

II-OBJETIVOS

II. OBJETIVOS

El trabajo que se propone a continuación se ha realizado en su totalidad en la Granja Experimental de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona, en el marco de las líneas de investigación del Departamento de Ciencia Animal i de los Alimentos de esta Universidad. Sus objetivos son los siguientes:

1. Caracterizar los principales aspectos morfológicos de la ubre de dos razas ovinas de distinto potencial genético y productivo, como son la Manchega y la Lacaune, sometidas a un mismo sistema de manejo a lo largo de la lactación, y estudiar los distintos factores de variación que pueden modificar la morfología mamaria.
2. Realizar un estudio de la relación existente entre la morfología de la ubre y la producción lechera de las ovejas de ambas razas a lo largo de la lactación, controlando la leche producida en cada periodo de medida y la leche total de los animales utilizados.
3. Proponer una clasificación lineal de diversos caracteres morfológicos mamarios, relacionándolos con los caracteres morfológicos medidos y con la producción lechera, con la intención de simplificar y hacer viable en la práctica la utilización de la morfología mamaria en los procesos de selección y mejora.
4. Valorar el área de la cisterna mamaria mediante ecografía mamaria, y relacionar dicha medida con los parámetros morfológicos externos de la ubre y con la cantidad de leche producida por la oveja.
5. Determinar las variables que describen parcialmente la variabilidad morfológica de la ubre, para establecer un sistema simplificado de evaluación de ubres ovinas, y proponer una clasificación de ubres para las razas Manchega y Lacaune.
6. Estudiar los parámetros de aptitud al ordeño mecánico de ambas razas ovinas, definidos por el fraccionamiento de leche en la ubre o durante el ordeño mecánico, y por la cinética de emisión a máquina, valorando las relaciones existentes entre estos caracteres y los morfológicos mamarios.
7. Estudiar el fraccionamiento de leche en la ubre y el área ecográfica de la cisterna mamaria en ovejas de raza Manchega y Lacaune, mediante la utilización de un bloqueador de los receptores de la oxitocina.

III-MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III-1. REBAÑO

III-1.1. Animales

En el presente trabajo de investigación se han utilizado dos razas de ovino lechero de distinto potencial productivo y parecido formato corporal, la Manchega y la Lacaune, a lo largo de cuatro lactaciones sucesivas: 1996, 1997, 1998 y 1999. Las ovejas de raza Lacaune son animales de alto potencial productivo, sometidos a un proceso de selección genética intenso durante los últimos años, mientras que las ovejas de raza Manchega se caracterizan por presentar una producción lechera media.

Las ovejas, en un total de 232 en el conjunto de la experiencia, pertenecían al rebaño experimental de la Facultad de Veterinaria de la U.A.B, y se distribuyeron como se observa en la Tabla III-1.

Tabla III-1. Material animal.

Raza	Año experimental			
	1996	1997	1998	1999
Manchega	63	45	25	10
Lacaune	24	32	23	10
Total	87	77	48	20

III-1.2. Manejo del rebaño experimental

El rebaño se manejó con un ritmo reproductivo de un parto al año, inseminándose los animales en el mes de julio, tras utilizar un tratamiento hormonal para la sincronización de celos (esponjas vaginales impregnadas con FGA e inyección de PMSG en el momento de la retirada de las mismas). Las ovejas que no quedaron gestantes por inseminación se cubrieron mediante monta natural controlada. La paridera tuvo lugar de diciembre a enero.

El programa sanitario empleado en la granja experimental incluyó vacunaciones de enterotoxemia (Polibascol9[®], Schering-Plough Animal Health), clamidiasis (Bedsa-vac[®], Fort Dodge) y paratuberculosis (Gudair[®], Schering-Plough Animal Health). La desparasitación se realizó dos veces al año (antes de la cubrición y del parto; Hapasil[®], Schering-Plough Animal

Health). Los animales recibieron un tratamiento antibiótico sistemático al secado (Mastisalt secado[®], Intervet). El rebaño está saneado contra la brucelosis.

A continuación se detalla el sistema de cría, la alimentación y las diferentes particularidades de cada año experimental:

- **Primer año (lactación 1996):**

Los animales, de distintas edades y diferente nivel de producción, se sometieron después del parto y durante los 14 primeros días, a un sistema de cría exclusiva, para pasar posteriormente a un sistema de cría y ordeño simultáneos (C+O), en el que las ovejas se ordeñaban una vez al día por la tarde, dejando que los corderos mamaran de sus madres posteriormente durante toda la tarde-noche. El destete definitivo de los corderos se realizó a los 42 días post-parto (Figura III-1), pasando las ovejas a dos ordeños diarios.

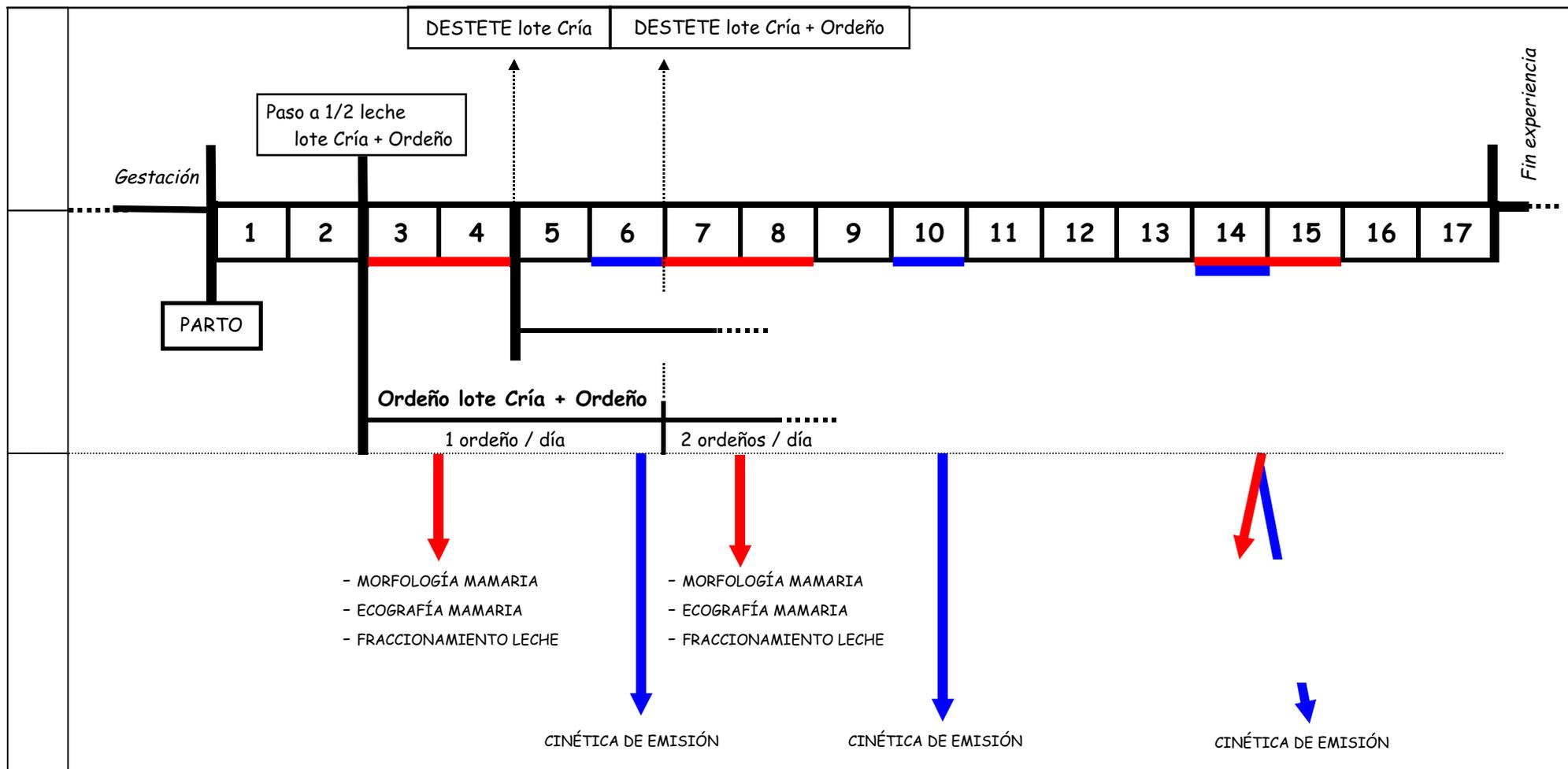
El rebaño experimental se mantuvo en un régimen de semi-estabulación, con pastoreo sobre una pradera de rye-grass italiano (*Lolium multiflorum Lam*) como ración base, durante seis horas, después del ordeño de la mañana. La dieta de las ovejas se suplementó con 0.70 kg/día de concentrado (81.3% de cebada, 13.6% harina de soja y 5.1% de corrector vitamínico-mineral), administrado en la sala de ordeño por la mañana y por la tarde.

- **Segundo año (lactación 1997):**

Los animales, también de distintas edades y diferente nivel de producción, se distribuyeron en dos grupos según el sistema de cría:

- a) *cría y ordeño simultáneos* (C+O): con un manejo similar al que se ha detallado en el primer año experimental.
- b) *cría exclusiva* (C): los animales se sometieron a un sistema de cría exclusiva hasta los 28 días post-parto (Figura III-1), momento en que se realizó el destete brusco de los corderos. A partir de este instante las ovejas se ordeñaron dos veces al día.

Figura III-1. Esquema del calendario experimental.



La división en lotes tuvo lugar a los 14 días post-parto, durante el período de cría, y la distribución de los animales se hizo en función de la producción y composición química de la leche, número de corderos criados y recuento de células somáticas. Para ello se realizaron dos controles consecutivos de producción durante el período de cría, según la metodología descrita por Doney *et al.* (1979) mediante el empleo de oxitocina.

El rebaño experimental se dispuso en grupos de 24 ovejas, diferenciadas en cuanto al sistema de cría utilizado. Los animales, bajo un régimen de estabulación permanente, fueron alimentados en pesebre hasta la octava semana de lactación, momento a partir del cual salieron a una pradera de ray-grass italiano, durante seis horas al día.

Durante el periodo de estabulación, las ovejas recibieron como ración base ensilado de maíz *ad libitum* y granulado de alfalfa deshidratada (0.8 kg/d), que se distribuyeron conjuntamente y de forma colectiva en pesebre. Asimismo, dicha ración se suplementó por la mañana con 0.675 kg de concentrado (0.25 kg de harina de soja deshidratada, 0.4 kg de cebada en grano y 0.025 kg/d de compuesto vitamínico-mineral), en la sala de ordeño para las ovejas del lote C+O y en pesebre para las de cría exclusiva (C), y por la tarde las ovejas recibieron en pesebre cebada en grano (0.4 kg). A partir de la octava semana de lactación, coincidiendo con el inicio del consumo de la pradera de rye-grass italiano, el ensilado de maíz y la alfalfa deshidratada fueron eliminados de la dieta, siendo sustituidos por heno de rye-grass *ad libitum*.

- **Tercer año (lactación 1998):**

Todos los animales fueron sometidos a un sistema de cría y ordeño simultáneos como el detallado en el primer año experimental.

El rebaño se mantuvo desde el parto en un régimen de semi-estabulación, con pastoreo en una pradera de rye-grass italiano como ración base, aproximadamente durante seis horas después del ordeño de la mañana.

Los animales se suplementaron con 0.5 kg/d de un concentrado granulado (60.6% de cebada, 14.1% de harina de pescado, 20.2% de soja, 3.0% de sal y 2.0% de corrector), administrado en la sala de ordeño. Además, las ovejas consumieron una mezcla de maíz y alfalfa deshidratada *ad libitum* y granulado de alfalfa (0.4 kg/día) en pesebre.

- **Cuarto año (lactación 1999):**

Durante este año se realizó una experiencia metodológica, mediante la utilización de un antagonista de la oxitocina (Atosiban[®], Ferring Lab., Sweden) para valorar el fraccionamiento de leche en la ubre de las ovejas. Los animales estuvieron sometidos a un sistema de cría exclusiva hasta los 28 días post-parto, pasando a ordeño mecánico dos veces al día. La dieta administrada fue similar a la descrita en el tercer año experimental (1998).

III-1.3. Ordeño mecánico

Los animales se ordeñaron en una sala tipo “Casse”, con dos plataformas de 12 plazas cada una, 6 unidades de ordeño con medidor de 2 litros (modelo *Bellaterra*[®]; Westfalia Surge Ibérica S.L.), y en línea baja. Las características de funcionamiento de la máquina de ordeño fueron: vacío de 42 kPa, pulsación de 120 ppm y 50% de relación. El ordeño se realizó una vez al día, por la tarde, en las ovejas del lote C+O, desde la segunda semana post-parto hasta el destete de los corderos (6^a semana), y dos veces al día (8:00 de la mañana y 5:30 de la tarde) en los animales de cría exclusiva (lote C), y del lote C+O, tras el destete de los corderos y durante todo el período de ordeño.

La rutina de ordeño empleada fue la siguiente:

- colocación de las pezoneras y extracción de la leche “ordeño a máquina” (LM).
- masaje de las regiones cisternales con las pezoneras colocadas, y extracción de leche de “apurado a máquina” (LAM);
- retirada de las pezoneras y desinfección de los pezones por inmersión en una solución yodada desinfectante (P3-cide plus, Henkel Higiene S.A).

El secado de las ovejas se produjo cuando alcanzaron una producción inferior a 200 ml/día.

III-2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

Al inicio de las experiencias, se comprobó la repetibilidad del Calificador al medir los caracteres morfológicos de la glándula mamaria. Para ello, se utilizaron aleatoriamente 35 ovejas del año experimental 1996, en las cuales se valoraron dos medidas consecutivas con un intervalo de 30 minutos entre la primera y segunda. La repetibilidad presentada por el Calificador alcanzó valores de 0.81 a 0.96 y 0.72 a 0.76, tanto para las variables morfológicas mamarias medidas a través del método tradicional como para los caracteres lineales estudiados, respectivamente. Estos resultados nos indican que el método de medida, en la globalidad de los parámetros estudiados (lineales y biológicos), es coherente y repetible, no siendo necesaria la presencia de un segundo calificador para una mayor fiabilidad de los resultados.

III-2.1. Control de Producción de la leche

A lo largo de la lactación se hizo un control semanal de la producción de leche de las ovejas, obteniéndose el volumen de leche total (leche máquina y leche apurado máquina) en el ordeño de la mañana y de la tarde.

III-2.2. Control de las características morfológicas mamarias

Durante los cuatro años experimentales, las características morfológicas mamarias se valoraron ocho horas después del ordeño de la mañana, en la sala de ordeño. Se realizaron tres medidas a lo largo de la lactación (30, 60 y 105 días post-parto) tal como se muestra en la Figura III-1.

Para la obtención de los datos de morfología mamaria se empleó como referencia la metodología descrita por Labussière (1983), con la utilización de una regla, un pie de rey y un medidor de ángulos. Las variables estudiadas se midieron en cada una de las medias ubres, derecha (d) e izquierda (i), para pezón y cisterna mamaria, y se detallan a continuación (Figura III-2):

a) *medidas de la ubre*

- _ profundidad (P): medida en la parte posterior de la ubre, desde su inserción hasta su base, con la ayuda de una regla (± 0.1 cm).

- longitud (L): medida entre la parte posterior de la ubre (región perineal) y la parte anterior abdominal de la misma, con la ayuda de una regla (± 0.1 cm).
- distancia entre pezones (d): medida entre la inserción medial de los pezones, con la ayuda de una regla (± 0.1 cm).

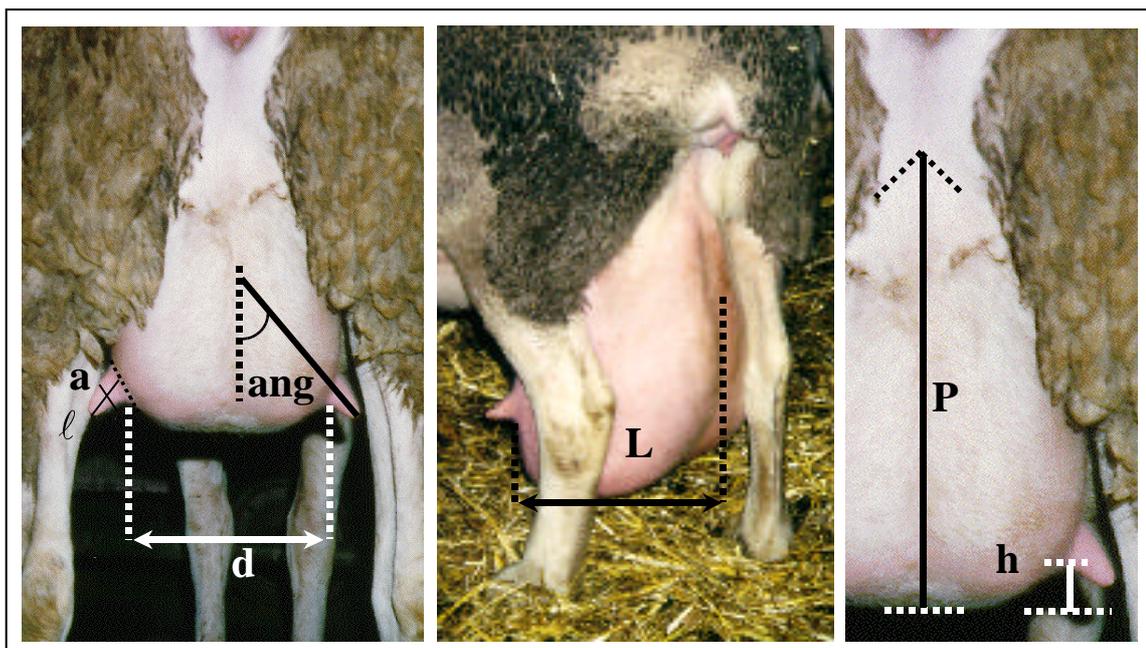
b) medidas del pezón

- longitud (ℓ y ℓ_i): medida entre la base del pezón (punto medio de la inserción) y el extremo del mismo, realizada mediante un pie de rey (± 0.1 mm).
- anchura (a_d y a_i): medida en la parte media del pezón, con un pie de rey y poniendo atención en no deformarlo (± 0.1 mm).
- ángulo de inserción de los pezones (ang_d y ang_i): medido respecto a la vertical, con la ayuda de un medidor de ángulos y un nivel (± 0.5 grados).

c) medidas de las cisternas

- altura (h_d y h_i): medida entre el ángulo inferior de la inserción del pezón y la base de la ubre, con la ayuda de un pie de rey (± 0.1 mm).

Figura III-2. Caracteres morfológicos mamarios medidos (visión caudal y lateral).



ℓ , a : longitud y anchura del pezón; ang : ángulo del pezón; d : distancia entre pezones;
L, **P**: longitud y profundidad de la ubre; **h**: altura cisterna

III-2.3. Variables morfológicas lineales

Paralelamente al estudio de las medidas morfológicas descritas anteriormente, se propuso una calificación lineal de los parámetros mamarios, con la finalidad de poder obtener posteriormente un método rápido y eficaz de calificación de estas ubres, que permitiera evaluar un gran número de animales.

Para ello, se asignó a algunos parámetros mamarios una puntuación subjetiva, estableciendo una calificación lineal para las medidas que se consideraron más representativas de la ubre, y que se definen a continuación (Figura III-3).

a) *Pezón*

- longitud de los pezones (TP): determinado por su longitud en pulgadas, puntuado como pequeño (1), medio (2) y grande (3).
- posición de los pezones (TL): notación subjetiva de 1 a 5, siendo la 2 vertical y la 5 muy craneal (Labussière, 1983).
- ángulo de inserción (TA): definido por el ángulo de inserción del pezón respecto a la vertical, tomando como punto de referencia medio el ángulo de 45° que recibe la notación de 3, clasificando la vertical y la horizontal como 1 y 5, respectivamente.

b) *Ubre*

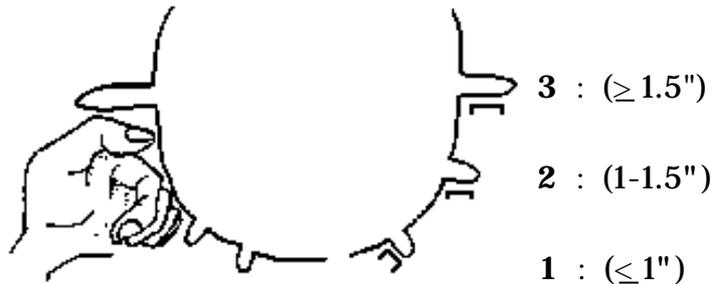
- profundidad (TS): corresponde a la distancia entre la base y la inserción de la ubre, teniendo como referencia el corvejón de la oveja con una puntuación de 3, siendo 1 y 5 poco y muy profunda, respectivamente.

En las variables subjetivas TA, TL y TS se consideraron también los valores intermedios en la escala de puntuación.

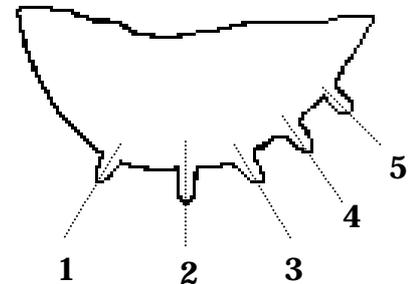
El tipo de ubre propuesta por Mikus (1978) como apta al ordeño mecánico (“udder machine”) se caracteriza por poseer pezones verticales y de tamaño medio, implantados lo más bajo posible, y uniformes. De este modo, de acuerdo con los parámetros propuestos, podemos distinguir como animales de tipo “ideal” aquellos que presenten las siguientes puntuaciones:

Figura III-3. Tipología de ubres: Calificación Lineal propuesta.

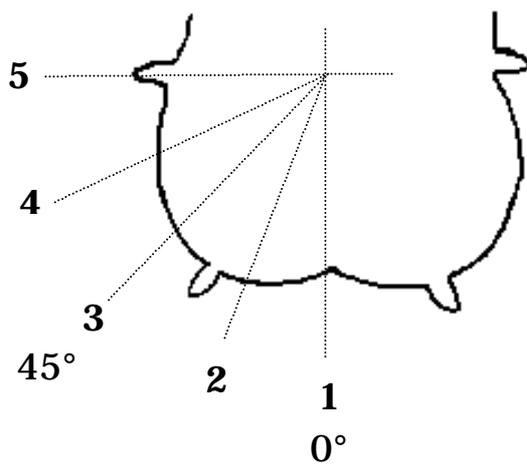
a) TP : Longitud de los pezones



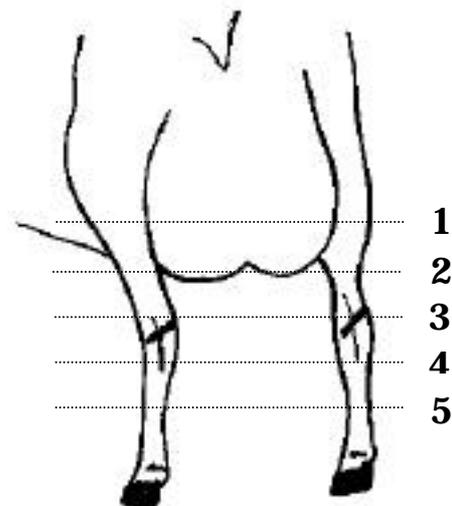
b) TL : Posición de los pezones



c) TA : Angulo de inserción.



d) TS : Profundidad de la ubre



a) Pezón

– longitud (TP): puntuación óptima el valor 2, que equivale a pezones medianos.

Como hemos visto anteriormente en la revisión bibliográfica, los pezones pequeños poseen el inconveniente de propiciar el aumento de la caída de las pezoneras. Por otra parte, los pezones de gran longitud pueden sufrir traumatismos y congestión, con una consecuente inadaptabilidad tras la retirada de las pezoneras.

– posición (TL): puntuación óptima con valor 2 (Labussière, 1983). Los pezones

con valores comprendidos entre 4 y 5, o sea adelantados, son responsables del estrangulamiento de la base del pezón, durante el ordeño a máquina seguido frecuentemente de la caída de pezoneras.

- ángulo de inserción (TA): puntuación óptima con máxima verticalidad, corresponde al valor 2. Las ubres con elevado ángulo de inserción de los pezones suelen presentar dificultad a la hora del ordeño, al necesitar el repaso a máquina y/o incluso el repaso a mano.

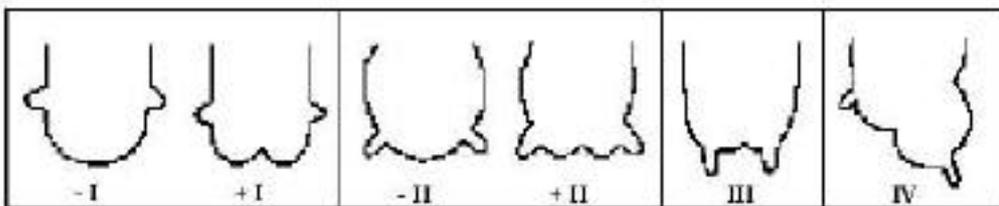
b) *Ubre*

- profundidad (TS): puntuación óptima con valor 2. Las ubres con grandes alturas o pendulares poseen de forma general grandes cisternas y elevados ángulos de inserción de los pezones, que como se ha explicado anteriormente son responsables de muchas caídas de pezoneras, así como de una mayor intervención del ordeñador. Conviene señalar, también, que las ubres pendulares pueden estar más predispuestas a lesiones, y dificultan la cría de los corderos.

III-2.4. Tipología de ubres

Se realizó una evaluación subjetiva de la ubre por “tipos”, según el método de la *Tipología de Ubres* propuesta por Gallego *et al.* (1983a) para la raza Manchega, y que tiene en cuenta el ángulo de implantación de los pezones y la altura de las cisternas mamarias. Los distintos tipos de ubres propuesto por estos autores se presentan en la Figura III-4.

Figura III-4. Tipología de ubres propuesta por Gallego *et al.* (1983a).



Esta tipología se basó en los modelos propuestos por Sagi y Morag (1974) y Jatsch y Sagi (1978), ideada principalmente en función del ángulo de inserción y de la altura de la

cisterna mamaria, añadiendo la tensión del ligamento suspensor medio de la ubre, estimada por la presencia (+) o no (-) del surco intermamario (Gallego, 1983). Así, los tipos considerados en la clasificación de Gallego *et al.* (1983a) corresponden a:

- Tipo I:** pezones de inserción muy alta y grandes cisternas, con o sin ligamento suspensor.
- Tipo II:** pezones oblicuos, con o sin ligamento suspensor.
- Tipo III:** pezones verticales y pequeñas cisternas.
- Tipo IV:** ubre claramente asimétrica.

Posteriormente, y de forma análoga, se calificaron una sola vez, y en distintos estados de la lactación, un total de 500 ovejas de raza Lacaune pertenecientes al centro experimental “Lafage”, Roquefort (France), a fin de ampliar y contrastar la muestra experimental.

III-2.5. Control ecográfico de la cisterna de la ubre

Durante los tres últimos años experimentales se realizó una valoración ecográfica de las cisternas de la ubre de las ovejas. Las medidas se realizaron con un ecógrafo portátil Ultra Scan 900 (Ami Alliance Medical Inc; Figura III-5a), utilizando una sonda sectorial de una frecuencia de 5 MHz y ángulo de 80°. Las imágenes obtenidas se transmitieron a un ordenador portátil Olivetti, mediante el programa de transferencia de imágenes AmiScan (AmiScan Application Version 1.0, 1993).

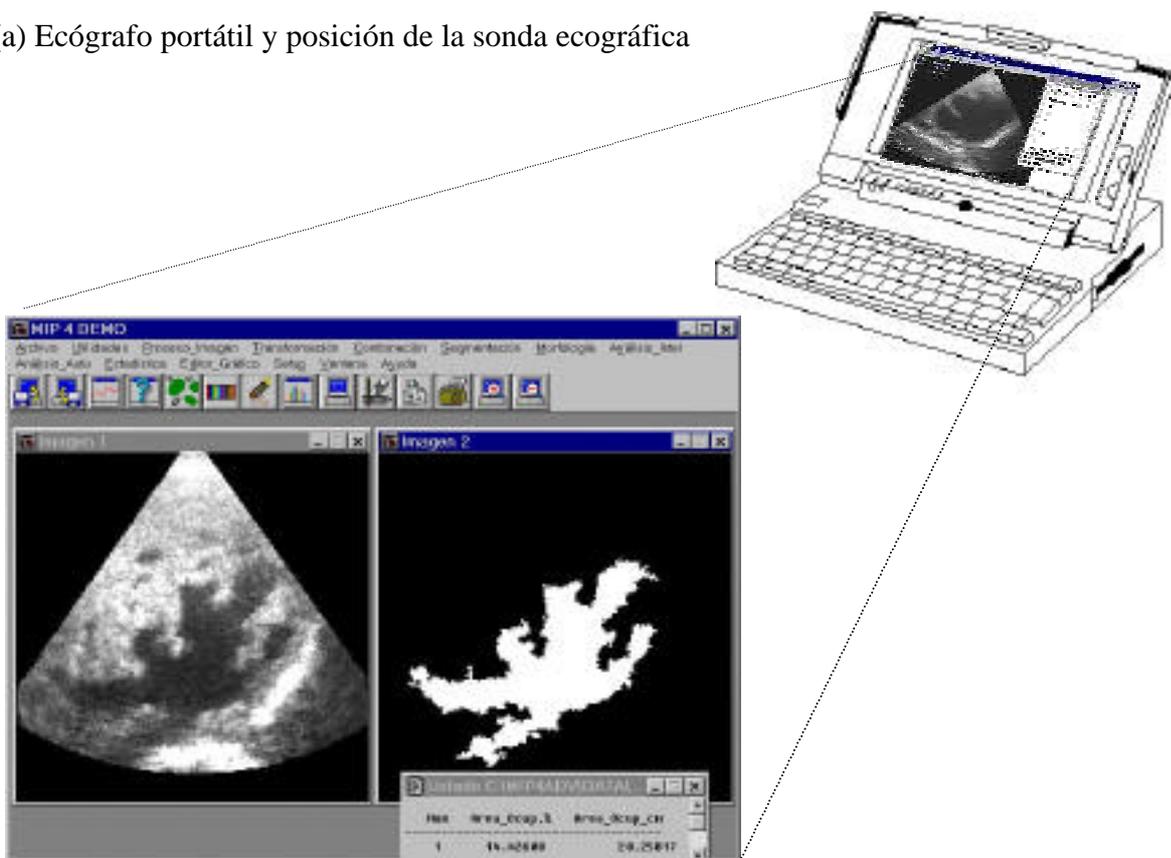
Las ecografías se realizaron según el calendario experimental que se muestra en la Figura III-1, a los 30, 60 y 105 días post-parto, en la sala de ordeño y ocho horas después del ordeño de la mañana. Las imágenes de la estructura interna de la ubre ovina se obtuvieron direccionando la sonda desde el punto medio de la intersección de las dos mamas (*sulcus intermamarius*) hacia la extremidad del pezón (Figura III-5a). Se realizaron dos ecografías de cada media glándula mamaria.

Finalmente, las ecografías se analizaron con un paquete específico de tratamiento de imágenes (MIP 4 advanced - Microm España S.A. y C.I.D. S.L.; Figura III-5b), que permite medir el área cisternal (zona anecóica), para relacionar posteriormente dicha medida con los valores de las distintas fracciones de leche, así como con los demás parámetros morfológicos de la ubre. Las imágenes fueron evaluadas tres veces con el programa MIP 4, para posteriormente promediar las medidas realizadas.

Figura III-5. Esquema de realización de la ecografía mamaria.



(a) Ecógrafo portátil y posición de la sonda ecográfica



(b) Programa MIP4 de tratamiento de imágenes

III-2.6. Control del fraccionamiento de la leche

Después de cada medida ecográfica (apartado III-2.5), se valoraron las distintas fracciones de leche:

- (a) *Fracciones de ubre*: en las lactaciones de 1997 y 1999 se extrajeron la leche cisternal y la leche alveolar de la ubre, la primera con cánula metálica o plástica (Figura III-6), y la segunda ordeñando a mano después de una inyección endovenosa de oxitocina sintética (Oxiton[®], Lab. Ovejero, León; 2UI), tras el vaciado de la cisterna mamaria.
- (b) *Fracciones de ordeño*: en la lactación de 1998 se obtuvieron, mediante ordeño a máquina, las fracciones de la leche de ordeño (LM y LAM) y la leche residual, esta última tras una inyección endovenosa de oxitocina sintética (Oxiton[®], Lab. Ovejero, León; 2UI), posterior al ordeño, y medida conjuntamente con la LAM.

Figura III-6. Extracción y medida de la leche cisternal mediante cánula intramamaria.



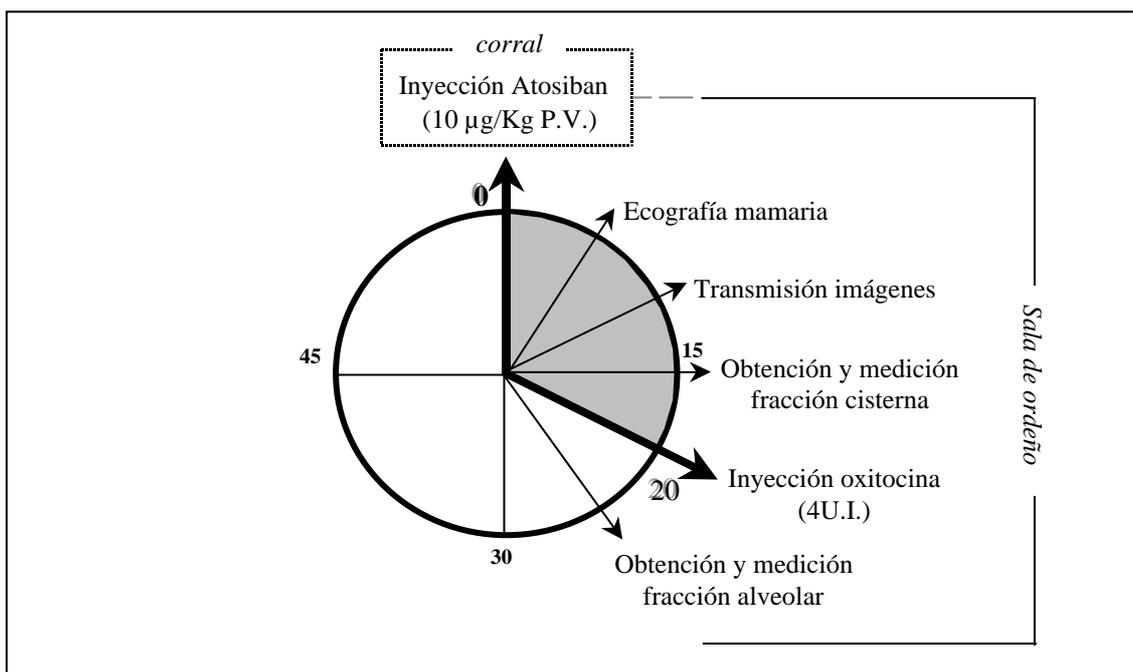
Además de estos controles, a lo largo del cuarto año experimental (1999), se obtuvo el fraccionamiento de la leche mediante la utilización de un antagonista de la oxitocina (Atosiban[®], Ferring Lab., Sweden; 10 µg/kg PV). Dicho producto bloquea temporalmente los receptores de la oxitocina, evitando la contracción de las células mioepiteliales del tejido glandular, y consecuentemente la eyección de la leche. El objetivo de este ensayo fue realizar una diferenciación precisa de las fracciones de leche de la ubre: cisternal y alveolar.

Para ello se utilizaron 20 ovejas lecheras (10 de raza Mn y 10 de raza Lc), de distintas edades y niveles de producción, en su decimotercera semana de lactación. A todos los animales se les controlaron ambas fracciones de leche de la ubre en el ordeño de la tarde, así como sus respectivas áreas cisternales mediante ecografía, utilizando dos metodologías distintas en cada individuo:

- Sin el empleo del antagonista de la oxitocina Atosiban[®] (Ferring Lab., Sweden), tal como se ha descrito anteriormente para las lactaciones de 1997 y 1999.
- Con el empleo del antagonista de la oxitocina Atosiban[®] (Ferring Lab., Sweden; 0.8 mg/oveja; Figura III-7), que fue administrado por vía endovenosa cuando los animales todavía se hallaban en el corral, con el objetivo de inhibir el estímulo de la eyección de leche en las ovejas que se pudiera producir al entrar en la sala de ordeño y ser manipuladas sus ubres. El tiempo transcurrido desde la aplicación del antagonista hasta la extracción de la leche cisternal mediante la máquina de ordeño, no puede ser superior a los 20 minutos (Wellnitz *et al.*, 1999).

Las ovejas se sometieron a ambos tratamientos de modo aleatorio y en dos grupos de 10 individuos cada uno (5 de raza Manchega y 5 de raza Lacaune).

Figura III-7. Utilización del antagonista de la oxitocina Atosiban[®] en la valoración de las fracciones de leche de la ubre. Desarrollo de la metodología.



En ambas metodologías, tras realizar la ecografía mamaria y medir la leche cisternal, se inyectó a los animales por vía endovenosa 4 UI de oxitocina sintética (Oxiton[®], Lab. Ovejero, León), para una completa extracción de la fracción alveolar de la ubre. La leche extraída de las fracciones cisternal y alveolar fue analizada en cuanto a composición química y recuento de células somáticas.

La muestra de leche para el análisis de la composición química se conservó con dicromato potásico (0.03%), a una temperatura de 4°C, para su posterior análisis químico en laboratorio.

El análisis para la determinación de la grasa, proteína bruta, materia seca y caseína se realizó mediante un equipo de espectroscopía de reflectancia en infrarrojo cercano (NIRS; InfraAlyser 450, Bran+Luebbe, Norderstedt, Germany). Las lecturas se hicieron por duplicado, en cápsulas de aluminio con paso óptico de 0.3 mm, siguiendo la metodología descrita por Albanell *et al.* (1999).

Para la calibración del equipo se realizaron análisis químicos de algunas muestras, también por duplicado, utilizando los métodos oficiales de referencia: para la **grasa bruta** el método Gerber (IDF, 1991), para la **proteína bruta** el método Kjeldahl ($N \times 6.38$; IDF, 1993) con un equipo Kjeltec Auto 1030 Analyzer (Tecator, Höganäs, Suecia), para la **materia seca** estufa a $102 \pm 1^\circ\text{C}$ (IDF, 1982), y para la **caseína** el método con precipitación a tampón acetato pH 4.2 (IDF, 1964).

Las muestras de leche para el análisis del recuento de células somáticas fueron recogidas en cápsulas de 50 ml, añadiendo una pastilla de Bronopol (de acción bactericida; Broad Spectrum Microtabs[®] II, D&F Control Systems, Inc/USA) para su conservación. Las muestras, tras su toma, se analizaron en un plazo inferior a las 48 horas en el Instituto Lechero de Cataluña (ALLIC), con un aparato Fossomatic y mediante el método fluoro-optoelectrónico. Dicho método realiza el recuento automático de las células somáticas, tiñendo previamente las mismas con un colorante fluorescente.

III-2.7. Control de la cinética de emisión de leche

Además de la ecografía mamaria, en los tres últimos años experimentales se valoró la cinética de emisión de leche de cada media ubre en tres momentos de la lactación, las semanas 6, 10 y 14 post-parto (Figura III-1). Para el estudio de las curvas de la cinética de emisión se realizaron dos registros en días sucesivos, durante el ordeño de la tarde, utilizando

para ello el método denominado "manual" (Ricordeau *et al.*, 1963; Figura III-8), cuya repetibilidad en relación con el método automático ha sido comprobada por Purroy *et al.* (1982).

Este método consiste en la anotación, en tiras de papel milimetrado y adosadas a los medidores de leche, de la cantidad de leche recogida a intervalos constantes de cinco segundos, para posteriormente dibujar y calificar las curvas de emisión obtenidas.

A partir de dichas curvas se intentó clasificar a los animales en dos grupos (ver apartado I-7.3), que fueron definidos por Labussière y Martinet (1964), y que se caracterizan por:

- “**1 pico**”, con un máximo de emisión correspondiente a la leche cisternal. Pueden considerarse ovejas de difícil ordeño por no presentar el reflejo neuroendocrino de eyección.
- “**2 picos**”, que presentan dos máximos de emisión, correspondientes a las fracciones de leche cisternal y alveolar

Debido a la existencia de ovejas que no diferenciaban con claridad los dos picos de emisión, se optó por definir un tercer grupo con aquellos animales en los que, teniendo un tiempo de emisión prolongado y elevados caudales de leche, no se pudo determinar con exactitud el inicio de la segunda emisión. Así, como nuevo elemento de clasificación, se introdujo un tercer tipo de curva de emisión definida como:

- “**en meseta**”, en las que no se diferencian claramente el primer y segundo picos, ya que la primera emisión aún no ha finalizado cuando aparece el segundo pico.

Estas curvas permitieron calcular los siguientes parámetros:

- **LMP1**: volumen de leche recogida en el primer pico de emisión. Equivalente a la fracción de leche cisternal.
- **LMP2**: volumen de leche del segundo pico de emisión, recogida en el medidor desde la aparición de la segunda emisión hasta el final. Es la leche emitida por la acción de la oxitocina sobre las células mioepiteliales.
- **LMPT**: volumen total de leche equivalente al primer y segundo pico de emisión, recogida en el medidor desde la aparición de los primeros chorros de leche hasta el final. Equivale a la fracción de leche a máquina.

- **QM1:** flujo máximo del primer pico. Cantidad máxima de leche emitida en 5 segundos, a lo largo de la primera emisión.
- **QM2:** flujo máximo del segundo pico. Cantidad máxima de leche emitida en 5 segundos, a lo largo de la segunda emisión.
- **P1:** momento en que se presenta el máximo del primer pico. Tiempo transcurrido desde la aparición de los primeros chorros de leche en el medidor y el momento de aparición del caudal máximo de la primera emisión.
- **P2:** momento en que se presenta el máximo del segundo pico. Tiempo transcurrido desde la aparición de los primeros chorros de leche en el medidor y el momento de aparición del caudal máximo de la segunda emisión.
- **D:** tiempo de demora, que es el momento en que se inicia el segundo pico. Tiempo transcurrido desde la aparición de los primeros chorros de leche en el medidor y el inicio de la segunda emisión.
- **T:** tiempo total de duración de la emisión de leche en el ordeño a máquina, calculado desde la llegada de los primeros chorros de leche recogidos en el medidor, hasta el momento en que el flujo de leche es inferior a 5ml/5seg.
- **QX:** volumen medio en 60 segundos de emisión. Calculado a partir de los valores del volumen total de leche y el tiempo total de emisión, mediante la expresión:

$$QX = \frac{LMPT}{T} \times 60$$

- **QMM:** volumen máximo en un minuto de ordeño. Calculado a partir del máximo caudal de leche obtenido durante el ordeño, mediante la expresión:

$$QMM = \frac{\text{Caudal máximo de emisión}}{5} \times 60$$

Figura III-8. Cinética de emisión mediante el método manual.



III-3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SAS (v. 6.12, 1996), con excepción del estudio de los conglomerados y análisis discriminante, en el que se utilizó el paquete estadístico SPSS (v. 10.0, 1999).

III-3.1. Estudio de la Morfología Mamaria

Para analizar el efecto del número de lactación (NL), se consideran tres niveles, lactaciones 1, 2 y 3, incluyendo en la categoría 3 aquellas ovejas que se encontraban en la tercera lactación o en una superior. El efecto oveja (O) se consideró aleatorio y los demás efectos fijos.

III-3.1.1. Producción de leche y caracteres morfológicos mamarios

La repetibilidad entre ambos lados de la ubre para las distintas variables se calculó por el procedimiento VARCOMP de SAS (v. 6.12, 1996), utilizando para ello el método REML.

En el modelo de análisis de los caracteres morfológicos mamarios se incluyó los efectos del lado, raza, número de corderos criados, número de lactación, estado de lactación, año de la experiencia y oveja, con sus respectivas interacciones, como se muestra a continuación:

$$Y_{ijklmnp} = \mu + L_i + R_j + P_k + NL_l + E_m + A_n + O_{p(j)} + RP_{jk} + RNL_{jl} + RE_{jm} + RA_{jn} + PNL_{kl} + PE_{km} + PA_{kn} + NLE_{lm} + EA_{mn} + e_{ijklmnp}$$

donde:

$Y_{ijklmnp}$ = observación.

μ = media.

L_i = efecto del lado (i : izquierdo y derecho).

R_j = efecto de la raza (j : Manchega y Lacaune).

P_k = efecto del número de corderos criados (k : 1, 2 o más de dos).

NL_l = efecto del número de lactación (l : 1, 2, 3 o más de tres).

E_m = efecto del estado de lactación (m : 30, 60 y 105 días posparto).

A_n = efecto del año experimental (n : 1996, 1997 y 1998).

$O_{p(j)}$ = efecto de la oveja anidada en raza.

RP_{jk} = interacción entre raza y número de corderos criados.

RNL_{jl} = interacción entre raza y número de lactación.

RE_{jm} = interacción entre raza y estado de lactación.

- RA_{jn} = interacción entre raza y año experimental.
 PNL_{kl} = interacción entre número de corderos criados y número de lactación.
 PE_{km} = interacción entre número de corderos criados y estado de lactación.
 PA_{kn} = interacción entre número de corderos criados y año experimental.
 NLE_{lm} = interacción entre número de lactación y estado de lactación.
 EA_{mn} = interacción entre estado de lactación y año experimental.
 $e_{ijklmnp}$ = efecto residual.

Las variables de tamaño de ubre (profundidad, longitud y distancia entre pezones) y la producción media diaria de leche fueron analizadas sin el factor lado y sus interacciones. Por otra parte, la producción total de leche a lo largo de la lactación (17 semanas) se analizó obviando el factor lado, estado de lactación y sus respectivas interacciones.

Inicialmente se contempló en el análisis el efecto del sistema de cría utilizado sobre los caracteres morfológicos mamarios y caracteres productivos, pero como no se mostró significativo, se optó por eliminar este factor, para simplificar el modelo utilizado en el análisis de todas las variables. Lo mismo ocurrió con las interacciones del factor lado, que no mostraron efectos significativos sobre las variables estudiadas.

Todos los cálculos se realizaron mediante el procedimiento Proc GLM de SAS (v. 6.12, 1996).

III-3.1.2. Relaciones entre variables

Para estimar las correlaciones fenotípicas fue utilizado el procedimiento Proc CORR de SAS (v. 6.12, 1996), y para las fenotípicas residuales se utilizó la opción MANOVA, del procedimiento GLM de SAS.

III-3.2. Estudio de los caracteres morfológicos lineales y Tipología de ubres

III-3.2.1. Caracteres morfológicos lineales

Para el análisis de los caracteres lineales TL (posición de los pezones), TA (ángulo de inserción) y TS (profundidad de la ubre) se utilizó el modelo matemático explicado en el apartado III-3.1.1. La variable lineal TP (longitud de los pezones) fue analizada con el procedimiento NPAR1WAY de SAS (v. 6.12, 1996), por tratarse de una variable lineal de solamente tres niveles y no presentar una distribución normal. Para el estudio de las relaciones de esta variable y las demás variables morfológicas, se utilizó la correlación de Spearman.

Posteriormente al análisis de la varianza, se hizo un análisis discriminante con la finalidad de constatar la fiabilidad de la clasificación de ubres propuesta, a partir de las variables morfológicas que la definen. Para ello se utilizó la opción Discriminante del paquete estadístico SPSS (v. 10.0, 1999).

III-3.2.2 Tipología de ubres

Para estudiar las características morfológicas mamarias que distinguen los distintos Tipos de ubre de la clasificación propuesta por Gallego *et al.* (1983a), se utilizó el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + R_i + TU_j + RTU_{ij} + e_{ij}$$

donde:

- Y_{ij} = observación.
- μ = media.
- R_i = efecto de la raza (i : Manchega y Lacaune).
- TU_j = efecto del Tipo de ubre (j : 1, 2, 3 y 4).
- RTU_{ij} = interacción entre la raza y el Tipo de ubre.
- e_{ij} = efecto residual.

El estudio de la frecuencia de presentación de los distintos Tipos de ubres a lo largo de la lactación y según el número de lactación, se realizó mediante un test de χ^2 en que las diferencias fueron consideradas significativas para valores de $p < 0.05$.

Por último, se utilizó el análisis Discriminante, empleando para ello las características morfológicas mamarias, para constatar la fidelidad del método propuesto por Gallego *et al.* (1983a) de clasificación de ubres ovinas.

III-3.3. Estudio ecográfico de la cisterna mamaria

El modelo utilizado para el análisis estadístico en esta experiencia, que fue desarrollado mediante el procedimiento Proc GLM de SAS (v. 6.12, 1996), se presenta a continuación:

$$Y_{ijlmnp} = \mu + L_i + R_j + NL_l + E_m + A_n + O_{p(jl)} + RNL_{jl} + RE_{jm} + RA_{jn} + NLE_{lm} + EA_{mn} + e_{ijlmnp}$$

donde:

$Y_{ijklmnp}$	= observación.
μ	= media.
L_i	= efecto del lado (i : izquierdo y derecho).
R_j	= efecto de la raza (j : Manchega y Lacaune).
NL_l	= efecto del número de lactación (l : 1, 2, 3 o más de tres).
E_m	= efecto del estado de lactación (m : 30, 60 y 105 días posparto).
A_n	= efecto del año experimental (n : 1997 y 1998).
$O_{p(jl)}$	= efecto aleatorio de la oveja anidada en raza y número de lactación.
RNL_{jl}	= interacción entre raza y número de lactación.
RE_{jm}	= interacción entre raza y estado de lactación.
RA_{jn}	= interacción entre raza y año experimental.
NLE_{lm}	= interacción entre número de lactación y estado de lactación.
EA_{mn}	= interacción entre estado de lactación y año experimental.
$e_{ijklmnp}$	= efecto residual.

III-3.4. Agrupación de caracteres morfológicos mamarios. Tipificación de ubres

III-3.4.1. Análisis factorial y de conglomerados

Para el análisis factorial se utilizó el procedimiento FACTOR del paquete estadístico SAS. A fin de limitar el número de factores utilizados en este estudio se usó el criterio de Meneigen, que emplea únicamente aquellos factores con valores propios mayores que 1.

Para las variables que poseen dos medidas, una para cada lado de a mama, se consideraron en este análisis sólo los datos de la glándula izquierda. Las variables analizadas fueron: *medidas del pezón* (longitud, anchura y ángulo de inserción), *medidas de la ubre* (profundidad, longitud, distancia entre pezones), y *altura de las cisternas mamarias*.

Para el análisis de conglomerados se utilizó el paquete estadístico SPSS (v. 10.0, 1999), método de K-medias, para con ello agrupar los caracteres morfológicos mamarios y desarrollar una nueva Tipología de ubres.

III-3.5. Parámetros de aptitud al ordeño mecánico

III-3.5.1. Fraccionamiento de leche

El modelo utilizado en el estudio de las fracciones de ubre y de ordeño, mediante el procedimiento Proc GLM de SAS (v. 6.12, 1996), fue el siguiente:

$$Y_{ijklmn} = \mu + L_i + R_j + NL_l + E_m + O_{n(jl)} + RNL_{jl} + RE_{jm} + NLE_{lm} + e_{ijklmn}$$

donde:

- Y_{ijklmn} = observación.
 μ = media.
 L_i = efecto del lado (i = izquierdo y derecho).
 R_j = efecto de la raza (j = Manchega y Lacaune).
 NL_l = efecto del número de lactación (l = 1, 2, 3 o más de tres).
 E_m = efecto del estado de lactación (m = 30, 60 y 105 días posparto).
 $O_{n(jl)}$ = efecto de la oveja anidada en raza y número de lactación.
 RNL_{jl} = interacción entre raza y número de lactación.
 RE_{jm} = interacción entre raza y estado de lactación.
 NLE_{lm} = interacción entre número de lactación y estado de lactación.
 e_{ijklmn} = efecto residual.

Para el cálculo del porcentaje de las fracciones de ordeño, se realizó la transformación de los datos, expresándolos como raíz cuadrada, debido a la forma moderadamente sesgada hacia la derecha encontrada en la distribución de los datos (Norman y Streiner, 1998).

Para estimar las correlaciones fenotípicas fue utilizado el procedimiento Proc CORR de SAS (v. 6.12, 1996), y para las fenotípicas residuales se utilizó la opción MANOVA, del procedimiento GLM de SAS.

III-3.5.2. Cinética de emisión de leche

En el modelo de análisis de los parámetros de cinética de emisión se incluyeron los efectos del lado, raza, número de lactación, estado de lactación (momento de medida), año de la experiencia, número de picos de emisión y oveja, con sus respectivas interacciones, como se muestra a continuación:

$$Y_{ijklmnop} = \mu + L_i + R_j + NL_l + E_m + A_n + PI_o + O_{p(jl)} + RNL_{jl} + RE_{jm} + RA_{jn} + RPI_{jo} + NLE_{lm} + NLPI_{lo} + EA_{mn} + EPI_{mo} + API_{no} + e_{ijklmnop}$$

donde:

- $Y_{ijklmnop}$ = observación.
 μ = media.
 L_i = efecto del lado (i : izquierdo y derecho).
 R_j = efecto de la raza (j : Manchega y Lacaune).
 NL_l = efecto del número de lactación (l : 1, 2, 3 o más de tres).
 E_m = efecto del estado de lactación (m : 42, 70 y 98 días posparto).
 A_n = efecto del año experimental (n : 1997 y 1998).
 PI_o = efecto del número de picos de emisión (o : 1, 2 y 3).

- $O_{p(jl)}$ = efecto de la oveja anidada en raza y número de lactación.
 RNL_{jl} = interacción entre raza y número de lactación.
 RE_{jm} = interacción entre raza y estado de lactación.
 RA_{jn} = interacción entre raza y año experimental.
 RPI_{jo} = interacción entre raza y número de picos de emisión.
 NLE_{lm} = interacción entre número de lactación y estado de lactación.
 $NLPI_{lo}$ = interacción entre número de lactación y número de picos de emisión.
 EA_{mn} = interacción entre estado de lactación y año experimental.
 EPI_{mo} = interacción entre estado de lactación y número de picos de emisión.
 API_{no} = interacción entre año experimental y número de picos de emisión.
 $e_{ijklmnop}$ = efecto residual.

En un modelo inicial de análisis, se contemplaron las interacciones del efecto lado con los demás factores de variación, que fueron obviados por no presentar efectos significativos sobre las variables estudiadas. La interacción del número de lactación y año experimental fue omitida del análisis por no ser posible su estimación.

El estudio de la frecuencia de distribución del tipo de curvas de emisión, a lo largo de la lactación y según el número de lactación, se realizó mediante un test de χ^2 , en que las diferencias fueron consideradas significativas a partir de valores de $p < 0.05$.

Posteriormente al análisis de la varianza, se hizo un análisis discriminante con la finalidad de constatar la fiabilidad de la clasificación de la cinética de emisión de leche, a partir de las variables de cinética comunes a los tres tipos de curvas de emisión definidas. Para ello se utilizó la opción Discriminante del paquete estadístico SPSS (v. 10.0, 1999).

III-3.6. Uso de un bloqueador de los receptores de la oxitocina

Para el análisis de los datos se utilizó el procedimiento Proc GLM de SAS (v. 6.12, 1996). El modelo utilizado en este análisis fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + L_i + R_j + O_{k(j)} + T_l + RT_{jl} + e_{ijkl}$$

donde:

- Y_{ijkl} = observación.
 μ = media.
 L_i = efecto del lado (i : izquierdo y derecho).
 R_j = efecto de la raza (j : Manchega y Lacaune).
 $O_{k(j)}$ = efecto de la oveja anidado a raza.

- T_l = efecto del tratamiento utilizado (utilización o no del antagonista).
 RT_{jl} = interacción entre raza y tratamiento.
 e_{ijkl} = efecto residual.

Inicialmente se consideraron las interacciones del factor lado, que fueron obviadas por no presentar efectos significativos sobre las variables estudiadas. Además, los valores del recuento de células somáticas (RCS) se transformaron logarítmicamente, con el objetivo de normalizar su distribución.