal y reduce así el espacio disponible para el rumen, y que ha sido también señalado por otros autores (Charismiadou et al., 2000; Molina et al., 2001).

Al igual que sucedía en la fase anterior, al expresar la ingestión de alimento en función del PV de los animales (g MS/kg PV y día; ver Figura 22) se observa que durante todo el periodo de gestación la ingestión por unidad de PV fue menor ($P < 0,05$) en los animales del tratamiento A de la fase de recría (19,2 g MS/kg PV y día) y mayor para los pertenecientes al tratamiento B (23,2 g MS/kg PV y día), mostrando el tratamiento M un comportamiento intermedio entre los otros dos (21,5 g MS/kg PV y día). A partir de la semana 7 de esta fase, que coincide aproximadamente con el inicio del último tercio de la gestación, la ingestión de MS comienza a descender progresivamente en todos los tratamientos.

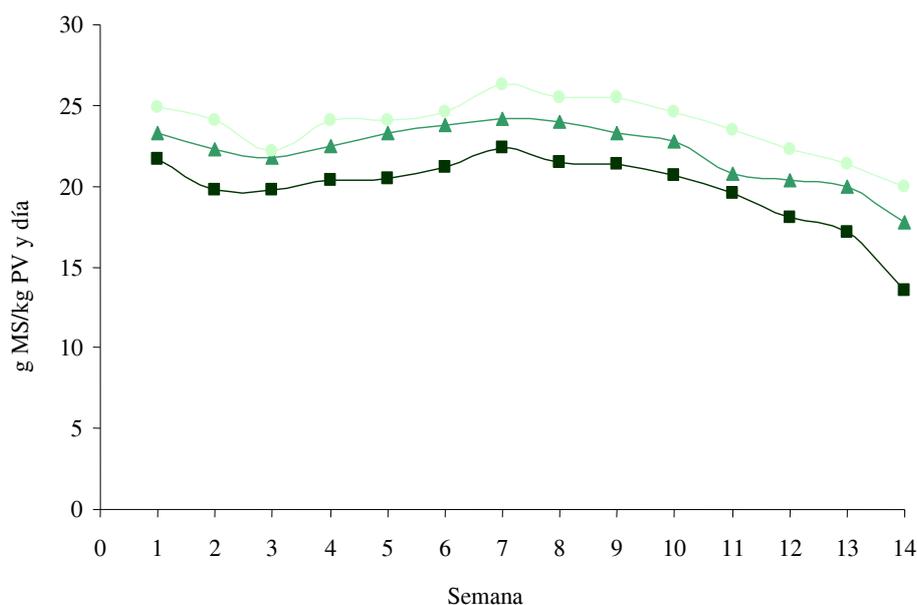


Figura 22. Evolución de la ingestión de alimento (g MS/kg PV y día) para los tratamientos A (■), M (▲) y B (●) durante la fase de gestación (eed=1,43).

El PV de los animales siguió siendo, durante toda la fase de gestación, mayor cuanto mayor había sido su ingestión durante la primera fase de la recría. Sin embargo, en el momento final de esta fase las diferencias de PV observadas entre los animales de los diversos tratamientos no fueron significativas (83,5 kg), aunque el PV de los animales del tratamiento B era todavía un 7% menor al de los otros dos tratamientos.

Durante esta fase, los animales aumentaron su peso respecto a la fase anterior un 22, un 32 y un 35%, para los tratamientos A, M y B, respectivamente. Este aumento de peso podría deberse, principalmente, al crecimiento fetal y placentario (sobre todo en el último tercio de la gestación) y en menor medida al crecimiento de las madres. Sin embargo, no se observaron diferencias entre tratamientos en el PV total de los corderos nacidos por oveja (6,5 kg/oveja), por lo que se podría pensar que durante esta fase las diferencias observadas en los incrementos de PV se deberían a un crecimiento mayor de las corderas de los tratamientos M y B. De hecho, en el momento de la cubrición los animales del tratamiento A ya habían alcanzado el PV adulto del estándar de su raza (70 kg; Martínez et al., 1999).

Hasta el tercer mes de gestación la CC corporal de los animales fue superior para aquellos que pertenecían al tratamiento A de la fase de recría e inferior para los del tratamiento B, situándose los pertenecientes al tratamiento M en un valor intermedio. En el cuarto mes de gestación, y probablemente como consecuencia de la disminución en la

ingestión, sobre todo de los animales del tratamiento A, se produce una caída en la CC de estos, debido, posiblemente a la movilización de las reservas corporales necesarias para el crecimiento de las estructuras fetales que en esa fase de la gestación comienzan ya a ser importantes (Jimeno et al., 2001; Nørgaard et al., 2008). En el momento del parto, y debido probablemente a las causas citadas anteriormente, se produce una caída brusca en la CC de los animales de todos los tratamientos, similar a la observada por otros autores (Muñoz et al., 2008).

Durante la **fase de lactación** la ingestión diaria de MS de la ración completa no mostró diferencias entre tratamientos (2,34 kg/animal), ni referidas al efecto de la alimentación durante la fase de lactancia, ni tampoco al nivel de ingestión de pienso durante la primera fase de la recría. Los valores observados son inferiores a los encontrados por otros autores para ovejas adultas de raza Assaf Española (Ramella et al., 2001; Bodas, 2004; López-Campos, 2007), que consumían el pienso y el heno de alfalfa separadamente y no en una ración completa, pero similares a los observados por Gómez-Cortés et al. (2008) con una ración de similares características.

La fase de lactación propiamente dicha se inició una vez destetados los corderos (en torno a las 5 semanas posparto), por lo que cabría esperar que tanto el pico en la producción de leche como la fase de balance energético negativo de los animales hubiesen ya pasado (Bencini y Pulina, 1997; Cannas, 2002; Cappio-Borlino et al., 2002; Cardellino y Benson, 2002). De esta manera, el PV de los animales aumentó progresivamente del inicio al final de la fase de lactación y lo hizo de manera similar en los animales de los tres tratamientos de la fase de recría. El PV medio al final de la fase de lactación fue de 78 kg, por lo que los animales recuperaron durante este periodo un 13% de su PV.

Pese a este aumento en el PV de los animales, la CC se situó por encima de 1,5 únicamente al final de esta fase, observándose, sin embargo, una diferencia de casi 0,3 puntos entre los dos últimos meses de esta fase. La escasa recuperación observada en la presente prueba en la CC de los animales puede deberse al hecho de que la producción de leche, aunque fue descendiendo a lo largo de la prueba, se situó siempre en valores elevados (1,6 kg/día), no permitiendo por tanto a los animales recuperar CC.

2. CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE LA GLÁNDULA MAMARIA

2.1. Estructura y morfología mamaria

Como se ha señalado anteriormente, el desarrollo del tejido mamario es un aspecto muy importante en la producción de leche de los animales debido a que la cantidad producida de esta depende tanto del número de células secretoras presentes en la glándula como de la actividad de cada una de ellas durante la fase de lactación (Tucker, 1969; Knight, 1984; Boutinaud et al., 2004).

En este desarrollo mamario, la alimentación juega un papel importante. Diversos experimentos (Harrison et al., 1983; Buskirk et al., 1996; Radcliff et al., 2000; Silva et al., 2002b; Meyer et al., 2006a, 2006b) han puesto de manifiesto que en rumiantes los altos niveles de ingestión de energía que tienen como consecuencia elevados ritmos de crecimiento en las hembras de reposición, sobre todo antes de la pubertad, pueden limitar el desarrollo de la glándula mamaria y, por tanto, reducir la capacidad de producción de leche de los animales. Esto es debido a que durante esta fase prepuberal el tejido parenquimatoso sufre un crecimiento alométrico y es, por tanto, más sensible a los efectos de la alimentación (Johnsson y Hart, 1985; Carstens et al., 1997; Sejrsen y Purup, 1997; Tolman y McKusick, 2001; Brown et al., 2005; Meyer et al., 2006a, 2006b). Esta mayor sensibilidad se debe, por una parte, a que la duración de la fase alométrica del desarrollo y, por tanto, el ritmo de crecimiento del tejido lobuloalveolar están fuertemente influenciados por el nivel de alimentación (Pulina y Nudda, 2002) y, por otra, a que una elevada ganancia de peso durante los primeros meses de vida puede provocar un excesivo engrasamiento de la glándula (Johnsson y Hart, 1985) que suponga una limitación para el desarrollo del parénquima mamario (Tolman y McKusick, 2001).

La utilización de técnicas no invasivas como la **TAC** facilita el estudio del desarrollo mamario mediante la toma de imágenes de la glándula mamaria en distintas fases de su evolución y permite cuantificar la composición del tejido mamario debido a su buena capacidad para diferenciar el tejido parenquimatoso del extraparenquimatoso (Sørensen et al., 1987; Carstens et al., 1997; Petitclerc y Farmer, 2003).

Así, en este trabajo, el estudio de la glándula mamaria mediante TAC permitió observar que a los 5 meses de edad, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, las corderas que habían recibido una mayor cantidad de sustitutivo lácteo

durante la fase de lactancia presentaban un mayor volumen tanto de glándula mamaria total como de tejido extraparenquimatoso. El porcentaje de tejido parenquimatoso en la glándula no difirió significativamente entre tratamientos siendo, sin embargo, un 16% en el caso de los animales del tratamiento AL y un 21% en el caso de los animales del tratamiento Rs. Esta ausencia de diferencias significativas, que en el caso del presente trabajo podría deberse al escaso número de animales en los que se realizó el estudio mediante TAC dentro de cada uno de los tratamientos, está en consonancia con lo mostrado previamente por Sejrsen et al. (1998), que señalaron que el crecimiento mamario hasta la pubertad no se ve afectado por el nivel de alimentación durante la fase de lactancia. Sin embargo, Brown et al. (2005) observaron que las terneras que habían tenido una mayor ganancia diaria de peso hasta las 8 semanas de edad presentaban 3 veces más cantidad de parénquima que el resto. Estos mismos autores destacaron que a las 14 semanas de edad, independientemente del tratamiento al que fueron sometidos los animales entre las 8 y las 14 semanas, las diferencias entre tratamientos seguían manteniéndose aunque eran de menor magnitud.

La razón por la cual la ingestión de una dieta con un alto contenido energético pudiera estimular la mamogénesis durante el lactancia, pero posteriormente no tener efecto o incluso empeorar la mamogénesis, puede ser la corta duración de esta fase previa al destete (Davis Rincker et al., 2008). Además, según estos mismos autores, quizás los beneficios de una alta ingestión de energía durante la fase de lactancia sobre el crecimiento mamario podrían no ser resultado de la dieta en sí misma sino del tipo de crecimiento (rápido o lento) en momentos específicos de la curva de crecimiento.

A pesar de esto, y al igual que lo señalado previamente por distintos autores tanto en ganado vacuno (Sejrsen et al., 1982; Capuco et al., 1995; Carstens et al., 1997; Lammers et al., 1999; Davis Rincker et al., 2008) como en ganado ovino (McFadden et al., 1990a; Zidi et al., 2007a), la alimentación durante la primera fase de la recria sí mostró diferencias estadísticamente significativas en el volumen total de la glándula mamaria en la etapa prepuberal, siendo mayor cuanto mayor había sido el ritmo de crecimiento durante esa fase. Al expresar el volumen mamario en ese momento en función del PV de los animales, las diferencias entre tratamientos se mantienen, aunque son de menor magnitud, al igual que lo observado por Brown et al. (2005), con valores de 5,97; 4,08 y 2,81 cm³/kg PV para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente.

Respecto al volumen de parénquima mamario a los 5 meses de edad, el efecto de la alimentación no produjo un efecto significativo, aunque la diferencia numérica existente está a favor de los animales alimentados ad libitum hasta esa edad, al igual que lo señalado previamente por otros autores (Johnsson y Hart, 1985, Johnsson et al., 1986; McFaden et al., 1990a; Zidi et al., 2007a). Esta observación parece contradecir la teoría general de que un nivel alto de nutrición en el periodo prepuberal limita el desarrollo mamario (Sejrsen et al., 1982; Sejrsen y Purup, 1997; Tolman y McKusick, 2001). Sin embargo, cuando se expresa el volumen de parénquima mamario en función del PV de los animales se obtienen valores de 0,79; 0,77 y 1,08 cm³/kg PV para los tratamientos A, M y B, respectivamente. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, al contrario de lo destacado por Johnsson y Hart (1985) en ganado ovino y Davis Rincker et al. (2008) en ganado vacuno, debido, probablemente, al bajo número de animales en estudio para cada tratamiento, aunque se observa una mayor cantidad relativa de parénquima en los animales con una menor GDPV entre el destete y los 5 meses de edad. En el trabajo de Zidi et al. (2007a) los valores relativos de tejido mamario, tanto en ovejas de raza Manchega como en ovejas de raza Lacaune a las 16 semanas de edad, son superiores a los obtenidos en este caso para los tratamientos A y M, que son los que tuvieron GDPV similares a las suyas, pero las diferencias, como en el presente trabajo, son de escasa magnitud. Las diferencias entre trabajos en este sentido pueden deberse, por una parte, a la raza animal, ya que en ganado vacuno se ha observado que existe un nivel crítico máximo de GDPV para un óptimo desarrollo mamario en función del potencial genético del animal (Sejrsen y Purup, 1997; Sejrsen et al., 2000) y, por otra, al diferente estado de desarrollo de las corderas de ambos trabajos, ya que hay más de un mes de diferencia en la edad de las mismas en el momento del estudio, lo que puede provocar diferencias tanto en el desarrollo del animal como en el de la glándula mamaria. En este sentido, diversos estudios (p. ej., Johnsson y Hart, 1985; Tolman y McKusick, 2001) han destacado que en el ganado ovino la fase alométrica del crecimiento finaliza en torno a las 20 semanas de edad. Sin embargo, en los últimos años se ha señalado que parte de la variación individual en la cantidad de ADN del parénquima mamario obedece al tipo de crecimiento y grado de engrasamiento del animal (Silva et al., 2002b; Meyer et al., 2006a), y eso depende tanto de la edad como del genotipo del mismo (VandeHaar et al., 2001), por lo que parece que, tal y como sugirieron Meyer et al. (2006a, 2006b), la edad de muestreo pueden ser un factor determinante a la hora de comparar el desarrollo mamario en el periodo prepuberal en rumiantes. Además, Davis Rincker et al.

(2008) sugirieron que los efectos de la dieta sobre el engrasamiento corporal en las primeras fases del crecimiento pueden ser importantes en la diferente respuesta mostrada en el desarrollo mamario a la alta ingestión de energía en función de la edad.

A pesar de todo, el porcentaje de parénquima dentro de la glándula mamaria a los 5 meses de edad sí fue diferente entre tratamientos, observándose un mayor valor en los animales del tratamiento B respecto a los obtenidos para los otros dos (13; 19 y 38% para los tratamientos A, M y B, respectivamente; $P < 0,001$) lo que indicaría un menor engrasamiento de la glándula de estos animales, similar a lo destacado por varios autores en ganado ovino (Johnsson y Hart, 1985; Johnsson et al., 1986; McFadden et al., 1990a).

Por lo que se refiere al tejido extraparenquimatoso, y tal y como se observó en el volumen total de la glándula mamaria, este fue mayor cuanto mayor era el PV de los animales a los 5 meses de edad, al igual que lo señalado previamente tanto en ganado vacuno (Sejrsen et al., 1982; Stelwagen y Grieve, 1990; Carstens et al., 1997; Petitclerc et al., 1999; Brown et al., 2005) como en ganado ovino (Johnsson y Hart, 1985; McCann et al., 1989; McFadden et al., 1990b; Zidi et al., 2007a, 2007b). En este sentido cabe decir, como ya ha sido destacado con anterioridad, que el nivel de ingestión de nutrientes durante el periodo de desarrollo mamario prepuberal tiene una influencia directa sobre la cantidad de tejido mamario extraparenquimatoso (Sejrsen et al., 1982; Capuco et al., 1995; Radcliff et al., 1997; Meyer et al., 2006a, 2006b; Davis Rincker et al., 2008).

En el estudio de la composición de la glándula mamaria realizado a los 10 meses de edad de las corderas (previo a la sincronización de la ovulación) se observa que el volumen total de la glándula mamaria, al igual que se había observado a los 5 meses de edad, era mayor cuanto mayor fue la GDPV de los animales tanto en la fase de lactancia como en la fase de recría. En este sentido, Carstens et al. (1997) y Yambayamba y Price (1997) también observaron un menor volumen mamario en terneras sometidas a crecimiento compensatorio entre la pubertad y el inicio de la gestación. Niezen et al. (1996) señalaron, de la misma manera, que el crecimiento compensatorio observado en terneras previamente sometidas a restricción alimenticia no conseguía que estas tuvieran un volumen mamario similar a las alimentadas sin periodos de restricción, aunque en este trabajo ambos periodos de crecimiento tuvieron lugar antes de que los animales alcanzasen la pubertad.

Por otro lado, cuando se expresa el volumen mamario en relación al PV de los animales desaparecen las diferencias debidas a los efectos tanto de la lactancia como de la

recría. Esto sugiere que las diferencias observadas podrían deberse únicamente al distinto tamaño de los animales a los 10 meses de edad ya que, pese al crecimiento compensatorio mostrado por los animales de los tratamientos M y B durante la segunda fase de la recría, el PV de los animales a esta edad continuó siendo diferente entre tratamientos.

En el caso del parénquima mamario sucede algo similar. El volumen absoluto de este tejido fue un 58% superior en los animales del tratamiento A respecto al observado en los animales de los tratamientos M y B, al igual que lo encontrado previamente por Johnsson y Hart (1985), Van Amburgh et al. (1998) y Zidi et al (2007a), y que podría estar relacionado, según estos autores, con el mayor PV de los animales. Además, Sejrsen y Foldager (1992) señalaron que tanto el peso de la glándula mamaria como la cantidad de tejido parenquimatoso aumentan a medida que lo hace el PV. De esta manera, al expresar el volumen del tejido parenquimatoso en función del PV de los animales de cada tratamiento a los 10 meses de edad las diferencias ya no resultan estadísticamente significativas, aunque continúa siendo mayor el volumen de parénquima en los animales del tratamiento A (1,21; 0,79 y 0,95 cm³/kg PV para los animales de los tratamientos A, M y B, respectivamente). En este sentido, Sejrsen y Foldager (1992) señalaron también que la cantidad relativa de tejido parenquimatoso tiende a incrementar cuando lo hace el PV. Sin embargo, Zidi et al. (2007a) en animales de raza Manchega, pese a no observar tampoco diferencias significativas a las 36 semanas de edad, señalaron que el volumen de parénquima mamario (tanto absoluto como referido al PV del animal) era mayor en el caso de las corderas con crecimiento moderado hasta las 16 semanas de edad y compensatorio posterior. Del mismo modo, Carstens et al. (1997) y Carson et al. (2004) en ganado vacuno observaron una tendencia a presentar un mayor volumen de tejido parenquimatoso en las terneras sometidas a ritmos de crecimiento variables. Sin embargo, Sejrsen et al. (1982) señalaron que no hay crecimiento consistente del tejido secretor mamario después del segundo ciclo estral y diversos trabajos, tanto en ganado vacuno como en ganado ovino (Sejrsen et al., 1982; Harrison et al., 1983; Johnsson y Obst, 1984; Johnsson y Hart, 1985; Umberger et al., 1985; Sejrsen y Foldager, 1992; Lacasse et al., 1993; Abeni et al., 2000), no han observado correlación entre el ritmo de crecimiento y la masa de tejido secretor en el periodo pospuberal, por lo que parece que no existe un efecto perjudicial claro de la elevada ingestión de energía durante esta fase (Sejrsen et al., 1982; Harrison et al., 1983).

Por lo que se refiere al volumen de tejido extraparenquimatoso, tanto en valor absoluto como referido al PV del animal, este fue menor en los animales del tratamiento B de la fase de recría, al igual que lo señalado por Johnsson y Hart (1985), Cartens et al. (1997) y Zidi et al. (2007a). Sin embargo, al contrario de lo observado en el presente trabajo en los animales de los tratamientos M y B (que tuvieron mayores ritmos de crecimiento durante la segunda fase de la recría), Sejrsen et al. (1982) señalaron que en ganado vacuno el alto nivel de ingestión entre los 300 y los 450 kg tendió a incrementar la cantidad de tejido adiposo en la glándula. Estas diferencias podrían deberse, entre otras cosas, al genotipo del animal ya que el grado de engrasamiento para cada edad depende, junto con otros factores, de la precocidad de la raza y esto también puede provocar diferencias en el desarrollo del tejido mamario (Silva et al., 2002b; Meyer et al., 2006a, 2006b).

Por otro lado, y al igual que lo destacado por Zidi et al. (2007a) a las 36 semanas de edad, el porcentaje de tejido extraparenquimatoso dentro de la glándula mamaria no mostró diferencias entre tratamientos. Dado que sí existían diferencias a los 5 meses de edad, cabría suponer que dicho tejido se desarrolló proporcionalmente más entre los 5 y los 10 meses de edad en los animales del tratamiento B que en los pertenecientes a los otros dos. Sin embargo, Carstens et al. (1997) observaron una pequeña disminución en el porcentaje de tejido extraparenquimatoso en animales con ritmos de crecimiento variables en las distintas fases y Sejrsen y Foldager (1992) señalaron que la cantidad relativa de este tejido tendió a descender a medida que aumentaba el PV de los animales.

Entre los 5 y los 10 meses de edad, tanto el volumen total de la glándula mamaria como el de tejido extraparenquimatoso creció a un ritmo mayor cuanto menor había sido la ingestión de pienso hasta los 5 meses de edad, lo que puede estar relacionado con el mayor ritmo de crecimiento corporal observado en los animales que previamente habían estado sometidos a una restricción del crecimiento y que también fue señalado por Johnsson y Hart (1985). El tejido parenquimatoso, sin embargo, se desarrolló a un ritmo superior en los animales del tratamiento A (+43 cm³) respecto a los otros dos (+21 cm³), lo que parece estar en contra de la idea generalizada de que un excesivo engrasamiento de la glándula en el periodo prepuberal impide el posterior desarrollo del tejido secretor (Sejrsen et al., 1982; Johnsson y Hart, 1985; Tolman y McKusic, 2001). De hecho, el porcentaje de tejido parenquimatoso dentro de la glándula aumentó ligeramente en el caso de los animales del

tratamiento A, mientras que disminuyó, también ligeramente, en el caso de los pertenecientes al tratamiento M, y de forma clara en los del tratamiento B.

Otra técnica valiosa para estudiar el desarrollo de la glándula mamaria puede ser la **ecografía** debido a que, como la TAC, se trata de una técnica no invasiva, pero que presenta la ventaja añadida de ser un método rápido, preciso y económico, y además, sin efectos perjudiciales para el animal (Caja et al., 1999). La utilidad de la ecografía en el estudio del desarrollo y funcionalidad de la glándula mamaria consiste en la valoración de los cambios en el volumen de la cisterna mamaria, gracias a la posibilidad de diferenciar las estructuras de la glándula que contienen líquidos (cisternas), de las partes sólidas (parénquima y estroma) debido a los distintos tonos de grises que provoca su diferente ecoicidad (Bruckmaier y Blum, 1992; Ruberte et al., 1994a; Pulina et al., 1996; Caja et al., 1999; González de Bulnes et al., 1999; Nudda et al., 2000; Ayadi et al., 2003).

Por lo que se refiere al presente trabajo, las ecografías de la cisterna mamaria realizadas en los días previos a la sincronización de la ovulación de los animales muestran que, aunque el área cisternal fue muy baja en todos los casos, los animales pertenecientes al tratamiento A de la fase de recría presentaron un área cisternal mayor respecto a los del tratamiento B, observándose en los del tratamiento M un valor intermedio. Debido a que la cavidad cisternal es la que permite el acúmulo de la leche secretada por el animal durante el intervalo entre dos ordeños (Labussière, 1988), se puede decir que la baja superficie presentada por esta estructura en el momento previo a la gestación se debe al hecho de la ausencia de secreción láctea en ese momento. Sin embargo, el mayor valor observado para los animales del tratamiento A podría explicarse, en parte, por el mayor volumen total de glándula mamaria observado en estos animales en el estudio mediante TAC, señalado anteriormente.

Por lo que se refiere al estudio ecográfico de la cisterna mamaria durante el periodo de gestación, a los 90 días el área de la cisterna no presentó diferencias entre tratamientos y, al igual que lo observado por Rattray et al. (1974) a los 70 días de gestación, los valores eran muy próximos a los observados en el periodo previo a la gestación. Además, estos autores tampoco observaron diferencias significativas en el peso de la glándula mamaria de los animales en el momento previo a la gestación y a los 70 días poscubrición. A los 135 días de gestación, las diferencias entre tratamientos tampoco fueron significativas, pero se observó que en ese momento, ya próximo al parto de las ovejas, el área cisternal había

aumentado considerablemente (con valores medios de 0,54 a 3,57 cm² a los 90 y 135 días de gestación, respectivamente), seguramente debido a la acumulación de líquidos en la glándula mamaria propia de los últimos estadios de la gestación (Rattray et al., 1974; Knight y Peaker, 1982; Mellor y Murray, 1985; Mellor et al., 1987).

Durante la fase de lactación, en la que las ecografías mamarias se realizaron a tres intervalos posordeño (8, 14 y 22 horas), no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, de la misma manera que tampoco hubo diferencias en la producción de leche de los animales a lo largo de todo el periodo de lactación.

Como era de esperar, se observa que para todos los tratamientos el área cisternal se incrementa a medida que aumenta el intervalo entre ordeños, lo que es bastante lógico si se tiene en cuenta que la cavidad cisternal es la que permite la acumulación de la leche secretada durante el intervalo entre dos ordeños (Labussière, 1988).

El área observada en el presente experimento a las 8 horas posordeño (37,8 cm²) se encuentra por encima de los valores observados por Bruckmaier et al. (1997), Fancellu (2002) y Rovai et al. (2002) en ovejas de distintas razas. Estas diferencias pueden deberse, por una lado, a la raza animal, ya que esta influye significativamente en el área de la cisterna (Rovai et al., 2002) y, por otro, a la mayor producción de leche observada en los animales de la presente prueba, que estaría relacionada con el punto anterior, ya que diversos autores (Caja et al., 1999; Nudda et al., 2000; Rovai et al., 2002; Ramella et al., 2003) han señalado una correlación positiva entre el área cisternal y la producción de leche.

Por otro lado, el tamaño de las cisternas varía mucho en función del tiempo transcurrido desde el último ordeño (Caja et al., 1999). En relación con esto, Ramella et al. (2003) realizaron un estudio de valoración del área cisternal de ovejas de raza Assaf Española a distintos intervalos de ordeño y señaló que para intervalos entre ordeños superiores a 16 horas parecen existir limitaciones físicas para la producción de leche, ya que a partir de ese momento el área de la cisterna medida mediante ultrasonografía no aumentó. En el presente trabajo se observó una correlación positiva entre la producción de leche y el área de la cisterna mamaria tanto a las 8 ($r = 0,71$; $P < 0,001$) como a las 14 ($r = 0,74$; $P < 0,001$) y 22 ($r = 0,75$; $P < 0,001$) horas posordeño, aunque en ambos casos se encontraron en valores inferiores a los indicados por otros autores, tanto en ganado ovino como en ganado vacuno. Así, Ayadi et al. (2003), en vacas lecheras, encontraron una

correlación alta y significativa entre el área cisternal y la leche almacenada en la cisterna en todos los intervalos de ordeño, aunque los más altos correspondieron a los intervalos de 8 y 12 horas ($r = 0,84$ y $0,88$, respectivamente). Por otra parte, en ganado ovino distintos autores también encontraron una correlación positiva entre estos dos parámetros en diferentes razas, como Caja et al. (1999) en ovejas de raza Ripollesa ($r = 0,90$), Nudda et al. (2000) en ovejas de raza Sarda ($r = 0,82$) y Rovai (2001) en ovejas de raza Manchega ($r = 0,44$) y Lacaune ($r = 0,68$).

Todos estos resultados, por tanto, parecen demostrar la validez del método ecográfico para analizar la capacidad de almacenamiento de la cisterna mamaria en ganado ovino.

Por lo que se refiere a la **morfología externa de la glándula mamaria**, la única diferencia significativa entre tratamientos se observó en el perímetro de la glándula mamaria en el momento del destete de los corderos (Mes 1; Tabla 24), correspondiendo el mayor valor a los animales del tratamiento A, respecto a los de los tratamientos M y B. Sin embargo, en ese momento, no se encontraron diferencias en la cantidad de leche producida por los animales. Pese a todo, en la primera semana de la fase de lactación los animales de dicho tratamiento produjeron, numéricamente, más cantidad de leche que los animales de los otros dos tratamientos (2,0 vs. 1,7 kg/animal y día, $P < 0,12$) lo que en parte podría explicar el mayor perímetro observado en los animales del tratamiento A. De hecho, son varios los autores que han descrito una correlación positiva entre el perímetro de la ubre y la producción de leche (McKusick et al., 1999; Ramella et al., 2003; Emediato et al., 2008). Así, en el presente experimento también se ha observado una correlación positiva ($P < 0,001$) entre estos dos parámetros siendo, para la media de toda la fase de lactación, más alta para la leche total ($r = 0,74$) que para la leche ordeño ($r = 0,65$). Esto podría explicarse por el hecho de que el perímetro de la ubre también puede estar relacionado con la cantidad de leche residual del animal, es decir, la leche almacenada en los alvéolos.

Por otra parte, cabe señalar que también el volumen, la anchura y la profundidad de la ubre estuvieron altamente correlacionadas ($P < 0,001$) tanto con la producción de leche ordeño ($r = 0,75$; $0,71$ y $0,71$; respectivamente) como con la cantidad de leche total producida ($r = 0,82$; $0,78$ y $0,78$; respectivamente). Correlaciones similares entre estos parámetros han sido observadas por otros autores en ganado ovino de producción de leche (Fernández et al., 1997 en ovejas de raza Churra; Rovai, 2001 en ovejas de raza Manchega

y Lacaune; Ramella et al., 2003 en ovejas de raza Assaf; Emediato et al., 2008 en ovejas de raza Bergamasca).

Además, y tal y como ha sido señalado por diversos autores (Labussière et al., 1981; Labussière, 1988; Fernández et al., 1995; Rovai, 2001; Ramella et al., 2003) se observó también una correlación positiva ($P < 0,001$), e igualmente de escasa magnitud, entre la altura de las cisternas y la cantidad de leche producida por los animales ($r = 0,39$).

Por lo que se refiere a las medidas del pezón, tampoco se observaron correlaciones positivas entre estas y la producción de leche, al igual que lo señalado previamente por otros autores (Fernández et al., 1997; McKusick et al., 1999). Únicamente cabe señalar que los valores observados de anchura y longitud del pezón se encuentran dentro del rango de los destacados por otros autores para animales de diferentes razas (Labussière, 1983; Fernández et al., 1995; McKusick et al., 1999; Rovai et al., 1999; Ramella, 2002), mientras que los señalados para el ángulo de inserción de los pezones en el presente trabajo fueron superiores a los indicados tanto para ovejas de raza Assaf (Ramella, 2002) como para ovejas de raza Manchega, Lacaune (Rovai et al., 1999) o Churra (Fernández et al., 1995). Estas diferencias pueden deberse, por un lado, a la raza animal (Such et al., 1999; Rovai, 2001) y, por otro, al grado de selección de las mismas, ya que la raza Assaf Española es una raza de reciente formación, originada a partir de animales importados de Israel mediante cruzamientos por absorción con ovejas de raza Churra y Castellana (Lavín, 1996; San Primitivo y de la Fuente, 2000; Alonso et al., 2001; Mantecón y Lavín, 2001) por lo que los programas encaminados a la mejora genética de esta raza son relativamente recientes.

2.2. Perfil hormonal

Cambios en la secreción de determinadas hormonas durante los periodos en los que tiene lugar la mayor parte del crecimiento mamario, como pueden ser la pubertad y la gestación, pueden afectar al desarrollo de la glándula mamaria (Tucker, 1985; Pulina y Nudda, 2002; Nørgaard et al., 2008). En este sentido, Sejrsen y Foldager (1992) indicaron que, probablemente, la influencia que el nivel de alimentación tiene sobre el crecimiento mamario durante la fase prepuberal sea debida, entre otros factores, a cambios hormonales.

El control del crecimiento de las estructuras mamarias y la adquisición de su funcionalidad se deben a la asociación de varias hormonas que actúan simultáneamente o

de manera secuencial y a la relación, bien definida, entre las concentraciones de cada una de ellas (Jammes y Djiane, 1988; Pulina y Nudda, 2002; Berry et al., 2003a).

Tanto en ganado vacuno como en ganado ovino, se sabe que la **GH** juega un papel central en la mediación de los efectos de la dieta sobre el desarrollo mamario (Johnsson et al., 1986; Sejrsen et al., 1986, 2000) y que se trata de una hormona necesaria para el desarrollo mamario prepuberal (Niezen et al., 1996; Sejrsen et al., 2000) que, además, se ve afectada por el nivel de alimentación al que están sometidos los animales (Sejrsen, 2005).

Aunque se ha observado que los niveles sistémicos de esta hormona se reducen en los animales con una elevada ingestión de nutrientes (Sejrsen et al., 1983; Johnsson et al., 1985b; Houseknecht et al., 1988; Buskirk et al., 1996; Niezen et al., 1996), en el presente trabajo no se observaron diferencias significativas en la concentración sérica de GH en el momento del destete, al igual que lo observado en ganado vacuno por Quigley et al. (2006). Esto pudo deberse, probablemente, a que el bajo nivel de ingestión de sustitutivo lácteo de los animales del tratamiento Rs era en parte suplido por una mayor ingestión de alimento sólido. De la misma manera, Greenwood et al. (2002) tampoco observaron diferencias en corderos lactantes ni en función del nivel de ingestión ni tampoco en función de su PV y señalaron que existe una gran variabilidad “no explicada” en la naturaleza de la secreción de GH en los corderos neonatales.

A los 5 meses de edad tampoco se encontraron diferencias significativas en la concentración de la hormona GH pese al distinto nivel de ingestión de los animales entre el destete y ese momento, pero sí se observó que los animales que durante esta etapa tuvieron el pienso de recría a libre disposición tendían ($P < 0,08$) a presentar una menor concentración sérica de GH, tal y como ha sido señalado por diversos autores tanto en ganado ovino (Johnsson et al., 1985b; Peclaris et al., 1997; Recabarren et al., 1998) como en ganado vacuno (Stelwagen y Grieve, 1992; Capuco et al., 1995; Carson et al., 2000). Sin embargo, esta tendencia a presentar una menor concentración de GH en los animales alimentados ad libitum no se vio reflejada en el desarrollo de la glándula mamaria a los 5 meses de edad, al igual que lo destacado en ganado ovino (McFadden et al., 1990a; Peclaris et al., 1997) y en ganado vacuno (Buskirk et al., 1996), pero contrario a lo observado por otros autores (Sejrsen et al., 1983; Johnsson et al., 1985b; Radcliff et al.,

1997; Berry et al., 2001; Capuco et al., 2002) que han señalado una relación positiva entre los niveles de GH y el desarrollo mamario prepuberal.

A pesar de esto, la tendencia a presentar una menor concentración de GH observada en los animales del tratamiento A estuvo relacionada con el menor porcentaje de tejido parenquimatoso (13%) mostrado por los animales de este tratamiento frente al 38% de los animales del tratamientos B, reflejado también en la mayor relación entre el volumen del tejido parenquimatoso y el PV de los animales de este último tratamiento.

Por otra parte, a los 10 meses de edad se observó una menor concentración de GH ($P < 0,05$) en los animales del tratamiento A respecto a los animales de los tratamientos M y B de la fase de recría. Estas diferencias podrían deberse al hecho de que pese a que las diferencias en la ingestión no fueron significativas en el momento en que se tomaron las muestras para el análisis hormonal, los animales del tratamiento A registraron una mayor ingestión, lo que puede relacionarse con la menor concentración de GH observada en estos animales.

Aunque se ha visto que la inyección de GH en animales en lactación provoca un aumento de la producción de leche, esto ocurre únicamente en las fases media y final de la lactación, y no en la fase inicial (Sejrsen et al., 1999; Boutinaud et al., 2004). Por lo tanto, no sería esperable, tal y como se observó en el presente trabajo, que las diferencias en la concentración sérica de las ovejas en el momento del destete de los corderos se viesen representadas en la producción de leche de los animales.

La secreción de **IGF-I** tanto en el hígado como en las células del estroma mamario está inducida por la GH, ya que la cantidad de esta última unida a sus receptores en el torrente sanguíneo es el principal regulador fisiológico de la IGF-I circulante, promoviendo su liberación tanto por el hígado (Tucker, 2000; Le Roith et al., 2001b; Plath-Gabler et al., 2001; Akers, 2002; Taylor et al., 2006) como por la glándula mamaria (Forsyth, 1996; Tucker, 2000; Berry et al., 2003a; Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005). En este sentido, además de estimular la función celular (Clemmons y Underwood, 1991; Bachman et al., 1999; Le Roith et al., 2001b; Brameld, 2005; Akers, 2006), la IGF-I puede ser quien medie en la acción mamogénica de la GH (Holly y Wass, 1989; Forsyth, 1996; Akers, 2000; Dallard et al., 2005; Sejrsen, 2005).

Por lo que se refiere a las concentraciones de IGF-I observadas en la presente prueba cabe destacar, tal y como ha sido señalado por otros autores (Lammers et al., 1999; Oldman et al., 1999; Weber et al., 2000b; Diaz et al., 2001; Smith et al., 2002; Berry et al., 2003a, 2003b; Bartlett et al., 2006; Quigley et al., 2006), que la concentración de IGF-I aumenta como consecuencia de los altos niveles de alimentación siendo, por tanto, mayor en el momento del destete en los animales del tratamiento AL de la fase de lactancia y en los animales del tratamiento A de la fase de recría a los 5 meses de edad.

No existen estudios que relacionen las concentraciones séricas de IGF-I durante la lactancia con el desarrollo de la glándula mamaria en este periodo, pero pese a las diferencias observadas en el presente trabajo en el momento del destete, estas no se vieron reflejadas en el volumen de tejido mamario a los 5 meses de edad, debido a la anulación de las diferencias en la concentración de dicha hormona a esa edad.

La mayor concentración sérica observada a los 5 meses de edad en los animales del tratamiento A pone de manifiesto que, tal y como ha sido señalado por diversos autores (Sejrsen et al., 2000; Berry et al., 2003b; Sejrsen, 2005), el crecimiento in vivo de las células mamarias, al contrario de lo que sucede in vitro, está correlacionado negativamente con la concentración sérica de IGF-I, ya que esa mayor concentración de IGF-I estuvo asociada a un menor porcentaje de tejido parenquimatoso a los 5 meses de edad en los animales del tratamiento A.

Por otro lado, el efecto de la IGF-I sérica en la mamogénesis no puede considerarse de un modo aislado, ya que los cambios en la IGF-I circulante no explican necesariamente los cambios observados en la proliferación celular, por lo que la respuesta proliferativa puede encontrarse más relacionada con cambios en la secreción de IGF-I por parte de las células mamarias que con la IGF-I sérica (Berry et al., 2001). En este sentido, Nørgaard et al. (2008) señalaron que el nivel circulante de IGF-I no se ve necesariamente reflejado en la concentración de esta hormona en la glándula mamaria. Además, en la modulación de la respuesta del tejido mamario a la IGF-I han de tenerse en cuenta otros factores, tales como la sensibilidad del tejido a las IGF-I y la concentración de IGFBP-3 (Plaut et al., 1993; Purup et al., 1995, 2000; Buskirk et al., 1996; Sejrsen et al., 2000; Weber et al., 2000a; Hovey et al., 2003; Sejrsen, 2005). Esta última aumenta a nivel local al aumentar el nivel de alimentación y provoca, por tanto, una reducción en la sensibilidad del tejido mamario a la IGF-I (Purup et al., 2000; Weber et al., 2000a; Duan y Xu, 2005; Sejrsen, 2005) y una

inhibición del efecto del mayor nivel sérico de IGF-I. En este sentido, Berry et al. (2001) observaron un incremento en la proliferación de las células mamarias epiteliales asociado a un incremento en el nivel de IGF-I y una reducción de IGFBP-3 en el tejido mamario. Además, estos autores destacaron que un incremento en la relación IGF-I:IGFBP-3 en la glándula mamaria provoca un aumento de la proporción de IGF-I mamaria disponible para estimular la proliferación celular, por lo que los cambios en la disponibilidad local de IGF-I e IGFBP-3 pueden mediar una parte de los efectos de la GH y el nivel de alimentación en el desarrollo mamario en rumiantes prepúberes (Weber et al., 2000b).

Ni a los 10 meses de edad ni al inicio de la fase de lactación propiamente dicha, tras el destete de las crías, las concentraciones de IGF-I fueron diferentes entre tratamientos lo que puede deberse, por un lado, a que tanto la IGF-I como las IGFBPs son poco importantes durante estas fases (McGuire et al., 1992; Lacasse et al., 1993; Hovey et al., 1998; Carson et al., 2000; Plath-Gabler et al., 2001; Akers, 2002; Dallard et al., 2005) debido, posiblemente, al escaso desarrollo mamario que se produce durante estos periodos en el ganado ovino y a que no existieron tampoco diferencias en la ingestión de alimento de los animales durante estos periodos. Además, según Kaskous et al. (2003), la producción de leche durante el periodo de ordeño está altamente correlacionada con la concentración plasmática de IGF-I, pero en el presente trabajo tampoco se observaron diferencias significativas en la cantidad de leche producida por los animales.

Por lo que se refiere a la concentración sérica de **insulina** en las diferentes fases, y tal y como se señaló en el apartado de resultados, únicamente se encontraron diferencias significativas entre tratamientos a los 5 meses de edad, cuando existía una gran diferencia en el nivel de alimentación de los animales, observándose una mayor concentración de esta hormona cuanto mayor era la cantidad de pienso de recría ingerido por los animales. Estas diferencias debidas al nivel de ingestión de alimento para la etapa prepuberal han sido ampliamente destacadas en la bibliografía (Sejrsen et al., 1983; McFadden et al., 1990b; Mäntysaari et al., 1995; Diaz et al., 2001; Smith et al., 2002; Vestergaard et al., 2003; Bartlett et al., 2006).

Sin embargo, la ausencia de diferencias significativas en la etapa de lactancia podría deberse al hecho de que, aunque la ingestión de sustitutivo lácteo fue mayor para las corderas del tratamiento AL, en el momento del destete los animales del tratamiento Rs consumían una mayor cantidad de alimento sólido respecto a los animales del tratamiento

AL. Además, existe una gran variabilidad individual, lo que puede deberse, tal y como ha sido destacado por diversos autores (Bassett, 1974; Johnsson et al., 1985b), a que las fluctuaciones en los niveles circulantes de insulina en animales jóvenes son siempre elevadas y mayores a las observadas en adultos.

A los 10 meses de edad, tampoco se observaron diferencias significativas entre tratamientos, aunque los valores numéricos más altos correspondieron a los animales con una mayor CC y los más bajos a aquellos que en ese momento presentaban una CC menor, tal y como ha sido destacado por otros autores (Caldeira et al., 2007).

Por otro lado, aunque se ha señalado que la insulina ejerce un importante papel en la regulación de la producción de leche (Vicini et al., 1991) debido a su influencia en el flujo de nutrientes que llegan a la glándula mamaria en el animal en lactación (Grinari et al., 1997; Tucker, 2000; Neville et al., 2002; Taylor et al., 2006), la concentración sérica de insulina al inicio de la fase de lactación tampoco mostró diferencias entre tratamientos debido, probablemente, a que tampoco hubo diferencias en la ingestión de alimento, ni en el PV y la CC de los animales en ese momento.

En el caso de la **prolactina**, se ha visto que aunque su presencia es necesaria para el desarrollo mamario (Tucker, 1985, 2000; Akers, 2002; Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005) no es una hormona limitante del mismo aunque, según Knight (2001) puede inducir un pequeño desarrollo mamario por sí misma.

En el presente trabajo únicamente se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en la concentración sérica de prolactina al inicio de la fase de lactación, pese a que las diferencias en la producción de leche en ese momento no fueron significativas. Esta aparente contradicción podría explicarse, por una parte, por el hecho de que aunque la prolactina es una hormona importante tanto para el inicio como para el mantenimiento de la producción lechera, su concentración no siempre está directamente correlacionada con la cantidad producida (Forsyth y Lee, 1993; Bruckmaier et al., 1994a; Knight, 2001; Neville et al., 2002) ya que el tejido mamario desarrolla una gran afinidad por la prolactina presente en la circulación, por lo que puede responder adecuadamente incluso a niveles muy bajos de esta hormona (Knight, 2001). Por otra parte, se ha observado además que la propia glándula mamaria puede producir localmente prolactina (Steinmetz et al., 1993; Ginsburg et al., 1997; Knight, 2001) lo que enmascararía en parte los efectos de la prolactina presente en el suero sanguíneo.

La ausencia de diferencias en el resto de los momentos en que se controló la concentración sérica de la prolactina puede deberse al hecho, señalado con anterioridad, de que se trata de una hormona eminentemente lactogénica y galactopoyética (Jammes y Djiane, 1988; Hennighausen et al., 1997; Tucker, 2000; Svennersten-Sjaunja y Olsson, 2005) y, además, a la observación del poco efecto que tiene la prolactina en el crecimiento mamario en rumiantes (Sejrsen et al., 1983, 1986; Johnsson et al., 1985b, 1986; Shamay et al., 1988; McFadden et al., 1990b). De esta manera, tanto en ganado ovino (Jonhsson et al., 1986) como en ganado vacuno (Sejrsen et al., 1983; Sejrsen y Foldager, 1992; Peri et al., 1993; Mäntysaari et al., 1995; Petitclerc et al., 1999) son varios los trabajos que no han señalado diferencias en la concentración de esta hormona en las fases previas a la lactación debidas al nivel de ingestión de alimento. Por tanto, parece que, tal y como señalaron McFadden et al. (1990b) y Petitclerc et al. (1999) el papel de la prolactina como mediador del efecto de la nutrición en el desarrollo mamario durante el periodo prepuberal es, cuando menos, incierto.

Además, y como ya se señaló en la revisión bibliográfica, existen otras hormonas implicadas en el crecimiento y desarrollo mamario en las diferentes fases en que este tiene lugar, entre las que se podrían incluir los estrógenos, los progestágenos, la leptina, el lactógeno placentario y diversos factores de crecimiento.

3. RENDIMIENTO PRODUCTIVO

3.1. Eficiencia reproductiva

Son varios los trabajos que han establecido que el crecimiento en las primeras etapas de la vida de las corderas afecta a la eficiencia reproductiva de estos animales a lo largo de toda su vida (Gunn, 1977; Kirkwood et al., 1987; Robinson, 1990; Forcada et al., 1994; Gunn et al., 1995; Rhind et al., 1998; Gaskins et al., 2005).

En este sentido, Rassu et al. (2002) señalaron que las corderas con un ritmo de crecimiento lento durante los dos primeros meses de vida son menos fértiles y prolíficas que aquellas corderas alimentadas adecuadamente y con satisfactorios ritmos de crecimiento, mientras que Kirkwood et al. (1987) destacaron que los efectos de la subnutrición antes del destete son evidentes únicamente cuando el crecimiento durante la lactancia se ha retrasado severamente y el animal no puede compensarlo en el periodo

posdestete. Sin embargo, Rhind et al. (1998) señalaron que las bajas GDPV observadas en corderas sometidas a una restricción alimentaria previa al destete no provocaron diferencias en la fertilidad en el primer parto, pese a que sí se observó una menor prolificidad.

Por otra parte, también se ha observado que un mayor ritmo de crecimiento de los animales entre el destete y la cubrición genera una mayor eficiencia reproductiva tanto en fertilidad como en prolificidad. Así, Rassu et al. (2002) y Gaskins et al. (2005) señalaron que tanto la fertilidad como la prolificidad de los animales aumentaban con un mayor peso o una mayor edad al parto, y que las razas respondían de distinta manera a estos efectos. Por tanto, según estos autores, la eficiencia reproductiva de ciertas razas se puede mejorar incrementando la GDPV posdestete de los animales, aunque también observaron que mientras que el peso a la cubrición tiene un efecto positivo tanto en la fertilidad como en la prolificidad, la ganancia total de peso vivo desde el destete a la cubrición tiene un efecto positivo únicamente sobre la fertilidad.

En su trabajo de 1977, Gunn observó en ovejas de raza Scottish Blackface una mayor prolificidad en las corderas que durante la fase de recría habían tenido una mayor GDPV. En un trabajo posterior, Gunn et al. (1995) señalaron, en animales de la misma raza, que aquellos que estuvieron sujetos a periodos de subnutrición en su periodo fetal o en sus primeros días de vida presentaron un menor porcentaje de partos múltiples que sus compañeras de rebaño que fueron alimentadas correctamente, aun cuando su peso adulto fuese el adecuado. Esto mismo ha sido señalado por otros autores (Rhind et al., 1998; Rassu et al., 2002) aunque la explicación de estas diferencias en la prolificidad de los animales es diferente entre trabajos. Así por ejemplo, Gunn et al. (1995) atribuyeron este descenso en el número de partos dobles a un mayor porcentaje de pérdidas embrionarias en las corderas sometidas a subnutrición, ya que observaron similares tasas de ovulación en ambos lotes de animales. Otros autores, en cambio, señalan que este descenso en el número de corderos nacidos se debe a una menor tasa de ovulación de las ovejas peor alimentadas en las fases iniciales del crecimiento (Robinson, 1990; Abecia et al., 1993). Sin embargo, otros trabajos indican que la causa de esta menor prolificidad es el efecto de la subnutrición sobre el *pool* de folículos primordiales, fuente de todos los folículos que madurarán a lo largo de la vida del animal, y que queda determinado en el momento del

nacimiento (Greenwald y Terranova, 1988; Rhind, 1992; Rae et al., 2002; Robinson et al., 2006).

Además, también pueden existir diferencias entre razas en función de su potencial reproductivo (Rhind y Schanbacher, 1991), aunque Gaskins et al. (2005) observaron que en todas las razas que estudiaron (Columbia, Polypay, Rambouillet y Targhee) la probabilidad de partos múltiples aumentaba cuando los animales habían tenido una mayor GDPV entre el destete y el parto. Por lo general, podría decirse que un crecimiento más rápido se asocia con una mejora en la eficiencia reproductiva de las corderas, observándose por ejemplo que los animales llegan a la pubertad a una edad más temprana, que muestran una actividad estral más intensa y unos niveles más altos de fecundidad y fertilidad al ser cubiertas (Dýrmundsson, 1981).

Por otra parte, se ha señalado también que un crecimiento muy rápido durante el periodo prepuberal, en el caso de que comporte un excesivo acúmulo de grasa corporal, puede causar disfunciones ováricas con efectos negativos sobre la actividad reproductiva (Rassu et al., 2002).

En el presente trabajo no se observaron diferencias significativas en lo que a **fertilidad** se refiere en función de la cantidad de sustituto lácteo recibida durante la lactancia, al igual que lo observado previamente por Rhind et al. (1998) en ganado ovino y Terré (2007) en ganado vacuno. El valor medio de fertilidad obtenido en la presente prueba (80%) se encuentra por encima de los señalados en la literatura para ovejas de raza Assaf Española, que se sitúan en valores próximos al 75% (Requejo et al., 2005; Palacios et al., 2006) en ovejas adultas y en torno al 66% en corderas (Legaz et al., 2006). Pese a que se sabe que en ovejas de primer parto los índices de fertilidad y prolificidad son, por lo general, más bajos que en ovejas multíparas (Turner et al., 1968; Dýrmundsson, 1981; Gordon, 1997), los elevados valores de fertilidad observados en esta prueba pueden deberse al hecho de la utilización de esponjas vaginales para la sincronización de la ovulación y el uso de la monta controlada.

Sin embargo, el nivel de ingestión de energía entre el destete y los 5 meses de edad sí produjo diferencias significativas en la fertilidad de los animales, observándose los valores más altos en los animales del tratamiento B (90%) y los más bajos en los del tratamiento M (71%), mientras que los animales del tratamiento A presentaban un valor intermedio (79%). Por el contrario, otros autores en trabajos de similares características, con ovejas de

raza Manchega y Lacaune, no señalaron diferencias significativas en la fertilidad de las corderas (Ayadi et al., 2002; Zidi et al., 2005). Del mismo modo, Umberger et al. (1985) tampoco observaron diferencias en la fertilidad utilizando dos GDPV diferentes en el periodo entre el destete y la cubrición. Sin embargo, McCann et al. (1989) sí encontraron una mayor fertilidad en las corderas recriadas hasta la pubertad con una mayor GDPV, lo que puede estar en consonancia con los resultados del presente trabajo si se tiene en cuenta que pese a la menor GDPV durante la primera fase de la recria en las corderas del tratamiento B, la GDPV para estos animales fue mayor entre los 5 meses de edad y la cubrición.

Por otra parte, la mayor fertilidad señalada para los animales del tratamiento B podría deberse también al efecto de la dosis de progestágeno (FGA) aplicada a los animales para inducir la ovulación y permitir su sincronización en todos los animales. La dosis suministrada fue la misma para todos los animales (80 mg), mientras que tanto el PV como la CC en el momento de la aplicación de las esponjas vaginales era, en ambos casos, menor para los animales del tratamiento B, lo que podría haber provocado una mayor respuesta en los animales de este tratamiento.

Por lo que se refiere a la **prolificidad**, y en consonancia con los resultados de otros autores (McCann et al., 1989; Ayadi et al., 2002; Zidi et al., 2005), no se encontraron diferencias significativas en función del tratamiento recibido ni durante la fase de lactancia, ni tampoco durante la primera fase de la recria. Sin embargo, y pese a que las diferencias no fueron estadísticamente significativas, se observó un mayor valor de prolificidad en las corderas del tratamiento AL de la fase de lactancia (169%) respecto a las que recibieron el sustitutivo lácteo de forma restringida (151%), lo que se encuentra en consonancia con lo señalado por Gunn et al. (1995) y Rhind et al. (1998).

En lo que concierne al efecto de la alimentación durante la primera fase de la recria, y pese a que las diferencias tampoco fueron estadísticamente significativas, los animales del tratamiento B tuvieron una prolificidad menor (150%) respecto a los otros dos tratamientos A y M (166%), lo que podría deberse al efecto del PV en el momento de la cubrición (Gaskins et al., 2005), que era todavía el más bajo de los tres tratamientos pese a la mayor GDPV observada en los animales del tratamiento B entre los 5 meses de edad y el momento de la cubrición.

Por otra parte, la prolificidad observada fue en todo caso superior a la señalada para corderas de raza Assaf Española por Legaz et al. (2006; 110%) y por Palacios et al. (2006) para ovejas adultas de esta misma raza (103%), pero muy similar al 163% destacado por Requejo et al. (2005) y el 150% indicado por Gutiérrez et al. (2007) en ovejas de esta misma raza o el 157% señalado por Pollott y Gootwine (2004) en ovejas de raza Assaf en Israel.

3.2. Producción y composición de la leche en la primera lactación

Los valores medios de **producción de leche** observados en el presente trabajo (1,59 kg/animal y día) se encuentran en valores próximos a los señalados en ovejas de similares características por Gómez-Cortés et al. (2008) pero inferiores a los destacados por otros autores también en ovejas de raza Assaf (Ramella et al., 2001; Bodas, 2004; Leitner et al., 2004; Pollott y Gootwine, 2004; López-Campos, 2007). Estas diferencias entre trabajos pueden deberse al hecho de que, en la presente prueba, se trataba de ovejas de primer parto, y se sabe que la producción de leche en la primera lactación es menor que en las siguientes (Cardellino y Benson, 2002), ya que hasta el tercer o cuarto parto no se alcanza el pico de máxima producción (Bencini y Pulina, 1997) a partir del cual la producción de leche comienza a descender.

De todos los factores extrínsecos que afectan a la producción de leche durante la lactación el que más influencia ejerce es la alimentación (Bocquier y Caja, 2001), pero además se ha visto que existe un efecto del PV y la CC de los animales en el momento del parto (Carson et al., 2000, 2002; Sejrsen et al., 2000; Müller et al., 2005) que puede enmascarar, en parte, el efecto de la alimentación durante el periodo prepuberal (Macdonald et al., 2005). Por otro lado, Van Amburgh et al. (1991) señalaron que existe una relación positiva entre el número de ciclos estrales entre la pubertad y la concepción y el nivel de producción de leche en la primera lactación en los animales que comenzaron su vida productiva a una edad temprana. En la presente prueba, la edad de los animales era muy similar al inicio de la lactación, todos ellos dispusieron durante esta fase de la misma ración suministrada ad libitum y la cantidad de alimento consumida no fue diferente entre tratamientos (ver Tabla 13). Además, ni el PV ni la CC en el momento del parto difirieron entre ellos.

Por tanto, cualquier diferencia observada en la producción de leche de estos animales podría ser atribuible al efecto de la alimentación durante el periodo prepuberal aunque, tal

y como señalaron Sejrson y Purup (1997), para que el efecto del nivel de ingestión durante el periodo prepuberal sobre el desarrollo mamario se manifieste posteriormente en el potencial de producción de leche de los animales, las diferencias en la composición de la glándula ocasionadas durante esa fase deberían mantenerse también durante la lactación.

En el presente estudio, el nivel de ingestión de sustitutivo lácteo de los animales durante el periodo de lactancia no dio lugar a diferencias significativas en la producción de leche en ninguna de sus fracciones (ordeño y residual), ni para el conjunto del periodo experimental ni para ninguna de las 14 semanas de duración del mismo (ver Figura 23a), lo que podría deberse a la similar cantidad de parénquima mamario presente en las glándulas de los animales de los tratamientos AL y Rs (Tabla 22) tanto a los 5 como a los 10 meses de edad.

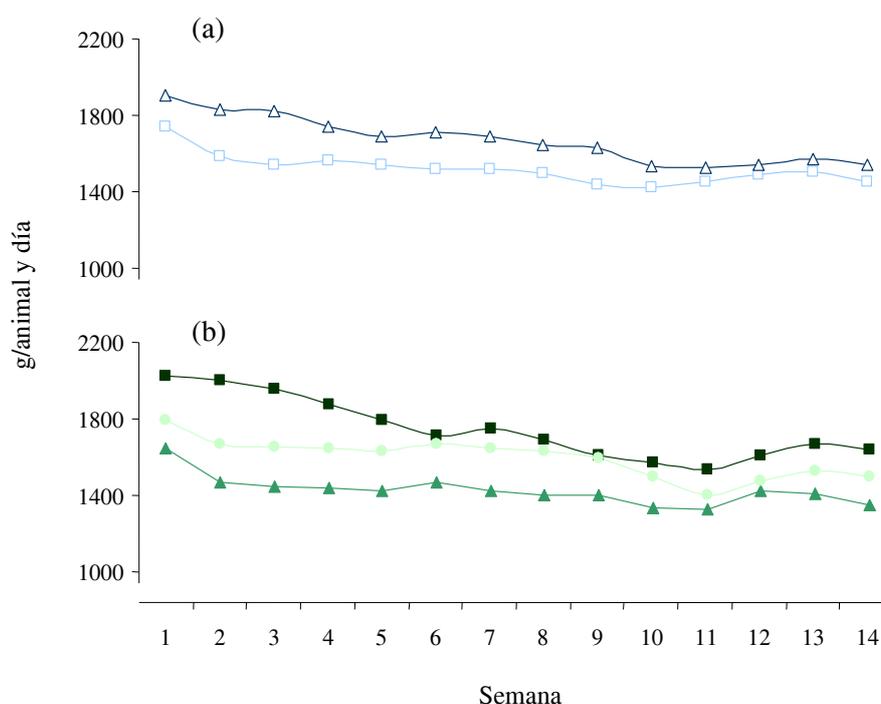


Figura 23. Evolución de la producción diaria de leche ordeño a lo largo de la lactación (g/animal y día) para los tratamientos (a) AL (□) y Rs (△) de la fase de lactancia (eed=142,6) y (b) A (■), M (▲) y B (●) de la fase de recria (eed=174,5).

Brown et al. (2005) señalaron que la información disponible sobre el efecto que el nivel de ingestión de energía en el periodo anterior al destete tiene sobre el futuro potencial de producción de leche es escasa, ya que son pocos, y realizados en ganado vacuno, los estudios que han abordado el efecto de la alimentación en esta fase. En este sentido, Foldager y Krohn (1994) observaron que, en ganado vacuno, las diferentes GDPV de los

animales durante el periodo de lactancia no provocaron producciones de leche significativamente diferentes en la primera lactación, a pesar de que numéricamente los animales con un crecimiento más rápido en esta fase produjeron una mayor cantidad de leche (+15%). Esto mismo ha sido destacado también por Shamay et al. (2005), aunque estos autores sí señalaron diferencias significativas en la cantidad de leche FCM producida (+4%), de un modo similar a lo apuntado por Drackey et al. (2007) (+9%), mientras que Bar-Peled et al. (1997) únicamente observaron una tendencia a la significatividad en este mismo sentido (+5%). Sin embargo, estos últimos investigadores indicaron que las diferencias debidas al efecto de la alimentación durante la fase de lactancia podrían ser consecuencia del peso vivo de los animales en el momento del parto más que del efecto sobre el desarrollo de la glándula mamaria, ya que se habían presentado diferencias debidas al tratamiento en el primero de estos parámetros pero no en el segundo.

Según todo lo anteriormente señalado para ganado vacuno, podría decirse que un rápido crecimiento durante la fase de lactancia si no resulta beneficioso, al menos no resulta perjudicial para la producción de leche del animal adulto si el contenido de grasa de la glándula mamaria no se ve aumentado por efecto del nivel de alimentación (Brown et al, 2005) y esto puede depender, aunque se trate de un corto periodo de tiempo, del momento específico en que tiene lugar dentro de la curva de crecimiento del animal (Davis Rincker et al., 2008).

Todos estos trabajos parecen contradecir lo observado en el presente experimento, ya que pese a no haber existido diferencias significativas entre tratamientos, los valores numéricos de producción de leche fueron mayores en todos los casos para los animales del tratamiento Rs. Estas discrepancias en los resultados pueden deberse, por una parte, a la especie animal y, por otra, a la duración de esta etapa que, en todos los casos citados anteriormente, fue relativamente más corta que la del presente trabajo. Además, en esta prueba, a los animales no se les ofertó únicamente sustitutivo lácteo, sino que dispusieron también de pienso lacteado y heno de alfalfa a partir de la segunda semana de experimento, lo que ocasionó que al final de la fase de lactancia la GDPV, aunque diferente (250 vs. 208 g/animal y día; $P < 0,001$), no fuese muy marcada comparada con la de otros trabajos debido, quizás, a la mayor ingestión de alimento sólido por parte de los animales del tratamiento Rs.

Por lo que se refiere al efecto de la alimentación durante la primera fase de la recría, en la presente prueba tampoco se observaron diferencias significativas en ninguna de las semanas de experimento en cuanto a la cantidad de leche ordeño producida por los animales de cada uno de los tratamientos (ver Figura 23b).

Diversos trabajos realizados en ganado vacuno (Harrinson et al., 1983; Foldager y Sejrsen, 1991; Van Amburgh et al., 1998; Lammers et al., 1999; Radcliff et al., 2000) indican que el efecto negativo de los altos niveles de alimentación durante este periodo se mantiene a lo largo tanto de la gestación como de la lactación, apreciándose el efecto a largo plazo en la producción de leche de los animales.

Sin embargo, la ausencia de diferencias entre tratamientos en la cantidad de leche producida por los animales observada en el presente trabajo coincide con los resultados obtenidos por Sormundsen-Cristian y Jauhiainen (2000) en corderas de raza Finnish Landrace y por Ayadi et al. (2002) y Zidi et al. (2005, 2007a) en corderas de raza Lacaune. Sin embargo, en corderas de raza Manchega, Zidi et al. (2005, 2007a) indicaron que los animales que habían crecido a un ritmo moderado (164 g/día) entre la 7ª y la 22ª semana de vida mostraron una mayor producción de leche que los animales alimentados ad libitum (GDPV=254 g/día). De la misma manera, Umberger et al. (1985) y McCann et al. (1989) señalaron que alimentar ovejas de razas Dorset, Suffolk y varios cruces de ambas de un modo restringido en el periodo entre el destete y la pubertad favorecía la producción de leche, aunque en el caso de Umberger et al. (1985) no en todas las pruebas realizadas las diferencias observadas fueron significativas. Contrariamente a todo esto, Zidi et al. (2007b) en corderas de raza Lacaune destacaron que un crecimiento acelerado previo a los 5 meses de edad (293 g/día) determinaba una mayor producción de leche en comparación con la de los animales alimentados de forma restringida para conseguir ritmos de crecimiento moderados (189 g/día).

Estas discrepancias señaladas para el ganado ovino, en relación a las consecuencias que tiene sobre la producción de leche los elevados ritmos de crecimiento de los animales durante la fase prepuberal, también existen en ganado vacuno. En este sentido, Peri et al. (1993), Lammers et al. (1999) y Radcliff et al. (2000) observaron una reducción en la producción de leche en la primera lactación como consecuencia de un rápido ritmo de crecimiento de las terneras durante la fase prepuberal, mientras que existen también numerosos experimentos en los que este efecto negativo no se ha puesto de manifiesto

(Park et al., 1987; Gaynor et al., 1995; Pirlo et al., 1997; Van Amburgh et al., 1998; Abeni et al., 2000; Carson et al., 2000; Macdonald et al., 2005).

Pese a estas diferencias entre trabajos, parece estar claro que el desarrollo del parénquima mamario se ve perjudicado por el acortamiento del periodo entre el nacimiento y la pubertad en terneras recriadas con un ritmo de crecimiento alto (Capuco et al., 1995; Meyer et al., 2004), aunque esto no tiene por qué dar lugar necesariamente a una reducción en la producción de leche (Macdonald et al., 2005), ya que para que este efecto tenga lugar, las diferencias en la composición de la glándula mamaria debidas al ritmo de crecimiento en el periodo prepuberal deben mantenerse también durante la lactación (Sejrsen y Purup, 1997).

Además, el efecto podría variar entre razas, ya que el nivel de ingestión que puede causar una reducción en el potencial de producción de leche es diferente entre ellas (Sejrsen y Purup, 1997), particularmente en aquellas cuyo potencial genético para este tipo de producción esté poco explotado (Macdonald et al., 2005).

En la presente prueba, las diferencias entre tratamientos observadas en la cantidad de parénquima mamario a los 10 meses de edad no se corresponden con la ausencia de diferencias significativas en la producción de leche. Esto podría explicarse, en parte, por el hecho de que durante la fase de gestación la glándula mamaria sufre de nuevo un crecimiento alométrico (Akers, 2002) y aunque a los 10 meses los animales del tratamiento A presentaban una mayor cantidad de tejido parenquimatoso también tenían un mayor acúmulo de grasa en la mama, lo que pudo perjudicar, en este tratamiento, el desarrollo del tejido parenquimatoso durante la gestación.

Por lo que se refiere a la **leche residual**, la cual puede ser extraída únicamente mediante la inyección externa de oxitocina (Bruckmaier y Blum, 1998; Callejo y Aldeanueva, 1998), en la presente prueba, al igual que lo señalado en ganado vacuno por Van Amburgh et al. (1998), no se encontraron diferencias significativas relativas al nivel de ingestión durante la fase de recría en la producción de leche residual, que se situó entre el 30 y el 34% de la leche total producida.

El potencial lechero de un animal, y por tanto la cantidad de leche producida por él, dependen principalmente del número de células secretoras y de la capacidad secretora de cada una de ellas (Forsyth, 1986; Knight, 2000) y según Purroy (1998) la cantidad de leche

residual está directamente relacionada con este potencial lechero, ya que a mayor número de alvéolos mayor cantidad de leche residual. Sin embargo, un mayor potencial de producción no implica necesariamente una mayor producción. Así por ejemplo, dos ubres con similar potencial secretor (dependiente del número y actividad de las células epiteliales) podrían presentar diferentes producciones si existiesen deficiencias entre ellas en la capacidad de almacenamiento de la leche cisternal (Knight et al., 1994; McKusick et al., 2002).

Como se señaló anteriormente, en el presente trabajo no se encontraron diferencias ($P > 0,10$) en la capacidad de almacenamiento cisternal en ninguna de las fases del periodo de lactación, ni para ninguna de las frecuencias de ordeño. Además, la cantidad de tejido secretor presente en la glándula mamaria a los 10 meses de edad pudo variar entre tratamientos entre ese momento y la lactación, lo que quizás podría dar lugar a que el potencial secretor de la glándula mamaria fuese similar.

Como era de esperar, debido a la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos en la cantidad de leche producida tanto de la fracción ordeño como de la fracción residual, la cantidad de **leche total** (leche ordeño + leche residual) tampoco fue distinta en función de los tratamientos recibidos durante las fases de lactancia y recría (2,35 kg/animal y día).

Generalmente, se considera **persistencia de la lactación** como la tasa de disminución de la producción de leche en un determinado periodo de tiempo (después de alcanzado el pico de producción de leche), aunque no existe un criterio de referencia establecido para su cálculo (Grossman et al., 1999; Cannas et al., 2002; Pulina et al., 2007). Este parámetro lechero depende de múltiples factores, entre ellos, el número de corderos nacidos, el estado de lactación, factores genéticos y hormonales, condiciones de manejo (p. ej., número de ordeños diarios), estrés, etc., así como el tipo de alimentación sobre todo al final de la gestación e inicio de la lactación (Snowder y Glimp, 1991; Ruiz et al., 2000; Cannas et al., 2002; Pulina et al., 2007). En el presente trabajo, pese a que se observaron diferencias numéricas entre tratamientos en la persistencia de la lactación (ver Tabla 28), estas no fueron significativas, lo que puede explicarse, por una parte, por la gran variabilidad entre animales y, por otra, por el hecho de que la mayoría de los factores que afectan a este parámetro productivo fueron similares entre todos los animales. Sin embargo, sí se observó que los animales con un valor medio de producción de leche menor

presentaban un valor de persistencia mayor, indicando así una curva de producción de leche más mantenida, por lo que sería esperable una mayor duración de la lactación.

Por otra parte, según Bernard et al. (2006) los principales constituyentes de la leche (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y sales minerales) y sus concentraciones se ven afectados por factores fisiológicos, genéticos, nutricionales o ambientales. Concretamente en ganado ovino el principal factor que influye en la **composición de la leche** es la nutrición, sobre todo en aquellos animales de alta producción (Pulina et al., 2006). Además, la nutrición también es determinante en la cantidad de leche producida por los animales. Sin embargo, la producción y la composición de la leche están correlacionadas genéticamente de un modo negativo (Bocquier y Caja, 2001; Pulina et al., 2005), es decir, seleccionar animales para una mayor producción puede provocar una selección negativa en cuanto a la cantidad de sólidos totales presentes en esa leche.

Los datos de composición obtenidos en el presente trabajo (grasa, proteína, lactosa y extracto seco) son similares a los señalados por Leitner et al. (2003), Landau et al. (2005), Hervás et al. (2006), López-Campos (2007) y Gómez-Cortés et al. (2008) en ovejas de raza Assaf. Las pequeñas diferencias observadas, sobre todo en el caso de la grasa, pueden deberse tanto a los distintos momentos de la lactación en que fueron realizados los diferentes trabajos (Eyal, 1982; Bencini y Pulina, 1997; Pulina et al., 2006) como a la relación forraje:concentrado de cada una de ellos, ya que según Bocquier y Caja (2001) cuando más de un 60% de la ración está constituida por concentrado se observa una disminución del contenido de grasa (sobre todo en la fase inicial de la lactación). En este sentido, Hervás et al. (en prensa), en ovejas de raza Assaf alimentadas exclusivamente con pasto y con una mayor producción de leche (2,3 kg/animal y día), señalan contenidos de grasa superiores a los observados en el presente estudio.

En el presente trabajo, todos los animales recibieron durante la fase de lactación la misma ración completa (ver Tabla 5), por lo que, y dado que tampoco se observaron diferencias entre tratamientos en la cantidad de alimento ingerido (ver Tabla 13), no sería esperable cambios en la composición de la leche. Además, la ausencia de diferencias (tanto en los porcentajes como en la cantidad producida de cada uno de los componentes de la leche) en relación con la alimentación recibida por los animales hasta los 5 meses de edad está en consonancia con lo observado por otros autores en ganado ovino con distintos ritmos de crecimiento durante la etapa previa a la pubertad (Umberger et al., 1985;

McCann et al., 1989; Zidi et al., 2007a). Sin embargo, en ganado vacuno, existen discrepancias en este sentido, ya que mientras algunos trabajos no han observado diferencias entre tratamientos (Capuco et al., 1995; Gaynor et al., 1995; Waldo et al., 1998; Thibault et al., 2003) otros sí lo han hecho, tanto para la cantidad de grasa (Sejrsen y Foldager, 1992; Van Amburgh et al., 1998; Lammers et al., 1999; Zanton y Heinrichs, 2007) como para la de proteína (Pirlo et al., 1997). Estas discordancias entre trabajos podrían deberse a diferencias tanto interespecíficas como interraciales, así como al diferente potencial lechero de los animales en estudio o los diversos tratamientos durante el periodo pospubertad o la lactación.

Por último, parece lógico pensar que debido a la ausencia de diferencias significativas en los parámetros lecheros discutidos hasta el momento, ni la producción de leche estandarizada para el contenido en energía (**PLEE**) ni la **producción de leche normalizada** a 150 días de lactación mostrasen diferencias significativas en función de la alimentación recibida por los animales durante las fases de lactancia y primera de la recría.

Por tanto, aunque el efecto de la alimentación durante la fase prepuberal de las corderas ocasionó diferencias en la composición tisular de la glándula mamaria tanto a los 5 como a los 10 meses de edad, y pese a que estas diferencias en la composición de la glándula mamaria podrían verse reflejadas en la capacidad de producción de leche de los animales (Mäntysaari et al., 2002), no hubo diferencias significativas ($P > 0,10$) en la cantidad de leche producida durante la primera lactación para los distintos tratamientos ni tampoco en su composición (grasa, proteína, lactosa y extracto seco).

VII. CONCLUSIONES
CONCLUSIONI
CONCLUSIONS

Primera

En corderas de raza Assaf Española, la restricción de la ingestión de sustitutivo lácteo durante la lactancia supuso una mayor ingestión de alimento sólido en este periodo, pero no afectó ni a la ingestión ni al peso vivo de los animales una vez realizado el destete.

El nivel de ingestión de energía entre el destete y los 5 meses de edad se correlacionó de forma inversa con la ingestión de alimento y el ritmo de crecimiento de los animales durante el periodo inmediatamente posterior (es decir, entre los 5 meses de edad y el inicio de la gestación). Así, ingestiones diarias de concentrado de 38, 22 y 13 g MS por kg de peso vivo en la primera fase dieron lugar a un crecimiento compensatorio en la segunda, con ganancias diarias de 142, 182 y 197 g que, no obstante, no llegaron a igualar el PV en el momento de la cubrición.

El nivel de ingestión de energía previo a los 5 meses de edad no afectó significativamente ni a la ingestión de alimento ni al peso vivo de los animales en las fases de gestación y lactación.

Segunda

El nivel de ingestión de energía durante el periodo previo a los 5 meses de edad afectó al crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria en corderas de raza Assaf Española.

La cantidad de sustitutivo lácteo ingerida por los animales ocasionó diferencias significativas en la composición de la glándula mamaria a los 10 meses de edad, de modo que tanto el volumen total como el de tejido extraparenquimatoso fueron mayores en los animales alimentados con el nivel más alto.

Una mayor ingestión de pienso entre el destete y los 5 meses de edad dio lugar a un mayor volumen total de glándula mamaria y de tejido extraparenquimatoso, a los 5 y a los 10 meses de edad. El volumen de tejido parenquimatoso únicamente difirió a los 10 meses, siendo superior en los animales que consumieron el pienso ad libitum.

La alimentación entre el destete y los 5 meses de edad afectó significativamente al área de la cisterna mamaria en la medición realizada inmediatamente antes de la

sincronización de la ovulación, pero no se observaron variaciones ni en la gestación ni en la lactación.

El nivel de ingestión de energía entre el nacimiento y los 5 meses de edad no ocasionó cambios significativos en la morfología mamaria en ninguno de los controles realizados durante la lactación.

Tercera

El distinto nivel de ingestión de energía al que fueron sometidas las corderas de raza Assaf Española entre el nacimiento y los 5 meses de edad no afectó significativamente ni a la cantidad de leche producida durante la primera lactación, ni a su composición (contenido de grasa, proteína, lactosa y extracto seco).

Prima

In agnelle di razza Assaf Spagnola, la riduzione della quantità di succedaneo del latte somministrato durante il trattamento sperimentale, ha determinato una maggiore ingestione di alimento solido per tutto il periodo di allattamento. Tuttavia, il trattamento non ha influenzato l'ingestione e il peso vivo degli animali dopo lo svezzamento.

Il livello di ingestione di energia tra lo svezzamento ed i 5 mesi di età è risultato correlato inversamente con l'ingestione di alimento ed il ritmo di crescita degli animali durante il periodo successivo (tra i 5 mesi di età e l'inizio della gestazione). Ingestioni giornaliere di concentrato pari a 38, 22 e 13 g di sostanza secca/kg peso vivo nella prima fase, hanno comportato il verificarsi di un accrescimento compensativo nella seconda, con incrementi giornalieri pari a 142, 182 e 197 g rispettivamente, i quali non hanno tuttavia permesso di equilibrare il peso vivo degli animali all'accoppiamento.

Il livello di ingestione di energia fino ai 5 mesi di età non ha comportato differenze significative sull'ingestione di alimento e sul peso vivo degli animali nei periodi di gestazione e lattazione.

Seconda

Il livello di ingestione di energia fino ai 5 mesi di età ha influenzato l'accrescimento e lo sviluppo della ghiandola mammaria in agnelle di razza Assaf Spagnola.

La quantità di succedaneo del latte ingerito dagli animali ha influenzato significativamente la composizione della ghiandola mammaria ai 10 mesi di età. A quantità maggiori di succedaneo del latte somministrati hanno risposto un maggiore volume totale e del tessuto extraparenchimatico.

La più alta ingestione di concentrato tra lo svezzamento ed i 5 mesi di età ha influenzato positivamente il volume totale della ghiandola mammaria e del tessuto extraparenchimatico sia ai 5 che ai 10 mesi di età. Il volume di tessuto parenchimatico è risultato diverso nel confronto tra i gruppi soltanto ai 10 mesi di età, mostrandosi maggiore negli animali sottoposti ad alimentazione ad libitum.

Il trattamento alimentare nel periodo compreso tra lo svezzamento ed i 5 mesi di età, ha comportato differenze significative nella superficie della cisterna ghiandolare misurata

nel momento della sincronizzazione dell'ovulazione. Non sono state osservate differenze sia nel periodo di gestazione che durante la lattazione.

Il livello di ingestione tra la nascita ed i 5 mesi di età non ha comportato differenze rilevanti sulla morfologia mammaria in nessuno dei momenti della lattazione.

Terza

Il differente livello di ingestione di energia a cui sono state sottoposte le agnelle di razza Assaf Spagnola tra la nascita ed i 5 mesi di età non ha prodotto effetti significativi né sulla quantità né sulla composizione (grasso, proteina, lattosio e residuo secco) del latte prodotto durante la prima lattazione.

First

In the Spanish Assaf ewe lambs, the restriction of the level of milk replacer intake during the suckling period resulted in a greater ingestion of solid feed in this period, but affected neither the feed intake nor the live weight from the weaning to the end of the first lactation.

The level of energy intake from weaning to 5 months of age was inversely correlated with the feed intake and with the animals' growth rate during the following period (i.e., from 5 months of age to the beginning of pregnancy). Thus, daily concentrate intakes of 38, 22 and 13 g dry matter/kg of live weight in the first phase caused a compensatory growth in the second one, with daily gains of 142, 182 and 197 g that, however, did not eventually equal the live weights at the beginning of the pregnancy.

The level of energy intake up to 5 months of age did not significantly affect the feed intake or the live weight of the animals during the pregnancy and the lactation periods.

Second

The level of energy intake up to 5 months of age affected the growth and the development of the Spanish Assaf ewe lambs' mammary gland.

The amount of milk replacer consumed by the animals caused significant differences in the composition of the mammary gland at 10 months of age, both total and extraparenchymal tissue volumes being greater in the animals fed on the highest level.

A greater concentrate intake from weaning to 5 months of age was responsible for a greater total volume of mammary gland and extraparenchymal tissue at 5 and 10 months of age. The volume of parenchymal tissue did only differ at 10 months, and was greater in the ewe lambs that consumed the concentrate *ad libitum*.

The feeding from weaning to 5 months of age affected significantly the area of the mammary cistern when this was measured just before the synchronization of the ovulation, but no variations were observed during the pregnancy or the lactation.

The level of intake from birth to 5 months of age did not cause significant changes in the mammary morphology during the lactation.

Third

The different level of energy intake received by the Spanish Assaf ewe lambs from birth to 5 months of age did not significantly affect the milk production and composition (fat, protein, lactose and total solids) during the first lactation.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdalla, H.O.; Fox, D.G. and Thonney, M.L. 1988.** Compensatory gain by Holstein calves after underfeeding protein. *Journal of Animal Science*, 66, 2687-2695.
- Abecia, J.A.; Forcada, F. and Zaragaza, L. 1993.** A note on the effect of level of nutrition after weaning on the resumption of reproductive activity by ewes of two spanish breeds lambing in spring. *Animal Production*, 56, 273-276.
- Abeni, F.; Calamari, L.; Stefanini, L. and Pirlo, G. 2000.** Effects of daily gain in pre- and postpubertal replacement dairy heifers on body condition score, body size, metabolic profile, and future milk production. *Journal of Dairy Science*, 83, 1468-1478.
- Accorsi, P.A.; Govoni, N.; Pezzi, C.; Seren, E. and Tamanini, C. 2005.** Leptin, GH, PRL, Insulin and metabolic parameters throughout the dry period and lactation in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animal*, 40, 217-223.
- Accorsi, P.A.; Pacioni, B.; Pezzi, C.; Forni, M.; Flint, D.J. and Seren, E. 2002.** Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor I in mammary gland involution in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 85, 507-513.
- Adam, C.L. and Robinson, J.J. 1994.** The role of nutrition and photoperiod in the timing of puberty. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53, 89-102.
- Akers, R.M. 1990.** Lactation physiology: a ruminant animal perspective. *Protoplasma*, 159, 96-111.
- Akers, R.M. 2000.** Selection for milk production from a lactation biology viewpoint. *Journal of Dairy Science*, 83, 1151-1158.
- Akers, R.M. 2002.** *Lactation and the mammary gland*. Iowa State Press, Iowa, Estados Unidos.
- Akers, R.M. 2006.** Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1222-1234.
- Akers, R.M.; Bauman, D.E.; Capuco, A.V.; Goodman, G.T. and Tucker, H.A. 1981.** Prolactin regulation of milk secretion and biochemical differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows. *Endocrinology*, 109, 23-30.
- Akers, R.M.; McFadden, T.B.; Purup, S.; Vestegaard, M.; Sejrsen, K. and Capuco A.V. 2000.** Local IGF-I axis in peripubertal ruminant mammary development. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5, 43-51.
- Allden, W.G. 1970.** The effects of nutritional deprivation on the subsequent productivity of sheep and cattle. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 40, 1167-1184.
- Allen, P. and Leymaster, K.A. 1985.** Machine error in X-ray computer tomography and its relevance to prediction of in vivo body composition. *Livestock Production Science*, 13, 383-398.
- Alonso, E.; González, M.C. y Redondo, P.A. 2001.** Análisis de manejo de la oveja de raza Castellana. *Archivos de Zootecnia*, 50, 375-378.
- Anderson, R.R. 1975.** Mammary gland growth in sheep. *Journal of Animal Science*, 41, 118-123.
- Anderson, R.R. 1985.** Mammary gland. En: *Lactation*. Ed.: Larson, B.L. The Iowa State University Press, Iowa, Estados Unidos. pp. 3-38.
- Atti, N. and Ben Salem, H.** Compensatory growth and carcass composition of Barbarine lambs receiving different levels of feeding with partial replacement of the concentrate with feed blocks. *Animal Feed Science and Technology* (en prensa).

- Ayadi, M.; Caja, G.; Such, X. y Ghirardi, J. 2002.** Efecto del nivel de alimentación antes de la pubertad en la fertilidad y la producción de leche durante la primera lactación de corderas de raza Manchega y Lacaune. En: *XXVII Jornadas Científicas de la SEOC*, Valencia, España. pp. 127-135.
- Ayadi, M.; Caja, G.; Such, X. and Knight, C.H. 2003.** Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 70, 1-7.
- Bachman, K.C.; Elvinger, F. and Head, H.H. 1999.** Somatotropin (Growth Hormone): effects on lactogenesis and milk production. En: *Biology of lactation*. Eds.: Martinet, J., Houdebine, L.M. and Head, H.H. INRA Editions, Paris, Francia. pp. 261-306.
- Baldi, A.; Modina, S.; Cheli, F.; Gandolfi, F.; Pinotti, L.; Baraldi Scesi, L.; Fantuz, F. and Dell'Orto, V. 2002.** Bovine somatotropin administration to dairy goats in late lactation: effects on mammary gland function, composition and morphology. *Journal of Dairy Science*, 85, 1093-1102.
- Banks, W.J. 1996.** Sistema integumentario. En: *Histología veterinaria aplicada* (2ª Edn.). Ed.: Banks, W.J. El Manual Moderno, México D.F., México. pp. 427-463.
- Barash, H.; Bar-Meir, Y. and Bruckental, I. 1994.** Effects of a low-energy diet followed by a compensatory diet on growth, puberty and milk production in dairy heifers. *Livestock Production Science*, 39, 263-268.
- Bar-Peled, U.; Robinzon, B.; Maltz, E.; Tagari, H.; Folman, Y.; Bruckental, I.; Voet, H.; Gacitua, H. and Lehrer, A.R. 1997.** Increased weight gain and effects on production parameters of Holstein calves that were allowed to suckle from birth to six weeks of age. *Journal of Dairy Science*, 80, 2523-2528.
- Barr, F. 1999.** Ecografía diagnóstica. En: *Manual de diagnóstico por imagen en pequeños animales*. Ed.: Lee, R. Ediciones S, Barcelona, España. pp. 197-209.
- Barreiro, A.; Vázquez, C. y Pererira, J.L. 1996.** Otros medios de diagnóstico clínico. En: *Cirugía veterinaria*. Eds.: Gonzalo, J.M.; Avila, I.; San Román, F.; Orden, A.; Sánchez Valverde, M.A.; Bonafonte, I.; Pereira, J.L. y García, F. Interamericana McGraw-Hill, Madrid, España. pp. 851-857.
- Bartha, T.; Sayed-Ahmed, A. and Rudas, P. 2005.** Expression of leptin and its receptors in various tissues of ruminants. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 193-202.
- Bartlett, K.S.; McKeith, F.K.; VandeHaar, M.J.; Dahl, G.E. and Drackley, J.K. 2006.** Growth and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein at two feeding rates. *Journal of Animal Science*, 84, 1454-1467.
- Bassett, J.M. 1974.** Early changes in plasma insulin and growth hormone levels after feeding in lambs and adult sheep. *Australian Journal of Biology Sciences*, 27, 157-166.
- Bauman, D.E.; Peel, C.J.; Steinhour, W.D.; Reynolds, P.J.; Tyrrell, H.F.; Brown, A.C.G. and Haaland, G.L. 1988.** Effect of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and nonesterified fatty acids. *Journal of Nutrition*, 118, 1031-1040.
- Baumrucker, C.R. and Erondy, N.E. 2000.** Insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine mammary gland and milk. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5, 53-64.
- Baumrucker, C.R. and Stemberger, B.H. 1989.** Insulin and insulin-like growth factor-I stimulate DNA synthesis in bovine mammary tissue in vitro. *Journal of Animal Science*, 67, 3503-3514.

- Bencini, R. and Pulina, G. 1997.** The quality of sheep milk: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 37, 485-504.
- Bernard, L.; Leroux, C. and Chilliard, Y. 2006.** Characterization and nutritional regulation of the main lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. En: *Ruminant physiology*. Eds.: Sejrsen, K.; Hvelplund, T. and Nielsen, M.O. Wageningen Academia Publishers, Wageningen, Holanda. pp. 295-326.
- Berry, S.D.K.; Howard, R.D.; Jobst, P.M.; Jiang, H. and Akers, R.M. 2003a.** Interactions between the ovary and the local IGF-I axis modulate mammary development in prepubertal heifers. *Journal of Endocrinology*, 177, 295-304.
- Berry, S.D.K.; Jobst, P.M.; Ellis, S.E.; Howard, R.D.; Capuco, A.V. and Akers, R.M. 2003b.** Mammary epithelial proliferation and estrogen receptor α expression in prepubertal heifers: effects of ovariectomy and growth hormone. *Journal of Dairy Science*, 86, 2098-2105.
- Berry, S.D.; McFadden, T.B.; Pearson, R.E. and Akers, R.M. 2001.** A local increase in the mammary IGF-I:IGFBP-3 ratio mediates the mammogenic effects of estrogen and growth hormone. *Domestic Animal Endocrinology*, 21, 39-53.
- Block, S.S.; Butler, W.R.; Ehrhardt, R.A.; Bell, A.W.; Van Amburgh, M.E. and Boisclair, Y.R. 2001.** Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *Journal of Endocrinology*, 171, 339-348.
- Block, S.S.; Rhoads, R.P.; Bauman, D.E.; Ehrhardt, R.A.; McGuire, M.A.; Crooker, B.A.; Griinari, J.M.; Mackle, T.R.; Weber, W.J.; Van Amburgh, M.E. and Boisclair, Y.R. 2003a.** Demonstration of a role for insulin in the regulation of leptin in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 3508-3515.
- Block, S.S.; Smith, J.M.; Ehrhardt, R.A.; Diaz, M.C.; Rhoads, R.P.; Van Amburgh, M.E. and Boisclair, Y.R. 2003b.** Nutritional and developmental regulation of plasma leptin in dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 86, 3206-3214.
- Bocquier, F. et Caja, G. 2001.** Production et composition du lait de brebis: effets de l'alimentation. *INRA Productions Animales*, 14, 129-140.
- Bocquier, F.; Barillet, F.; Guillouet, P. et Jacquin, M. 1993.** Prédiction de l'énergie du lait de brebis à partir de différents résultats d'analyses: proposition de lait standard pour les brebis laitières. *Annales de Zootechnie*, 42, 57-66.
- Bodas, R. 2004.** *El bicarbonato sódico en la alimentación de corderos en la etapa de crecimiento-cebo y de ovejas en lactación*. Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Bonnet, M.; Delavaud, C.; Laud, K.; Gourdou, I.; Leroux, C.; Djiane, J. and Chilliard, Y. 2002a.** Mammary leptin synthesis, milk leptin and their putative physiological roles. *Reproduction Nutrition Development*, 42, 399-413.
- Bonnet, M.; Delavaud, C.; Rouel, J. and Chilliard, Y. 2005.** Pregnancy increases plasma leptin in nulliparous but not primiparous goats while lactation depresses it. *Domestic Animal Endocrinology*, 28, 216-223.
- Bonnet, M.; Gourdou, I.; Leroux, C.; Chilliard, Y. and Djiane, J. 2002b.** Leptin expression in the ovine mammary gland: putative sequential involvement of adipose, epithelial, and myoepithelial cells during pregnancy and lactation. *Journal of Animal Science*, 80, 723-728.
- Borellini, F. and Oka, T. 1989.** Growth control and differentiation in mammary epithelial cells. *Environmental Health Perspectives*, 80, 85-99.
- Boutinaud, M.; Guinard-Flament, J. and Jammes, H. 2004.** The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reproduction Nutrition Development*, 44, 499-508.

- Brameld, J.M. 1997.** Molecular mechanisms involved in the nutritional and hormonal regulation of growth in pigs. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56, 607-619.
- Brameld, J.M. 2005.** Physiology of growth. En: *Calf and heifer rearing*. Ed.: Garnsworthy, P.C. Nottingham University Press, Nottingham, Reino Unido. pp. 237-251.
- Brameld, J.M.; Buttery, P.J.; Dawson, J.M and Happer, J.M.M. 1998.** Nutritional and hormonal control of skeletal-muscle cell growth and differentiation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 57, 207-217.
- Brisken, C.; Kaur, S.; Chavarria, T.E.; Binart, N.; Sutherland, R.L.; Weinberg, R.A.; Kelly, P.A. and Ormandy, C.J. 1999.** Prolactin controls mammary gland development via direct and indirect mechanisms. *Development Biology*, 210, 96-106.
- Brown, E.G.; VandeHaar, M.J.; Daniels, K.M.; Liesman, J.S.; Chapin, L.T.; Forrest, J.W.; Akers, R.M.; Pearson, R.E. and Weber Nielsen, M.S. 2005.** Effect of increasing energy and protein intake on mammary development in heifers calves. *Journal of Dairy Science*, 88, 595-603.
- Brown, E.G.; VandeHaar, M.J.; Daniels, K.M.; Liesman, J.S.; Chapin, L.T. and Weber Nielsen, M.S. 2002.** Increasing energy and protein intake of Holstein heifer calves increases mammary development. *Journal of Animal Science*, 80 (Suppl.1), 80.
- Bruckmaier, R.M. and Blum, J.W. 1992.** B-mode ultrasonography of mammary glands of cows, goats and sheep during α - and β -adrenergic agonist and oxytocin administration. *Journal of Dairy Research*, 59, 151-159.
- Bruckmaier, R.M. and Blum, J.W. 1998.** Oxytocin release and milk removal in ruminants. *Journal of Dairy Science*, 81, 939-949.
- Bruckmaier, R.M.; Paul, G.; Mayer, H. and Schams, D. 1997.** Machine milking of Ostfriesian and Lacaune dairy sheep: udder anatomy, milk ejection and milking characteristics. *Journal of Dairy Research*, 64, 163-172.
- Bruckmaier, R.M.; Ritter, C.; Schams, D. and Blum, J.W. 1994a.** Machine milking of dairy goats during lactation: udder anatomy, milking characteristics, and blood concentrations of oxytocin and prolactin. *Journal of Dairy Research*, 61, 457-466.
- Bruckmaier, R.M.; Rothenanger, E. and Blum, J.W. 1994b.** Measurement of mammary gland cistern size and determination of the cisternal milk fraction in dairy cows. *Milchwissenschaft*, 49, 543-546.
- Brusa, C.M. 1998.** *Crecimiento y composición corporal de corderos de raza Merina durante el cebo intensivo: efecto de la inclusión de una etapa previa de pastoreo y del suplemento proteico administrado*. Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Buskirk, D.D.; Faulkner, D.B.; Hurley, W.L.; Kesler, D.J.; Ireland, F.A.; Nash, T.G.; Castre, J.C. and Vicini, J.L. 1996.** Growth, reproductive performance, mammary development, and milk production of beef heifers as influenced by prepubertal dietary energy and administration of bovine somatotropin. *Journal of Animal Science*, 74, 2649-2662.
- Butler, A.A. and Le Roith, D. 2001.** Control of growth by the somatotropic axis: growth hormone and the insulin-like growth factors have related and independent roles. *Annual Review of Physiology*, 63, 141-164.
- Caja, G.; Such, X. and Rovai, M. 2000.** Udder morphology and machine milking ability in dairy sheep. En: *Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Eds.: Thomas, D.L. and Poter, S. Guelph, Canada. pp. 17-40.

- Caja, G.; Such, X.; Ruberte, J.; Carretero, A. and Navarro, M. 1999.** The use of ultrasonography in the study of mammary gland cisterns during lactation in sheep. En: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*. Eds.: Barillet, F. and Zervas, N.P. EAAP Publication n° 95, Wageningen Pers, Wageningen, Holanda. pp. 91-93.
- Caldeira, R.M.; Belo, A.T.; Santos, C.C.; Vazques, M.I. and Portugal, A.V. 2007.** The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Ruminant Research*, 68, 233-241.
- Callejo, A. y Aldeanueva, L. 1998.** El ordeño mecánico en el ganado ovino. En: *Ovino de leche: aspectos claves* (2ª Edn.). Coord.: Buxadé, C. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pp. 155-178.
- Campbell, P.G.; Skaar, T.C.; Vega, J.R. and Baumrucker, C.R. 1991.** Secretion of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins from bovine mammary tissue in vitro. *Journal of Endocrinology*, 128, 219-228.
- Cannas, A. 2002.** Feeding of lactating ewes. En: *Dairy sheep feeding and nutrition*. Ed.: Pulina, G. Avenue Media®, Bologna, Italia. pp. 123-166.
- Cannas, A.; Nudda, A. and Pulina, G. 2002.** Nutritional strategies to improve lactation persistency in dairy ewes. En: *Proceedings of the 8th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Eds.: Thomas, D.L. and Poter, S. Ithaca, Estados Unidos. pp. 17-59.
- Cañeque, V.; Velasco, S.; Díaz, M. T.; Huidobro, F.R.; Pérez, C. and Lauzurica, S. 2003.** Use of whole barley with a protein supplement to fatten lambs under different management systems and its effects on meat and carcass quality. *Animal Research*, 52, 271-285.
- Cappio-Borlino, A.; Macciotta, N.P.P. and Pulina, G. 2002.** Mathematical modelling of milk production pattern in dairy sheep. En: *Dairy sheep feeding and nutrition*. Ed.: Pulina, G. Avenue Media®, Bologna, Italia. pp. 29-53.
- Capuco, A.V.; Dahl, G.E.; Wood, D.L.; Moallem, U. and Erdman R.E. 2004.** Effect of bovine somatotropin and rumen-undegradable protein on mammary growth of prepubertal dairy heifers and subsequent milk production. *Journal of Dairy Science*, 87, 3762-3769.
- Capuco, A.V.; Ellis, S.; Wood, D.L.; Akers, R.M. and Garrett, W. 2002.** Postnatal mammary ductal growth: three-dimensional imaging of cell proliferation, effects of estrogen treatment, and expresion of steroid receptors in prepubertal claves. *Tissue and Cell*, 34, 143-154.
- Capuco, A.V.; Smith, J.J.; Waldo, D.R. and Rexroad JR., C.E. 1995.** Influence of prepubertal dietary regimen on mammary growth of Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 78, 2709-2725.
- Capuco, A.V.; Wood, D.L.; Baldwin, R.; Mcleod, K. and Paape, M.J. 2001.** Mammary cell number, proliferation and apoptosis during a bovine lactation: relation to milk production and effect of bST. *Journal of Dairy Science*, 84, 2177-2187.
- Cardellino, R.A. and Benson, M.E. 2002.** Lactation curves of commercial ewes rearing lambs. *Journal of Animal Science*, 80, 23-27.
- Carretero, A.; Ruberte, J.; Caja, G.; Pérez-Aparicio, F.J.; Such, X.; Peris, S.; Manesse, M. and Navarro, M. 1999.** Study on the structure and the development of the canalicular system of the mammary gland during lactation in Manchega and Lacaune dairy sheep. En: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*. Eds.: Barillet, F. and Zervas, N.P. EAAP Publication n° 95, Wageningen Pers, Wageningen, Holanda. pp. 35-39.
- Carson, A.F.; Dawson, L.E.R.; McCoy, M.A.; Kilpatrick, D.J. and Gordon, F.J. 2002.** Effects of rearing regime on body size, reproductive performance and milk production during the first lactation in high genetic merit dairy herd replacements. *Animal Science*, 74, 553-565.

- Carson, A.F.; Dawson, L.E.R.; Wylie, A.R.G. and Gordon, F.J. 2004.** The effect of rearing regime on the development of the mammary gland and claw abnormalities in high genetic merit Holstein-Friesian dairy herd replacements. *Animal Science*, 78, 497-509.
- Carson, A.F.; Wylie, A.R.G.; McEvoy, J.D.G.; McCoy, M. and Dawson, L.E.R. 2000.** The effects of plane of nutrition and diet type on metabolic hormone concentrations, growth and milk production in high genetic merit dairy herd replacements. *Animal Science*, 70, 349-362.
- Carstens, G.E.; Glaser, D.E.; Byers, F.M.; Greene, L.W. and Lunt, D.K. 1997.** Effects of bovine somatotropin treatment and intermittent growth pattern on mammary gland development in heifers. *Journal of Animal Science*, 75, 2378-2388.
- Carta, A.; Sanna, S.; Ruda, S. and Casu, S. 1999.** Genetic aspects of udder morphology in Sarda primiparous ewes. En: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*. Eds.: Barillet, F. and Zervas, N.P. EAAP Publication n° 95, Wageningen Pers, Wageningen, Holanda. pp. 363-368.
- Cartee, R.E.; Ibrahim, A.K. and McLeary, D. 1986.** B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188, 1284-1287.
- Chandolia, R.K.; Bartlewski, P.M.; Omeke, B.C.; Beard, A.P.; Rawlings, N.C. and Pierson, R.A. 1997.** Ultrasonography of the developing reproductive tract in ram lambs: effects of a GnRH agonist. *Theriogenology*, 48, 99-117.
- Charismiadou, M.A.; Bizelis, J.A. and Rogdakis, E. 2000.** Metabolic changes during the perinatal period in dairy sheep in relation to level of nutrition and breed. I. Late pregnancy. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 84, 61-72.
- Chelikani, P.K.; Glimm, D.R. and Kennelly, J.J. 2003a.** Tissue distribution of leptin and leptin receptor mRNA in the bovine. *Journal of Dairy Science*, 86, 2369-2372.
- Chelikani, P.K.; Keisler, D.H. and Kennelly, J.J. 2003b.** Response to plasma leptin concentration to jugular infusion of glucose or lipid is dependent on the stage of lactation of Holstein cows. *Journal of Nutrition*, 133, 4163-4171.
- Chilliard, Y. 1999.** Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. En: *Biology of lactation*. Eds.: Martinet, J., Houdebine, L.M. and Head, H.H. INRA Editions, Paris, Francia. pp. 503-552.
- Chilliard, Y.; Bocquier, F. and Doreau, M. 1998.** Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development*, 38, 131-152.
- Chilliard, Y.; Bonnet, M.; Delavaud, C.; Faulconnier, Y.; Leroux, C.; Djiane, J. and Bocquier, F. 2001.** Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic Animal Endocrinology*, 21, 271-295.
- Chilliard, Y.; Delavaud, C. and Bonnet, M. 2005.** Leptin expression in ruminants: nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 3-22.
- Cifuni, G.F.; Braghieri, A.; Riviezzi, A.M.; Girolami, A. and Napolitano, F. 2003.** Artificial rearing and intramuscular fatty acid composition of unweaned lambs. *Italian Journal of Food Science*, 15, 241-248.
- Clemmons, D.R. 1998.** Role of insulin-like growth factor binding proteins in controlling IGF actions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 140, 19-24.
- Clemmons, D.R. and Underwood, L.E. 1991.** Nutritional regulation of IGF-I and IGF binding proteins. *Annual Review of Nutrition*, 11, 393-412.

- Climent, S. y Bascuas, J.A. 1989.** *Cuadernos de anatomía y embriología veterinaria* (2ª Edn.). Editorial Marban, Madrid, España.
- Coleman, S.W.; Evans, B.C. and Guenther, J.J. 1993.** Body and carcass composition of Angus and Charolais steers as affected by age and nutrition. *Journal of Animal Science*, 71, 86-95.
- Cowie, A.T.; Tindal, J.S. and Yokohama, A. 1966.** The induction of mammary growth in the hypophysectomized goat. *Journal of Endocrinology*, 34, 185-195.
- Dallard, B.E.; Ortega, H.H.; Lorente, J.A. and Romano, G.S. 2005.** Immunolocalization and expresion of insulin-like growth factor I (IGF-I) in the ovine mammary gland during mammogenesis, lactation and involution. *Small Ruminant Research*, 25, 1-11.
- Davies, D.A.R. and Owen, J.B. 1967.** The intensive rearing of lambs. 1. Some factors affecting performance in the liquid feeding period. *Animal Production*, 9, 501-508.
- Davis, L.; Weber Nielsen, M.; Keisler, D.; Chapin, L.; Liesman, J. and VandeHaar, M. 2005.** Increasing time of a high energy diet increases expression of leptin in the mammary gland of prepubertal heifers. *Journal of Animal Science*, 83 (Suppl. 1), 79.
- Davis Rincker, L.E., Weber Nielsen, M.S.; Chapin, L.T.; Liesman, J.S.; Daniels, K.M.; Akers, R.M. and VandeHaar, M.J. 2008.** Effects of feeding prepubertal heifers a high-energy diet for three, six, or twelve weeks on mammary growth and composition. *Journal of Dairy Science*, 91, 1926-1935.
- Degen, A.A. and Benjamin, R.W. 2003.** Milk intake and growth rate of Awassi lambs sucking ewes grazing of natural pasture in the semi-arid Negev. *Animal Science*, 76, 455-460.
- Delavaud, C.; Bocquier, F.; Chilliard, Y.; Keisler, D.H; Gertler, A. and Kann, G. 2000.** Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *Journal of Endocrinology*, 165, 519-526.
- de la Fuente, L.F.; Fernández, G. and San Primitivo, F. 1996.** A linear evaluation system for udder traits of dairy ewes. *Livestock Production Science*, 45, 171-178.
- Delouis, C.; Houdebine, L.M. et Richard, P. 2001.** La lactation. En: *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Eds.: Thibault, C. et Levasseur, M.C. INRA Editions et Ellipses Editions, Paris, Francia. pp. 580-610.
- Demirören, E.; Shrestha, J.N.B. and Boylan, W.J. 1995.** Breed and enviromental effects on components of ewe productivity in terms of multiple births, artificial rearing and 8-month breeding cycles. *Small Ruminant Research*, 16, 239-249.
- Diaz, M.C.; Van Amburgh, M.E.; Smith, J.M.; Kelsey, J.M. and Hutten, E.L. 2001.** Composition of growth of Holstein calves fed milk replacer from birth to 105-kilogram body weight. *Journal of Dairy Science*, 84, 830-842.
- Dickson, W.M. 1993.** Endocrine glands. En: *Dukes' physiology of domestic animals* (11ª Edn.). Eds.: Swenson, M.J. and Reece, W.O. Cornell University Press, Ithaca, Estados Unidos. pp. 629-664.
- Díez, P.; Mantecón, A.R.; Villadangos, B.; Serrano, E. y Lavín, P. 2001.** Características de los sistemas de producción de ovino de leche de raza Assaf. *ITEA, vol. extra*, 22, 424-426.
- Dobos, R.C.; Nandra, K.S.; Riley, K.; Fulkerson, W.J.; Lean, I.J. and Kellaway, R.C. 2000.** The effect of dietary protein level during the pre-pubertal period of growth on mammary gland development and subsequent milk production in Friesian heifers. *Livestock Production Science*, 63, 235-243.

- Drackley, J.K.; Beaulieu, A.D. and Elliott, J.P. 2001.** Responses of milk fat composition to dietary fat or nonstructural carbohydrates in Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 84, 1231-1237.
- Drackley, J.K.; Pollard, B.C.; Dann, H.M. and Stamey, J.A. 2007.** First-lactation milk production for cows fed control or intensified milk replacer programs as calves. *Journal of Dairy Science*, 90 (Suppl. 1), 614.
- Drouillard, J.S.; Klopfenstein, T.J.; Britton, R.A.; Bauer, M.L.; Gramlich, S.M.; Wester, T.J. and Ferrell, C.L. 1991.** Growth, body composition and visceral organ mass and metabolism in lambs during and after metabolizable protein or net energy restrictions. *Journal of Animal Science*, 69, 3357-3375.
- Duan, C. and Xu, Q. 2005.** Roles of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins in regulating IGF actions. *General and Comparative Endocrinology*, 142, 44-52.
- Dyce, K.M.; Sack, W.O. and Wensing, C.J.G. 1999a.** La ubre de los rumiantes. En: *Anatomía veterinaria* (2ª Edn.). McGraw-Hill Interamericana, México D.F., México. pp. 807-817.
- Dyce, K.M.; Sack, W.O. and Wensing, C.J.G. 1999b.** Tegumento común. En: *Anatomía veterinaria* (2ª Edn.). McGraw-Hill Interamericana, México D.F., México. pp. 377-396.
- Dýrmondsson, O.R. 1981.** Natural factors affecting puberty and reproductive performance in ewe lambs: a review. *Livestock Production Science*, 8, 55-65.
- Eckert, R. 1991.** Mensajeros químicos y reguladores. En: *Fisiología animal: mecanismos y adaptaciones* (3ª Edn.). Interamericana McGraw-Hill, Madrid, España. pp. 266-328.
- Ehrhardt, R.A.; Greenwood, P.L.; Bell, A.W. and Boisclair, Y.R. 2003.** Plasma leptin is regulated predominantly by nutrition in preruminant lambs. *Journal of Nutrition*, 133, 4196-4201.
- Ehrhardt, R.A.; Slepatis, R.M.; Siegal-Willott, J.; Van Amburgh, M.E.; Bell, A.W. and Boisclair, Y.R. 2000.** Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology*, 166, 519-528.
- Ellis, S.; McFadden, T.B. and Akers, R.M. 1998.** Prepubertal ovine mammary development is unaffected by ovariectomy. *Domestic Animal Endocrinology*, 15, 217-225.
- Emediato, R.M.S.; Siqueira, E.R.; Stradiotto, M.M.; Maestá, S.A. and Fernandes, S. 2008.** Relationship between udder measurements and milk yield in Bergamasca ewes in Brazil. *Small Ruminant Research*, 75, 232-235.
- Epstein, H. 1985.** The Awassi sheep with special reference to the improved dairy type. *FAO Animal Production and Health Paper*, n° 57, Roma, Italia.
- Etchebarne, B.E.; Silva, L.F.P.; Rosa, G.J.M.; Coussens, P.M.; Weber Nielsen, M.S. and VandeHaar, M.J. 2003.** IGF-I infusion alters gene expression profile of prepubertal bovine mammary parenchyma. *Journal of Animal Science*, 81 (Suppl. 1), 165.
- Eyal, E. 1982.** Nutrición de ovejas de producción lechera. *ITEA*, 47, 19-28.
- Eyal, E.; Lawi, A. and Shimshony, A. 1986.** Contemporary performance comparisons of Chios and Assaf sheep and of their crosses under intensive indoor management. Preliminary results. *Annales de Zootechnie*, 35, 219-230.
- Fancellu, S. 2002.** *La misurazione della cisterna mammaria in pecore di razza Sarda con l'impiego del metodo ecografico.* Tesi di Laurea. Univesità degli Studi di Sassari, Sassari, Italia.

- Farmer, C.; Petitclerc, D.; Sorensen, M.T.; Vignola, M. and Dourmad, J.Y. 2004.** Impacts of dietary protein level and feed restriction during prepuberty on mammary development in gilts. *Journal of Animal Science*, 82, 2343-2351.
- Fernández, G.; Álvarez, P.; San Primitivo, F. and de la Fuente, L.F. 1995.** Factors affecting variation of udder traits of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 78, 842-849.
- Fernández, G.; Baro, J.A.; de la Fuente, L.F. and San Primitivo, F. 1997.** Genetic parameters for linear udder traits of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 80, 601-605.
- Fernández, M.; Giráldez, F.J.; Frutos, P.; Hervás, G. and Mantecón, A.R. 2005.** Effect of undegradable protein conionin the post-weaning diet on body growth and reproductive development in Assaf rams. *Theriogenology*, 63, 2206-2218.
- Ferrell, C.L.; Koong, L.J. and Nienaber, J.A. 1986.** Effect of previous nutrition on body composition and maintenance energy costs of growing lambs. *British Journal of Nutrition*, 56, 595-605.
- Flint, D.J. and Knight, C.H. 1997.** Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2, 41-48.
- Flint, D.J.; Tonner, E. and Allan, G.J. 2000.** Insulin-like growth factor binding proteins: IGF-dependent and -independent effects in the mammary gland. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5, 65-73.
- Flint, D.J.; Tonner, E.; Knight, C.H.; Whitelaw, C.B.A.; Webster, J.; Barber, M. and Allan, G. 2001.** Control of mammary involution by insulin-like growth factor binding proteins: role of prolactin. *Livestock Production Science*, 70, 115-120.
- Foldager, J. and Krohn, C.C. 1994.** Heifer calves reared on very high or normal levels of whole milk from birth to six to eight weeks of age and their subsequent milk production. *Proceedings of the Society of Nutrition and Physiology*, 3, 301.
- Foldager, J. and Sejrsen, K. 1991.** Rearing intensity in dairy heifers and the effect on subsequent milk production. Report 693, *National Institute for Animal Science*, Dinamarca.
- Forcada, F.; Zaragaza, L. y Abecia, J.A. 1994.** Efecto de la nutrición sobre los parámetros reproductivos. (I) Efectos a largo plazo. *Ovis*, 33, 29-46.
- Ford, J.A. and Park, C.S. 2001.** Nutritionally directed compensatory growth enhances heifer development and lactation potential. *Journal of Dairy Science*, 84, 1669-1678.
- Forsyth, I.A. 1986.** Variation among species in the endocrine control of mammary growth and function: the roles of prolactin, growth hormone and placental lactogen. *Journal of Dairy Science*, 69, 886-903.
- Forsyth, I.A. 1989a.** Mammary development. *Proceedings of the Nutrition Society*, 48, 17-22.
- Forsyth, I.A. 1989b.** Growth factors in mammary gland function. *Journal of Reproduction and Fertility*, 85, 759-770.
- Forsyth, I.A. 1991.** The mammary gland. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 5, 809-832.
- Forsyth, I.A. 1996.** The insulin-like growth factor and epidermal growth factor families in mammary cell growth in ruminants: action and interaction with hormones. *Journal of Dairy Science*, 79, 1085-1096.
- Forsyth, I.A. and Lee, P.D. 1993.** Bromocriptine treatment of periparturient goats: long-term suppression of prolactin and lack of effect on lactation. *Journal of Dairy Research*, 60, 307-317.

- Forsyth, I.A.; Taylor, J.A. and Moorby, C.D. 1998.** DNA synthesis by ovine mammary alveolar epithelial cells: effects of heparin, epidermal growth factor-related peptides and interaction with stage of pregnancy. *Journal of Endocrinology*, 156, 283-290.
- Foster, M.A.; Fowler, P.A.; Fuller, M.F. and Knight, C.H. 1988.** Non-invasive methods for assessment of body composition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 47, 375-385.
- Foster, M.A.; Hutchinson, J.M.S.; Mallard, J.R. and Fuller, M. 1984.** Nuclear magnetic resonance pulse sequence and discrimination of high- and low-fat tissues. *Magnetic Resonance Imaging*, 2, 187-192.
- Fowler, P.A.; Knight, C.H.; Cameron, G.G. and Foster, M.A. 1990a.** Use of magnetic resonance imaging in the study of goat mammary glands in vivo. *Journal of Reproduction and Fertility*, 89, 359-366.
- Fowler, P.A.; Knight, C.H.; Cameron, G.G. and Foster, M.A. 1990b.** In vivo studies of mammary development in the goat using magnetic resonance imaging (MRI). *Journal of Reproduction and Fertility*, 89, 367-375.
- Fowler, P.A.; Knight, C.H. and Foster, M.A. 1991.** In vivo magnetic resonance imaging studies of mammary development in non-pregnant goats treated with exogenous steroids. *Journal of Dairy Research*, 58, 151-157.
- Franz, S.; Hofmann-Parisot, M.; Baumgartner, W.; Windischbauer, G.; Suchy, A. and Bauder, B. 2001.** Ultrasonography of the teat canal in cows and sheep. *Veterinary Record*, 149, 109-112.
- Franz, S.; Hofmann-Parisot, M. and Baumgartner, W. 2004.** Evaluation of three-dimensional ultrasonography of the bovine mammary gland. *American Journal of Veterinary Research*, 65, 1-5.
- Friedman, J.M. and Halaas, J.L. 1998.** Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395, 763-770.
- Fuller, M.F.; Fowler, P.A.; McNeill, G. and Foster, M.A. 1994.** Imaging techniques for the assessment of body composition. *Journal of Nutrition*, 124, 1546S-1550S.
- Gallego, L.; Caja, G. y Torres, A. 1983.** Estudio de la tipología y características morfológicas de las ubres de ovejas de raza Manchega durante la lactación. En: *III Symposium Internacional de ordeño mecánico en pequeños rumiantes*, Valladolid, España. pp. 100-116.
- Gaskins, C.T.; Snowden, G.D.; Westman, M.K. and Evans, M. 2005.** Influence of body weight, age and weight gain on fertility and prolificacy in four breeds of ewe lambs. *Journal of Animal Science*, 83, 180-1689.
- Gaynor, P.J.; Waldo, D.R.; Capuco, A.V.; Erdman, R.A. and Douglass, L.W. 1995.** Effects of prepuberal growth rate and diet on lipid metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 78, 1534-1543.
- Ginsburg, E.; Das, R. and Vonderhaar, B.K. 1997.** Prolactin: an autocrine growth factor in the mammary gland. En: *Biological Signalling and the Mammary Gland*. Eds.: Wilde, C.J.; Peaker, M. and Taylor, E. Hannah Research Institute, Ayr, Reino Unido. pp. 47-58.
- Goddard, P.J. 2000.** Principios generales. En: *Ecografía veterinaria*. Ed: Goddard, P.J. Acribia, Zaragoza, España. pp. 1-24.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970.** Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agriculture Handbook No. 379*. Agricultural Research Service, USDA. Washington, Estados Unidos.

- Gómez-Cortés, P.; Frutos, P.; Mantecón, A.R.; Juárez, M.; de la Fuente, M. A. and Hervás, G. 2008.** Milk production, conjugated linoleic acid content, and in vitro ruminal fermentation in response to high levels of soybean oil in dairy ewe diet. *Journal of Dairy Science*, 91, 1560–1569.
- González de Bulnes, A.; Santiago Moreno, J. y López Sebastián, A. 1999.** Principios básicos de ultrasonografía. *Ovis*, 61, 13-19.
- González-Romano, N.; Arencibia, A.; Espinosa de los Monteros, A.; Rodríguez, E.; Rivero, M.; Vázquez, J.M.; Capote, J. and Jaber, J.R. 2000.** Anatomical evaluation of the caprine mammary gland by computed tomography, radiology and histology. *Anatomia Histologia Embryologia*, 29, 25-30.
- Goot, H. 1986.** Development of Assaf, a synthetic breed of dairy sheep in Israel. En: *Proceedings of the 37th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Budapest, Hungría. pp. 1-29.
- Gootwine, E. and Pollott, G.E. 2000.** Factors affecting milk production in improved Awassi dairy ewes. *Animal Science*, 71, 607-615.
- Gootwine, E.; Bor, A.; Braw-Tal, R. and Zenou, A. 1993.** Inheritance of birthweight and growth traits in crosses between the Booroola Merino and Assaf sheep breeds. *Livestock Production Science*, 33, 119-126.
- Gordon, I. 1997.** Breeding sheep at younger ages. En: *Controlled reproduction in sheep and goats*. CAB Internacional, Wallingford, Reino Unido. pp. 330-350.
- Govoni, N.; Galeati, G; Castellani, G. and Tamanini, C. 2005.** Leptin concentrations in plasma and follicular fluid from prepubertal gilts as influenced by fasting, refeeding and insulin. *Hormone and Metabolic Research*, 37, 152-158.
- Greco, D. y Stabenfeldt, G.H. 2003.** El sistema endocrino. En: *Fisiología veterinaria* (3ª Edn.). Ed.: Cunningham, J.G. Elsevier, Madrid, España. pp. 324-340.
- Greenwald, G.S. and Terranova, P.F. 1988.** Follicular selection and its control. En: *The physiology of reproduction*. Eds.: Knobil, E. and Neill, J. Raven Press, Nueva York, Estados Unidos. pp. 387-445.
- Greenwood, P.L.; Hunt, A.S.; Hermanson, J.W. and Bell, A.W. 1998.** Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: I. Body growth and composition, and some aspects of energetic efficiency. *Journal of Animal Science*, 76, 2354-2367.
- Greenwood, P.L.; Hunt, A.S.; Slepatis, R.M.; Finnerty, K.D.; Alston, C.; Beermann, D.H. and Bell, A.W. 2002.** Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: III. Regulation of energy metabolism. *Journal of Animal Science*, 80, 2850-2861.
- Gresham, J.D.; McPeake, S.R.; Bernard, J.K.; Riemann, M.J.; Wyatt, R.W. and Henderson, H.H. 1994.** Prediction of live and carcass characteristics of market hogs by use of a single longitudinal ultrasonic scan. *Journal of Animal Science*, 72 1409-1416.
- Griinari, J.M.; McGuire, M.A.; Dwyer, D.A.; Bauman, D.E.; Barbano, D.M. and House, W.A. 1997.** The role of insulin in the regulation of milk protein synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80, 2361-2371.
- Grossman, M.; Hartz, S.M. and Koops, W.J. 1999.** Persistency of lactation yield: a novel approach. *Journal of Dairy Science*, 82, 2192-2197.
- Gulay, M.S.; Hayen, M.J.; Liboni, M.; Belloso, T.I.; Wilcox, C.J. and Head, H.H. 2004.** Low doses of bovine somatotropin during the transition period and early lactation improves milk yield, efficiency of production and other physiological responses of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 948-960.

- Gunn, R.G. 1977.** The effects of two nutritional environments from 6 weeks pre partum to 12 months of age of lifetime performance and reproductive potential of Scottish Blackface ewes in two adults environments. *Animal Production*, 25, 155-164.
- Gunn, R.G.; Sim, D.A. and Hunter, E.A. 1995.** Effects of nutrition in utero and in early life on the subsequent lifetime reproductive performance of Scottish Blackface ewes in two management systems. *Animal Science*, 60, 223-230.
- Gutiérrez, J.P.; Legaz, E. and Goyache, F. 2007.** Genetic parameters affecting 180-days standardised milk yield, test-day milk yield and lactation length in Spanish Assaf (Assaf.E) dairy sheep. *Small Ruminant Research*, 70, 233-238.
- Harrison, R.D.; Reynolds, I.P. and Little, W. 1983.** A quantitative analysis of mammary glands of dairy heifers reared at different rates of live weight gain. *Journal of Dairy Research*, 50, 405-412.
- Heaney, D.P.; Shrestha, J.N.B. and Peters, H.F. 1982.** Potential alternatives to lamb milk replacer for the artificial rearing of lambs. *Canadian Journal of Animal Science*, 62, 1135-1142.
- Hegarty, R.S.; Neutze, S.A. and Oddy, V.H. 1999.** Effects of protein and energy supply on the growth and carcass composition of lambs from differing nutritional histories. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 132, 361-375.
- Hennighausen, L. and Robinson, G.W. 1998.** Think globally, act locally: the making of a mouse mammary gland. *Genes and Development*, 12, 449-455.
- Hennighausen, L.; Robinson, G.W.; Wagner, K. and Liu, X. 1997.** Prolactin signaling in mammary gland development. *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 7567-7569.
- Hervás, G.; Gómez-Cortés, P.; de la Fuente, M.A.; Mantecón, A.R.; Juárez, M.; Giráldez, F.J. and Frutos, P.** Effect of supplementation of grazing dairy ewes with a cereal concentrate on milk fatty acid profile. *Options Méditerranéennes* (en prensa).
- Hervás, G.; Ramella, J.L.; López, S.; González, J.S. and Mantecón, A.R. 2006.** Effect of omitting one or two milkings weekly on lactational performance in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 73, 207-215.
- Hidalgo, C. 1999.** *La rentabilidad de las explotaciones de ovino de leche en zonas desfavorecidas en el ámbito de la nueva P.A.C.* Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Hodge, R.W. 1974.** Efficiency of food conversion and body composition of the preruminant lamb and the young pig. *British Journal of Nutrition*, 32, 113-126.
- Holcombe, D.W.; Krysl, L.J.; Judkins, M.B. and Hallford, D.M. 1992.** Growth performance, serum hormones, and metabolite responses before and after weaning in lambs weaned at 42 days of age: effect of preweaning milk and postweaning alfalfa or grass hay diets. *Journal of Animal Science*, 70, 403-411.
- Holly, J.M.P. and Wass, J.A.H. 1989.** Insulin-like growth factors; autocrine, paracrine or endocrine? New perspectives of the somatomedin hypothesis in the light of recent developments. *Journal of Endocrinology*, 122, 611-618.
- Holtenius, K.; Agenäs, S.; Delavaud, C. and Chilliard, Y. 2003.** Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *Journal of Dairy Science*, 86, 883-891.
- Hosper, R. and Seeh, C. 1999.** Ecografía. En: *Ecografía y endoscopia en la ubre de la vaca. Principios fundamentales*. Boehringer Ingelheim, Stuttgart, Alemania. pp. 27-47.
- Hounsfield, G.N. 1980.** Computed medical imaging. *Science*, 210, 22-28.

- Houseknecht, K.L.; Baile, C.A.; Matteri, R.L. and Spurlock, M.E. 1998.** The biology of leptin: a review. *Journal of Animal Science*, 76, 1405-1420.
- Houseknecht, K.L.; Boggs, D.L.; Champion, D.R.; Sartin, J.L.; Kiser, T.E.; Rampacek, G.B. and Amos, H.E. 1988.** Effect of dietary energy source and level on serum growth hormone, insulin-like growth factor, growth and body composition in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 66, 2916-2923.
- Hovey, R.C.; Davey, H.W.; Mackenzie, D.S. and McFadden, T.B. 1998.** Ontogeny and epithelial-stromal interactions regulate IGF expression in the ovine mammary gland. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 136, 139-144.
- Hovey, R.C.; Harris, J.; Hadsell, D.L.; Lee, A.V.; Ormandy, C.J. and Vondehaar, B.K. 2003.** Local insulin-like growth factor-II mediates prolactin-induced mammary gland development. *Molecular Endocrinology*, 17, 460-471.
- Hurley, W.L. 2006.** Lactation Biology Website. Department of Animal Sciences, Universidad de Illinois, Urbana, Estados Unidos. Disponible en Red: <http://classes.ansci.uiuc.edu/ansc438/> (último acceso: 12.5.2008).
- Iason, G.R. and Mantecón, A.R. 1993.** The effects of dietary protein level during food restriction on carcass and non-carcass components, digestibility and subsequent compensatory growth in lambs. *Animal Production*, 56, 93-100.
- Iason, G.R.; Mantecón, A.R.; Milne, J.A.; Sim, D.A.; Smith, A.D.M. and White, I.R. 1992.** The effect of pattern of food supply on performance, compensatory growth and carcass composition of Beulah and Welsh Mountain lambs. *Animal Production*, 54, 235-241.
- Jammes, H. et Djiane, J. 1988.** Le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonal dans l'espèce bovine. *INRA Productions Animales*, 1, 299-310.
- Jatsch, O. and Sagi, R. 1979.** Machine milkability as related to a dairy yield and its fractions in dairy ewes. *Annales de Zootechnie*, 28, 251-260.
- Jimeno, V.; Castro, T y Rebollar, P.G. 2001.** Interacción nutrición-reproducción en ovino de leche. En: *XVII Curso de Especialización FEDNA: Avances en nutrición y alimentación animal*. Eds.: Rebollar, P.G^a.; de Blas, C. y Mateos, G.G. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid, España. pp. 131-160.
- Johnsson, I.D. 1988.** The effect of prepubertal nutrition on lactation performance by dairy cows. En: *Nutrition and lactation in the dairy cow*. Ed.: Garnsworthy, P.C. Butterworth, Londres, Reino Unido. pp. 171-192.
- Johnsson, I.D. and Hart, I.C. 1985.** Pre-pubertal mammogenesis in the sheep. 1. The effects of level of nutrition on growth and mammary development in female lambs. *Animal Production*, 41, 323-332.
- Johnsson, I.D. and Obst, J.M. 1984.** The effects of level of nutrition before and after 8 months of age on subsequent milk and calf production of beef heifers over three lactations. *Animal Production*, 38, 57-68.
- Johnsson, I.D.; Hart, I.C. and Butler-Hogg, B.W. 1985a.** The effects of exogenous bovine growth hormone and bromocriptine on growth, body development, fleece weight and plasma concentrations of growth hormone, insulin and prolactin in female lambs. *Animal Production*, 41, 207-217.
- Johnsson, I.D.; Hart, I.C.; Simmonds, A.D. and Morant, S.V. 1985b.** Pre-pubertal mammogenesis in the sheep. 2. The effects of level of nutrition on the plasma concentrations of growth hormone, insulin and prolactin at various ages in female lambs and their relationship with mammary development. *Animal Production*, 41, 333-341.

- Johnsson, I.D.; Hart, I.C. and Turvey, A. 1986.** Pre-pubertal mammatogenesis in the sheep. 3. The effects of restricted feeding or daily administration of bovine growth hormone and bromocriptine on mammary growth and morphology. *Animal Production*, 42, 53-63.
- Kabbali, A.; Johnson, W.L.; Johnson, D.W. Goodrich, R.D. and Allen, C.E. 1992.** Effects of undernutrition and refeeding on weights of body parts and chemical components of growing Moroccan lambs. *Journal of Animal Science*, 70, 2859-2865.
- Kann, G. 1997.** Evidence for a mammatogenic role of growth hormone in ewes: effects of growth hormone-releasing factor during artificial induction of lactation. *Journal of Animal Science*, 75, 2541-2549.
- Karamichou, E.; Richardson, R.I.; Nute, G.R.; McLean, K.A. and Bishop, S.C. 2006.** A partial genome scan to map quantitative trait loci for carcass composition, as assessed by X-ray computer tomography, and meat quality traits in Scottish Blackface sheep. *Animal Science*, 82, 301-309.
- Kaskous, S.; Grün, E.; Gottschalk, J. and Hippel, T. 2003.** The behavior of lactogenic and steroid hormones in the blood of Awassi ewes in Syria during lactation. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 116, 117-123.
- Kelly, P.A.; Bachelot, A.; Kedzia, C.; Hennighausen, L.; Ormany, C.J.; Kopchick, J.J. and Binart, N. 2002.** The role of prolactin and growth hormone in mammary gland development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 197, 127-131.
- Kertz, A.F.; Prewitt, L.R. and Ballam, J.M. 1987.** Increased weight gain and effects on growth parameters on Holstein heifer calves from 3 to 12 months of age. *Journal of Dairy Science*, 70, 1612-1622.
- Kirkwood, R.N.; Cumming, D.C. and Aherne, F.X. 1987.** Nutrition and puberty in the female. *Proceedings of the Nutrition Society*, 46, 177-192.
- Klein, D.; Flöck, M.; Khol, J.L.; Franz, S.; Stüger, H.P. and Baumgartner, W. 2005.** Ultrasonographic measurement of the bovine teat: breed differences, and the significance of the measurements for udder health. *Journal of Dairy Research*, 72, 296-302.
- Klein Zeggelink, W.F.A.; Deurloo, E.E.; Muller, S.H.; Schultze Kool, L.J. and Gilhuijs, K.G. 2002.** Reproducibility of mammary gland structure during repeat setups in a supine position. *Medical Physics*, 29, 2062-2069.
- Kleinberg, D.L.; Feldman, M. and Ruan, W.F. 2000.** IGF-I: an essential factor in terminal end bud formation and ductal morphogenesis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5, 7-17.
- Knight, C.H. 1984.** Mammary growth and development: strategies of animals and investigators. *Symposia of the Zoological Society of London*, 51, 147-170.
- Knight, C.H. 2000.** The importance of cell division in udder development and lactation. *Livestock Production Science*, 66, 169-176.
- Knight, C.H. 2001.** Overview of prolactin's role in farm animal lactation. *Livestock Production Science*, 70, 87-93.
- Knight, C.H. and Peaker, M. 1982.** Development of the mammary gland. *Journal of Reproduction and Fertility*, 65, 521-536.
- Knight, C.H. and Wilde, C.J. 1993.** Mammary cell change during pregnancy and lactation. *Livestock Production Science*, 35, 3-19.
- Knight C.H.; Doherty, A.H. and Peaker, M. 1984.** Milk yield in rats in relation to activity and size of the mammary secretory cell population. *Journal of Dairy Research*, 51, 29-35.

- Knight, C.H.; Fowler, P.A. and Wilde, C.J. 1990.** Galactopoietic and mammogenic effects of long-term treatment with bovine growth hormone and thrice daily milking in goats. *Journal of Endocrinology*, 127, 129-138.
- Knight, C.H.; France, J. and Beever, D.E. 1994.** Nutrient metabolism and utilization in the mammary gland. *Livestock Production Science*, 39, 129-137.
- Kolstad, K. 2001.** Fat deposition and distribution measured by computer tomography in three genetic groups of pigs. *Livestock Production Science*, 67, 281-292.
- Labadía, A. y Tovar, J. 1995.** Parto y lactación. En: *Zootecnia: Bases de producción animal. Tomo II, Reproducción y alimentación*. Coord.: Buxadé, C. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pp. 61-79.
- Labussière, J. 1983.** Étude des aptitudes laitières et de la facilité de traite de quelques races de brebis du "Basin Méditerranéen". En: *III Symposium Internacional de ordeño mecánico de pequeños rumiantes*. Valladolid, España. pp. 730-793.
- Labussière, J. 1988.** Review of physiological and anatomical factors influencing the milking ability of ewes and the organization milking. *Livestock Production Science*, 18, 253-274.
- Labussière, J.; Dotchewski, D. et Combaud, J.F. 1981.** Caractéristiques morphologiques de la mamelle des brebis Lacaune. Méthodologie pour l'obtention des dones. Relations avec l'aptitude à la traite. *Annales de Zootechnie*, 30, 115-136.
- Lacasse, P.; Bolck, E.; Guilbault, L.A. and Petitclerc, D. 1993.** Effect of plane of nutrition of dairy heifers before and during gestation on milk production, reproduction and health. *Journal of Dairy Science*, 76, 3420-3427.
- Lammers, B.P. and Heinrichs, A.J. 2000.** The response of altering the ratio of dietary protein to energy on growth, feed efficiency and mammary development in rapidly growing prepubertal heifers. *Journal of Dairy Science*, 83, 977-983.
- Lammers, B.P.; Heinrichs, A.J. and Kensinger, R.S. 1999.** The effects of accelerated growth rates and estrogen implants in prepubertal Holstein heifers on estimates of mammary development and subsequent reproduction and milk production. *Journal of Dairy Science*, 82, 1753-1764.
- Landau, S.; Kababya, D.; Silanikove, N.; Nitsan, R.; Lifshitz, L.; Baram, H.; Bruckental, I. and Mabjeesh, S.J. 2005.** The ratio between dietary rumen degradable organic matter and crude protein may affect milk yield and composition in dairy sheep. *Small Ruminant Research*, 58, 115-122.
- Lavín, M.P. 1996.** *Los sistemas de producción ovina en la provincia de León: factores condicionantes de su distribución y estructura*. Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Lavín, P.; Mantecón, A.R. y Giráldez, F.J. 1997.** Análisis productivo económico de las explotaciones ovinas de leche basadas en las razas Churra y Assaf. *ITEA*, 78, 782-784.
- Lavín, P.; Mantecón, A.R.; Villadangos, B.; López, J. y Díez, P. 2001.** Análisis económico de las explotaciones de ovino de leche de raza Assaf. *ITEA, vol. extra*, 22, 218-220.
- Lawrence, T.L.J. and Fowler, V.R. 1997.** Compensatory growth. En: *Growth of farm animals*. CAB Internacional, Wallingford, Reino Unido. pp. 219-246.
- Legaz, E.; Palacín, I.; Abecia, J.A.; Forcada, F.; Martín, S. y Martino, A. 2006.** Eficacia del uso de melatonina en corderas Assaf con diferentes edades al tratamiento. En: *XXXI Jornadas Científicas de la SEOC*, Zamora, España. pp. 345-347.
- Lehninger, A.J. 1975.** *Biochemistry*. Worth Publishers, Nueva York, Estados Unidos.

- Leitner, G.; Chaffer, M.; Caraso, Y.; Ezra, E.; Kababea, D.; Winkler, M.; Glickman, A. and Saran, A. 2003.** Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition –fat, protein and lactose– in Israeli-Assaf and Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 49, 157-164.
- Leitner, G.; Merin, U.; Glickman, A.; Weisblit, L.; Krifucks, O.; Shwimmer, A. and Saran, A. 2004.** Factors influencing milk quantity and quality in Assaf sheep and goat crossbreds. *South African Journal of Animal Science*, 34 (Suppl. 1), 162-164.
- Le Roith, D.; Bondy, C.; Yakar, S. Liu, J.L. and Butler, A. 2001a.** The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocrine Reviews*, 22, 53-74.
- Le Roith, D.; Scavo, L. and Butler, A. 2001b.** What is the role of circulating IGF-I? *Endocrinology and Metabolism*, 12, 48-52.
- Liefers, S.C.; Veerkamp, R.F.; te Pas, M.F.W.; Delavaud, C.; Chilliard, Y. and van der Lende, T. 2003.** Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight and estrus in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86, 799-807.
- Little, W. and Kay, R.M. 1979.** The effects of rapid rearing and early calving on the subsequent performance of dairy heifers. *Animal Production*, 29, 131-142.
- Littell, R.C.; Milliken, G.A.; Stroup, W.W. and Wolfinger, R.D. 2002.** SAS[®] System for mixed models. SAS Institute Inc, Cary, Estados Unidos.
- López-Campos, O. 2007.** *La vinaza de remolacha: composición química y empleo en la alimentación de ovejas en lactación y corderos en cebo.* Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Luiting, P.; Kolstad, K.; Enting, H. and Vangen, O. 1995.** Pig breed comparison for body composition at maintenance: analysis of computerized tomography data by mixture distributions. *Livestock Production Science*, 43, 225-234.
- Lyons, W.R.; Li, C.H. and Johnson, R.E. 1958.** The hormonal control of mammary growth and lactation. *Recent Progress in Hormone Research*, 14, 219-254.
- Macdonald, K.A.; Penno, J.W.; Bryant, A.M. and Roche, J.R. 2005.** Effect of feeding level pre- and post-puberty and body weight at first calving on growth, milk production, and fertility in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 3363-3375.
- Macfarlane, J.M.; Lewis, R.M.; Emmans, G.C.; Young, M.J. and Simm, G. 2006.** Predicting carcass composition of terminal sire sheep using X-ray computed tomography. *Animal Science*, 82, 289-300.
- Mahouachi, M. and Atti, N. 2005.** Effects of restricted feeding and re-feeding of Barbarine lambs: intake, growth and non-carcass components. *Animal Science*, 81, 305-312.
- Manso, T.; Mantecón, A.R.; Castro, T. and Iason, G.R. 1998.** Effect of intake level during milk-feeding period and protein content in the post-weaning diet on performance and body composition in growing lambs. *Animal Science*, 67, 513-521.
- Manso, T.; Mantecón, A.R.; Lavín, P.; Giráldez, F.J.; Peláez, R. and Ovejero, F.J. 1996.** Effect of level of intake during the milk-feeding period on post-weaning growth in lambs. *Journal of Animal and Feed Science*, 5, 317-325.
- Mantecón, A.R. 1986.** *Necesidades energéticas y proteicas de los corderos lactantes en relación con el ritmo de crecimiento y la composición corporal.* Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Mantecón, A.R. y Lavín, M.P. 2001.** Ovino, presente y futuro: la raza Assaf. *Mundo Ganadero*, 136, 68-72.

- Mäntysaari, P.; Ingvartsen, K.L. and Toivonen, V. 1999.** Feeding intensity of pregnant heifers. Effect of feeding intensity during gestation on performance and plasma parameters of primiparous Ayrshire cows. *Livestock Production Science*, 62, 29-41.
- Mäntysaari, P.; Ingvartsen, K.L.; Toivonen, V. and Sejrsen, K. 1995.** The effects of feeding level and nitrogen source of the diet on mammary development and plasma hormone concentrations of pre-pubertal heifers. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science*, 45, 236-244.
- Mäntysaari, P.; Ojala, M. and Mäntysaari, E.A. 2002.** Measures of before and after breeding daily gains of dairy replacement heifers and their relationship with first lactation milk production traits. *Livestock Production Science*, 75, 313-322.
- MAPA, 2007a.** *Anuario de estadística agroalimentaria 2006*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España.
- MAPA, 2007b.** *Encuestas ganaderas 2006*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España.
- MAPA, 2007c.** *La agricultura, la pesca y la alimentación en España, 2006*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid, España.
- Martínez, R.S.; Mantecón, A.R.; Chico, M.D.; Anel, L.; Jurado, J.J.; Díaz, C.; Pérez, J. y Aparicio, N. 1999.** Origen y características de la raza Assaf. En: *Antecedentes históricos y bases de un programa de mejora genética y selección de la raza Assaf Española*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, León, España. pp. 5-6.
- McCann, M.A.; Goode, L.; Harvey, R.W.; Caruolo, E.V. and Mann, D.L. 1989.** Effects of rapid weight gain on reproduction, mammary development and lactation in ewe lambs. *Theriogenology*, 32, 55-68.
- McFadden, T.B.; Daniel, T.E. and Akers, R.M. 1990a.** Effects of plane of nutrition, growth hormone and unsaturated fat on mammary growth in prepubertal lambs. *Journal of Animal Science*, 68, 3171-3179.
- McFadden, T.B.; Daniel, T.E. and Akers, R.M. 1990b.** Effects of plane of nutrition, growth hormone and unsaturated fat on growth hormone, insulin and prolactin receptors in prepubertal lambs. *Journal of Animal Science*, 68, 3180-3189.
- McGuire, M.A.; Vicini, J.L.; Bauman, D.E. and Veenhuizen, J.J. 1992.** Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *Journal of Animal Science*, 70, 2901-2910.
- McKusick, B.C.; Berger, Y.M. and Thomas, D.L. 1999.** Preliminary results: effects of udder morphology on commercial milk production of East Friesian crossbred ewes. En: *Proceedings of the 5th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Eds.: Thomas, D.L. and Porter, S. Brattleboro, Estados Unidos. pp. 81-92.
- McKusick, B.C.; Thomas, D.L. and Berger, Y.M. 2001.** Effect of weaning system on commercial milk production and lamb growth of East Friesian dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 84, 1660-1668.
- McKusick, B.C.; Thomas, D.L.; Berger, Y.M. and Marnet, P.G. 2002.** Effect of milking interval on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 85, 2197-2206.
- Mellor, D.J. and Murray, L. 1985.** Effects of maternal nutrition on udder development during late pregnancy and on colostrum production in Scottish Blackface ewes with twin lambs. *Research in Veterinary Science*, 39, 230-234.

- Mellor, D.J.; Flint, D.J.; Vernon, R.G. and Forsyth, I.A. 1987.** Relationships between plasma hormone concentration, udder development and the production of early mammary secretions in twin-bearing ewes on different planes of nutrition. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 72,345-356.
- Meyer, M.J.; Capuco, A.V.; Ross, D.A.; Lintault, L.M. and Van Amburg, M.E. 2006a.** Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: I. Parenchyma and fat pad mass and composition. *Journal of Dairy Science*, 89, 4289-4297.
- Meyer, M.J.; Capuco, A.V.; Ross, D.A.; Lintault, L.M. and Van Amburg, M.E. 2006b.** Developmental and nutritional regulation of the prepubertal heifer mammary gland: II. Epithelial cell proliferation, parenchymal accretion rate, and allometric growth. *Journal of Dairy Science*, 89, 4298-4304.
- Meyer, M.J.; Ross, D.A.; Shaw, D.E. and Van Amburg, M.E. 2004.** Components of growth in Holstein heifers reared from early life on two levels of energy intake. *Journal of Dairy Science*, 87 (Suppl. 1), 210.
- Michel, G y Schwarze, E. 1984.** Glándula mamaria. En: *Compendio de anatomía veterinaria. Tomo VI. Embriología.* Acribia, Zaragoza, España. pp. 284-289.
- Moallem, U.; Dahl, G.E.; Duffey, E.K.; Capuco, A.V. and Erdman, R.A. 2004.** Bovine somatotropin and rumen-undegradable protein effects on skeletal growth in prepubertal dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 87, 3881-3888.
- Molina, E.; Ferret, A.; Caja, G.; Such, X. and Gasa, J. 2001.** Comparison of voluntary food intake, apparent digestibility, digesta kinetics and digestive tract content in Manchega and Lacaune dairy sheep in late pregnancy and early and mid lactation. *Animal Science*, 72, 209-221.
- Morgan, J.A. and Owen, J.B. 1972a.** The nutrition of artificially reared lambs. 1. The effect of different feeding methods applied at three stages of growth. *Animal Production*, 15, 285-292.
- Morgan, J.A. and Owen, J.B. 1972b.** The nutrition of artificially reared lambs. 2. The effect of feed restriction at three stages of growth on growth and carcass composition. *Animal Production*, 15, 293-300.
- Morgan, J.A. and Owen, J.B. 1973.** The nutrition of artificially reared lambs. 3. The effect of sex on the performance and carcass composition of lambs subjected to different nutritional treatments. *Animal Production*, 16, 49-57.
- Müller, U.; Sharifi, A.R.; Staufenbiel, R.; Hasselmann, L.; Tripmacher, R.; Wiebe, J. and Brockmann, G.A. 2005.** Rearing diets effects on body condition and milk performance in first lactating dairy cows - A longitudinal study. *Archiv für Tierzucht*, 48, 417-427.
- Munford, R.E. 1964.** A review of anatomical and biochemical changes in the mammary gland with particular reference to quantitative methods of assessing mammary development. *Dairy Science Abstracts*, 26, 293-304.
- Muñoz, C.; Carson, A.F.; McCoy, M.A.; Dawson, L.E.R.; O'Connell N.E. and Gordon, A.W. 2008.** Nutritional status of adult ewes during early and mid-pregnancy. 1. Effects of plane of nutrition on ewe reproduction and offspring performance to weaning. *Animal*, 2, 55-66.
- Neville, M.C.; McFadden, T.B. and Forsyth, I. 2002.** Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7, 49-66.
- Nielsen, M.O.; Madsen, T.G. and Hedeboe, A.M. 2001a.** Regulation of mammary glucose uptake in goats: role of mammary gland supply, insulin, IGF-1 and synthetic capacity. *Journal of Dairy Research*, 68, 337-349.

- Nielsen, O.L.; Pedersen, A.R. and Sørensen, M.T. 2001b. Relationships between piglet growth rate and mammary gland size of the sow. *Livestock Production Science*, 67, 273-279.
- Niezen, J.H.; Grieve, D.G.; McBride, B.W. and Burton, J.H. 1996. Effect of plane of nutrition before and after 200 kilograms of body weight on mammary development of prepubertal Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 79, 1255-1260.
- Nørgaard, J.V.; Nielsen, M.O.; Theil, P.K.; Sørensen, M.T.; Safayi, S. and Sejrsen, K. 2008. Development of mammary glands of fat sheep submitted to restricted feeding during late pregnancy. *Small Ruminant Research*, 76, 155-165.
- Nudda, A.; Pulina, G.; Vallebella, R.; Bencini, R. and Enne, G. 2000. Ultrasound technique for measuring mammary cistern size of dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 67, 101-106.
- Oddy, V.H. and Sainz, R.D. 2002. Nutrition for sheep-meat production. En: *Sheep nutrition*. Eds.: Freer, M and Dove, H. CAB International, Wallingford, Reino Unido. pp. 237-262.
- Oldham, J.M.; Martyn, J.A.K.; Hua, K.M.; MacDonald, N.A.; Hodgkinson, S.C. and Bass, J. 1999. Nutritional regulation of IGF-II, but not IGF-I, is age dependent in sheep. *Journal of Endocrinology*, 163, 395-402.
- Owen, J.B.; Davies, D.A.R. and Ridgman, W.J. 1969. The effects of varying the quantity and distribution of liquid feed in lambs reared artificially. *Animal Production*, 11, 1-9.
- Palacios, C.; Palacín, I.; Abecia, J.A.; Forcada, F.; Martín, S. y Martino, A. 2006. Utilización práctica de los implantes de melatonina para la cubrición de corderas en cuatro razas ovinas. En: *XXXI Jornadas Científicas de la SEOC*, Zamora, España. pp. 352-354.
- Park, C.S. and Jacobson, N.L. 1993 The mammary gland and lactation. En: *Dukes' physiology of domestic animals* (11^a Edn.). Eds.: Swenson, M.J. and Reece, W.O. Cornell University Press, Ithaca, Estados Unidos. pp. 711-727.
- Park, C.S.; Erickson, G.M.; Choi, Y.J. and Marx, G.D. 1987. Effect of compensatory growth on regulation of growth and lactation: response of dairy heifers to stair-step growth pattern. *Journal of Animal Science*, 64, 1751-1758.
- Peclaris, G.M.; Nikolaou, E.; Kann, G.; Eleftheriou, P.; Yupsanis, T.; Mantzios, A. and Koutsotolis, K. 1997. Effects of melatonin and plane of nutrition on mammary development in prepubertal Boutsiko mountain breed ewe lambs. *Theriogenology*, 48, 143-150.
- Pell, J.M.; Saunders, J.C. and Gilmour, R.S. 1993. Differential regulation of transcription initiation from insulin-like growth factor-I (IGF-I) leader exons and of tissue IGF-I expression in response to changed growth hormone and nutritional status in sheep. *Endocrinology*, 132, 1797-1807.
- Penning, P.D.; Cottrell, K.M. and Treacher, T.T. 1973. The effects of quantity and distribution of milk substitute on the performance of artificially reared lambs to forty-eight days of age. *Animal Production*, 17, 179-186.
- Penning, P.D.; Penning, I.M. and Treacher, T.T. 1977. The effect of temperature and method of feeding on the digestibility of two milk substitutes and on the performance of lambs. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 88, 579-589.
- Peri, I.; Gertler, A.; Bruckental, I. and Barash, H. 1993. The effect of manipulation in energy allowance during the rearing period of heifers on hormone concentrations and milk production in first lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 76, 742-751.
- Petitclerc, D. and Farmer, C. 2003. Use of CAT scan to determine mammary gland development of sows injected with growth hormone releasing factor during gestation and (or) lactation. *Canadian Journal of Animal Science*, 83, 67-72.

- Petitclerc, D.; Chapin, L.T.; Emery, R.S. and Tucker, H.A. 1983.** Body growth, growth hormone, prolactin and puberty response to photoperiod and plane of nutrition in Holstein heifers. *Journal of Animal Science*, 57, 892-898.
- Petitclerc, D.; Chapin, L.T. and Tucker, H.A. 1984.** Carcass composition and mammary development responses to photoperiod and plane of nutrition in Holstein heifers. *Journal of Animal Science*, 58, 913-919.
- Petitclerc, D.; Dumoulin, P.; Ringuet, H.; Mattle, J. and Girard, C. 1999.** Plane of nutrition and folic acid supplementation between birth and four months of age on mammary development of dairy heifers. *Canadian Journal of Animal Science*, 79, 227-237.
- Pirlo, G.; Capeletti, M. and Marchetto, G. 1997.** Effects of energy and protein allowances in the diets of prepubertal heifers on growth and milk production. *Journal of Dairy Science*, 80, 730-739.
- Plath-Gabler, A.; Gabler, C.; Sinowatz, F.; Berisha, B. and Schams, D. 2001.** The expression of the IGF family and GH receptor in the bovine mammary gland. *Journal of Endocrinology*, 168, 39-48.
- Plaut, K.; Ikeda, M. and Vonderhaar, B.K. 1993.** Role of growth hormone and insulin-like growth factor-I in mammary development. *Endocrinology*, 133, 1843-1848.
- Pollott, G.E. and Gootwine, E. 2004.** Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *Journal of Dairy Science*, 87, 3690-3703.
- Pulina, G. and Nudda, A. 2002.** Milk production. En: *Dairy sheep feeding and nutrition*. Ed.: Pulina, G. Avenue Media®, Bologna, Italia. pp. 11-27.
- Pulina, G.; Nudda, A.; Battacone, G. and Cannas, A. 2006.** Effects of nutrition on the contents of fat, protein, somatic cells, aromatic compounds, and undesirable substances in sheep milk. *Animal Feed Science and Technology*, 131, 255-291.
- Pulina, G.; Nudda, A.; Macciotta, N.P.P.; Battacone, G.; Rattu, S.P.G. and Cannas, A. 2007.** Non-nutritional factors affecting lactation persistency in dairy ewes: a review. *Italian Journal of Animal Science*, 6, 115-141.
- Pulina, G.; Nudda, A.; Rattu, S.P.G. e Vallebella, R. 1996.** La misurazione della cisterna ghiandolare nella mammella delle pecore da latte. *L'Informatore Agrario*, 41, 77-78.
- Pulina, G.; Macciotta, N. and Nudda, A. 2005.** Milk composition and feeding in the Italian dairy sheep. *Italian Journal of Animal Science*, 4 (Suppl. 1), 5-14.
- Purroy, A. 1998.** Fisiología de la lactación y aptitud al ordeño mecánico en la oveja. En: *Ovino de leche: aspectos claves* (2ª Edn.). Coord.: Buxadé, C. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. pp. 137-153.
- Purup, S.; Sejrsen, K. and Akers, R.M. 1995.** Effect of bovine GH and ovariectomy on mammary tissue sensitivity to IGF-I in prepubertal heifers. *Journal of Endocrinology*, 144, 153-158.
- Purup, S.; Sejrsen, K.; Foldager, J. and Akers, R.M. 1993.** Effect of exogenous bovine growth-hormone and ovariectomy on prepubertal mammary growth, serum hormones and acute in-vitro proliferative response of mammary explants from Holstein heifers. *Journal of Endocrinology*, 139, 19-26.
- Purup, S.; Vestegaard, M. and Sejrsen, K. 2000.** Involvement of growth factors in the regulation of pubertal mammary growth in cattle. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 480, 27-43.

- Quigley, J.D.; Wolfe, T.A. and Elsasser T.H. 2006.** Effects of additional milk replacer feeding on calf health, growth, and selected blood metabolites in calves. *Journal of Dairy Science*, 89, 207-216.
- Radcliff, R.P.; VandeHaar, M.J.; Chapin, L.T.; Pilbeam, T.E.; Beede, D.K.; Stanisiewski, E.P. and Tucker, H.A. 2000.** Effects of diet and injection of bovine somatotropin on prepubertal growth and first-lactation milk yields of Holsteins cows. *Journal of Dairy Science*, 83, 23-29.
- Radcliff, R.P.; VandeHaar, M.J.; Kobayashi, Y.; Sharma, B.K.; Tucker, H.A. and Lucy, M.C. 2004.** Effect of dietary energy and somatotropin on components of the somatotropin axis in Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 87, 1229-1235.
- Radcliff, R.P.; VandeHaar, M.J.; Skidmore, A.L.; Chapin, L.T.; Radke, B.R.; Lloyd, J.W.; Stanisiewski, E.P. and Tucker, H.A. 1997.** Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. *Journal of Animal Science*, 80, 1996-2003.
- Rae, M.T.; Kyle, C.E.; Miller, D.W.; Hammond, A.J.; Brooks, A.N. and Rhind, S.M. 2002.** The effects of undernutrition, in utero, on reproductive function in adult male and female sheep. *Animal Reproduction Science*, 72, 63-71.
- Ramella, J.L. 2002.** *Producción y composición de la leche en ovejas de raza Assaf: efecto de la duración del intervalo entre ordeños*. Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Ramella, J.L.; González, J.S.; Mantecón, A.R.; Peláez, R y López, S. 2001.** La ingestión de forraje y de concentrado en ovejas de raza Assaf en relación con el nivel de producción de leche y la semana de lactación. *ITEA, vol. extra*, 22, 265-267.
- Ramella, J.L.; Mantecón, A.R.; González, J.S.; López, S. y Peláez, R. 2003.** Fraccionamiento de la leche en ovejas de raza Assaf: 2. correlación con medidas de la glándula mamaria. *ITEA, vol. extra*, 24, 154-156.
- Rassu, S.P.G.; Enne, G.; Ligios, S. and Molle, G. 2002.** Nutrition and reproduction. En: *Dairy sheep feeding and nutrition*. Ed.: Pulina, G. Avenue Media®, Bologna, Italia. pp. 167-196.
- Rattray, P.V.; Garret, W.N.; East, N.E. and Hinman, N. 1974.** Growth, development and composition of the ovine conceptus and mammary gland during pregnancy. *Journal of Animal Science*, 38, 613-626.
- Recabarren, S.E.; Lobos, A.; Ramírez, J.; Orellana, P.; Parilo, J. e Íñiguez, G. 1998.** Secreción pulsátil diurna y nocturna de hormona del crecimiento en ovejas prepúberes con y sin restricción alimentaria. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 30, 91-99.
- Reist, M.; Erdin, D.; von Euw, D.; Tschuemperlin, K.; Leuenberger, H.; Delavaud, C.; Chilliard, Y.; Hammon, H.M.; Kuenzi, N. and Blum, J.W. 2003.** Concentrate feeding strategy in lactating dairy cows: metabolic and endocrine changes with emphasis on leptin. *Journal of Dairy Science*, 86, 1690-1706.
- Requejo, J.A.; Mulas, L.F.; Palacín, I.; Valares, J.A.; Abecia, A.; Forcada, F.; Martin, S. y Martino, A. 2005.** Resultados reproductivos con la utilización de implantes de melatonina (Melovin®) en raza Assaf en la cubrición de agosto-septiembre. En: *XXX Jornadas Científicas de la SEOC*, Granada, España. pp. 450-452.
- Reynolds, I.P. 1982.** *The impairment of lactation associated with rapid growth in Friesian heifers*. Ph.D. Thesis. University of Reading, Reino Unido. (Citado por Sejrsen, K. and Foldager, J. 1992).
- Rhind, S.M. 1992.** Nutrition: its effects on reproductive performance and its hormonal control in female sheep and gotas. En: *Progress in sheep and goat research*. Ed.: Speedy, A.W. CAB Internacional, Wallingford, Reino Unido. pp. 25-51.

- Rhind, S.M. and Schanbacher, B.D. 1991.** Ovarian follicle populations and ovulation rates of Finnish Landrace cross ewes in different nutritional states and associated profiles of gonadotrophins, inhibin, growth hormone (GH) and insulin-like growth factor-I. *Domestic Animal Endocrinology*, 8, 281-291.
- Rhind, S.M.; Elston, D.A.; Jones, J.R.; Rees, M.E.; McMillen, S.R. and Gunn, R.G. 1998.** Effects of restriction of growth and development of Brecon Cheviot ewe lambs on subsequent lifetime reproductive performance. *Small Ruminant Research*, 30, 121-126.
- Robinson, J.J. 1990.** Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutrition Research Reviews*, 3, 253-276.
- Robinson, J.J.; Ashworth, C.J.; Rooke, J.A.; Mitchell, L.M. and McEvoy, T.G. 2006.** Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 259-276.
- Rodríguez, A.B.; Landa, R.; Bodas, R.; Prieto, N.; Mantecón, A.R. and Giráldez, F.J.** Carcass and meat quality of Assaf milk fed lambs: Effect of rearing system and sex. *Meat Science* (en prensa).
- Ross, R.; Léger, L.; Guardo, R.; de Guise, J. and Pike, B.G. 1991.** Adipose tissue volume measured by magnetic resonance imaging and computerized tomography in rats. *Journal of Applied Physiology*, 70, 2164-3172.
- Rovai, M. 2001.** *Caracteres morfológicos y fisiológicos que afectan la aptitud al ordeño mecánico en ovejas de raza Manchega y Lacaune*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Rovai, M.; Such, X.; Caja, G. and Piedrafita, J. 2002.** Changes in cisternal and alveolar milk throughout lactation in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 85 (Suppl. 1), 4.
- Rovai, M.; Such, X.; Piedrafita, J.; Caja, G. and Pujol, R.M. 1999.** Evolution of mammary morphology traits during lactation and its relationship with milk yield of Manchega and Lacaune dairy sheep. En: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*. Eds.: Barillet, F. and Zervas, N.P. EAAP Publication n° 95, Wageningen Pers, Wageningen, Holanda. pp. 107-109.
- Ruberte, J.; Carretero, A.; Fernández, M.; Navarro, M.; Caja, G.; Kirchner, F. and Such, X. 1994a.** Ultrasound mammography in the lactating ewe and its correspondence to anatomical section. *Small Ruminant Research*, 13, 199-204.
- Ruberte, J.; Carretero, A.; Fernández, M.; Pons, J.; Gine, J.M. y Sautet, J. 1994b.** Anatomía de la ubre de la oveja: datos morfológicos necesarios para comprender la producción de leche y el ordeño. *Ovis*, 32, 9-16.
- Ruiz, R.; Oregui, L.M. and Herrero, M. 2000.** Comparison of models for describing the lactation curve of Latxa sheep and analysis factors affecting milk yield. *Journal of Dairy Science*, 83, 2709-2719.
- Russel, A.J.F. 2000.** Ecografía y composición corporal en la oveja. En: *Ecografía veterinaria*. Ed.: Goddard, P.J. Acribia, Zaragoza, España. pp. 369-379.
- Russel, A.J.F.; Doney, J.M. and Gunn, R.G. 1969.** Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 72, 451-454.
- Ryan, W.J. 1990.** Compensatory growth in cattle and sheep. *Nutrition Abstracts and Reviews, Series B, Livestock Feeds and Feeding*, 60, 653-664.
- Ryan, W.J.; Williams, I.H. and Moir, R.J. 1993a.** Compensatory growth in sheep and cattle. I. Growth pattern and feed intake. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44, 1609-1621.

- Ryan, W.J.; Williams, I.H. and Moir, R.J. 1993b.** Compensatory growth in sheep and cattle. II. Changes in body composition and tissues weights. *Australian Journal of Agricultural Research*, 44, 1623-1633.
- Sagi, R. and Morag, M. 1974.** Udder conformation, milk yield and milk fractionation in the dairy ewe. *Annales de Zootechnie*, 23, 185-192.
- San Primitivo, F. y de la Fuente, L.F. 2000.** Situación actual de la oveja de raza Churra. *Archivos de Zootecnia*, 49, 161-165.
- Sandles, L.D.; Peel, C.J. and Temple-Smith, P.D. 1987.** Mammogenesis and first lactation milk yields of identical-twin heifers following pre-pubertal administration of bovine growth hormone. *Animal Production*, 45, 349-357.
- Sanz Sampelayo, M.R.; Prieto, I.; Lara, L.; Gil Extremera, F. and Boza, J. 1994.** Granadina kid goats v. Segureña lambs: food intake and performance during milk feeding from birth to 60 days. *Animal Production*, 58, 257-261.
- SAS 1999.** *SAS/STAT® User's guide (Version 8)*. SAS Publishing, Cary, Estados Unidos.
- Sauerwein, H.; Heintges, U.; Hennies, M.; Selhorst, T. and Daxenberger, A. 2004.** Growth hormone induced alterations of leptin serum concentrations in dairy cows as measured by a novel enzyme immunoassay. *Livestock Production Science*, 87, 189-195.
- Schaller, O. 1996.** *Nomenclatura anatómica veterinaria ilustrada*. Acribia, Zaragoza, España.
- Schmidt, G.H. 1974.** *Biología de la lactación*. Acribia, Zaragoza, España.
- Sejrsen, K. 1978.** Mammary development and milk yield in relation to growth rate in dairy and dual-purpose heifers. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 28, 41-46.
- Sejrsen, K. 2005.** Mammary development and milk yield potential. En: *Calf and heifer rearing*. Ed.: Garnsworthy, P.C. Nottingham University Press, Nottingham, Reino Unido. pp. 237-251.
- Sejrsen, K. and Foldager, J. 1992.** Mammary growth and milk production capacity of replacement heifers in relation to diet energy concentration and plasma hormone levels. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A, Animal Science*, 42, 99-105.
- Sejrsen, K. and Purup, S. 1997.** Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: a review. *Journal of Animal Science*, 75, 828-835.
- Sejrsen, K.; Foldager, J.; Sorensen, M.T.; Akers, M. and Bauman, D.E. 1986.** Effect of exogenous bovine somatotropin on pubertal mammary development in heifers. *Journal of Dairy Science*, 69, 1528-1535.
- Sejrsen, K.; Huber, J.T. and Tucker, H.A. 1983.** Influence of amount fed on hormone concentrations and their relationship to mammary growth in heifers. *Journal of Dairy Science*, 66, 845-855.
- Sejrsen, K.; Huber, J.T.; Tucker, H.A. and Akers, R.M. 1982.** Influence of nutrition on mammary development in pre- and postpubertal heifers. *Journal of Dairy Science*, 65, 793-800.
- Sejrsen, K.; Purup, S. and Akers, R.M. 1990.** Manipulation of growth and development of the mammary gland in heifers for increased milk yield. En: *Proceedings of the XXIII International Dairy Congress*, Montreal, Canadá. pp. 679-689.
- Sejrsen, K.; Purup, S. and Foldager, J. 1995.** Influence of nutrition on pubertal mammary development and subsequent milk yield potential of dairy heifers: a review. *Journal of Animal Science*, 73 (Suppl. 1), 288.

- Sejrsen, K.; Purup, S.; Martinussen, H. and Vestergaard, M. 1998.** Effect of feeding level on mammary growth in calves and prepubertal heifers. *Journal of Animal Science*, 76 (Suppl.1), 377.
- Sejrsen, K.; Purup, S.; Vestergaard, M. and Foldager, J. 2000.** High body weight gain and reduced bovine mammary growth: physiological basis and implications for milk yield potential. *Domestic Animal Endocrinology*, 19, 93-104.
- Sejrsen, K.; Purup, S.; Vestergaard, M.; Weber, M.S. and Knight, C.H. 1999.** Growth hormone and mammary development. *Domestic Animal Endocrinology*, 17, 117-129.
- Shamay, A.; Cohen, N.; Niwa, M. and Gertler, A. 1988.** Effect of insulin-like growth factor-I on deoxyribonucleic-acid synthesis and galactopoiesis in bovine undifferentiated and lactating mammary tissue in vitro. *Endocrinology*, 123, 804-809.
- Shamay, A.; Pines, M.; Waksman, M. and Gertler, A. 1990.** Proliferation of bovine undifferentiated mammary epithelial cells in vitro is modulated by G-proteins. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 69, 217-226.
- Shamay, A.; Werner, D.; Moallem, U.; Barash, H. and Bruckental, I. 2005.** Effect of nursing management and skeletal size at weaning on puberty, skeletal growth rate and milk production during first lactation of dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 88, 1460-1469.
- Sharma, B.K.; VandeHaar, M.J. and Ames, N.K. 1994.** Expression of insulin-like growth factor-I in cows at different stages of lactation and in late lactation treated with somatotropin. *Journal of Dairy Science*, 77, 2232-2241.
- Sheffield, L.G. 1988.** Organization and growth of mammary epithelia in the mammary gland fat pad. *Journal of Dairy Science*, 71, 2855-2874.
- Silva, L.F.P.; Liesman, J.S.; Weber Nielsen, M.S. and VandeHaar, M.J. 2003.** Intramammary infusion of leptin decreases proliferation of mammary epithelial cells in prepubertal heifers. *Journal of Animal Science*, 81 (Suppl. 1), 166.
- Silva, L.F.P.; VandeHaar, M.J.; Weber Nielsen, M.S. and Smith, G.W. 2002a.** Evidence for a local effect of leptin in bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 85, 3277-3286.
- Silva, L.F.P.; VandeHaar, M.J.; Whitlock, B.K.; Radcliff, R.P. and Tucker, H.A. 2002b.** Relationship between body growth and mammary development in dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 85, 2600-2602.
- Sinha, Y.N. and Tucker, H.A. 1969.** Mammary development and pituitary prolactin level of heifers from birth through puberty and during the estrous cycle. *Journal of Dairy Science*, 52, 207-512.
- Sinowatz, F.; Schams, D.; Kölle, S.; Plath, A.; Lincoln, D. and Waters, M.J. 2000.** Cellular localisation of GH receptor in the bovine mammary gland during mammogenesis, lactation and involution. *Journal of Endocrinology*, 166, 503-510.
- Smith, J.J.; Capuco, A.V.; Beal, W.E. and Akers, R.M. 1989.** Association of prolactin and insulin receptors with mammogenesis and lobulo-alveolar formation in pregnant ewes. *International Journal of Biochemistry*, 21, 73-81.
- Smith, J.L. and Sheffield, L.G. 2002.** Production and regulation of leptin in bovine mammary epithelial cells. *Domestic Animal Endocrinology*, 22, 145-154.
- Smith, J.M.; Van Amburgh, M.E.; Díaz, M.C.; Lucy, M. C. and Bauman, D.E. 2002.** Effect of nutrient intake on the development of the somatotrophic axis and its responsiveness to GH in Holstein bull calves. *Journal of Animal Science*, 80, 1528-1537.

- Snowder, G.D. and Glimp, H.A. 1991.** Influence of breed, number of suckling lambs, and stage of lactation on ewe milk production and lamb growth under range conditions. *Journal of Animal Science*, 69, 923-930.
- Sorensen, A.; Adam, C.L.; Findlay, P.A.; Marie, M.; Thomas, L.; Travers, M.T. and Vernon, R.G. 2002.** Leptin secretions and hypothalamic neuropeptide and receptor gene expression in sheep. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 282, R1227-R1235.
- Sørensen, M.T.; Sejrsen, K. and Foldager, J. 1987.** Estimation of pubertal mammary development in heifers by computed tomography. *Journal of Dairy Science*, 70, 265-270.
- Sormunen-Cristian, R. and Jauhiainen, L. 2000.** Feeding levels during the growing phase affect the production of primiparous Finnish Landrace ewes. *Agricultural and Food Science in Finland*, 9, 187-200.
- Stabenfeldt, G.H. y Davidson, A.P. 2003a.** Ciclos reproductores. En: *Fisiología veterinaria* (3ª Edn.). Ed.: Cunningham, J.G. Elsevier, Madrid, España. pp. 389-397.
- Stabenfeldt, G.H. y Davidson, A.P. 2003b.** La glándula mamaria. En: *Fisiología veterinaria* (3ª Edn.). Ed.: Cunningham, J.G. Elsevier, Madrid, España. pp. 406-420.
- Stabenfeldt, G.H. and Edqvist, L.E. 1993.** Female reproductive processes. En: *Dukes' physiology of domestic animals* (11ª Edn.). Eds.: Swenson, M.J. and Reece, W.O. Cornell University Press, Ithaca, Estados Unidos. pp. 678-710.
- Stanford, K.; Jones, S.D.M. and Price, M.A. 1998.** Methods of predicting lamb carcass composition: a review. *Small Ruminant Research*, 29, 241-254.
- Starck, G.; Lönn, L.; Cederblad, A.; Alpsten, M.; Sjöström, L. and Ekholm, S. 1998.** Dose reduction for body composition measurements with CT. *Applied Radiation and Isotopes*, 49, 561-563.
- Steinmetz, R.W.; Grant, A.L. and Malven, P.V. 1993.** Transcription of prolactin gene in milk secretory cells of the rat mammary gland. *Journal of Endocrinology*, 136, 271-276.
- Stelwagen, K. and Grieve, D.G. 1990.** Effect of plane of nutrition on growth and mammary gland development en Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 73, 2333-2341.
- Stelwagen, K. and Grieve, D.G. 1992.** Effect of plane of nutrition between 6 and 16 months of age on body composition, plasma hormone concentrations and first-lactation milk production in Holstein heifers. *Canadian Journal of Animal Science*, 72, 337-346.
- Stelwagen, K.; Grieve, D.G.; Walton, J.S.; Ball, J.L. and McBride, B.W. 1993.** Effect of prepartum bovine somatotropin in primigravid ewes on mammatogenesis, milk production, and hormone concentrations. *Journal of Dairy Science*, 76, 992-1001.
- Stull, M.A.; Richert, M.M.; Loladze, A.V. and Wood, T.L. 2002.** Requirement for IGF-I in epidermal growth factor-mediated cell cycle progression of mammary epithelial cells. *Endocrinology*, 143, 1872-1879.
- Such, X.; Caja, G. and Pérez, L. 1999.** Comparison of milking ability between Manchega and Lacaune dairy ewes. En: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*. Eds.: Barillet, F. and Zervas, N.P. EAAP Publication nº 95, Wageningen Pers, Wageningen, Holanda. pp. 45-50.
- Sulochana, S.; Singh, Y. and Sharma, D.N. 1991.** Histological studies on the development of mammary gland parenchyma in pregnant sheep. *Dairy Science Abstracts*, 53, 1653.
- Svennersten-Sjaunja, K. and Olsson, K. 2005.** Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 241-258.

- Szabo, Cs.; Babinszky, L.; Verstegen, M.W.A.; Vangen, O.; Jansman, A.J.M. and Kanis, E. 1999.** The application of digital imaging techniques in the in vivo stimation of the body composition of pigs: a review. *Livestock Production Science*, 60, 1-11.
- Taylor, V.J.; Beever, D.E.; Bryant, M.J. and Wathes, D.C. 2006.** Pre-pubertal measurements of the somatotrophic axis as predictors of milk production in Hostein-Friesian dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, 31, 1-18.
- Taylor, V.J.; Cheng, Z.; Pushpakumara, P.G.A.; Beever, D.E. and Wathes, D.C. 2004.** Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Veterinary Record*, 155, 583-588.
- Terré, M. 2007.** *Enhanced-growth feeding programs for dairy calves: nutrition, management, and long-term effects*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Terré, M.; Devant, M. and Bach, A. 2006.** Performance and nitrogen metabolism of calves fed conventionally or following an enhanced-growth feeding program during the preweaning period. *Livestock Science*, 105, 109-119.
- Terré, M.; Devant, M. and Bach, A. 2007.** Effect of level of milk replacer fed to Holstein calves on performance during the preweaning period and starter digestibility at weaning. *Livestock Science*, 110, 82-88.
- Thibault, C.; Petitclerc, D.; Spratt, R.; Léonard, M; Sejrsen, K. and Lacasse, P. 2003.** Effect of feeding prepubertal heifers with a high oil diet on mammary development and milk production. *Journal of Animal Science*, 86, 2320-2326.
- Thissen, J.P.; Ketelslegers, J.M. and Underwood, L.E. 1994.** Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocrinology Reviews*, 15, 80-101.
- Thomas, D.L.; Berger, Y.M. and Mckusick, B.C. 1998.** Milk and lamb production of East Friesian-cross ewes in northwestern Wisconsin. En: *Proceedings of the 4th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Eds.: Thomas, D.L. and Rowe, C. Spooner, Estados Unidos. pp. 16-22.
- Thorn, S.R.; Meyer, M.J.; Van Amburgh, M.E. and Boisclair, Y.R. 2007.** Effect of estrogen on leptin and expression of leptin receptor transcripts in prepubertal dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 90, 3742-3750.
- Thorn, S.R.; Purup, S.; Cohic, W.S.; Vestergaard, M.; Sejrsen, K. and Boisclair, Y.R. 2006.** Leptin does not act directly on mammary epithelial cells in prepubertal dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 89, 1467-1477.
- Tolman, B. and McKusick, B.C. 2001.** The effect of growth rate on mammary gland development in ewe lambs: a review. En: *Proceedings of the 7th Great Lakes Dairy Sheep Symposium*. Eds.: Thomas, D.L. and Poter, S. Eau Claire, Estados Unidos. pp. 143-155.
- Tonner, E.; Allan, G.J. and Flint, D.J. 2000a.** Hormonal control of plasmin and tissue-type plasminogen activator activity in rat milk during involution of the mammary gland. *Journal of Endocrinology*, 167, 265-273.
- Tonner, E.; Allan, G.; Shkreta, L.; Webster, J.; Whitelaw, C.B.A. and Flint, J. 2000b.** Insulin-like growth factor binding protein-5 (IGFBP-5) potentially regulates programmed cell death and plasminogen activation in the mammary gland. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 480, 45-53.
- Travers, M.T.; Barber, M.C.; Tonner, E.; Quarrie, L.; Wilde, C.J. and Flint, D.J. 1996.** The role of prolactin and growth hormone in the regulation of casein gene expression and mammary cell survival: relationships to milk synthesis and secretion. *Endocrinology*, 137, 1530-1539.

- Tucker, H.A. 1966.** Regulation of mammary nucleic acid content by various suckling intensities. *American Journal of Physiology*, 210, 1209-1223.
- Tucker, H.A. 1969.** Factors affecting mammary gland cell numbers. *Journal of Dairy Science*, 52, 720-729.
- Tucker, H.A. 1981.** Physiological control of the mammary growth, lactogenesis and lactation. *Journal of Dairy Science*, 64, 1403-1421.
- Tucker, H.A. 1985.** Endocrine and neural control of the mammary gland. En: *Lactation*. Ed: Larson, B.L. The Iowa State University Press, Iowa, Estados Unidos. pp. 39-79.
- Tucker, H.A. 1987.** Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states: a review. *Journal of Dairy Science*, 70, 1958-1966.
- Tucker, H.A. 2000.** Hormones, mammary growth and lactation: a 41-year perspective. *Journal of Dairy Science*, 83, 874-884.
- Turner, C.W. 1952.** *The anatomy of the mammary gland*. Lucas Brothers Publishers, Columbia, Estados Unidos.
- Turner, H.N.; Brown, G.H. and Ford, G.H. 1968.** The influence of age structure on total productivity in breeding flocks of Merino sheep. 1. Flocks with a fixed number of breeding ewes, producing their own replacements. *Australian Journal of Agricultural Research*, 19, 443-475.
- Ugarte, E.; Ruiz, R.; Gabiña, D. and Beltrán de Heredia, I. 2001.** Impact of high-yielding foreing breeds on the Spanish dairy sheep industry. *Livestock Production Science*, 71, 3-10.
- Umberger, S.H.; Goode, L.; Caruolo, E.V.; Harvey, R.W.; Britt, J.H. and Linnerud, A.C. 1985.** Effects of accelerated growth during rearing on reproduction and lactation in ewes lambing at 13 to 15 months of age. *Theriogenology*, 23, 555-564.
- Van Amburgh, M.E.; Galton, D.M.; Bauman, D.E.; Everett, R.W.; Fox, D.G.; Chase, L.E. and Erb, H.N. 1998.** Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. *Journal of Dairy Science*, 81, 527-538.
- Van Amburgh, M.E.; Galton, D.M.; Fox, D.G. and Bauman, D.E. 1991.** Optimizing heifer growth. En: *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, Rocester, Estados Unidos. pp. 85-93.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991.** Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- VandeHaar, M.J.; Silva, L.F.P.; Etchebarne, B.E. and Weber Nielsen, M.S. 2002.** Potential role for leptin in mammary development of heifers. *Journal of Animal Science*, 80 (Suppl.1), 80.
- VandeHaar, M.J.; Silva, L.F.P.; Whitlock, B.K.; Radcliff, R.P.; Tucker, H.A. 2001.** Relationship of body growth to mammary development in dairy heifers. *Livestock Production Science*, 70, 176.
- Vangen, O. 1991.** Estimation of body composition in pigs using computer assisted tomography. *Pigs News and Information*, 13, 159N-162N.
- Vestergaard, M.; Purup, S.; Frystyk, J.; Løvendahl, P.; Sørensen, M.T.; Riis, P.M.; Flint, D.J. and Sejrsen, K. 2003.** Effects of growth hormone and feeding level on endocrine measurements, hormone receptors, muscle growth and performance of prepubertal heifers. *Journal of Animal Science*, 81, 2189-2198.

- Vestergaard, M.; Purup, S.; Henckel, P.; Tonner, E.; Flint, D.J.; Jense, L.R. and Sejrsen, K. 1995.** Effects of growth hormone and ovariectomy on performance, serum hormones, insulin-like growth factor-binding proteins, and muscle fiber properties of prepubertal Friesian heifers. *Journal of Animal Science*, 73, 3574-3584.
- Vicini, J.L.; Buonomo, F.C.; Veenhuizen, J.L.; Miller, M.A.; Clemmons, D.R. and Collie, R.J. 1991.** Nutrient balance and stage of lactation affect responses of insulin, insulin-like growth factors I and II, and insulin-like growth factor-binding protein 2 to somatotropin administration in dairy cows. *Journal of Nutrition*, 121, 1656-1661.
- Vicini, J.L.; Hartnell, G.F.; Veenhuizen, J.J.; Collier, R.J. and Munyakazi, L. 1995.** Effect of supplemental dietary fat or protein on the short-term milk production response to bovine somatotropin. *Journal of Dairy Science*, 78, 863-871.
- Waldo, D.R.; Capuco, A. and Rexroad, C.E. 1998.** Milk production of Holstein heifers fed either alfalfa or corn silage at two rates of gain. *Journal of Dairy Science*, 81, 756-764.
- Wallace, C. 1953.** Observations on mammary development in calves and lambs. *Journal of Dairy Science*, 43, 413-421.
- Wang, Z. and Goonewardene, L.A. 2004.** The use of mixed models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. *Canadian Journal of Animal Science*, 84, 1-11.
- Weber, M.S.; Purup, S.; Vestegaard, M.; Akers, R.M. and Sejrsen, K. 2000a.** Nutritional and somatotropin regulation of the mitogenic response of mammary cells to mammary tissue extracts. *Domestic Animal Endocrinology*, 18, 159-164.
- Weber, M.S.; Purup, S.; Vestegaard, M.; Akers, R.M. and Sejrsen, K. 2000b.** Regulation of local sintesis of insulin-like growth factor-1 and binding proteins in mammary tissue. *Journal of Dairy Science*, 83, 30-37.
- Weber, M.S.; Purup, S.; Vestergaard, M.; Ellis, S.E.; Søndergård-Andersen, J.; Akers, R.M. and Sejrsen, K. 1999.** Contribution of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 to mitogenic activity in bovine mammary extracts and serum. *Journal of Endocrinology*, 161, 365-373.
- Welsch, C.W.; DeHoog, J.V.; O'Connor, D.H. and Sheffied, L.G. 1985.** Influence of dietary fat levels on development and hormone responsiveness of the mouse mammary gland. *Cancer Research*, 45, 6147-6154.
- Whitlock, B.K.; VandeHaar, M.J.; Silva, L.F.P. and Tucker, H.A. 2002.** Effect of dietary protein on prepubertal mammary development in rapidly growing dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 85, 1516-1525.
- Wilde, C.J.; Henderson, A.J. and Knight, C.H. 1986.** Metabolic adaptations in goat mammary tissue during pregnancy and lactation. *Journal of Reproduction and Fertility*, 76, 289-298.
- Winder, S.J.; Turvey, A. and Forsyth, I.A. 1989.** Stimulation of DNA synthesis in cultures of ovine mammary epithelial cells by insulin and insulin-like growth factors. *Journal of Endocrinology*, 123, 319-326.
- Wojtowski, J.; Slosarz, P. and Junkuszew, A. 2006.** Application of ultrasound technique for cistern size measurement in dairy goats. *Archiv für Tierzucht*, 49, 382-388.
- Wood, T.L.; Richert, M.M.; Stull, M.A. and Allar, M.A. 2000.** The insulin-like growth factors (IGFs) and IGF binding proteins in postnatal development of murine mammary glands. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 5, 31-42.
- Yambayamba, E.S.K. and Price, M.A. 1997.** Effect of compensatory growth on mammary growth and development in beef heifers. *Livestock Production Science*, 51, 237-244.

- Yelich, J.V.; Wettemann, R.P.; Dolezal, H.G.; Lusby, K.S.; Bishop, D.K. and Spicer, L.J. 1995.** Effects of growth rate on carcass composition and lipid partitioning at puberty and growth hormone, insulin-like growth factor I, insulin and metabolites before puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 73, 2390-2405.
- Yonekura, S.; Kitade, K.; Furukawa, G.; Takahashi, K.; Katsumata, N.; Katoh, K. and Obara, Y. 2002.** Effects of aging and weaning on mRNA expression of leptin and CCK receptors in the calf rumen and abomasum. *Domestic Animal Endocrinology*, 22, 25–35.
- Yonekura, S.; Sakamoto, K.; Komatsu, T.; Hagino, A.; Katoh, K. and Obara, Y. 2006.** Growth hormone and lactogenic hormones can reduce the leptin mRNA expression in bovine mammary epithelial cells. *Domestic Animal Endocrinology*, 31, 88-96.
- Yonekura, S.; Senoo, T.; Kobayashi, Y.; Yonezawa, T.; Katoh, K. and Obara, Y. 2003.** Effects of acetate and butyrate on the expression of leptin and short-form leptin receptor in bovine and rat anterior pituitary cells. *General and Comparative Endocrinology*, 133, 165-172.
- Zanton, G.I. and Heinrichs, A.J. 2007.** The effects of controlled feeding of a high-forage or high-concentrate ration on heifer growth and first-lactation milk production. *Journal of Dairy Science*, 90, 3388-3396.
- Zhang, J. and Grieve, D.G. 1993.** Effects of B-agonist and dietary protein on growth and carcass composition of female lambs. *Journal of Dairy Science*, 76 (Suppl.1), 291.
- Zhang, J.; Grieve, D.G.; Hacker, R.R. and Burton, J.H. 1995.** Effects of dietary protein percentage and B-agonist administered to prepubertal ewes on mammary gland growth and hormone secretions. *Journal of Animal Science*, 73, 2655-2661.
- Zhang, Y.; Proenca, R.; Maffel, M.; Barone, M.; Leopold, L. and Friedman, J.M. 1994.** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.
- Zidi, A.; Ayadi, M.; Caja, G.; Such, X.; Ghirardi, J.J. y Albanell, E. 2005.** Efectos de la alimentación antes de la pubertad sobre la vida productiva de ovejas lecheras de raza Manchega y Lacaune. *ITEA, vol. extra*, 26, 249-251.
- Zidi, A.; Caja, G.; Ayadi, M.; Castillo, V.; Flores, C. y Such, X. 2007a.** Comparación de los efectos de la alimentación pre-puberal en el desarrollo mamario y la producción de leche a la primera lactación en ovino de raza Manchega y Lacaune. *ITEA, vol. extra*, 28, 285-287.
- Zidi, A.; Caja, G.; Ayadi, M.; Castillo, V.; Flores, C. and Such, X. 2007b.** Pre-pubertal nutrition affects mammary development and first lactation performance depending on growth potential in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 90 (Suppl. 1), 209.
- Zieba, D.A.; Amstalden, M. and Williams, G.L. 2005.** Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 166-185.

*Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.*

*Al andar se hace camino
y al volver la vista atrás
se ve la senda que nunca
se ha de volver a pisar.*

A. Machado

