

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE PESCADO SOBRE LA
PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN EN VACAS HOLANDO PRIMÍPARAS EN
PASTOREO DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN**

Por

Andrés HERNÁNDEZ WILKINS
Neida ROURA OLAVARRÍA
Hugo VALENTÍN FLEITAS



TESIS DE GRADO presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de Doctor en
Ciencias Veterinarias

Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Trabajo Experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2008

094 TG
Efecto de la su
Hernández Wilkins, Andrés



T6
094

TESIS DE GRADO aprobada por:

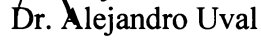
Presidente de Mesa:


Dr. José Luis Repetto

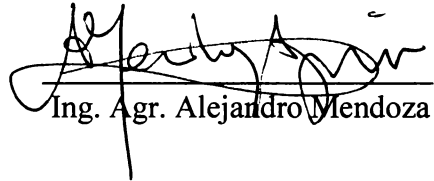
Segundo Miembro (Tutor):


Dr. Daniel Cavestany

Tercer Miembro:


Dr. Alejandro Uval

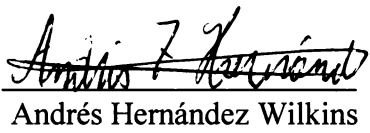
Co-Tutor:


Ing. Agr. Alejandro Mendoza

Fecha:

21 de agosto de 2008

Autores:


Andrés Hernández Wilkins


Neida Roura Olavarría


Hugo Valentín Fleitas

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Daniel Cavestany.

Al Ing. Agr. Alejandro Mendoza.

Al Ing. Agr. Alejandro La Manna.

Al Dr. Alejandro Uval.

A la Dra. Daniela Crespi.

A la familia López, del tambo de INIA “La Estanzuela”.

Al Dr. Gonzalo Uriarte.

Al Dr. Ricardo Sienna y Br. Guillermo Tort.

A todos los docentes, compañeros y amigos de esta casa de estudios.

A nuestras familias, quienes nos apoyaron de forma incondicional a lo largo de toda nuestra carrera.

TABLA DE CONTENIDO



	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	IV
<u>RESUMEN</u>	1
<u>SUMARY</u>	1
<u>INTRODUCCIÓN</u>	2
<u>REVISIÓN BIBLIOGRAFICA</u>	4
EL SECTOR LECHERO EN URUGUAY	4
LA VACA LECHERA EN TRANSICIÓN	5
Fisiología del reinicio de la ciclicidad ovárica posparto en vacas lecheras	7
ALIMENTACIÓN DE LA VACA LECHERA EN CONDICIONES PASTORILES DE URUGUAY Y SU INFLUENCIA EN EL REINICIO DE LA CICLICIDAD OVARICA POSPARTO	9
LAS GRASAS EN LAS DIETAS DE LAS VACAS LECHERAS	10
Digestión y metabolismo	10
Efecto sobre consumo, producción y composición de leche	12
Efectos sobre la reproducción	14
SUPLEMENTACION CON ACEITE DE PESCADO	16
Efecto sobre consumo, producción y composición de leche	18
Efecto sobre la reproducción	20
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	21
Localización	21
Animales	21
Tratamientos	21
Alimentación y manejo preparto	22
Alimentación y manejo posparto	23
Determinaciones	24
En los animales	24
Condición corporal	24
Producción y composición de leche	24
Metabolitos	25
Dinámica Folicular	25
Consumo	25
En los alimentos	27
Disponibilidad de pastura	27
Valor nutritivo de los alimentos	27
Análisis estadístico	28
<u>RESULTADOS</u>	29
<u>CONSUMO</u>	29
Consumo preparto	29
Consumo posparto	30

CONDICIÓN CORPORAL	30
PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE	32
Producción de leche	32
Porcentaje de grasa en leche	32
Leche corregida por grasa al 4%	33
Proteína en leche	34
PERFILES METABÓLICOS	34
Ácidos grasos no esterificados (NEFA)	35
Betahidroxibutirato (β HB)	36
Colesterol	36
Urea	37
INDICADORES DE EFICIENCIA REPRODUCTIVA	38
<u>DISCUSIÓN</u>	39
<u>CONCLUSIONES</u>	45
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	46

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS



	Página
Cuadro I: Perfil de ácidos grasos de Vípez Omega-3	22
Cuadro II: Descripción de la composición química de los alimentos preparto	23
Cuadro III: Descripción de la composición química de los alimentos posparto	24
Cuadro IV: Resumen de las técnicas analíticas usadas para determinar la concentración de metabolitos plasmáticos	25
Cuadro V: Técnicas analíticas utilizadas para la determinación de la composición de los alimentos	27
Cuadro VI: Resultados de consumo de alimentos y nutrientes durante el preparto	29
Cuadro VII: Resultados de consumo de alimentos y nutrientes durante el posparto	30
Cuadro VIII: Resultados de producción y composición de leche	32
Cuadro IX: Resultados promedio de los perfiles metabólicos medidos en el preparto (día -14 a -7)	34
Cuadro X: Resultados promedio de los perfiles metabólicos medidos en el posparto (parto hasta día 28)	34
Cuadro XI: Resultados de las variables reproductivas presentados por tratamiento	38
Figura 1: Precursores y enzimas vinculadas en la formación de prostanoïdes de la serie 2 y 3	17
Figura 2: Evolución de la condición corporal	32
Figura 3: Evolución de % de grasa en leche	32
Figura 4: Evolución de la producción de leche corregida por grasa	33
Figura 5: Evolución de la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados	35
Figura 6: Evolución de la concentración plasmática de Beta-hidroxi-butirato	36
Figura 7: Evolución de la concentración plasmática de Colesterol	37
Figura 8: Evolución de los niveles plasmáticos de urea	37

RESUMEN

Con el objetivo de estudiar el efecto de suplementación con aceite de pescado (AP) en vacas lecheras primíparas en pastoreo durante el período de transición, sobre el perfil metabólico, reinicio y características de la actividad ovárica, consumo, producción y composición de la leche, se utilizaron 28 vacas Holando primíparas asignadas al azar a cuatro tratamientos. Tratamiento 1 (control): sin suplementación; tratamiento 2: 150 mL/vaca/día de AP preparto; tratamiento 3: 200 mL/vaca/día de AP posparto; tratamiento 4: 150 mL/vaca/día preparto y 200 mL/vaca/día de AP posparto. El ensayo se extendió desde el día -28 hasta el día 35 posparto (parto = día 0), y el período de suplementación se extendió desde el día -21 hasta el día 21 posparto. La suplementación con AP representó 1,36% de la materia seca (MS) de la dieta durante el preparto y 1% durante el posparto. La suplementación con AP preparto, posparto o en ambos períodos, no afectó el consumo total de MS, ni de proteína y energía. La condición corporal (CC) ($2,5\pm 0,06$), producción de leche ($22,14\pm 1,17$ kg/día), porcentaje y producción de proteína láctea ($3,13\pm 0,06$ % y $0,69\pm 0,04$ kg/día), las concentraciones plasmáticas pre y posparto de ácidos grasos no esterificados (NEFA) ($1,01\pm 0,11$ y $0,55\pm 0,11$ mMol/L), colesterol ($2,36\pm 0,11$ mMol/L pre y $3,04\pm 0,28$ mMol/L posparto) o las características del reinicio de la actividad ovárica posparto tampoco fueron afectados por la suplementación con AP. El porcentaje y producción de grasa en leche no fueron afectados por la suplementación con AP preparto pero si por la posparto (sin AP $3,83\pm 0,10$ vs. con AP $3,34\pm 0,10$ %, sin AP $0,88\pm 0,04$ vs. con AP $0,74\pm 0,04$ kg/vaca/día). La producción de leche corregida por grasa al 4% (LCG) disminuyó significativamente en los grupos suplementados con AP posparto (sin AP $22,44\pm 0,86$ vs. con AP $19,49\pm 0,86$ Kg/vaca/día).

SUMMARY

The study was done to study the effect of fish oil (FO) supplementation in primiparous Holstein cows in a pasture-based dairy system during the transition period, on metabolic, productive and reproductive parameters. Cows ($n=28$) were randomly assigned to four treatment groups: control (no treatment); 150 mL/day of FO during the prepartum; 200 mL/day of FO during the postpartum; 150 mL/day prepartum and 200 mL/day postpartum. Experimental period was from days -28 to 35 (parturition = day 0), and supplementation period was from days -21 to 21. FO supplementation represented 1.36% of prepartum and 1% of postpartum dry matter intake. FO supplementation prepartum, postpartum or both did not affect total dry matter intake, nor protein or energy intake. Body condition score (BCS) ($2,5\pm 0,06$), milk production ($22,14\pm 1,17$ kg/day), percentage and production of milk protein ($3,13\pm 0,06$ % and $0,69\pm 0,04$ kg/day), pre and postpartum concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA) ($1,01\pm 0,11$ y $0,55\pm 0,11$ mMol/L), cholesterol ($2,36\pm 0,11$ mMol/L pre and $3,04\pm 0,28$ mMol/L postpartum) or characteristics of resumption of postpartum ovarian cyclicity were not affected by FO supplementation. The production and percentage of fat in milk were not affected by prepartum FO supplementation, but they were affected by FO supplementation during the postpartum (without FO $3,83\pm 0,10$ vs. with FO $3,34\pm 0,10$ %, without AP $0,88\pm 0,04$ vs. with FO $0,74\pm 0,04$ kg/cow/day). Fat-corrected milk production (4% fat) significantly decreased in the groups with postpartum FO supplementation (without FO 22.44 ± 0.86 vs. with AP 19.49 ± 0.86 Kg/cow/day).

INTRODUCCIÓN

El período de transición se ha definido de diversas maneras, pero en general es considerado como el período que transcurre desde tres semanas antes hasta tres o cuatro semanas luego del parto (Drackley, 1999; Stallings, 1999). Este es de particular importancia en el ciclo productivo de la vaca lechera porque en él se define en buena medida el futuro productivo, reproductivo, metabólico y sanitario del animal. Por este motivo la vaca lechera en el período de transición ha recibido mucha mayor atención en los últimos 15 años de lo que venía recibiendo (Overton y Waldron, 2004).

El balance energético negativo (**BEN**), que ocurre siempre en las vacas lecheras durante el período de transición (Herdt, 2000), es consecuencia del rápido incremento de los requerimientos hacia el fin de la gestación e inicio de lactancia, asociado a una disminución del consumo de materia seca en la última etapa de gestación y una lenta recuperación del mismo luego del parto. Para compensar la demanda energética se produce movilización de tejido adiposo, muscular y óseo (Komaragiri y Erdman, 1997), que está acompañado de una disminución de las concentraciones sanguíneas de insulina, glucosa y de factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (**IGF-1**), niveles elevados de hormona de crecimiento y ácidos grasos no esterificados (**NEFA**) (Canfield y Butler 1991).

La utilización de pasturas en la alimentación de vacas lecheras constituye la base de un sistema de alimentación de bajo costo, como es el caso de Uruguay. La calidad de las mismas y la cantidad de materia seca (**MS**) producida no es constante a lo largo del año, existiendo hacia el final del otoño y durante el invierno una merma en la cantidad del forraje producido, mientras que en el verano ocurre una disminución en la calidad nutricional del mismo. Por esto se hace necesario suplementar a estos animales para que puedan lograr suplir sus requerimientos a lo largo del año. Es preciso señalar que en condiciones de pastoreo, la cosecha de pastura tiene un costo energético extra comparado con los sistemas estabulados, sumado a un menor consumo total de energía da como resultado menor energía disponible para sostener la producción de leche (Kolver y Muller, 1998).

El **BEN** durante el posparto temprano (cuando su magnitud es por lo general mayor) no afecta el momento de desarrollo de la primera onda folicular (Richards et al., 1989). Esto sugiere que el **BEN** en la lactancia temprana no afecta la población folicular, o el tiempo de comienzo de crecimiento del folículo dominante, pero sí puede afectar el destino del primer folículo dominante. Para que el folículo dominante produzca estrógenos, éstos estimulen, a través de la GnRH hipotalámica, la secreción hipofisaria del pico de LH y este desencadene la ovulación, es necesaria una adecuada frecuencia de pulsos de LH y adecuadas concentraciones de insulina e IGF-1 circulantes, las que actúan sinérgicamente con las gonadotropinas para estimular la esteroidogénesis. El destino del folículo dominante de la primera onda folicular tiene un gran impacto sobre la longitud del intervalo del anestro posparto (**IAPP**) (Beam y Butler, 1999). Además la primera ovulación posparto determina el número y la duración de los ciclos estrales antes de que comience el período de servicios. Cuanto más temprano en el posparto ocurra la primera ovulación habrá mayor número de ciclos y mayores probabilidades de concepción al primer servicio (Cavestany et al., 2001).

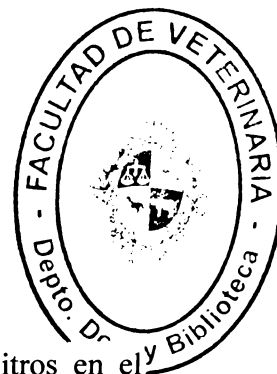
La grasa es incluida en la dieta de vacas en posparto temprano como forma de incrementar la densidad energética de la misma, y de esta forma permite que éstas puedan enfrentar las demandas energéticas de la lactancia. En los últimos años se ha sugerido que la suplementación con grasa en el posparto, y en particular de grasa poliinsaturada, podría tener efectos beneficiosos sobre la actividad reproductiva de la vaca lechera. En ocasiones esto podría estar asociado a una mejora del estatus energético (Beam y Butler, 1998), aunque hay evidencia que una mejora en el desempeño reproductivo ocurre independientemente del cambio en el mismo. Por este motivo se sugiere que la suplementación con grasa poliinsaturada actuaría como nutracéutico, que son alimentos o parte de éstos que proporcionan beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades juntamente con capacidad terapéutica definida, aparte de su papel nutritivo básico desde el punto de vista material y energético. Sin embargo, es necesario destacar que se han encontrado efectos negativos de la suplementación grasa, como son disminución en el consumo de alimentos y energía, ocasionando pérdidas de peso y condición corporal (CC) en vacas lecheras (Jerred et al., 1990). La adición de lípidos a la dieta causa una disminución del tenor proteico de la leche, mientras que el efecto sobre la grasa es variable, dependiendo del tipo de lípidos utilizados (Doreau y Chilliard, 1997)

El aceite de pescado (AP) contiene relativamente altas concentraciones de dos ácidos grasos poliinsaturados de la familia Omega-3 (Ω -3): ácido eicosapentaenoico C20:5 (EPA) y ácido docosahexanoico C22:6 (DHA). Estos ácidos grasos pueden ser proporcionados solamente por la dieta ya que no pueden ser sintetizados *de novo* en glándula mamaria (Mattos et al, 2004). El AP tiene varios efectos sobre la reproducción, pudiendo influenciar tanto el metabolismo uterino como el ovárico (Burke et al., 1997). Los AG contenidos en dicho aceite afectan la fertilidad porque son precursores de las prostaglandinas, y/o porque además estimulan la síntesis de colesterol, precursor de las hormonas esteroideas (Petit, 2002). Por ejemplo, Petit et al. (2001) reportaron mayor cantidad de folículos, mayor tamaño de folículo dominante y mayor tamaño del cuerpo lúteo en vacas suplementadas con AP, esto ha sido asociado con un aumento de las concentraciones séricas de colesterol, hormona de crecimiento e insulina (Thomas et al., 1997).

Datos contradictorios fueron reportados respecto a los efectos del AP en la producción de leche, con experimentos que reportaron un aumento (Chilliard et al., 1998) o disminución (Cant et al., 1997) de la producción láctea asociada a la suplementación con AP.

El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar el efecto de suplementación con AP en vacas lecheras primíparas en pastoreo durante tres semanas antes y tres semanas después del parto, sobre el perfil metabólico, el reinicio y las características de la actividad ovárica, el consumo, la producción y composición de la leche.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA



EL SECTOR LECHERO EN URUGUAY

La producción de leche en nuestro país aumentó de 1301 millones de litros en el ejercicio 2001-2002 a 1620 millones de litros en el 2005-2006 (Vidal, 2007). Este aumento de la producción se dio por varios factores: aumento de la producción individual, que pasó de 1695 litros/vaca masa/año en 1985 a 3201 litros/vaca masa/año en 2003. En la última década el rodeo lechero se incrementó pasando de 678280 en 1997 a 722637 en el año 2007, siendo Holando la principal raza (DICOSE, 2007). Sin embargo, al mismo tiempo se verificó una disminución en el número de establecimientos productores de leche (5709 en 1997 vs 4919 en 2003) (DIEA 2007). La superficie total dedicada a la lechería en 2007 fue 873673 hectáreas, de las cuales un 37% corresponden a praderas artificiales permanentes, 11% a cultivos forrajeros anuales, 7% campo natural mejorado y un 35% campo natural y rastrojos.

La base alimentaria para la mayoría de los sistemas lecheros nacionales es pastoril, con pastoreo directo sobre tapices mixtos o puros de gramíneas y leguminosas anuales o perennes de implantación artificial (en su mayoría) o naturales. El resto de la dieta se compone de distintos suplementos como ensilajes, henos y concentrados que representan un porcentaje variable de dicha dieta de acuerdo a su disponibilidad, a la disponibilidad de forraje y teniendo en cuenta la relación precio kilogramo concentrado/precio litro de leche.

La remisión de leche a las plantas industriales no es constante a lo largo del año, determinado principalmente por dos factores, a) la producción de forraje y b) estacionalidad de partos. La mayoría de los partos se produce en otoño alcanzando un 38%, mientras que en primavera alcanzan un 29% (Oleggini 2004, datos no publicados). La mayor cantidad de partos de otoño fue producto de un incentivo de la industria que bonificaba la producción invernal de leche, sumado a esto, en los últimos años se ha observado que los partos de otoño generan lactancias de mayor producción y más sostenida respecto a las que comienzan en primavera (Oleggini 2004, datos no publicados).

Estudios realizados en nuestro país reportaron que en condiciones de pastoreo las vacas de parición de otoño se adaptan con dificultad al inicio de la lactancia, lo que compromete su producción en el resto de la misma y retrasa el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto (Meikle et al., 2004). En particular son las vacas primíparas las que parecen adaptarse con más dificultad a la transición entre la condición de vaca gestante a lactante, lo que se ve reflejado en perfiles endócrinos (Meikle et al., 2004) y metabólicos (Cavestany et al., 2005) más desbalanceados respecto a las vacas adultas.

Un relevamiento realizado por Ibarra, (2002) reportó que para vacas de parición de otoño un 22,6% de los animales que tenían más de 120 días de paridas se encontraban en anestro. Datos del Instituto Nacional de Mejoramiento Lechero (Sotelo, 2006) indican que el intervalo parto a primer servicio promedio fue de 104 días y asociado a esto, el 50% de las vacas tuvo un intervalo entre partos superior a 13 meses y en un 20% fue mayor a 16 meses.

LA VACA LECHERA EN TRANSICIÓN

El período de transición es de particular importancia en el ciclo productivo de la vaca lechera porque en él se define en buena medida el futuro productivo, reproductivo, metabólico y sanitario del animal. Se ha definido de diversas maneras, pero en general es considerado como aquel período que transcurre desde tres semanas antes hasta tres o cuatro semanas luego del parto (Stallings, 1999; Drackley, 1999). Es un período caracterizado por importantes modificaciones en el estado endócrino de las vacas, que permite que se preparen para el parto y la lactogénesis, siendo la etapa más crítica del ciclo gestación-lactancia. Estos cambios exigen la reorganización completa de metabolismo nutricional del animal de manera que garantice el cubrimiento de los requerimientos de energía, aminoácidos, glucosa, ácidos grasos y minerales del útero grávido al final de la gestación y de la glándula mamaria al inicio de la lactancia (Overton y Waldron, 2004). Este súbito aumento de los requerimientos resulta en un BEN que se expresa como una pérdida de CC y en casos extremos puede resultar en una limitación del potencial de producción de leche de diversa magnitud, y en un retraso del reinicio de la actividad reproductiva.

Los animales en BEN se caracterizan por niveles sanguíneos bajos de insulina, glucosa y de IGF-1 y niveles elevados de hormona de crecimiento y NEFA (Canfield y Butler 1991). En estas condiciones, los mecanismos de regulación homeorrética (es decir, la acción de distribuir la energía disponible hacia las distintas funciones metabólicas para sostener un determinado estado fisiológico) establecen la prioridad de utilización de nutrientes hacia la producción por encima de la función reproductiva (Bauman y Currie, 1980).

La insulina juega un rol central en el control homeostático del metabolismo de la energía y su concentración está positivamente correlacionada con la ingesta de energía (Chilliard et al., 1998). Además de mantener la glicemia, participa en: 1) la estimulación de la secreción de la hormona Folículo Estimulante (FSH) (Adashi et al., 1981 citado por: Bach 2001), 2) la secreción pulsátil de hormona Luteinizante (LH) (Bucholtz et al., 2000 citado por: Bach 2001) y 3) la secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo (Ladenheim et al., 1984 citado por: Bach 2001), además de ser la principal responsable de la disminución de IGF-1 durante el posparto (Grummer, 1995). Su concentración varía de acuerdo al día posparto (Meikle et al., 2004), antes del parto los niveles comienzan a disminuir hasta llegar a su más bajo valor alrededor del parto, siendo luego rápidamente recobrados llegando a sus valores normales al día 30 posparto.

La IGF-1 tiene efectos sobre la función folicular *in vitro*, estimulando la esteroidogénesis por parte de las células de la teca y de la granulosa del folículo (Beam y Butler, 1997). La cantidad de IGF-1 en el líquido folicular está directamente relacionada con la concentración plasmática de ésta (pues la mayoría de IGF-1 del líquido folicular procede del plasma). Beam y Butler (1999) describieron correlaciones positivas entre la pulsatilidad de la LH y el desarrollo folicular, así como entre la concentración de estradiol e IGF-1. Sin embargo, como durante el posparto tanto la LH como la IGF-1 aumentan cuando el estado nutritivo de los animales mejora, es difícil concluir que la IGF-1 o la LH por si solas ejercen un efecto directo sobre la mejora de la reproducción. De cualquier forma, nutricionalmente resulta interesante minimizar el descenso de insulina después del

parto, para estimular así el crecimiento folicular y la concentración de progesterona, Somatotrofina (**bST**) e IGF-1.

La leptina secretada por el tejido adiposo actúa como una señal de la reserva energética para regiones hipotalámicas que controlan la ingesta (Chilliard et al., 2001). Su concentración varía de acuerdo a los cambios en el peso corporal y porcentajes de grasa corporal. Block et al. (2001) demostraron que la concentración de leptina declina muy cerca del parto, pero existe poco acuerdo sobre las concentraciones de leptina luego del mismo, ya que ha sido reportado que puede aumentar (Kadokawa et al., 2000), mantenerse sin cambios (Huszenicza et al., 2001), disminuir (Block et al., 2001, Holtenius et al., 2003), o incrementarse transitoriamente (Liefers et al., 2003). Por eso es muy importante que se apliquen programas nutricionales que aseguren que los niveles de grasa corporal durante el parto no sean elevados (pues deprimirán la ingestión) ni demasiado bajos (pues no se secretará suficiente leptina para permitir una buena función reproductiva). El intervalo entre el parto a la primera ovulación está significativamente correlacionado con el intervalo entre el parto y el nadir de leptina (Kadokawa et al., 2000).

Durante el período de transición es común que el consumo de materia seca (CMS) se reduzca entre 30 y 35% durante las últimas tres semanas de la gestación. Esto está influenciado por el estado fisiológico del animal, específicamente el estado de gestación o momento relativo al parto. Los factores fisiológicos que causan la reducción en el CMS a medida que se acerca el parto no son bien conocidos (Grummer y Hayirli, 2000). Se ha señalado que el rápido incremento en el tamaño del feto al final de la gestación causaría una reducción del CMS, al disminuir el volumen ocupado por el rumen (Gunter et al., 1990). Sin embargo, el incremento en la concentración de NEFA circulantes, como consecuencia de la movilización del tejido adiposo conduce a un incremento en su captación por el hígado, lo que se ha asociado a la reducción en el CMS tanto en rumiantes como en no rumiantes (Scharrer y Langhans, 1988, citados por Emery et al, 1992).

Grummer, (1995) estableció que el consumo de alimento preparto está altamente correlacionado al consumo posparto, por lo que hay que hacer un esfuerzo para maximizar el consumo de alimento antes del parto. Para ello se debe utilizar la mejor fuente de forrajes y un manejo adecuado de los alimentos balanceados y suplementos. Aumentado la ingesta de carbohidratos fermentescibles durante el período preparto ayuda a acostumar la población ruminal a las dietas de lactación, promoviendo el desarrollo de las papilas ruminales, incrementando la capacidad de absorción y reduciendo la lipólisis por la presencia de más precursores glucogénicos en el hígado aumentando la insulina en sangre.

Los granos de cereales son el suplemento más comúnmente usado en sistemas pastoriles. En los últimos años el aumento en el mérito genético de las vacas lecheras ha llevado a que la suplementación con granos de cereales aumente (Muller y Fales, 1998; Rearte y Pieroni, 2001; Bargo et al., 2003). Sin embargo la alimentación con grandes cantidades de cereales pueden disminuir el pH ruminal predisponiendo a acidosis ruminal. Para disminuir esta predisposición y aumentar la ingesta de energía, sería importante incrementar la suplementación grasa en vacas en pastoreo (Kellaway y Porta, 1993; Schroeder et al., 2002). Teóricamente la suplementación con grasa podría tener las siguientes ventajas: a) incremento de la densidad energética de la dieta ya que las grasas

contienen tres veces más energía neta de lactación que los alimentos ricos en proteínas y carbohidratos (Palmquist, 1984), b) mejor eficiencia energética al reducir las pérdidas de energía como calor, metano y orina (Jenkins, 1993) y c) reducción del riesgo de acidosis que resulta en una disminución del porcentaje de grasa en leche (Palmquist y Conrad, 1978; Palmquist, 1988). Además se ha visto que la suplementación con determinados ácidos grasos puede influenciar eventos metabólicos que son importantes para una exitosa reproducción en vacas lecheras (Petit et al., 2001).

Hay algunas evidencias de los diferentes efectos de ácido α -linoleico y los ácidos grasos de la familia Ω -3 del AP, EPA y DHA en la síntesis de interleucina, quizás por las diferencias en el camino por el cual estos ácidos grasos son incorporados a la membrana celular (Wu et al., 1996 citado por Petit, 2002). La suplementación con grasa puede también disminuir la síntesis total de prostaglandinas por reducción de la actividad de la prostaglandina sintetasa (Thatcher et al., 1995, citado por Petit, 2002). Dietas ricas en ácido linoleico incrementan la concentración de ácido araquidónico en los tejidos y dietas ricas en ácido linolénico incrementan la concentración de EPA (Béréziat, 1978). Además el EPA es un inhibidor competitivo de enzimas complejas involucradas en la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico (Leat y Northrop, 1979; Holman, 1986). Por lo tanto esto podría sugerir que dietas con baja proporción linoleico/linolénico (Ω -6/ Ω -3) podrían disminuir la secreción de prostaglandinas o la actividad de las mismas, como lo sugieren Barnouin y Chassagne (1991). Esto podría tener un importante efecto sobre la reproducción e inmunidad de las vacas lecheras.

Fisiología del reinicio de la ciclicidad ovárica posparto en vacas lecheras

El desempeño reproductivo de un rodeo lechero afecta directa e indirectamente el resultado económico del sistema productivo a través de su efecto sobre distintas variables como por ejemplo: a) la producción de leche diaria y durante la vida productiva del animal, b) la tasa de descarte voluntario e involuntario, c) la tasa de progreso genético para características de importancia económica y d) el número de reemplazos producidos.

Ha sido sugerido que un intervalo entre partos de 12-13 meses permite obtener un resultado económico óptimo en un predio lechero (Louca y Legates, 1968). Si consideramos que la duración de la gestación en bovinos es en promedio 282 días, supone que luego del parto y en breve período (83 días) la vaca debe completar el proceso de involución uterina, reiniciar su ciclicidad ovárica, ser detectada en celo, servida y lograr una alta tasa de concepción por servicio (Rhodes et al., 2003; Roche, 2006).

Luego del parto se produce un descenso en la concentración de estrógenos y aumento en la concentración de FSH, lo que resulta en la emergencia de la primera onda folicular a los 5 a 7 días luego del parto (Beam y Butler, 1997). Este aumento de la FSH produce la emergencia de folículos activos con producciones crecientes de estrógenos e inhibina, que tienen un efecto de retroalimentación negativa sobre la producción de FSH. Esta disminución de la FSH resulta en la supresión de los folículos antrales menos uno, que adquiere la capacidad de seguir desarrollándose aún con bajos niveles de esta hormona. Esto es posible por el incremento del número de receptores a la LH en las células de la

granulosa. El destino del folículo dominante depende ahora de la frecuencia pulsátil de la LH; si la misma es baja (un pulso cada 3 o 4 horas), se produce la atresia del folículo dominante, pero si la frecuencia de pulsos es alta (uno por hora) resulta en una producción continua de estrógenos que induce picos preovulatorios de hormona liberadora de gonadotropinas (**GnRH**) y LH, lo que desencadena la ovulación (Roche y Diskin, 2005).

Para que el folículo dominante produzca estrógenos, estimule el pico de LH y ovule, es necesaria una adecuada frecuencia de pulsos de LH y adecuadas concentraciones de insulina e IGF-1 circulantes, las que actúan sinérgicamente con las gonadotropinas para estimular la esteroidogénesis (Beam y Butler, 1999).

La presencia de un folículo dominante (> 10mm) se ha reportado entre los días 8 y 11 posparto, y el fracaso de la ovulación del mismo es el responsable de anestros posparto prolongados (Beam y Butler 1997, Beam y Butler 1998). La reanudación temprana de los ciclos estrales ovulatorios luego del parto está asociada con mejoras en la fertilidad de las vacas lecheras (Cavestany et al., 2001; Butler, 2003).

Basados en el destino de la primera onda folicular posparto se han descrito tres patrones de desarrollo folicular (Beam y Butler, 1999): 1) ovulación de folículo dominante, 2) desarrollo de una primera onda folicular anovulatoria con atresia del folículo dominante, seguido de aparición de nuevas ondas foliculares anovulatorias hasta que la primera ovulación se produce y 3) el folículo dominante se desarrolla sin ovulación ni atresia transformándose en un quiste folicular.

El destino del folículo dominante de la primera onda folicular tiene un gran impacto sobre la longitud del IAPP. En las vacas que siguen el patrón 1 el IAPP es de 20 días y en el caso que sigan los patrones 2 y 3 el IAPP promedio es de 50 días (Beam y Butler, 1999). En una revisión realizada por Roche (2006), se determinó que en el 30% a 80% de las vacas lecheras el folículo dominante sigue el patrón 1, 15% a 60% el patrón 2 y 1 a 5% el patrón 3.

El balance energético durante el posparto temprano (cuando las deficiencias son por lo general mayores), no afecta el momento de desarrollo de la primera onda folicular (Richards et al., 1989). Esto sugiere que el BEN en la lactancia temprana no afecta la población folicular, o el tiempo de comienzo de crecimiento del folículo dominante, pero sí afecta el destino del primer folículo dominante. Son las vacas de peor recuperación del consumo en el posparto o las de mayor BEN las que tienen mayor cantidad de días abiertos (Martínez y Sánchez, 1999, citado por Artía et al., 2007).

Es más probable que las vacas que paren con baja CC (<2,5) pueden tener un prolongado período de anestro debido presumiblemente a una baja frecuencia de pulsos de LH y subsiguiente baja concentración de estrógenos siendo estos inefectivos para inducir el pico de LH y la ovulación. Estas tienen menor diámetro de folículo dominante, baja concentración de insulina e IGF-1 y bajas frecuencias de pulsos de LH (Roche, 2006).



ALIMENTACIÓN DE LA VACA LECHERA EN CONDICIONES PASTORILES DE URUGUAY Y SU INFLUENCIA EN EL REINICIO DE LA CICLICIDAD OVARICA POSPARTO

En condiciones pastoriles el consumo de energía para sostener la producción de leche es menor que en sistemas estabulados (Kolver y Muller, 1998). En estas condiciones la producción de leche, porcentaje de grasa y proteína es menor con respecto a vacas alimentadas con dietas totalmente mezcladas (Kolver y Muller, 1998). Estudios nacionales con pariciones de otoño sobre sistemas pastoriles han llegado a la conclusión que no se alcanzan los picos potenciales de producción de leche en el posparto temprano (Krall y Chilbroste, 2003), siendo el bajo CMS el principal factor limitante en la producción de leche. La interacción entre las fechas de siembra y el manejo del pastoreo puede provocar una disminución en la oferta de forraje en el predio durante el otoño-invierno determinando la necesidad de suplementar para evitar pérdidas en producción de leche y una menor eficiencia reproductiva (Zanoniani et al., 2004). Esto es más acentuado en vacas primíparas que en múltiparas, ya que en las primeras a los requerimientos de producción de leche se suman los de crecimiento. Muchas veces la disminución en la oferta de forraje que representa entre 50 a 70% de la dieta no se ve acompañada de una adecuada suplementación resultando en déficit alimenticio para las vacas de parición de otoño.

Kolver y Muller, (1998) reportaron que vacas en lactancia temprana pastoreando una pastura de alta calidad en primavera tuvieron un CMS de 19,0 kg o 3,4% del peso vivo. Sin embargo, cuando se las comparó con vacas en una dieta totalmente mezclada, las vacas en pastoreo consumieron 4,4 kg menos de MS. El CMS y energía neta de lactación (ENL) fueron menores en las vacas en pastoreo, aunque el consumo de proteína bruta (PB) y fibra detergente neutra (FDN) no difirieron entre las vacas en pastoreo y las vacas con dieta totalmente mezclada. La diferencia en CMS, más que la diferencia en el contenido de energía de la pastura por kg de MS, pareció ser el principal factor responsable del menor consumo de energía y producción de leche (Kolver y Muller, 1998).

Los resultados de relevamientos realizados en predios comerciales de nuestro país indicaron que para vacas con parición de otoño habría un retraso en el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto. En un relevamiento que involucró 33447 vacas de partos de otoño se reportó que 22,6% de las vacas que tenían más de 120 días de paridas se encontraban en anestro (Ibarra, 2002), mientras que en otro estudio que involucró 462 vacas de parición de otoño e invierno y utilizando la longitud del intervalo parto a primer servicio como índice de reinicio de la actividad ovárica posparto, se reportó que mientras en las vacas múltiparas la longitud del mismo fue de 95 días en promedio, en las primíparas fue de casi 140 días (Ibarra y Chilbroste, 2003).

La primera edición del Informe de Primavera referente a tambos remitentes a CONAPROLE analizó 189828 partos y 112500 lactancias cerradas provenientes de 205 establecimientos, del período 1997-2001 indicó que el 84 % de los partos se encontraban entre marzo y octubre, siendo marzo el mes que presentaba el mayor porcentaje de partos (17%). El promedio del período parto-primer servicio (P1S) fue 98 días y el promedio del período parto-concepción (P-C) de 131 días.

Cinco años más tarde se analizaron 209210 partos y 147713 lactancias cerradas provenientes de 254 establecimientos, para el período 2001-2005. La distribución de partos siguió el mismo patrón que en el quinquenio anterior. El promedio para P1S y para P-C fue de 104 días y 150 días, respectivamente. Este deterioro de los indicadores reproductivos mencionados se observó en vacas adultas y en vacas de primera lactancia. En el caso de vacas adultas P1S pasó de 92 días a 96 días y P-C de 124 a 144 días. En tanto para vacas de primera lactancia P1S aumentó de 114 a 122 días y P-C de 146 a 165 días (Sotelo, 2006).

En un estudio realizado por Meikle et al., (2004) para caracterizar los perfiles metabólicos y endócrinos y el reinicio de la ciclicidad ovárica con un manejo similar al de los tambos comerciales (dietas basadas en una oferta restringida de pastura mezcla de gramíneas y leguminosas, concentrado y ensilaje de maíz) encontró que para las vacas primíparas el reinicio de la actividad ovárica posparto fue 45 días, y esto estuvo influenciado por la CC al parto.

La CC disminuyó desde el día 30 antes del parto y esta tendencia fue más acentuada durante las cuatro primeras semanas después del parto. Los niveles de NEFA y Beta-hidroxi-butilato (**βHB**) se incrementaron alrededor del parto, reflejando el BEN de los animales. Los niveles séricos de urea disminuyeron en el último mes de gestación y no son diferentes entre primíparas y múltiparas, pero si se han encontrado interacción entre paridad y días posparto. Una disminución simultánea de las proteínas totales, globulinas y urea en los últimos días antes del parto es asociada con una disminución en la ingesta (Bauchart, 1993, citado por Cavestany et al., 2005).

Una explicación al atraso en el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto es que se deba al anestro posparto nutricional, por lo que es necesario validar estrategias para un uso más eficiente de los recursos nutricionales (costosos en nuestro país, en lo que a suplementos se refiere). Ligado a esto es sabido que una mayor cantidad de ciclos luteales anteriores al servicio permiten una mayor fertilidad del celo servido, lo que demuestra el efecto positivo del rápido retorno a la ciclicidad ovárica, fenómeno dependiente en gran parte de la recuperación del estatus nutricional (Krall y Chillibroste, 2003).

LAS GRASAS EN LAS DIETAS DE LAS VACAS LECHERAS

Digestión y metabolismo:

Las grasas están presentes en pequeñas cantidades (menos de 50 g/kg MS) en la mayoría de los alimentos naturales disponibles para la alimentación animal (Doreau y Chilliard, 1997). El contenido total de grasa en forrajes frescos se encuentra generalmente entre el 3% y 8% de la MS (Harfoot, 1981). Del total de grasa aproximadamente 40-50% son ácidos grasos (**AG**), principalmente galactolípidos, fosfolípidos de membrana celular, pigmentos tales como clorofila (Palmquist y Jenkins, 1980; Van Soest, 1994). De estos la mayoría son altamente insaturados (promedio 70-90%), con una gran cantidad de linoleico y linolénico.

Se distinguen tres etapas en la digestión ruminal de los lípidos: hidrólisis, biohidrogenación y saponificación. Las distintas formas lipídicas van a ser casi totalmente hidrolizadas (más del 95%) por hidrolasas bacterianas. A partir de los triacilglicéridos (**TAG**) se obtienen glicerol y ácidos grasos libres (**AGL**), conjuntamente con cierta cantidad de galactosa y alcoholes aminados. Una vez separados del glicerol, los AG insaturados van a sufrir una hidrogenación muy importante y rápida. La biohidrogenación transforma los AG insaturados en saturados (principalmente ácido esteárico) y en trans-isómeros de AG monoinsaturados (Barros, 2006).

Debido al proceso de biohidrogenación, la composición de los AG que abandonan el rumen es muy diferente de la composición de los AG de la dieta. Doreau y Ferlay, (1994) demostraron en experimentos *in vivo* que los porcentajes de biohidrogenación de los ácidos linoleico y linolénico son de 80% y 92% respectivamente. Aparentemente no existiría una relación entre el porcentaje de hidrogenación y el total de AG o los AG individuales ingeridos. El alcance de la biohidrogenación es solamente un poco más bajo para lípidos de forrajes que para aceites libres (Ben Salem et al., 1993). Todos los casos de hidrogenación más bajos que 60 y 70% para ácidos linoleico y linolénico, respectivamente, corresponden a dietas conteniendo más de 70% de concentrados. Una alta ingesta de concentrados es el principal factor capaz de reducir la biohidrogenación. Esto coincide con la inhibición de la lipólisis por un bajo pH ruminal. Esto puede suponer por lo tanto, que la limitación de la lipólisis es causa de la reducción de la biohidrogenación.

A mayor grado de insaturación de los AG se produce una más extensa biohidrogenación en el rumen. Aún algunas fuentes grasas parecen ser más resistentes a los cambios ruminales que otras. El glicerol es transformado por las bacterias en ácido propiónico, la galactosa en ácido acético y ácido butírico, y los alcoholes aminados son metabolizados hasta amoníaco y ácidos grasos volátiles (**AGV**). Salvo los AG de cadena media y larga, los demás productos terminales son absorbidos por la pared ruminal.

Los AG pueden ser saturados (mirístico, palmítico y esteárico) o insaturados dentro de los cuales se encuentran los monoinsaturados (oleico, C18:1) y los poliinsaturados con enlaces dobles (linoleico C18:2, araquidónico C20:4) o múltiples: α -linolénico (C18:3), eicosapentanoico C20:5 (EPA) y docosahexanoico C22:6 (DHA) (Barros, 2006). Los AG insaturados se agrupan en familias, de acuerdo con la ubicación de sus dobles enlaces en la cadena carbonada formándose así familias omega (Ω). En la familia " Ω -3" todos sus miembros poseen el primer doble enlace en la posición 3 respecto al grupo metilo terminal, mientras que en la familia " Ω -6" el primer doble enlace aparece en la posición 6 (Domínguez y Grau, 2003). Los ácidos grasos poliinsaturados (**PUFA**) que integran la familia Ω -3 son el ácido α -linolénico (C18:3) y sus metabolitos EPA (C20:5) y DHA (C22:6); en tanto los integrantes de la familia Ω -6 son, el ácido linoleico (C18:2) y sus metabolitos ácido γ -linoleico (C18:3) y ácido araquidónico (C20:4) (Domínguez y Grau, 2003).

El alcance de la biohidrogenación es sensible al pH del medio. Factores que influyen en el pH ruminal tales como las fuentes de forraje, tamaño de partícula, manejo alimentario, buffers de la dieta puede influenciar la biohidrogenación de los PUFA.

Una vez que los lípidos ingresan al rumen lo primero que ocurre es la isomerización. Las hidrogenasas permiten la reducción de los AG de acuerdo a los diferentes patrones descritos por Harfoot y Hazlewood (1988). El producto final de la hidrogenación del ácido linoleico es el ácido estearico (C18:0). Sin embargo cuando grandes cantidades de ácido linoleico están disponibles, la hidrogenación generalmente para antes del paso final, encontrándose varios isómeros monoenoicos cis y trans (Harfoot et al., 1973). El más importante es el ácido transvaccénico.

Las pasturas contienen altos niveles de ácido linolénico y la conversión de ácido transvaccénico a ácido esteárico es el paso limitante en la biohidrogenación (Grummer y Rabelo, 1999). Se cree que una sustancial cantidad de ácido transvaccénico es absorbido posruminal en animales en pastoreo (Bauman y Griinari, 2001). El ácido transvaccénico puede ser desaturado a ácido linoleico conjugado (CLA) por enzimas de diferentes tejidos (ej. $\Delta 9$ desaturasa en glándula mamaria), el cual puede ayudar a explicar los más altos niveles de CLA encontrados en leche de vacas recibiendo dietas basadas en pasturas que en concentrados (Kelly et al., 1998; Chilliard et al., 2001; Corl et al., 2001; Lock y Garnsworthy, 2003).

La alta tasa de pasaje generalmente encontrada en vacas pastoreando pasturas de alta calidad (Bargo et al., 2003) y el adecuado nivel de calcio de éstas pasturas (Van Soest, 1994; NRC, 2001) podrían disminuir los posibles efectos negativos de la suplementación grasa. Esta mejora en la eficiencia de la utilización de la energía para lactación con la inclusión de grasa en la dieta ha sido atribuida a menores pérdidas de energía como calor y metano, un uso directo de los AG de cadena larga para la secreción grasa de la leche, y una alta eficiencia de la producción de ATP por parte de éstos más que de acetato (Chilliard, 1993, Gansworthy, 1997).

Efecto sobre consumo, producción y composición de leche:

Las características físicas y químicas de los ingredientes de la dieta y sus interacciones pueden tener un gran efecto sobre el CMS de vacas en lactación (Allen, 2000). Algunas de estas características son: cantidad de fibra, tamaño de partícula, facilidad de hidrólisis del almidón y la fibra, fragilidad de la partícula, productos de la fermentación de silo, concentración y características de la grasa, cantidad y degradación de la proteína en rumen. Jerred et al., (1990) demostraron que vacas suplementadas con grasa en el inicio de la lactancia presentaban un menor consumo de alimentos y de energía, evidenciándose pérdidas de peso y CC más consistentes que vacas que no la consumían. La densidad de energía es aumentada con la inclusión de grasa en la dieta, pero el consumo de energía puede permanecer sin cambios debido a un menor CMS en vacas suplementadas con grasa.

Distintas hipótesis se han planteado para explicar como afecta la suplementación con un exceso de lípidos en el consumo. Una de ellas plantea que los efectos adversos de la suplementación con lípidos sobre la flora celulolítica enlentecería la digestión de la fracción fibra e incrementaría el tiempo de permanencia del alimento en el rumen, disminuyendo la capacidad de consumo, mientras que otra teoría plantea que los lípidos insaturados promueven la liberación de colecistoquinina, hormona que se ha relacionado con

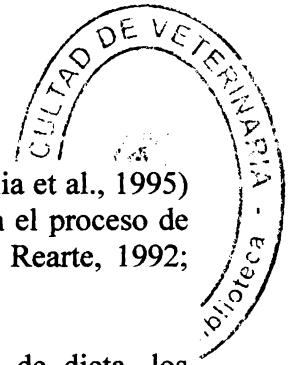
disminuciones del consumo. En efecto, la ingesta de MS disminuyó y la concentración en plasma posprandial de colecistoquinina se incrementó luego del consumo de grasa de vacas lactando (Allen, 2000). En cambio, en estudios realizados por Schroeder et al. (2004) la suplementación con grasa saturada o insaturada no afectó la digestión de la fibra en el rumen, por lo que ni la ingesta total de MS ni de pastura fueron consistentemente afectados por la suplementación grasa.

Numerosos estudios indicaron un pequeño incremento en la producción de leche o disminución en el peso corporal con suplementación grasa durante las primeras cinco semanas posparto (Ruegsegger y Schultz, 1985; Jerred et al., 1990; Hoffman et al., 1991; Schingoethe y Casper, 1991; Chilliard, 1993; Grummer et al., 1995). Las vacas parecen responder mejor a la suplementación con grasa aproximadamente cuando alcanzan el balance de energía positivo. No se ha determinado si se debe suplementar con grasa durante las primeras semanas de la lactancia para obtener la ventaja más adelante, o si se podría comenzar a alimentar en la semana cinco a siete posparto y conseguir la respuesta inmediatamente sin una fase de retraso. Seymour et al. (1994) concluyeron que 5,5% de grasa en la dieta fue óptimo durante el día 1 a 49 de lactación y 7% fue más beneficioso durante el día 50 a 100 de lactación. Una extensa revisión de la literatura (Chilliard, 1993) indicó que la suplementación grasa en la lactancia temprana no reduce el peso corporal o la CC. Existen algunas evidencias de que la suplementación grasa puede incrementar la liberación de NEFA desde el tejido adiposo (Grummer y Carroll, 1991; Chilliard, 1993). Esto puede ser debido al incremento de la lipólisis basal, a una disminución de la reesterificación de AG, o a ambos efectos.

La suplementación grasa afecta el porcentaje de grasa en la leche y la composición de diferentes maneras. El consumo de grasa puede tener efectos negativos en la digestión de la fibra en el rumen y disminuir la producción de ácido acético y butírico (precursores de AG de cadena cortas y medias en leche), afectando la síntesis *de novo* en la glándula mamaria. Cuando la grasa es incluida en la ración la directa incorporación de los AG de cadena larga en los TAG por la glándula mamaria es incrementada (Palmquist y Jenkins, 1980).

Los precursores de la grasa de la leche tienen un origen en metabolitos circulantes en sangre que aportan materia prima principal para la formación de grasa por la glándula mamaria. Los metabolitos absorbidos por la pared ruminal hacia la sangre como el acetato y β HB, así como aquellos circulantes provenientes del tejido adiposo o del hígado (NEFA o la forma esterificada de triglicéridos y también la glucosa), son los precursores bioquímicos que captará la célula secretoria mamaria a través de su membrana para transformarlos en grasa neutra (Barros, 2006).

Los efectos negativos de la grasa insaturada sobre el contenido y la producción de grasa de la leche, podrían ser explicados a través de dos teorías. Una sugiere que la presencia de grasa insaturada no protegida, podría reducir la grasa de la leche debido a sus efectos a nivel ruminal, sobre la relación de AGV y la síntesis microbiana de ácidos grasos (Storry, 1981 citado por Hussein y Jordan, 1991; Opsvedt, 1984 citado por Calsamiglia et al., 1995; Hoover et al., 1989, Calsamiglia et al., 1992 citados por Calsamiglia et al., 1995). La otra, alude a efectos posruminales, fundamentalmente a una reducción en la absorción de AG del plasma por la glándula mamaria (Storry, 1981 citado por Hussein y Jordan, 1991), a una



inhibición de la lipasa lipoproteica (Storry et al., 1974 citados por Calsamiglia et al., 1995) y a descensos en la actividad de la acetil-CoA carboxilasa, enzima clave en el proceso de síntesis *de novo* que ocurre en ese órgano (Storry et al., 1973 citado por Rearte, 1992; Mattos y Palmquist, 1974 citados por Mäntysaari et al., 1989).

La teoría de biohidrogenación propone que bajo ciertas condiciones de dieta, los patrones típicos de biohidrogenación son alterados para producir intermediarios de los AG que inhiben la síntesis de grasa en la leche. El trans-10, cis-12 CLA ha sido identificado como un ejemplo de estos AG intermediarios que ha sido correlacionado con la reducción de grasa en leche. Investigaciones con isómeros puros pueden mostrar que trans-10 cis-12 CLA es un potente inhibidor de la síntesis de la grasa de la leche a nivel de la glándula mamaria.

Efectos sobre la reproducción:

En los últimos años se ha sugerido que la suplementación con grasa en el posparto, y en particular de grasa poliinsaturada, puede tener efectos beneficiosos sobre la actividad reproductiva de la vaca lechera en el posparto.

En un estudio realizado por Sklan et al., (1989) en vacas en lactación observaron que las vacas suplementadas con grasa perdían más peso inicialmente pero lo recuperaban más rápidamente cuando consumían grasa, entonces el efecto de la grasa sobre el estatus energético es mixto. Aunque hay evidencia que la alimentación con grasa puede mejorar el estatus energético de la vaca, una mejora en la performance reproductiva ocurre en varias circunstancias independientemente del cambio en el estatus energético de los animales experimentales.

El o los mecanismos por los cuales la dieta con grasa mejora la performance reproductiva no están bien elucidados. Muchas hipótesis han sido propuestas: 1) mejora del estatus energético negativo, lo que conduce un retorno más rápido al estro y por lo tanto mejora la fertilidad; 2) un incremento en la esteroidogénesis, lo que mejora la fertilidad; 3) manipulación de la insulina para la estimulación del desarrollo folicular; 4) una inhibición de la producción y liberación de PGF₂ α con influencias en la persistencia del cuerpo lúteo. Existen tres posibilidades más por las cuales los lípidos pueden mejorar la reproducción: 1) representan un sustrato directo para la producción de colesterol (precursor de la progesterona), 2) modulan el metabolismo del ácido araquidónico, y 3) la suplementación lipídica aumenta los niveles en sangre de IGF-1 y ello repercute en la producción de progesterona.

En una revisión realizada por Staples et al., (1998) a partir de 20 experimentos, concluyeron que la adición de grasa en el entorno de 3% de la dieta tuvo efectos positivos sobre el status reproductivo del animal, expresado a través de un mayor tamaño de los folículos ovulatorios, mayor cantidad de folículos, concentración de progesterona en plasma más elevada, reducción de la secreción de prostaglandinas y mayor duración del cuerpo lúteo. Sin embargo, esa estimulación de la actividad reproductiva no estuvo asociada a una mejora en el status energético del animal e incluso en ocasiones ocurrió lo opuesto.



En la vaca lechera, la suplementación de las raciones con lípidos puede afectar positivamente el desarrollo folicular (Wehrman et al., 1991), la longevidad del cuerpo lúteo (Ryan et al., 1995) y la duración del intervalo anovulatorio del posparto (Beam y Burger, 1997). Los mecanismos fisiológicos de estas mejoras no se conocen, aunque se sabe que no se deben sólo a una mejora del balance energético. McArdle et al. (1989) citado por Bach 2001, demostraron *in vitro*, en células luteales, que la IGF-1 contribuye a aumentar la síntesis de progesterona, debido, en parte, a una mejor utilización del colesterol exógeno. Talavera et al., 1985 y Williams, 1989, (citados por Bach, 2001) utilizando semillas enteras de oleaginosas, obtuvieron aumentos en el nivel de colesterol, que sólo en el segundo de los casos se tradujeron en incrementos en el nivel de progesterona y en una mayor vida del cuerpo lúteo. Sin embargo, Rabiee et al. (1999) demostraron que el colesterol no es un factor limitante para la producción de progesterona, por lo que la primera hipótesis expuesta anteriormente podría ser descartada.

La suplementación grasa puede reducir el total de síntesis de prostaglandina (PG) afectando la actividad de la PG sintetasa (Thatcher et al., 1995). Dietas ricas en ácido linoleico incrementan la concentración de ácido araquidónico en tejidos y dietas ricas en ácido linoléico incrementan la concentración de EPA (Béréziat, 1978). Además el EPA es un inhibidor competitivo de enzimas complejas involucradas en la síntesis de prostaglandinas desde el ácido araquidónico (Leat y Northrop, 1979; Holman, 1986).

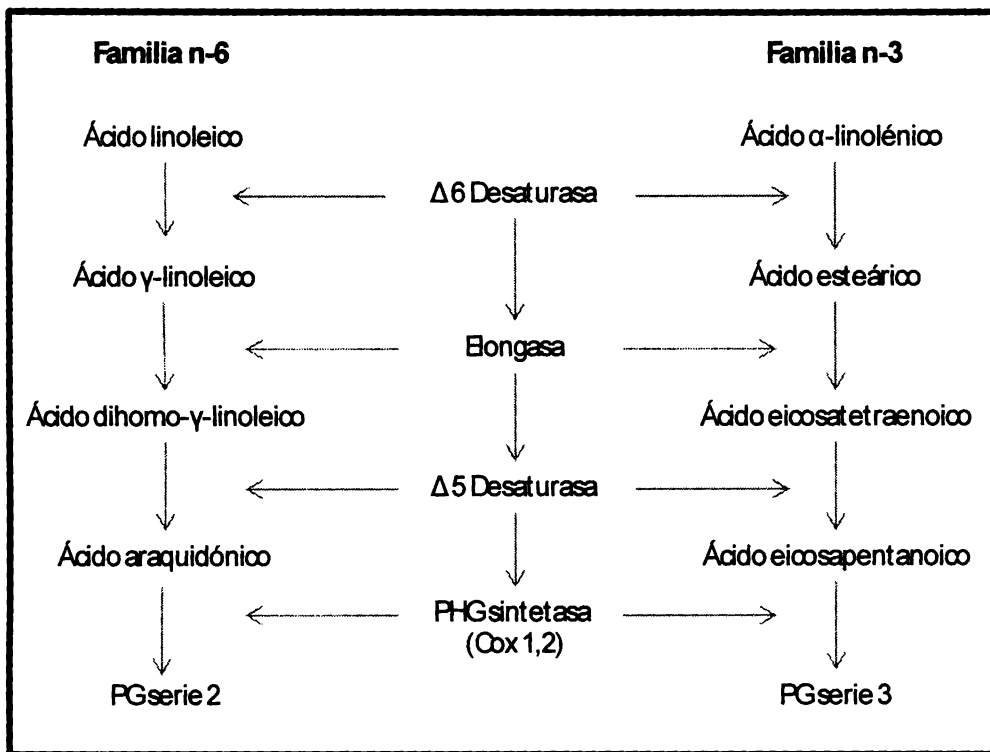
Algunos PUFA pueden servir como sustrato para la síntesis de PGF₂ α . Estos incluyen el ácido linoleico que es comúnmente encontrado en fuentes naturales de grasa. Puede ser desaturado y elongado a ácido araquidónico el cual sirve como un precursor inmediato para prostaglandinas de la serie 2 de las cuales la PGF₂ α es miembro clave. Las enzimas claves que regulan éstas conversiones incluyen Δ -6 desaturasa y ciclooxigenasa (COX). EPA y DHA pueden mostrar una acción inhibitoria de la COX, la cual es una enzima involucrada en la síntesis de PGF₂ α .

Por otra parte se ha sugerido que alimentar con AG de la familia Ω -3 puede demorar el retorno a la ciclicidad después del parto debido a una disminución en la síntesis de prostaglandinas de la serie 2, y puede incrementar el número de días al primer servicio. La síntesis de prostaglandinas de la serie 2 es requerida después del parto para la involución uterina que lleva al retorno normal de la ciclicidad. Por otro lado, alimentar con Ω -3 puede mejorar el reconocimiento materno y así disminuir la mortalidad embrionaria. Hay una fuerte sugerencia de que la alimentación con Ω -3 puede retrasar el retorno a la ciclicidad pero puede llevar a mejores resultados en la gestación. Por lo tanto alimentando las vacas con AG Ω -3 mostraron una mejor función reproductiva como resultado de mejores niveles de gestación, disminución de la mortalidad embrionaria, y una disminución de los servicios por concepción.

SUPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE PESCADO

El AP, esta compuesto por ester de la glicerina con una fracción relativamente alta de AG insaturados, destacándose entre estos los poliinsaturados con cuatro y seis dobles enlaces, predominando además los AG de 16, 18, 20 y 22 carbonos. El AP es extraído de las grasas corporales de peces grasos así como de los hígados de peces magros (Domínguez y Grau, 2003). Aproximadamente un tercio de la grasa total esta constituida por AG esenciales de cadena larga de la serie n-3 (FEDNA, 1997). Estudios realizados en AP a nivel nacional por la Facultad de Química mostraron que los AG palmítico (C16:0) y oleico (C18:1) aparecen en cantidades elevadas en prácticamente todos los aceites, representando entre ambos cerca del 35% del total de AG. Otros AG son frecuentes pero no siempre se encuentran en cantidades importantes, entre estos se encuentran: tres monoenos (C16:1, C20:1, C22:1), un saturado (C14:0) y dos polienos (C20:5, C22:6). Estos dos últimos son característicos del AP y generalmente no aparecen en otros aceites más que en niveles de trazas (Grompone, 1992).

Una particularidad del AP de origen nacional, es que presentan una composición intermedia respecto a los dos grandes grupos establecidos para los peces de agua salada: los ricos en monoenos de cadena larga (como el Arenque) y los ricos en poliinsaturados (como el Menhaden). Además, también se caracterizan por ser más ricos en DHA que en EPA, lo cual no es frecuente en aceites marinos de otros países (Grompone, 1992). El contenido de EPA no presenta variaciones importantes entre especies, no siendo así para el DHA el cual es mínimo en la corvina y máximo en la merluza (Grompone, 1992); siendo éste último el principal recurso pesquero uruguayo y fuente de materia prima para la elaboración de harina de pescado, como ya fuera mencionado.



Fuente: Adaptado de Petit 2002

Figura 1: Precursores y enzimas vinculadas en la formación prostanooides de serie 2 y 3

El precursor de EPA y DHA es al ácido linoléico. El precursor del ácido araquidónico es el ácido linoleico. El ácido linoléico compite con el ácido linolénico por las enzimas de desaturación y elongación para la síntesis de prostanooides y sus precursores (Petit, 2002). El ritmo de síntesis de PGF₂α es limitado por la disponibilidad del ácido araquidónico encontrado en los fosfolípidos de membrana. El EPA compite con el ácido araquidónico por los sitios de unión a la COX (Zhang et al., 1995). DHA es un inhibidor de la actividad de la COX. El desplazamiento de ácido araquidónico por el EPA resulta en la síntesis de prostanooides de la serie 3 y estos son biológicamente menos activos y actúan por una vía diferente que los prostanooides de la serie 2 (PGF₂α y PGE₂) derivados del ácido araquidónico. DHA actúa reduciendo la expresión de las enzimas prostaglandina H₂ sintetasa, reduciendo la disponibilidad de dichas enzimas y por lo tanto reduciendo la síntesis de prostanooides.

Si bien la elevada proporción de PUFA sería deseable desde el punto de vista nutritivo, la facilidad con que éstos se oxidan determina dificultades en su conservación, así como reducciones en los niveles aportados. Investigaciones recientes han sugerido que el consumo de AP no estabilizados podrían significar la ingestión de compuestos potencialmente tóxicos, producidos durante la oxidación de los PUFA principalmente los de la serie Ω-3 (Shukla, 1991 citado por Rodríguez et al., 1993).

Los AG esterificados son sintetizados en los vegetales, en procesos asociados a la fotosíntesis, en tanto que sólo en organismos acuáticos se forman cantidades importantes de PUFA de cadenas largas de la familia Ω -3, tales como ácido EPA y ácido DHA (Mariane, 1998).

La mayor parte de las fuentes lipídicas de origen vegetal a excepción de las pasturas frescas, presentan bajos niveles de Ω -3, encontrándose principalmente en forma de ácido linolénico, el cual sería menos beneficioso que el EPA y DHA (Pike, 1999). Calsamiglia et al., (1995) mencionan que los AG insaturados de la dieta normalmente son biohidrogenados por los microorganismos de rumen. Sin embargo, los ácidos EPA y DHA que se encuentran en el AP parecen escapar a dicho efecto, quedando disponibles para la absorción (Ashes et al., 1992; Spain et al., 1995 citados por Burke et al., 1997).

Efecto sobre consumo, producción y composición de leche:

El AP tiene un elevado valor energético proporcionado por su contenido graso. La mayoría de los estudios realizados indican una disminución del CMS con el suministro de AP en dietas para vacas lecheras (Cant et al., 1997; Doreau y Chilliard., 1997; Donovan et al., 2000; Abu-Ghazaleh et al., 2002). Donovan et al., (2000) reportaron una disminución del CMS cuando el nivel de suplementación fue de 2% a 3% de la MS pero no cuando fue del 1%. La incorporación de AP en la dieta disminuyó el total de la ingesta en 1,6 Kg MS/día en promedio. El efecto del AP fue más pronunciado que los encontrados generalmente con lípidos de otras fuentes. Este efecto no fue probablemente debido a un efecto directo de los AG del AP, porque la depresión de la ingesta fue más alta cuando el AP fue infundido en rumen que en el duodeno (Doreau y Chilliard, 1997). También se ha observado un aumento del pH del rumen asociado a cambios en la proporción de AGV, aumentando el propiónico y butírico a expensas del acético (Mattos et al., 2002). La alimentación con grandes cantidades de lípidos insaturados puede disminuir el metabolismo ruminal (Donovan. et al., 2000), inhibir la digestión ruminal de la fibra (Jenkins y Jenny, 1989), y causar lisis de las células bacterianas (Galbraith y Miller, 1973). En cambio, Spain y Polan (1995) no encontraron alteraciones en la fermentación ruminal pero si alteraciones en los AG a nivel sanguíneo.

Distintos estudios reportaron que no hubo efecto sobre la producción cuando el AP fue agregado a la dieta. La perturbación de la secreción de energía de la leche no es debida a cambios en la producción sino a cambios en su composición. La lactosa, principal determinante del volumen de leche, no es afectada, explicando la carencia de efecto en la producción, pero la grasa y la proteína contenidas en ésta fueron significativamente disminuidas por el AP (Cant et al., 1997, Baer et al., 2001). Sin embargo, Chilliard et al. (1998) observaron un incremento en la producción láctea de 2 Kg/día en promedio tras el agregado de 300 mL AP a la dieta. Dado que las reservas corporales aparentemente no variaron este incremento en la producción de leche sugiere que la disminución en la ingesta fue compensada por un incremento en el valor energético de la dieta debido al AP. Cuando el pH ruminal es menor a 6,0, los excesos en el consumo de AP disminuyen la digestión de la fibra, debido al efecto tóxico sobre la flora ruminal, lo que reduce el porcentaje de grasa en leche (Hoover et al, 1989).

La mayoría de la bibliografía reporta una disminución del porcentaje de grasa de la leche de vacas suplementadas con AP (Baumgard et al., 2000; Baer et al., 2001; Cant et al., 1997; Doreau y Chilliard, 1997; Chouinard et al., 1999; Jones et al., 1998) aunque no en todos los casos (Drackley et al., 1992; Petit et al., 2001). La depresión de grasa en leche es comúnmente observada cuando las vacas consumen AP no protegido. El efecto del AP parece depender de la cantidad ingerida. Por ejemplo, Spain y Polan (1995) no observaron ningún cambio en el porcentaje de grasa cuando 24 mL de AP fueron dosificados dentro del rumen dos veces por día, a diferencia del estudio de Cant et al., (1997) donde vacas que recibieron por encima de 300 g/día de AP tuvieron una reducción en el tenor graso de la leche.

Mäntysaari et al. (1989) reportaron que la suplementación con 150 gramos/día de AP no tuvo efectos negativos sobre porcentaje graso de la leche, pero el suministro de 300 gramos/día redujo significativamente dicha variable. De igual forma, Spain y Polan (1995) observaron descensos en el porcentaje de grasa en leche por una infusión de 225 gramos/día de AP en rumen o abomaso.

Investigaciones *in vitro* (Hoover et al., 1989; Calsamiglia et al., 1995) e *in vivo* sugirieron que la disminución en la grasa de la leche estaba asociada a cambios en la relación acético/propiónico en el rumen. La reducción en la ingesta de MS y la posible inhibición de la fermentación de la fibra probablemente hace que la producción y absorción de acetato del rumen sea disminuida por el agregado de AP en la dieta. El acetato es el precursor para la síntesis *de novo* de AG en el tejido mamario, el cual produce los AG de cadena corta. Sin embargo, la secreción en leche de AG de cadena larga fue reducida principalmente debido a los efectos sobre las producciones de ácido oleico y ácido esteárico y éstos son AG no sintetizados en la glándula mamaria sino que son transferidos intactos desde la sangre (Cant et al., 1997). La alteración de las concentraciones de algunos AG de la grasa de la leche fue observada cuando el AP fue incorporado en las dietas. Una tendencia a disminuir la proporción de AG de cadena corta y un incremento en los AG de cadena larga (Baer et al., 2001).

El índice proteína-grasa aumentó de un promedio de 0,78 en el control a un más favorable 1,08 con el agregado de AP, no obstante con las producciones reducidas de ambos componentes de la leche (Cant et al., 1997). No se encontró diferencia en el contenido total de proteína de la leche de vacas con AP en la dieta comparado con las vacas del grupo control (Baer et al., 2001). Sin embargo, tras el suministro de 300 mL de AP se observó una disminución en la concentración de caseína y proteína en la leche (Doreau y Chilliard, 1997).

Se ha propuesto que algún elemento del AP puede servir como modificador del metabolismo ruminal para estimular la síntesis adicional de CLA en la glándula mamaria, a partir del ácido linolénico presente en otros elementos de la dieta como ensilaje de maíz, heno de alfalfa y grano de maíz (Donovan et al., 2000). Este aumento en los CLA resultante de la alta producción de ácido transvaccénico proveniente de la biohidrogenación ruminal del ácido linolénico que fue incorporado en los triglicéridos plasmáticos (Abu-Ghazaleh et al., 2003).

Los índices de transferencia de la dieta a la leche de EPA y DHA son de 5,4% y 7,6% respectivamente. El incremento en la concentración de AG n-3 en leche es acompañado de una disminución de AG saturados. Esta disminución se debe en gran parte a la reducción en la concentración de C18:0 en vacas consumiendo AP. Este también aumentó la concentración de CLA que proviene de la conversión de ácido linoleico y ácido linolénico (Mattos et al., 2004).

En resumen, Donovan et al. (2000) recomiendan que la cantidad de AP a suministrar en vacas lecheras sea del 2% de la dieta para maximizar las concentraciones de CLA, ácido transvaccénico y Ω -3 en la leche, mientras que Pike (1999) recomienda que no se supere los 200 gramos por animal y por día para evitar descensos de la grasa en leche.

Efecto sobre la reproducción:

El AP tiene varios efectos sobre la reproducción pudiendo influenciar tanto el metabolismo uterino como el ovárico (Burke et al., 1997). Los AG contenidos en dicho aceite afectan la fertilidad porque son precursores de las prostaglandinas, y vía colesterol de las hormonas esteroideas (Petit, 2002). En vacas suplementadas con AP las concentraciones de EPA y DHA en el tejido caruncular estuvieron incrementadas indicando que los AG fueron incorporadas al tejido uterino. La concentración combinada de EPA y DHA caruncular fue correlacionada positivamente con el número de días suplementados con AP, sugiriendo esto, que la introducción de AP 21 días antes del parto puede incrementar la concentración de EPA y DHA en el útero (Mattos et al., 2004). Estos AG pueden inhibir la actividad de la COX y disminuir la síntesis de $\text{PGF}2\alpha$ (Smith et al., 1991), así como reducir la eficiencia en la regresión del cuerpo lúteo (Burns et al., 2000), lo que indicaría que los cambios en la dieta pueden alterar la composición de AG del útero. Con este cambio en los AG del útero es tentador especular que el incremento de EPA y DHA en el tejido caruncular puede llevar a un retraso en el parto al retrasar la regresión del cuerpo lúteo, por lo que estaría contraindicada la suplementación con EPA y DHA en este período pero la relación entre estas dos variables no es del todo clara.

Algunos trabajos han propuesto que la suplementación con AP pueden aumentar la sobrevivencia embrionaria (Mattos et al., 2002). Se estima que un alto porcentaje de las pérdidas embrionarias se produce entre los días 8 y 17 de preñez, lo que es coincidente con el período de la inhibición de la secreción uterina de $\text{PGF}2\alpha$ por parte del embrión, sugiriendo que alguna de estas pérdidas puede darse porque algunos embriones son incapaces de inhibir dicha secreción. Por esto las estrategias para disminuir la secreción de $\text{PGF}2\alpha$ pueden resultar en un aumento de la sobrevivencia embrionaria. Armstrong et al. (1990) reportaron un aumento de 20% en la tasa de concepción a través del reemplazo en la dieta de una parte del suministro de alimentos en base a soja con alimentos en base a pescado.

La suplementación con EPA y DHA en la dieta han sido reportada como responsables de un incremento del diámetro folicular y de la circulación de estrógenos (Hightshoe et al., 1991). Lucy et al. (1992) sugirieron que son los AG y no la energía adicional lo que estimularía la función ovárica. Petit, (2002) reportó mayor cantidad de folículos, mayor



tamaño del folículo dominante y mayor tamaño de cuerpo lúteo en vacas alimentadas con AP.

Es necesario desarrollar diferentes estrategias alimenticias de acuerdo al estado reproductivo de las vacas, los AG requeridos para un mejor reconocimiento materno de la gestación (Ω -3) no son necesariamente los mismos requeridos para la facilidad de parto (Ω -6). Se debería balancear las dietas para AG específicos en busca de una óptima performance reproductiva. El único problema es que estos PUFA (ej. Ω -3 y Ω -6) son biohidrogenados por microorganismos ruminales y éstos AG deben sortear el rumen para tener algún efecto en la reproducción. Estos AG deben por lo tanto ser protegidos contra el ataque de los microorganismos ruminales pero ellos deben permanecer digestibles en el intestino y esto es hasta más importante para AGL.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El ensayo se realizó en la unidad de Lechería del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental “La Estanzuela”, Ruta 50 Km 11, Departamento de Colonia, Uruguay y comenzó en Enero de 2006 extendiéndose hasta Mayo del mismo año.

Animales

Se utilizaron 28 vacas primíparas de la raza Holando con partos previstos en el período comprendido entre Febrero y Abril, con una CC promedio de 2,5. Veintiocho días previos al parto, los animales fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los tratamientos e identificados de acuerdo al tratamiento correspondiente.

Tratamientos

El ensayo consistió en cuatro tratamientos los cuales se diferenciaron de acuerdo al período en que fueron suplementados con AP según se muestra a continuación:

Tratamiento 1: 0 mL de AP

Tratamiento 2: 150 mL de AP por vaca/día en el parto

Tratamiento 3: 200 mL de AP por vaca/día en el parto

Tratamiento 4: 150 mL de AP por vaca/día en el parto y 200 mL en el parto

El aceite utilizado de nombre comercial “Vipez Omega-3” tenía el perfil de AG que se describe en el cuadro N° I.

Cuadro I: Perfil de ácidos grasos de Vipez Omega-3

NOMBRE	CARBONOS	PORCENTAJES
Mirístico	C 14:0	4.2%
Pentadecanóico	C 15:0	0.7%
Palmítico	C 16:0	14.8%
Palmitoleico	C 16:1	5.6%
Hexadecadienoico	C 16:2	0.2%
Margárico	C 17:0	0.5%
Estearico	C 18:0	2 %
Oleico	C 18:1 n-9	20%
Linoleico	C 18:2 n-6	2%
Alfa Linolénico	C 18:3 n-3	1.7%
Estearidónico	C 18:4 n-3	4%
Araquídico	C 20:0	0.2 %
Eicosaenoico	C 20:1	5.7 %
Araquidónico	C 20:4 n-6	1.2 %
Eicosapentanoico (EPA)	C 20:5 n-3	8.4 %
Erúsico	C 22:1	8.5 %
Docosapentaenoico (DPA)	C 22:5 n-3	1.2 %
Docosaexanoico (DHA)	C 22:6 n-3	19.4 %

Relación Ω -6/ Ω -3 de 1/10

Fuente: Comunicación personal Alejandro Uval 2008

Alimentación y manejo preparto

El manejo preparto comenzó 28 días previos al parto previsto (-28). Durante este período todos los animales recibieron el mismo manejo y alimentación, que consistía en pastoreo directo sobre campo natural donde predominaban las especies *Paspalum dilatatum* y *Cynodon dactylon*. Se realizó suplementación diaria con ensilaje de trigo (oferta de 12 Kg MF/vaca/día) y afrechillo de trigo (4 kg MF/vaca/día). El suplemento se suministraba una sola vez al día en la mañana, mezclado y en comederos colectivos de madera de 3 metros de largo, 1,2 metros de ancho y 0,4 metros de altura. El acceso al agua era *ad-libitum* en bebederos de hormigón de llenado automático por medio de un sistema de boya.

A partir del día -21 se comenzó a suministrar diariamente AP a los tratamientos correspondientes. Para esto los animales eran conducidos a los Bretes donde en forma individual, vía oral y con una jeringa dosificadora de 50 mL provista de una cánula oral se le suministraba el AP.

Cuadro II: Descripción de la composición química de los alimentos preparto

	Ensilaje de Trigo	Pastura en pie¹	Afrechillo de Trigo
MS²	35,6	26,0	89,3
PC³	7,6	13,5	15,3
FDA⁴	45,7	42,2	13,9
FDN⁵	61,3	69,0	39,8
CEN⁶	9,8	12,2	5,9
MO⁷	90,2	87,8	94,1
DMO⁸	65,6	55,7	76,1
N-NH₃⁹	11,29		
pH	4,38		
ADIN¹⁰	2,18		
ENL¹¹	1,14	0,96	1,71

¹Estimado de la forma descrita en el texto; ²Materia Seca (%); ³Proteína Cruda, (% de la Materia Seca); ⁴Fibra Detergente Ácido (% de la Materia Seca); ⁵Fibra Detergente Neutro (% de la Materia Seca); ⁶Cenizas (% de la Materia Seca); ⁷Materia Orgánica (100-Cenizas) (% de la Materia Seca); ⁸Digestibilidad de la Materia Orgánica (%); ⁹Nitrógeno Amoniacal (% de la Proteína Cruda); ¹⁰Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido (% de la Proteína Cruda); ¹¹Energía Neta de Lactancia (Mcal/kg Materia Seca).

Alimentación y manejo posparto

Luego del parto los animales comenzaron a pastorear conjuntamente en praderas de segundo año, mezcla de Alfalfa (*Medicago sativa*), Lotus (*Lotus corniculatus*), Trébol blanco (*Trifolium repens*) y Festuca (*Festuca arundinacea*), en franjas con una duración diaria y asignación de forraje de 14 kg de MS/vaca/día). Durante cada ordeño (AM y PM) se le suministraba en comederos individuales 2 kg MF/vaca de una ración comercial. Luego del ordeño de la mañana los animales eran conducidos a los bretes donde se suministraba AP con los mismos materiales y de igual forma que en el preparto. Terminada esta tarea los animales se conducían a un piquete provisto de comederos donde se daba ensilaje de planta entera de maíz, con una oferta de 18 kg MF/vaca/día.

Cuadro III: Descripción de la composición química de los alimentos posparto

	Ensilaje de Maíz^A	Pastura^B	Ración de ordeño^C
MS¹	28,9	23,5	88,7
PC²	8,7	21,0	17,3
FDA³	33,9	28,5	17,3
FDN⁴	57,1	37,0	40,5
CEN⁵	7,5	10,4	5,6
MO⁶	92,5	89,6	94,4
DMO⁷	72,4	74,8	79,1
N-NH₃⁸	7,0		
pH	4,5		
ADIN⁹	4,6		
ENL¹⁰	1,4	1,6	1,7

^APromedio de las muestras obtenidas; ^BPromedio de los tres potreros; ^CPromedio de las muestras obtenidas; ¹Materia Seca (%); ²Proteína Cruda, (% de la Materia Seca); ³Fibra Detergente Ácido (% de la Materia Seca); ⁴Fibra Detergente Neutro (% de la Materia Seca); ⁵Cenizas (% de la Materia Seca); ⁶Materia Orgánica (100-Cenizas) (% de la Materia Seca); ⁷Digestibilidad de la Materia Orgánica (%); ⁸Nitrógeno Amoniacal (% de la Proteína Cruda); ⁹Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido (% de la Proteína Cruda); ¹⁰Energía Neta de Lactancia (Mcal/kg Materia Seca).

La dieta suministrada a las vacas del ensayo fue igual a la que se suministraba al resto de las vacas del tambo, exceptuando el AP.

Determinaciones

En los animales:

- **Condición corporal:**

Se determinó en forma semanal utilizando la escala de 1 a 5 de Edmonson et al., (1989), con una apreciación de 0,5 puntos, desde el día -28 hasta el día +35. Las observaciones se realizaban con por lo menos dos observadores.

- **Producción y composición de leche:**

Se registró la producción individual y por ordeño de desde el día +7 hasta el día +35.

Para evaluar la composición de leche se obtuvieron muestras compuestas cada 7 días. Dichas muestras se obtuvieron de la siguiente manera: por medio de un medidor de alícuota se obtenía una muestra del ordeño AM que se conservaba refrigerada a 4 °C en envase con conservante hasta obtener la muestra del ordeño PM (que se obtuvo de igual forma que en el AM). Una vez obtenidas las dos muestras se formó una muestra compuesta tomando una alícuota de cada muestra de forma proporcional a la producción de litros de leche de cada ordeño. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Calidad de Leche de INIA “La Estanzuela”, para determinar porcentaje de grasa y proteína. Estas variables fueron analizadas por el método de infrarrojo medio, en un equipo Bentley Model 2000 (De Bentley Instruments, Inc., Chaska, MN, USA), según el método establecido por la FIL-IDF Standard 141 A, del año 1990.

- **Metabolitos:**

Se extrajeron muestras de sangre (en tubos con vacío y heparina diluida como anticoagulante) por punción de la vena yugular para la determinación de los perfiles metabólicos. Estas se obtuvieron semanalmente los días -28, -21, -14, -7 (para caracterizar el período preparto de los animales), al parto (0), +7, +14, +21, +28 y +35. Estas muestras se extraían antes del consumo de ensilaje y afrechillo de trigo en el preparto y luego del ordeño AM en el posparto. Las muestras de sangre se centrifugaban inmediatamente después de extraídas durante 15 minutos a 3000 rpm, para luego obtener el plasma. El mismo se almacenó congelado hasta su posterior análisis. Los metabolitos que se determinaron en el DILAVE (Miguel C. Rubino, ruta 8 Km 17.500, Montevideo, Uruguay), fueron los siguientes: ácidos grasos no esterificados (NEFA), beta-hidroxi-butilato (β HB), colesterol, urea en plasma (PUN), proteínas totales y albúminas.

Cuadro IV: Resumen de las técnicas analíticas usadas para determinar la concentración de metabolitos plasmáticos

	Método
NEFA	ACS-ACOD (acil-CoA Sintetasa y acil-Coa Oxidasa)
βHB	β HB DH NAD hidroxibutilato deshidrogenasa- NAD+
Colesterol	CHOD- PAP
PUN	GLDH
Proteínas Totales	Reacción de Biuret
Albúminas	Verde de Bromocresol

- **Dinámica folicular:**

Se realizó ultrasonografía ovárica 3 veces por semana (lunes, miércoles y viernes) con un transductor lineal de 5 MHz y un equipo Aloka SSD 500 (Aloka, Tokio, Japón) a partir del día 8 posparto y se determinó el diámetro del folículo dominante. La ultrasonografía se continuó hasta determinar el destino del folículo dominante de la primera onda folicular posparto de cada animal (ovulación o regresión), diámetro máximo de folículo dominante y día posparto en que se alcanzó dicho tamaño, siendo esto realizado por el mismo operador.

- **Consumo:**

La determinación del CMS se realizó tanto en preparto como en posparto. Se recolectaron datos durante 3 días seguidos (-9, -8, -7 de parto previsto) de forma de poder determinar para cada animal su consumo en preparto, así como para el posparto (+12, +13, +14). El consumo de concentrado y ensilaje se determinó individualmente a partir de la diferencia entre la cantidad ofrecida y rechazada durante el período de 3 días consecutivos en que se tomaban muestras de heces.

Como la estimación del consumo de pastura se realizó utilizando el óxido de cromo como marcador externo, el criterio para que a una vaca se le empezara a recolectar heces y datos de rechazo de ensilaje o ración fue si al comenzar el período de 3 días consecutivos antes mencionado dicho animal tenía por lo menos 4 días de dosificación con cromo (período de acostumbramiento). El procedimiento fue el siguiente: a partir del día -14 los animales se condujeron a comederos individuales. Cada vaca se dosificó una vez al día con 14 gramos de óxido de cromo. Para ello, el ensilaje se suministró en tres partes iguales, y se mezcló el óxido de cromo con la primera, teniendo la precaución de que fuera consumido en su totalidad, para luego suministrar el resto en dichos comederos. Se recogieron muestras de heces durante los días -9, -8, -7 directamente del recto. En posparto se procedió de forma igual a partir del día +7 y se recogieron heces durante los días +12, +13, +14. El consumo de concentrado y ensilaje se determinó individualmente a partir de la diferencia entre la cantidad ofrecida y rechazada durante el período de 3 días consecutivos en que se tomaban muestras de heces.

Las muestras de heces se conservaron congeladas hasta que fueron secadas, molidas y analizadas para determinar el contenido de cromo; se tuvo la precaución de limpiar con aire comprimido el molino que se usó para moler las heces, entre distintas muestras. Para calcular la concentración de cromo en heces se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer 3300, PerkinElmer, Wellesley, MA, USA).

Asumiendo que el cromo es 100% inerte se determinó la producción de materia orgánica (PMO) total en heces de la siguiente manera:

PMO total en heces = [g de óxido de cromo dosificado por día / (g de óxido de cromo / g de MS de heces)] x % de MO en heces.

La PMO en heces atribuible al ensilaje de trigo y maíz, concentrado comercial fue calculado de la siguiente manera:

PMO del alimento X = MO consumida del alimento X x (1 – digestibilidad *in vitro* de la MO del alimento X).

La PMO de heces atribuible al consumo de pasturas fue estimada como la diferencia de la PMO total en heces y PMO en heces atribuible a los restantes alimentos, y luego fue usada para determinar el consumo de pastura según la ecuación:

Consumo de MS de pastura = [kg MO de heces de la pastura / (1 – digestibilidad *in vitro* de la pastura)] / % MO de la pastura.

Semanalmente se realizó un muestreo de la pastura en la franja a pastorear tratando de simular la cosecha de los animales en la franja ya pastoreada, con el objetivo de obtener muestras para analizar la digestibilidad de las pasturas *in vitro*.

Cuadro V: Técnicas analíticas utilizadas para la determinación de la composición de los alimentos

	Método	Consideraciones
MS ¹	Secado a 65 °C	
PC ²	Método Kjeldahl	Se determina como contenido de N x 6,25
Cenizas	Incineración a 550 ° C	Se obtiene el contenido de MO usando la ecuación: % MO= 100 - % cenizas
EE ³	Método Soxhlet	Se utilizo α amilasa estable al calor. Los resultados no se corrigieron por contenido de proteína. Los resultados se presentan como libres de cenizas
FDN ⁴	Van Soest et al., 1991	Los resultados se presentan como libre de cenizas
FDA ⁵	Van Soest et al., 1991	Solubilización de la celulosa con ácido sulfúrico
DMO ⁶	Tilley y Terry 1963	
ADIN ⁷	Licitra et al., 1996	
N-NH₃ ⁸	Método Kjeldahl	

¹Materia Seca; ²Proteína Cruda, (% de la Material Seca); ³Extracto Etéreo (% de la Materia Seca); ⁴Fibra Detergente Neutro (% de la Materia Seca); ⁵Fibra Detergente Ácido (% de la Materia Seca); ⁶Digestibilidad de la Materia Orgánica (%); ⁷Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido (% de la Proteína Cruda); ⁸Nitrógeno Amoniacal (% de la Proteína Cruda).

- En los alimentos

➤ Disponibilidad de pastura:

Se determinó en la semana previa al ingreso de los animales, para lo cual se realizó un muestreo al azar del área donde pastorearían, contando con 10 muestras obtenidas del corte con tijera de aro al ras del suelo de un rectángulo de 0,2 x 0,5 m. Se pesaron en fresco en bandejas individuales y se secaron en estufa de aire forzado a 65 °C hasta peso constante, para determinar la materia seca parcial. Con el dato de disponibilidad se diseñaron las franjas correspondientes para toda la semana entrante. Como se mencionó anteriormente, también se obtuvieron muestras para la determinación de la digestibilidad *in vitro*.

Luego del pastoreo, un día a la semana, se determinó el rechazo de la pastura, utilizando el mismo método que para disponibilidad, pero cortando en este caso 20 muestras de pastura.

➤ Valor nutritivo de los alimentos:

Semanalmente se tomaron muestras de ensilaje, concentrado, y junto con las muestras obtenidas de la pastura se enviaron al Laboratorio de Nutrición de INIA “La Estanzuela” para determinar: materia seca (MS), proteína cruda (PC), digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), extracto al éter (EE), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), nitrógeno insoluble en detergente ácido (ADIN) y cenizas. La concentración de ENL fue determinada para todos los alimentos de acuerdo a la

metodología propuesta por NRC (2001). Para el caso de variables que no se habían analizado se utilizaron los valores de la biblioteca de alimentos de dichas normas de alimentación.

Análisis estadístico

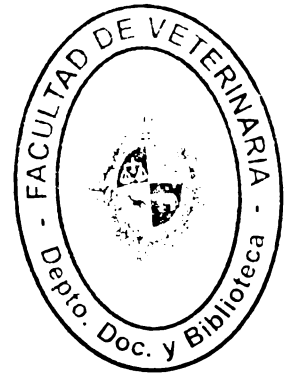
El diseño del experimento fue completamente al azar, y los tratamientos que se evaluaron resultaron del arreglo factorial de 2 niveles de suplementación con aceite de pescado preparto (0 y 150 mL) y 2 niveles de suplementación con aceite de pescado posparto (0 y 200 mL). Para el análisis estadístico se usó el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA; versión 9.1.3). El análisis de variables continuas con varias mediciones en el experimento se realizó por separado para el preparto y posparto. En todos los casos se utilizó un modelo mixto (procedimiento MIXED). Para el análisis preparto (CC y metabolitos), el modelo incluyó como efectos fijos a la suplementación preparto, la semana preparto de medición y su interacción. El modelo incluyó como efecto aleatorio a la vaca primípara. La estructura de covarianza utilizada fue AR (1) (Littell et al., 1998), y las medidas repetidas se realizaron sobre cada vaca. Para el análisis posparto (CC, metabolitos, producción y composición de leche) se utilizó un modelo que incluyó como efectos fijos a la suplementación preparto, la suplementación posparto, la semana preparto de medición y todas las interacciones dobles y triples. El modelo incluyó como efecto aleatorio a la vaca primípara. La estructura de covarianza utilizada fue AR (1) (Littell et al., 1998).

Para el análisis de consumo, el mismo se hizo para el preparto y posparto por separado. Para el análisis preparto se utilizó un modelo lineal general (procedimiento GLM), que incluyó como efecto a la suplementación preparto, mientras que para el análisis posparto se incluyó además como efecto a la suplementación posparto y la interacción doble.

Para el análisis de variables continuas con un solo valor registrado durante el experimento (intervalo parto a primera ovulación, diámetro máximo del folículo dominante de la primera onda folicular posparto, intervalo parto-primer servicio e intervalo parto concepción) se utilizó un modelo lineal general (procedimiento GLM), que incluyó como efectos a la suplementación preparto y posparto y su interacción.

Para todas las variables anteriores, la comparación de medias se realizó utilizando el procedimiento de mínima diferencia significativa. Los datos se presentan como medias de mínimos cuadrados \pm el error estándar de la media (EEM).

Para la variable proporción de vacas que ovulan durante la primera onda folicular posparto se utilizó un modelo lineal generalizado (PROC GENMOD, distribución binomial) que incluyó como efectos a la suplementación preparto, la suplementación posparto y su interacción. Los resultados se presentan como la probabilidad que una vaca ovule durante la primera onda folicular posparto, y el intervalo de confianza (95%) para dicha probabilidad. En todos los casos se definió como criterio de significancia un nivel de probabilidad de 5%.



RESULTADOS

CONSUMO

Consumo Preparto:

El consumo total de MS (kg MS/vaca/día) en este período no fue afectado por el consumo de AP preparto, así como tampoco fue afectado el consumo de ensilaje y de pastura, pero se observó una tendencia ($P = 0,092$) a un menor consumo de ración (cuadro VI).

Cuadro VI: Resultados de consumo de alimentos y nutrientes durante el preparto

Consumo	Sin AP¹	Con AP²	EEM³	Aceite Preparto⁴
Ensilaje (kg MS/día)	3,40	2,94	0,28	
Ración (kg MS/día)	3,57	3,35	0,09	0,092
Pastura (kg MS/día)	4,80	3,77	0,67	
Total (kg MS/día)	11,71	10,20	0,64	
ENL (Mcal/día)	14,52	13,46	0,64	
PC (kg/día)	1,45	1,24	0,09	
EE (kg/día)	0,39	0,48	0,02	<0,001
ENL (Mcal/kg MS)	1,25	1,33	0,02	<0,05
PC (% de la MS)	12,33	12,18	0,18	
EE (% de la MS)	3,35	4,78	0,09	<0,001

¹Sin AP: Sin aceite de pescado

²Con AP: Con aceite de pescado

³EEM: Error estándar de la media

⁴Significancia del efecto de la suplementación con aceite de pescado preparto

Como se muestra en el cuadro VI, ni el consumo total de ENL ni el consumo total de PC fueron afectados por la suplementación preparto con AP ($P > 0,10$). Sin embargo, el consumo total de lípidos (kg de EE/vaca/día) fue mayor en el grupo que recibió AP preparto ($P < 0,001$). La concentración energética de la dieta consumida (Mcal ENL/kg/MS) también fue afectada por la suplementación con AP, siendo mayor en el grupo suplementado ($P < 0,05$). La concentración de EE de la dieta consumida (% de la MS) también fue mayor en el grupo suplementado con AP ($P < 0,001$), mientras que no hubo efecto del AP preparto sobre la concentración de PC (% de la MS) de la misma.

Consumo Posparto:

Cuadro VII: Resultados de consumo de alimentos y nutrientes durante el posparto

Posparto	Sin AP ¹		Con AP ²		EEM ³	AP Posparto	
	Preparto	Sin AP	Con AP	Sin AP			
Ensilaje (kg MS/día)		5,16	5,02	4,81	5,07	0,13	
Ración (kg MS/día)		3,54	3,26	2,85	3,15	0,18	<0,05
Pastura (kg MS/día)		9,88	11,5	9,09	10,26	1,27	
Total (kg MS/día)		18,57	19,56	16,76	18,68	1,33	
ENL (Mcal/día)		28,34	29,71	25,86	28,97	2,10	
PC (kg/día)		3,18	3,46	2,87	3,22	0,28	
EE (kg/d)		0,53	0,55	0,66	0,72	0,03	<0,001
ENL (Mcal/kg MS)		1,52	1,51	1,55	1,55	0,02	
PC (% de la MS)		15,27	17,70	16,99	17,08	1,09	
EE (% de la MS)		2,46	2,82	3,99	3,88	0,26	<0,001

Sin AP¹: Sin aceite de pescado

Con AP²: Con aceite de pescado

EEM³: Error estándar de la media

Aceite posparto: Significancia del efecto de la suplementación con AP posparto

La suplementación con AP preparto no afectó de forma significativa el consumo de ninguno de los alimentos y nutrientes suministrados durante el posparto. Tampoco se registraron interacciones entre la suplementación con AP en el preparto y en el posparto (cuadro VII).

El consumo total promedio posparto fue $19,07 \pm 0,94$ Kg MS/vaca/día para el grupo sin AP posparto y $17,72 \pm 0,94$ Kg MS/vaca/día para el grupo suplementado con AP posparto. La suplementación con AP posparto no afectó el consumo de pastura ni ensilaje, pero sí el de ración (sin AP = $3,40 \pm 0,13$ vs. con AP = $3,00 \pm 0,13$ Kg MS/vaca/día; $P < 0,05$).

No hubo diferencias entre el grupo con AP posparto y sin AP posparto en consumo total de ENL ($29,02 \pm 1,47$ vs. $27,42 \pm 1,47$ Mcal/vaca/día, respectivamente) o PC ($3,32 \pm 0,20$ vs. $3,04 \pm 0,20$ Kg/vaca/día, respectivamente) ($P > 0,10$). Sin embargo, existieron diferencias entre grupos en el consumo de lípidos ($P < 0,001$), siendo mayor en el grupo suplementado durante el posparto ($0,54 \pm 0,02$ vs. $0,69 \pm 0,02$ Kg EE/vaca/día; $P < 0,001$), y también el porcentaje de EE fue mayor en el grupo suplementado ($2,64 \pm 0,18$ vs. $3,93 \pm 0,18$ %; $P < 0,001$).

CONDICIÓN CORPORAL

La CC con que los animales comenzaron el ensayo fue $2,55 \pm 0,24$ en promedio para todos los tratamientos. La CC preparto promedio (día -21 al parto inclusive) fue $2,42 \pm 0,06$ para el grupo suplementado con AP preparto y $2,40 \pm 0,06$ para el grupo sin suplementación preparto, no observándose diferencias entre los grupos ($P > 0,10$).

Luego del parto la CC mostró una tendencia ($P = 0,076$) a disminuir a lo largo de las diferentes observaciones en todos los tratamientos, pero no se observaron diferencias entre el grupo suplementado ($2,37 \pm 0,06$), o no suplementado con AP en el posparto ($2,45 \pm 0,06$) ($P > 0,10$). Se pudo observar también que la suplementación preparto con AP no tuvo efecto sobre la CC posparto ($P > 0,10$).

En la figura 2 (gráfico de la izquierda) se muestra la influencia de la suplementación con AP preparto sobre la CC preparto y su efecto residual sobre el posparto, y el efecto de la suplementación con AP posparto sobre la CC durante el posparto (gráfico de la derecha).

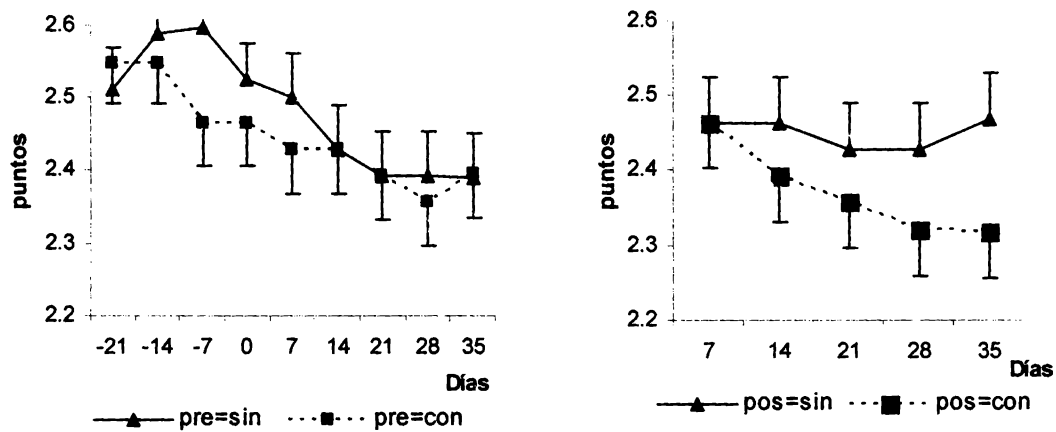


Figura 2: Evolución de la CC durante las 3 últimas semanas preparto y 5 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP preparto (izquierda) y evolución de la CC posparto para los grupos sin AP posparto y con AP posparto durante las 5 primeras semanas posparto (derecha). Pre=sin incluye tratamiento 1 y 3; Pre=con incluye tratamiento 2 y 4; Pos=sin tratamiento 1 y 2, Pos=con incluye tratamiento 3 y 4.

PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE

Producción de leche

Cuadro VIII: Resultados de producción y composición de leche

Posparto	Sin AP ¹		Con AP ²		EEM ³	Significancias			
	Sin AP	Con AP	Sin AP	Con AP		Pos ⁴	Ob ⁵	Pre ⁶ X Pos	Pos X Ob
Leche (kg/día)	24,17	21,43	21,11	21,88	1,17		<0,001		
LCG (kg/día)	24,08	20,79	18,98	19,99	1,22	<0,05	<0,001	0,081	<0,05
Grasa (%)	3,87	3,79	3,30	3,37	0,15	<0,01	<0,05		<0,01
Grasa (kg/día)	0,95	0,81	0,70	0,75	0,05	<0,01	<0,001	0,086	<0,01
Proteína (%)	3,11	3,16	3,10	3,13	0,06		<0,001		
Proteína (kg/día)	0,76	0,67	0,65	0,68	0,04		<0,001		

No se observaron efectos significativos de la suplementación con AP preparto, ni triple interacción (Pre x Pos x Ob) para ninguna de las variables presentadas en este cuadro, por lo que no se incluyen en el mismo.

¹Sin AP: Sin aceite de pescado

²Con AP: Con aceite de pescado

³EEM: Error estándar de la media

⁴Pos: Aceite de pescado en el posparto

⁵Ob: Observación (semanas)

⁶Pre: Aceite de pescado en el preparto

La producción diaria de leche no fue afectada por la suplementación con AP preparto (sin AP = 22,64±0,83 vs. con AP = 21,66±0,83 Kg/vaca) ni por la suplementación con AP posparto (sin AP = 22,80±0,83 vs. con AP = 21,50±0,83 Kg/vaca) (cuadro VIII).

Porcentaje de grasa en leche

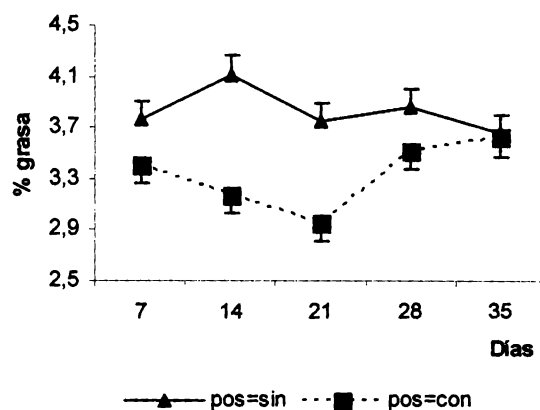


Figura 3: Evolución del % de grasa en leche durante las primeras 5 semanas posparto. Pos=sin incluye el tratamiento 1 y 2, Pos=con incluye los tratamiento 3 y 4.

El porcentaje (sin AP = $3,58 \pm 0,10$ vs. con AP = $3,58 \pm 0,10$ %) y la producción diaria de grasa (sin AP = $0,83 \pm 0,10$ vs. con AP = $0,78 \pm 0,10$ kg/vaca) en leche no fueron afectados ($P > 0,10$) por la suplementación preparto con AP, pero fueron menores en los grupos suplementados con AP en el posparto (sin AP = $3,83 \pm 0,10$ vs. con AP = $3,34 \pm 0,10$ %; sin AP = $0,88 \pm 0,10$ vs. con AP = $0,73 \pm 0,10$ kg/día; $P < 0,01$) (figura 3). Se detectó una interacción entre el consumo de AP en el posparto y los días posparto para ambas variables ($P < 0,01$). Tanto el porcentaje como la producción de grasa disminuyeron en los grupos suplementados desde el parto hasta el día 21, pero a partir de este momento, y coincidiendo con el cese de la suplementación con AP, comenzaron a aumentar y ya 14 días después se encontraron en los mismos niveles que el grupo sin AP. No se registraron interacciones entre el consumo de AP preparto y el consumo de AP posparto, ni entre el consumo de AP preparto y las observaciones (cuadro VIII).

Leche corregida por grasa al 4 % (LCG)

La producción de LCG no fue afectada ($P > 0,10$) por el consumo de AP preparto (sin AP = $21,53 \pm 0,86$ vs. con AP = $20,39 \pm 0,86$ Kg/vaca/día), mientras que sí lo fue ($P < 0,05$) por el consumo de AP en el posparto, siendo menor en el grupo suplementado (sin AP = $22,44 \pm 0,86$ vs. con AP = $19,49 \pm 0,86$ Kg/vaca/día) (cuadro VIII). Esta variable mostró una tendencia a ser afectada por una interacción entre el consumo de AP posparto y preparto ($P = 0,081$) esto sugiere que la producción de LCG tiende a disminuir con la suplementación con AP durante el preparto, durante el posparto o en ambos momentos. Además se observó una interacción ($P < 0,05$) entre el consumo de AP posparto y las observaciones. Como se observa en la figura 4, y del mismo modo que para el porcentaje y la producción de grasa, la producción de LCG fue menor ($P < 0,05$) en los grupos suplementados con AP en el posparto hasta el día 21 posparto, pero luego de finalizado el período de suplementación los valores se recuperaron hasta no ser diferentes ($P > 0,10$) de los grupos no suplementados al día 35.

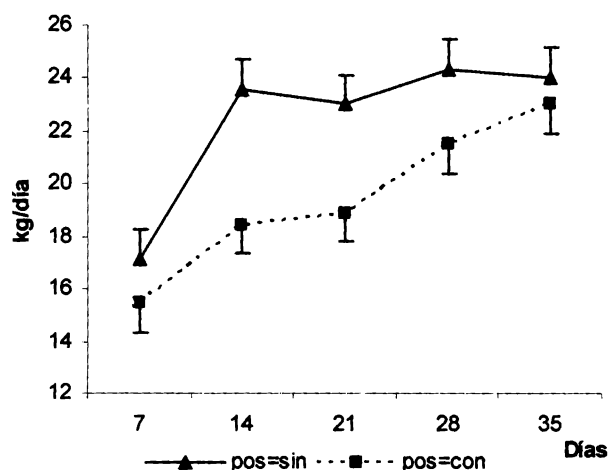


Figura 4: Evolución de producción de leche corregida por grasa durante las 5 primeras semanas posparto. Pos=sin incluye el tratamiento 1 y 2, Pos=con incluye los tratamiento 3 y 4.

Proteína en leche

No se registró efecto de la suplementación con AP en el parto o en el posparto sobre los porcentajes de proteína en leche, ni se detectó una interacción entre estos factores ($P > 0,10$) (cuadro VIII). Al día 7 posparto las vacas presentaron un porcentaje de proteína en leche promedio de $3,50 \pm 0,07$, valores que disminuyeron progresivamente hasta la última medida el día 35 posparto, donde registraron un promedio de $2,90 \pm 0,07$ ($P < 0,001$).

PERFILES METABÓLICOS

Cuadro IX: Resultados promedio de los perfiles metabólicos medidos en el parto (días -14 a -7)

Metabolitos Parto	Parto		Significancias		EEM ⁵
	Sin AP ¹	Con AP ²	Pre ³	Ob ⁴	
NEFA (mM/L)	0,99	1,03		0,086	0,11
β HB (mM/L)	0,41	0,34			0,04
Colesterol (mM/L)	2,44	2,28		<0,05	0,11
Urea (mM/L)	4,64	5,91	<0,05	<0,001	0,36

¹Sin AP: Sin aceite de pescado

²Con AP: Con aceite de pescado

³Pre: Parto

⁴Ob: Observación (semanas)

⁵EEM: Error estándar de la media

Cuadro X: Resultados promedio de los perfiles metabólicos medidos en el posparto (parto a día 28)

Parto	Sin AP ¹		Con AP ²		EEM ³	Significancias			
	Sin AP	Con Ap	Sin AP	Con AP		Pre ⁴	Pos ⁵	Ob ⁶	Pre X Pos
NEFA (mM/L)	0,59	0,47	0,57	0,55	0,11				
β HB (mM/L)	0,67 ^a	0,43 ^b	0,41 ^b	0,45 ^b	0,06	0,037	0,093	0,022	0,016
Colesterol (mM/L)	3,26	2,99	2,84	3,07	0,28			<0,001	
Urea (mM/L)	4,77	4,38	4,88	4,99	0,34				

No se observaron interacciones para los efectos Pre x Ob, Pos x Ob ni para la triple interacción Pre x Pos x Ob para ninguna de las variables presentadas en el cuadro.

^{a,b} Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$)

Sin AP¹: Sin aceite de pescado

Con AP²: Con aceite de pescado

EEM³: Error estándar de la media

Pre⁴: Parto

Pos⁵: Posparto

Ob⁶: Observación

De manera general, para las variables estudiadas en los perfiles metabólicos durante el posparto no se encontraron diferencias atribuibles a la suplementación con AP posparto ($P>0,10$; Cuadro X). De la misma forma, no se encontraron efectos significativos para las interacciones entre la suplementación con AP preparto y las observaciones (Pre x Ob), o entre la suplementación con AP posparto y las observaciones (Pos x Ob).

Ácidos grasos no esterificados (NEFA)

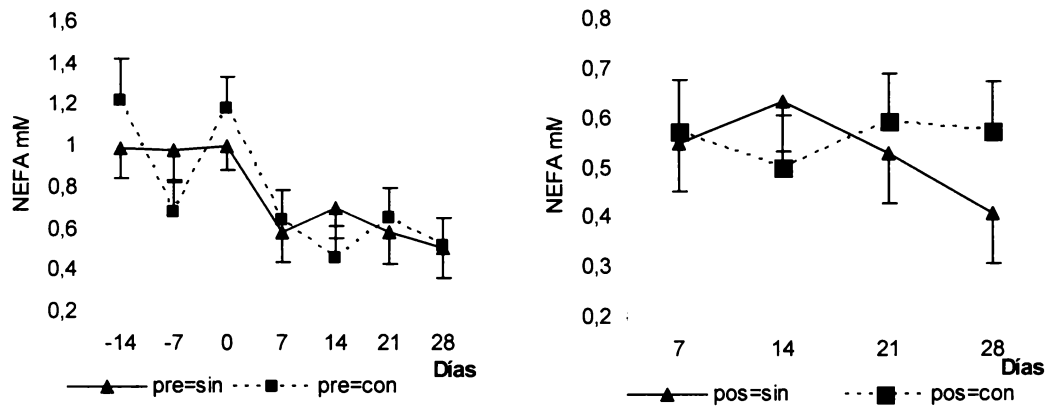


Figura 5: Evolución de las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados (NEFA) durante las 3 últimas semanas preparto y 4 primeras posparto para los grupos con y sin AP preparto (izquierda) y evolución de las concentraciones plasmáticas de NEFA durante las 4 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP posparto (derecha). Pre=sin incluye tratamiento 1 y 3; Pre=con incluye tratamientos 2 y 4; Pos=sin tratamiento 1 y 2, Pos=con incluye tratamientos 3 y 4.

La concentración de NEFA en plasma preparto no fue afectada por el consumo de AP en el preparto (sin AP = $0,58\pm 0,08$ vs. con AP = $0,51\pm 0,08$ mMol/L) (cuadro IX). Los valores de NEFA posparto no fueron afectados por el consumo de AP preparto (sin AP = $0,58\pm 0,08$ vs. con AP = $0,51\pm 0,08$ mMol/L) ni posparto (sin AP = $0,53\pm 0,08$ vs. con AP = $0,56\pm 0,08$ mMol/L) (cuadro X).

Beta-hidroxi-butirato (β HB)

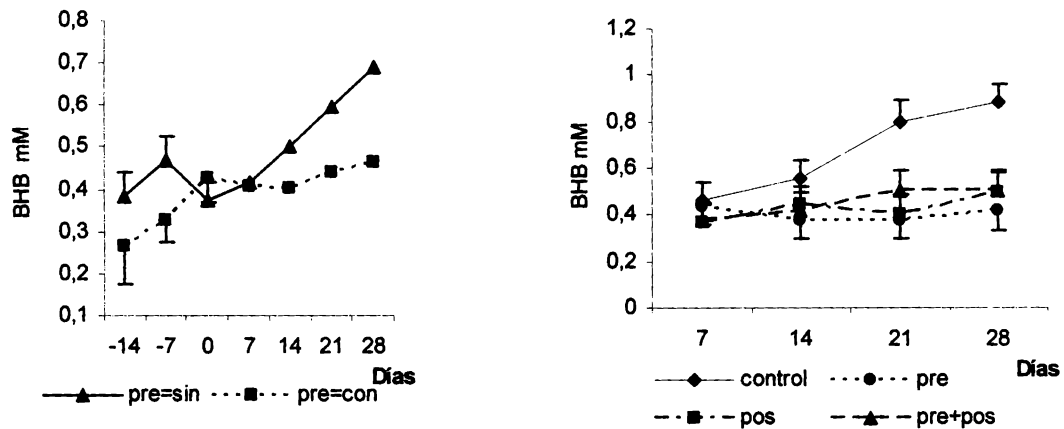


Figura 6: Evolución de las concentraciones plasmáticas de Beta-hidroxi-butirato (β HB) (mMol/L) durante las 3 últimas semanas preparto y 4 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP preparto (izquierda) y evolución de las concentraciones plasmáticas de β HB durante las 4 primeras semanas posparto para los cuatro tratamientos (derecha). Pre=sin incluye tratamiento 1 y 3, Pre=con incluye tratamiento 2 y 4, Pos=sin tratamiento 1 y 2, Pos=con incluye tratamientos 3 y 4.

La concentración de β HB durante el preparto no fue afectada por el consumo de AP preparto (sin AP = $0,55 \pm 0,04$ vs. con AP = $0,43 \pm 0,04$ mMol/L) (cuadro IX). La concentración de β HB durante el posparto fue afectada ($P < 0,05$) por el consumo de AP durante el preparto, siendo mayor en los grupos sin suplementar ($0,54 \pm 0,04$ mMol/L) respecto a los suplementados ($0,44 \pm 0,04$ mMol/L), mientras que tendió ($P = 0,093$) a ser mayor en los grupos sin suplementación con AP en el posparto (sin AP = $0,54 \pm 0,04$ vs. con AP = $0,44 \pm 0,04$ mMol/L) (cuadro X). Sin embargo, se encontró para esta variable una interacción ($P < 0,05$) entre el consumo de AP preparto y posparto; en este sentido, el tratamiento 1 presentó una concentración de β HB que fue 36% superior con respecto al promedio de los tres tratamientos restantes, que no se diferenciaron entre sí ($P > 0,10$). Luego del parto la concentración de β HB fue aumentando progresivamente a lo largo de las observaciones ($P < 0,05$) para ambos grupos.

Colesterol

La concentración de colesterol en plasma durante el preparto no fue afectada por el consumo de AP en dicho período (sin AP = $3,05 \pm 0,20$ vs. con AP = $3,03 \pm 0,20$ mMol/L) (cuadro IX). Los valores de la misma en plasma fueron aumentando a lo largo de las observaciones ($P < 0,001$).

La concentración de colesterol en plasma durante el posparto no fue afectada por el consumo de AP durante el preparto (sin AP = $3,05 \pm 0,20$ vs. con AP = $3,03 \pm 0,20$ mMol/L), ni durante el posparto (sin AP $3,13 \pm 0,20$ vs. con AP $2,96 \pm 0,20$ mMol/L) (cuadro X). La concentración de colesterol en plasma durante el posparto fue aumentando de forma significativa a lo largo de las diferentes observaciones ($P < 0,001$).

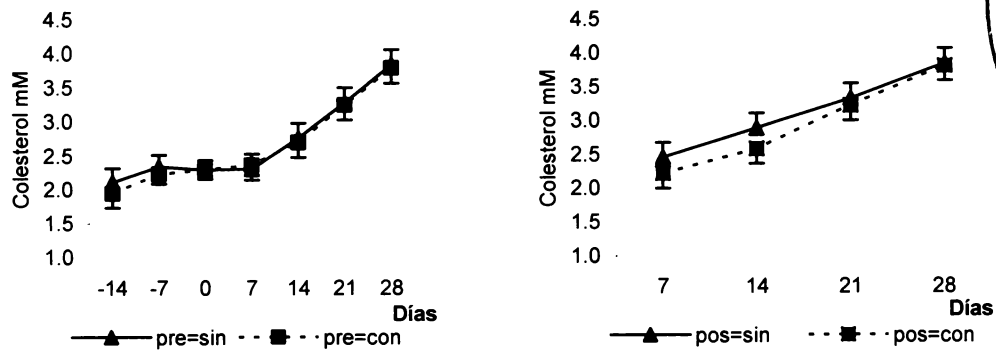


Figura 7: Evolución de las concentraciones plasmáticas de colesterol (mMol/L) durante las 3 últimas semanas previas al parto y 4 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP preparto (izquierda) y evolución de las concentraciones plasmáticas de colesterol (mMol/L) durante las 4 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP posparto (derecha). Pre=sin incluye tratamiento 1 (control) y tratamiento 3; Pre=con incluye tratamiento 2 y 4; Pos=sin tratamiento 1 (control) y tratamiento 2, Pos=con incluye tratamiento 3 y 4.

Urea

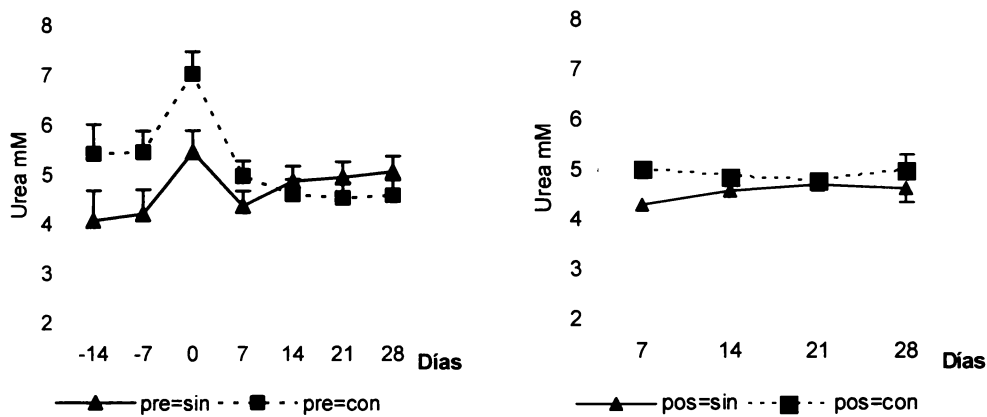


Figura 8: Evolución de los niveles plasmáticos de urea (mMoles/L) durante los 3 últimas semanas antes del parto y 4 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP preparto (izquierda) y evolución de los niveles plasmáticos de urea (mMoles/L) durante las 4 primeras semanas posparto para los grupos con y sin AP posparto (derecha). Pre=sin incluye el tratamiento 1 y 3; Pre=con incluye tratamiento 2 y 4; Pos=sin tratamiento 1 y 2, Pos=con incluye tratamiento 3 y 4.

La concentración de urea en plasma durante el preparto fue afectada ($P < 0,05$) por el consumo de AP en dicho período, mostrando valores superiores el grupo con AP (sin AP = $4,64 \pm 0,36$ vs. con AP = $5,91 \pm 0,36$ mMol/L). Los valores entre las diferentes observaciones durante el preparto mostraron diferencias entre sí ($P < 0,001$). Se puede observar que los valores se mantuvieron similares entre los días -14 y -7, para luego mostrar un pico al parto en ambos grupos, descendiendo rápidamente luego del mismo encontrándose al día 7 en valores similares a los encontrados al día -7. Durante el posparto, la concentración de urea

no fue afectada ni por el consumo de AP en el preparto (sin AP = 4,82±0,24 vs. con AP = 4,68±0,24 mMol/L) ni en el posparto (sin AP = 4,57±0,24 vs. con AP = 4,93±0,24 mMol/L).

INDICADORES DE EFICIENCIA REPRODUCTIVA

Cuadro XI: Resultados de las variables reproductivas presentados por tratamiento

Posparto	Sin AP ⁷		Con AP ⁸		EEM ⁹	Pre X Pos
	Preparto	Sin AP	Con AP	Sin AP		
Ø max FD (mm) ¹	15,0 ^{ab}	13,4 ^{ab}	12,7 ^b	16,1 ^a	1,0	0,017
Día max Ø FD ²	21,7	18,3	19,6	17,6	2,8	
Ov 1 ^{era} (prop) ³	0,4 ^a	0,7 ^a	0,3 ^a	0,7 ^a		
Parto OV (días) ⁴	45,3	37,0	58,7	38,0	11,5	
IPS (días) ⁵	71,9	97,0	100,0	78,1	16,7	
IPC (días) ⁶	71,0	98,6	94,7	73,0	24,2	

No se registraron diferencias significativas de la suplementación preparto ni posparto sobre ninguna de las variables presentadas en el cuadro

^{a,b} Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0,05)

¹Ø max FD: Diámetro máximo del folículo dominante

²Día max Ø FD: Día al máximo diámetro del folículo dominante

³Ov 1^{era}: Proporción de animales que ovula en la primera onda folicular e intervalo de confianza (95% de confianza)

⁴Parto OV: Intervalo Parto-Ovulación

⁵IPS: Intervalo parto primer servicio

⁶IPC: Intervalo parto concepción

⁷Sin AP: sin aceite de pescado

⁸Con AP con aceite de pescado

⁹EEM: Error estándar de la media

No se observaron diferencias entre los tratamientos suplementados con AP durante el preparto, durante el posparto o en ambos momentos, sobre ninguno de los indicadores utilizados para evaluar la eficiencia reproductiva (P>0,10). Solamente se observó una interacción de la suplementación con AP preparto x posparto sobre el diámetro máximo del folículo dominante (P<0,05). Se puede observar que los animales del tratamiento 3 mostraron un diámetro folicular menor (P<0,05) que los del tratamiento 4 (sin AP = 12,71±0,97 vs. con AP = 16,14±0,97 mm), mientras que si comparamos los tratamientos 1 y 2 entre sí, o con los otros dos restantes no se observan diferencias significativas (P>0,10).

Con respecto al día en que el máximo diámetro del folículo dominante de la primera onda folicular posparto es alcanzado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (P>0,10), pero el tratamiento 4 fue el que presentó numéricamente el mayor diámetro folicular (16,14±0,97 mm), y el que demoró menos tiempo en alcanzar dicho diámetro (17,6±2,8 días).

La proporción de animales que ovularon en la primera onda folicular posparto no mostró diferencias entre tratamientos ($P>0,10$) con un 95% de confianza. Sin embargo, numéricamente el tratamiento 3 fue el que presentó menor proporción de animales que ovularon en la primera onda folicular posparto (0,3), y si se comparan los grupos según si fueron suplementados o no con AP preparto, se observa que el grupo con AP preparto presentó numérica mayor proporción de ovulación que el grupo sin AP preparto (sin AP = 0,35 vs. con AP = 0,71).

El intervalo parto-ovulación no fue diferente entre los tratamientos ($P>0,10$), aunque el tratamiento 3, que numéricamente presentó menor proporción de vacas que ovularon durante la primera onda folicular posparto, también fue el tratamiento que demoró más días en alcanzar la primera ovulación posparto, casi 20 días más que el promedio de los restantes tratamientos.

El intervalo parto-primer servicio y parto-concepción no mostraron diferencias debidas a la suplementación con AP durante el preparto ni posparto. El hecho que el intervalo parto-concepción sea menor que el intervalo parto-primer servicio para los tratamientos 3 y 4 se explica porque el cálculo del primer indicador se hace solamente en base a los animales servidos dentro de cada tratamiento y para el cálculo del intervalo parto-primer servicio se tomó como base la totalidad de los animales de cada tratamiento.

DISCUSIÓN

La suplementación con AP preparto no afectó el consumo total de MS preparto ni posparto, de igual forma que la suplementación con AP posparto no afectó el consumo total de MS en este período. Por ende las dietas consumidas de los cuatro tratamientos resultaron ser isoenergéticas e isoproteicas, lo que nos permite asignar las diferencias encontradas en las variables estudiadas en este ensayo, tanto en el preparto como en el posparto, a los componentes del AP y no a un efecto de adición proteica o energética del mismo. Si bien el consumo total de alimentos durante el posparto no fue diferente entre tratamientos, se pueden observar diferencias significativas en el consumo de ración; esto se explica porque al ser tan similares los consumos de este alimento entre tratamientos, una pequeña diferencia en el consumo del mismo es estadísticamente significativa, aunque desde el punto de vista biológico o práctico no tenga importancia. Resultados similares fueron reportados por Donovan et al. (2000), donde una suplementación con AP de 1% de la MS de la dieta (nivel similar al usado en este ensayo) no afectó el consumo total de MS, pero sí se encontraron diferencias cuando se incrementó el nivel de suplementación por encima de 2% de la MS de la dieta, lo que sugiere que el efecto negativo sería dependiente de la cantidad de aceite usada. La disminución en el consumo estaría probablemente causada por una disminución en la digestión de la fibra en rumen, debido al efecto de los PUFA sobre las células bacterianas, ya que inhiben su respiración y causan su lisis (Galbraith y Miller, 1973). Este efecto dosis dependiente podría ser minimizado en dietas con alta proporción de forraje (Palmquist, 1984), como puede haber ocurrido en este ensayo, donde una alta tasa de pasaje con pasturas de alta calidad (Bargo et al., 2003) y un adecuado nivel de calcio de éstas (Van Soest, 1994; NRC, 2001) podrían aliviar estos efectos negativos de la suplementación grasa.

La CC no varió entre los tratamientos y éstos mostraron valores similares a lo largo del ensayo. Para explicar en parte estos resultados se debe tener en cuenta que se utilizó una precisión de $\frac{1}{2}$ punto en la escala usada, lo que no permitió registrar variaciones pequeñas de CC que son las más probables de encontrar en los rangos de CC que tenían las vacas en el momento del ensayo. Además, la falta de efecto de la suplementación con AP sobre el consumo y la producción de leche nos estaría indicando que las vacas se encontraban en BEN similares y por ende era esperable que el comportamiento en CC también lo fuera. Es preciso destacar además que otras causas estarían asociadas, como el hecho de que la alimentación recibida en el posparto, período en el cual sería de esperar una caída, cubría la necesidades de mantenimiento y lactación según los requerimientos del NRC (2001) (datos no mostrados), y las producciones no eran de una magnitud tal que obligaran a movilizar las reservas corporales de forma importante (Nebel et al., 1993). Esto último sería un reflejo de la baja CC que presentaban las vacas al momento del parto, y de la poca cantidad de reservas disponibles para movilizar (Waltner et al., 1993).

La producción de leche no fue afectada por la suplementación con AP durante el preparto, posparto, o en ambos momentos. Esto podría estar asociado al hecho que el consumo total de MS, ENL y PC no fueron afectados por la suplementación con AP, por lo que no era de esperar variaciones en la producción de leche. También se menciona que la suplementación grasa no afecta la producción de lactosa (Doreau y Chilliard, 1997), principal determinante del volumen de leche producido. Whitlock et al. (2002) mostraron una disminución de 9% en la producción de leche cuando las vacas fueron alimentadas con un 2% de AP en la dieta, pero las producciones fueron similares comparado con la dieta control cuando las vacas consumieron 1% de AP en la dieta, coincidiendo esto con el presente ensayo.

La producción (kg/día) y el porcentaje de grasa en leche no fueron afectados por la suplementación con AP preparto, pero sí por la suplementación con AP posparto. Hay varios factores que pueden explicar esta disminución, como por ejemplo, una disminución de la digestión de la fibra a nivel ruminal debida a la suplementación con grasa (Cant et al., 1997), lo que tiene como consecuencia un cambio en la proporción de AGV con menor proporción de acetato, principal precursor de ácidos grasos de cadena corta a nivel de la glándula mamaria. De hecho, Sutton et al. (1988) estimaron que más del 80% de la variación en la producción de grasa en leche pueden ser atribuidas a la variación en la proporción de ácidos grasos volátiles en rumen. Otra posible causa sería la reportada por Ahnadi et al. (2002), quienes sugieren que los AG de 20 y 22 carbonos presentes en el AP serían inhibidores de la actividad de la lipoproteína lipasa mamaria, e inhibirían la expresión del ARN mensajero para la síntesis de dicha enzima, disminuyendo de esta forma la producción de ciertos AG en el tejido mamario. Actualmente, la teoría de la biohidrogenación como explicación de la disminución de la grasa en leche es la más aceptada y la que quizás pudo haber explicado en mayor medida los resultados en este ensayo. De acuerdo con esta teoría, la disminución de la síntesis mamaria de grasa está asociada a la formación de una serie de ácidos grasos resultantes de una desviación de la biohidrogenación ruminal de los PUFA, como por ejemplo, el trans-10, cis-12 CLA. Bauman et al. (2003) propusieron que la alteración de la biohidrogenación ruminal de los PUFA resulta en la producción de isómeros cis y trans como el antes mencionado, que son

absorbidos a nivel intestinal y tiene un efecto inhibitorio directo en la síntesis de grasa en leche a través de la disminución de la expresión de los genes de Acetyl-CoA carboxylasa, AG sintasa y Estearyl-CoA desaturasa pero no lipoproteína lipasa.

La falta de efecto de la suplementación con AP preparto sobre la producción y el porcentaje de grasa en leche probablemente se haya debido a la rápida reversión del efecto tóxico del AP sobre la flora microbiana en rumen y sobre la inhibición de enzimas a nivel de la glándula mamaria una vez que se deja de suministrar. Este efecto antes mencionado queda demostrado por los resultados de este ensayo, donde una vez que fue retirada la suplementación con AP, el porcentaje y la producción de grasa en leche se incrementaron rápidamente, alcanzando niveles similares a los grupos no suplementados una semana más tarde. El efecto de la suplementación con AP posparto sobre la LCG estuvo dado por el efecto de éste sobre el porcentaje de grasa en leche, ya que no se observaron diferencias significativas en producción de leche entre tratamientos.

La proteína láctea, dentro de los límites que significa una alimentación normal, es difícil de modificar a través de la manipulación dietaria (Morales, 1999). La suplementación con AP durante el preparto, posparto o en ambos momentos, no afectó el porcentaje de proteína en leche ni su producción total, lo que concuerda con lo reportado Whitlock et al. (2002) y Abu-Ghazaleh et al. (2002). Donovan et al. (2000) reportaron que niveles de suplementación de hasta 3% de la MS de la dieta no afectaron esta variable, pero Keady et al. (2000) reportaron una correlación negativa entre la proteína en leche y el nivel de suplementación con AP, atribuyendo esta disminución casi enteramente a la fracción caseína. Aunque en ensayos de suplementación con grasa típicamente se puede observar una disminución en el porcentaje de proteína en leche, para que esta disminución se produzca es necesario que la suplementación se lleve a cabo por muchas semanas (Schingoethe y Casper 1991), por lo que es difícil que estos cambios pudieran ser detectados con períodos de suplementación cortos como en este ensayo.

Las concentraciones de NEFA durante el preparto se encontraban por encima de 0,4 mMol/L, nivel considerado de referencia para esta categoría en el preparto (Whitaker, 2004). Esto sugiere una intensa lipólisis, con movilización de reservas grasas al momento de comenzar la suplementación con AP, aunque no se vio reflejado en la CC, dado que no existieron cambios a lo largo de este período. El incremento de los NEFA durante la suplementación grasa ha sido reportado por Grummer y Carroll, (1991) y Chilliard, (1993). Esta respuesta se debería a un incremento de la liberación de los NEFA por el tejido adiposo o una incompleta captación de los mismos por los tejidos, pero en la lactancia temprana la mayoría de los cambios en la concentración de NEFA son resultado de cambios en el estatus energético y en la movilización de tejido graso (Drackley, 1999). En este ensayo, la suplementación con AP preparto no afectó la concentración de NEFA lo que concuerda con lo reportado por Mattos et al. (2004). La falta de efecto del AP preparto sobre esta variable podría ser atribuida a que la cantidad suministrada durante este período no fue suficiente para afectar el metabolismo energético, lo que se basa en que los grupos suplementados y no suplementados presentaron niveles de consumo y CC similares, lo que sería reflejo de BEN similares.

Durante el posparto las concentraciones de NEFA y su evolución en el tiempo fueron similares entre tratamientos. La concentración disminuyó rápidamente luego del parto para ubicarse ya a la semana posparto en valores por debajo de 0,7 mMol/L, considerados de referencia para vacas en lactancia (Whitaker, 2004). Esta disminución podría atribuirse en parte a la captación de gran parte de ellos por el hígado y la glándula mamaria (Cirio y Tebot, 2000), sumado a una mejora en la dieta y finalmente a que los animales tenían una CC inferior a la recomendada al momento del parto (Waltner et al., 1993) por lo que no había gran disponibilidad de reservas grasas para movilizar. El AP posparto no influyó sobre las concentraciones de NEFA, lo que no concuerda con lo reportado por Lacasse et al. (2002), donde los valores de NEFA se incrementaron debido a la suplementación con AP no protegido. Los resultados observados en este ensayo en consumo, variación de la CC y producción de leche, sugieren que las vacas tenían un estatus energético similar, y como las concentraciones de NEFA en la lactancia temprana responden más al balance de energía que a la mayor absorción de ácidos grasos a nivel intestinal asociada a la suplementación con grasas, podría explicar el hecho que no se registrasen efectos de la suplementación con AP posparto sobre los niveles de NEFA.

Los altos niveles de NEFA preparto no se vieron asociados con altos niveles de β HB durante este período, los que se mantuvieron en valores considerados óptimos para vacas en ese período ($<0,6$ mMol/L, Whitaker, 2004). Esto difiere de lo reportado por Whates et al. (2007a), quienes encontraron una asociación positiva entre β HB y NEFA desde la última semana preparto a la cuarta semana posparto. La falta de relación entre los niveles de NEFA y β HB preparto podría deberse a que si bien las vacas estaban en BEN, este no fue tan elevado como para desviar el metabolismo hacia la vía de los cuerpos cetónicos, por ende la mayor parte de los NEFA eran oxidados completamente hasta CO_2 y agua a través del ciclo de Krebs. La suplementación con AP preparto no influyó sobre el nivel plasmático de β HB en este período, lo que podría deberse a que, como fue explicado anteriormente, el AP no influyó sobre el estatus energético de las vacas, y al ser el β HB reflejo de éste, tampoco se vio afectado.

Los niveles de β HB durante el posparto no mostraron diferencias entre tratamientos, encontrándose dentro del rango considerado óptimo ($<0,6$ mMol/L) para vacas en lactación (Whitaker, 2004), a excepción del tratamiento 1, que se encontró dentro del rango considerado aceptable (<1 mMol/L) (Whitaker, 2004). Aunque Mattos et al. (2004) reportaron una tendencia a aumentar los niveles de β HB con la suplementación con AP posparto, esto no fue observado en este ensayo. Solo en el tratamiento 1 se observó un aumento a lo largo de las semanas, lo que podría deberse a una numéricamente mayor (aunque no significativa) producción de leche, pero no a un efecto de la suplementación con AP. Esto es coincidente con lo reportado por Whates et al. (2007a), quienes encontraron una asociación positiva entre los niveles de β HB y producción de leche a la cuarta semana posparto. Otra posible explicación a los mayores niveles de β HB de tratamiento 1 sería la reportada por Grummer y Carroll, (1991), quienes atribuyen un posible efecto anti-cetogénico de la suplementación grasa a un moderado efecto de ésta sobre la concentración de glucosa en sangre. El efecto positivo sobre la concentración de glucosa podría ser explicado porque la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga reduce la síntesis *de novo* de ácidos grasos de cadena corta en la glándula mamaria por lo que se produce un ahorro de glucosa (Bauman y Davis, 1975).

Los niveles de colesterol se mantuvieron relativamente constantes y dentro del rango recomendado por Wittwer (2000) (1,7 a 4,3 mMol/L) durante el parto, no encontrándose efecto de la suplementación con AP preparto ni posparto. Estos resultados se contradicen con lo reportado por Staples et al. (1998), quienes expresaron que el colesterol aumentaba en las vacas suplementadas con grasa independientemente del grado de saturación de los ácidos grasos. La diferencia de este ensayo con el de Staples et al. (1998), es que éste utiliza un nivel de suplementación con grasa más elevado (3% de la MS de la dieta). Una de las causas posibles de la falta de efecto de la suplementación con AP pre y posparto sobre la concentración de colesterol en plasma podría deberse a que el nivel de suplementación de este ensayo no fue suficiente para inducir una mayor síntesis de colesterol. Thomas et al. (1997) reportaron que el AP es menos colesterogénico que otras grasas animales y vegetales, lo cual podría también ayudar a explicar la falta de efecto sobre los niveles de colesterol plasmático. Por otra parte, el incremento en la concentración de colesterol observado a lo largo de las observaciones posparto podría ser atribuido a la recuperación del balance energético de la vaca (Cavestany et al., 2005).

La concentración de urea en plasma es considerada reflejo del metabolismo del nitrógeno de los rumiantes, y está en relación directa con el aporte de proteína de la dieta así como con la relación proteína/energía de la misma. Los niveles de urea en plasma se mantuvieron dentro de los considerados normales durante todo el experimento (2,5 a 7 mMol/L, Wittwer, 2000). La suplementación con AP posparto no influyó sobre la concentración de urea en plasma, a diferencia de lo observado con la suplementación preparto, donde la suplementación aumentó la concentración. No encontramos una explicación para las diferencias encontradas en este período, ya que por lo expresado anteriormente los grupos tenían CC y BEN similares, y no era esperable que la movilización de aminoácidos del músculo como fuente de energía fuera mayor en uno que en otro grupo. Por otra parte, la relación proteína/energía del grupo suplementado con AP preparto fue menor que la del grupo no suplementado en este período, por lo que por esta vía tampoco se explicarían las diferencias encontradas.

En numerosos estudios se han reportado aumentos del diámetro folicular (DF) del folículo dominante de la primera onda folicular posparto en vacas suplementadas con grasa poliinsaturada. Según Lucy et al. (1991), este efecto es independiente de la energía aportada por la grasa ya que se presenta incluso en trabajos con dietas isoenergéticas. En este ensayo no se registraron efectos significativos de la suplementación con AP preparto ni posparto sobre el DF del folículo dominante de la primera onda folicular posparto, coincidiendo con lo reportado por Artía et al. (2007), pero de forma opuesta a lo reportado por Staples et al. (2001) y Beam y Butler (1997). Un factor que podría explicar la falta de efecto del AP preparto o posparto sobre el DF es que no se mejoró el estatus energético de las vacas, uno de los mecanismos propuesto para la mejora de la performance reproductiva (Staples et al., 1998; Grummer y Carroll, 1991). La suplementación con EPA y DHA ha sido reportada como responsable de un incremento del DF (Hightshoe et al., 1991), aunque el mecanismo por el cual se produce no está claro. Mattos et al., (2004) reportaron un efecto acumulativo del EPA y DHA en las carúnculas uterinas; si este mismo efecto se llegara a observar en tejido ovárico, podría contribuir a explicar la interacción de la suplementación pre x posparto encontrada en este ensayo, ya que los ácidos grasos que escapan a la

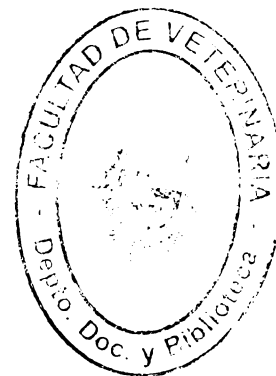
biohidrogenación podrían haberse acumulado durante los 42 días de suplementación en el tratamiento 4, y eventualmente mostrar un efecto sobre el DF.

Las principales diferencias de este ensayo con los que registran efectos favorables de la suplementación con AP sobre otras variables reproductivas, como proporción de animales que ovulan en la primera onda folicular posparto, intervalo parto-ovulación, intervalo parto-primer servicio e intervalo parto-concepción, podrían haberse debido, por un lado, al más bajo nivel de suplementación con AP utilizado, y por otro, que el AP que se utilizó no fue protegido de la biohidrogenación ruminal. Thomas et al. (1997), trabajando con niveles de suplementación del 4% de AP en dietas isoenergéticas e isoproteicas y CC que permanecieron similares, reportaron un aumento de las concentraciones séricas de colesterol, lo que no fue observado en este ensayo con 1% de AP. Los ésteres de colesterol son considerados un componente crítico para la esteroideogénesis folicular (Lucy et al., 1991), y sus aumentos a nivel plasmático han sido asociados con mayores diámetros foliculares, y éstos con mayor proporción de ovulaciones (Beam y Butler, 1997). Al no observarse aumentos de colesterol en este ensayo tampoco era de esperar que por esta vía se viera modificada la proporción de animales que ovulan a la primera onda posparto.

La IGF-1 tiene un rol endócrino e indica el estado nutricional al eje reproductivo (Zulu et al., 2001). Actúa en la hipófisis anterior para estimular la secreción de gonadotropinas, aumenta la sensibilidad de las células foliculares a la FSH y LH (Spicer y Echtenkamp, 1995) y estimula tanto la proliferación como la diferenciación de las células de la granulosa, dependiendo del grado de desarrollo de los folículos (Zulu et al., 2002). Los factores clave que determinan si el primer FD ovula o no son: el tamaño del FD, la frecuencia de los pulsos de LH al que está expuesto y las concentraciones séricas de IGF-1 (Roche, 2006). En vacas que paren con una CC baja ($\leq 2,5$), como en este ensayo, se ha reportado baja frecuencia de pulsos de LH y subsiguiente baja concentración de estrógenos, siendo éstos inefectivos para inducir el pico de LH y la ovulación. Dichas vacas tienen menor diámetro de folículo dominante, baja concentración de insulina e IGF-1 y bajas frecuencias de pulsos de LH (Roche, 2006). Los animales en BEN se caracterizan por niveles sanguíneos bajos de insulina, glucosa y de IGF-1 (Canfield y Butler 1991). Como fue mencionado anteriormente la suplementación con AP en este ensayo no mejoró el estatus energético de las vacas, por lo que es razonable suponer que los niveles de insulina e IGF-1 no fueran diferentes entre tratamientos, y por lo tanto no era esperable una mejora de las variables reproductivas analizadas.

CONCLUSIONES

La suplementación con 1% de AP no protegido en la dieta de vacas lecheras primíparas en pastoreo durante tres semanas antes del parto y/o tres semanas luego del parto no afectó el consumo total de alimentos, la condición corporal, la producción de leche ni las variables reproductivas estudiadas. Sin embargo, la suplementación con AP posparto causó una disminución tanto en el porcentaje como la producción total de grasa en leche, disminución que se revirtió rápidamente al cesar la suplementación. Si bien no se observaron diferencias en los perfiles metabólicos que reflejaran efecto del AP sobre el balance energético, sería interesante plantear otros estudios donde se evalúe si esta disminución en la producción de grasa en leche puede ser utilizada como una herramienta efectiva para ahorrar energía en el posparto temprano de forma de disminuir el balance energético negativo.



BIBLIOGRAFIA

1. Abu-Ghazaleh AA, Schingoethe DJ, Hippen AR, Kalscheur KF, (2003). Milk conjugated linoleic acid response to fish oil supplementation of diets differing in fatty acid profiles. *J Dairy Sci*; 86:944-953.
2. Abu-Ghazaleh, AA. (2002). Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid in Rumen, Plasma, and Milk of Cows Fed Fish Oil and Fats Differing in Saturation of 18 Carbon Fatty Acids. *J Dairy Sci*; 86:3648-3660.
3. Ahnadi C, Beswick N, Delbecchi L, Kennelly J, Lacasse P. (2002). Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *J Dairy Res*; 69:521-531.
4. Allen, MS. (2000). Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*; 83:1598-1624.
5. Armstrong JD, Goodall EA, Gordon FJ, Rice DA, McCaughey WJ. (1990). The effects of levels of concentrate offered and inclusion of maize gluten or fish meal in the concentrate on reproductive performance and blood parameters of dairy cows. *Anim Prod*; 50:1-10.
6. Artía E, Castro P, Clavell F. (2007). La semilla de girasol entera como suplemento para vacas lecheras en pastoreo durante el posparto temprano: efecto sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica, y sobre la producción y composición de leche. Tesis para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay, 67 p.
7. Ashes JR, Siebert BD, Gulati SK, Cuhetson AZ, Scott TW. (1992). Incorporation of n-3 fatty acids of fish oil into tissue and serum lipids of ruminants. *Reprod Nutr Dev*; 37:113-124.
8. Bach A. (2001). La Reproducción del Vacuno Lechero: Nutrición y Fisiología. XVII Curso de especialización FEDNA. Disponible en: <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2001CAPV.pdf> Fecha de consulta: 5/3/08.
9. Baer RJ, Rvali DJ, Schingoethe KM, Kasperson DC, Donovan AR, Hippen ST. (2001). Composition and Properties of Milk and Butter from Cows Fed Fish Oil. *J Dairy Sci*; 84:345-353.
10. Bargo F, Muller LD, Kolver ES, Delahoy JE. (2003). Invited Review: production and digestion of supplemented dairy cow on pasture. *J Dairy Sci*; 86:1-42.
11. Barnouin J, Chassagne M. (1991). An aetiological hypothesis for the nutrition induced association between retained placenta and milk fever in the dairy cows. *Ann Rech Vet*; 22:331-343.
12. Barros L. (2006). Trastornos metabólicos que afectan la calidad de la leche. Montevideo, Fac Vet, 20 p.
13. Bauman D, Peterson D, Matitashvili E. (2003). Diet-Induced Milk Fat Depression in Dairy Cows Results in Increased trans-10, cis-12 CLA in Milk Fat and Coordinate Suppression of mRNA Abundance for Mammary Enzymes Involved in Milk Fat Synthesis. *J Nutr*; 133:3098-3102.
14. Bauman DE, Griinari JM. (2001). Regulation and nutritional manipulation of milk fat: low-fat milk syndrome. *Livest Prod Sci*; 70:15-29.
15. Bauman DE, Currie B. (1980). Partitioning of nutrients pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorresis. *J Dairy Sci*; 63:1514-1529.

16. Bauman D, Davis L. (1975). Regulation of lipid metabolism. En: McDonald IW, Warner ACI. Digestion and Metabolism in the Ruminant. New South Wales, University of Armidale, pp 496-509.
17. Baumgard LH, Corl BA, Dwyer D, Bauman DE. (2000). Identification of the conjugated linoleic isomer that inhibit milk fat synthesis. *Amer J Physiol*; 278:179-184.
18. Beam SW, Butler WR. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl*; 54:411-424.
19. Ben Salem H, Krzeminski R, Ferlay A, Doreau M. (1993). Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: comparison of hay and corn silage diets. *J Anim Sci*; 73:547-557.
20. Beam SW, Butler WR. (1998). Energy balance, metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J Dairy Sci*; 81:121-131.
21. Beam SW, Butler WR. (1997). Energy Balance and Ovarian Follicle Development Prior to the First Ovulation Postpartum in Dairy Cows Receiving Three Levels of Dietary Fat. *Biol Reprod*; 56:133-142.
22. Béréziat G. (1978). Voies métaboliques et régulations de la biosynthèse des prostaglandines et thromboxanes. *Fr Corps Gras*; 25:463-473.
23. Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburg ME, Boisclair YR. (2001). Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J Endoc*; 171:341-350.
24. Burke JM, Staples CR, Risco CA, De la Sota RL, Thatcher WW. (1997). Effect of ruminant grade menhaden fish meal on reproductive and productive performance of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 80:3386-3398.
25. Burns PD, Abbey DB, Bonnette TR, Harris MA, Whittier JC. (2000). Effects of fishmeal supplementation on bovine endometrial concentration of n-3 fatty acids in proceedings, Western section. *Amer Soc Anim Sci*; 53:392-396.
26. Butler WR. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest Prod Sci*; 83:211-218.
27. Calsamiglia S, Caja G, Stern MD, Crooker BA. (1995). Effects of ruminal versus duodenal dosing of fish meal on ruminal fermentation and milk composition. *J Dairy Sci*; 78:1999-2007.
28. Canfield RW, Butler WR. (1991). Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on secretion in early postpartum dairy cows. *J Anim Sci*; 69:740-746.
29. Cant JP, Fredeen AH, MacIntyre T, Gunn J, Crowe N. (1997). Effect of fish oil and monensin on milk composition in dairy cows. *J Anim Sci*; 77:125-131.
30. Cavestany D, Blanc JE, Kulcsar M, Uriarte G, Chilibroste P, Meikle A, Febel H, Ferraris A, Krall E. (2005). Studies of the transition cow under a pasture based milk production system: metabolic profiles. *J Vet Med Series A*; 52:1-7.
31. Cavestany D, Galina CS, Viñoles C. (2001). Efecto de las características del reinicio de la actividad ovárica posparto en la eficiencia reproductiva de vacas Holstein en pastoreo. *Arch Med Vet*; 33:217-226.
32. Chilliard Y, Bonnet M, Delavaud C, Faulconnier Y, Leroux C, Djiane J, Bocquier F. (2001). Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domest Anim Endoc*; 21:271-295.
33. Chilliard Y, Ferlay A, Doreau M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest Prod Sci*; 70:31-48.

34. Chilliard Y, Ferlay A, Delavaud C, Bocquier F. (1998). The comparison of plasma level and mRNA expression of leptin from Japanese Black steers and Holstein steers. *Livest Prod Sci*; 81:247-255.
35. Chilliard Y. (1993). Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents: A review. *J Dairy Sci*; 76:3897-3931.
36. Chouinard PY, Bauman DE, Corl BA, Baumgard LH, MaGuire MA, Giesy JG. (1999). An update on conjugated linoleic acid. En: *Cornell Nutr. Conf.*, New York, Cornell Univ, pp 93-101.
37. Cirio A, Tebot I. (2000). Fisiología metabólica de los rumiantes. Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria Montevideo, Uruguay, 146 p.
38. Corl BA, Baumgard LH, Dwyer DA, Griinari JM, Phillips BS, Bauman DE. (2001). The role of D9-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *J Nutr Biochem*; 12:622-630.
39. Dirección de Estadísticas Agropecuarias (DIEA). (2007). Anuario Estadístico Agropecuario DIEA/MGAP. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/Diea/Anuario2007/pages/DIEA-Anuario-2007-cd_000.html Fecha de consulta: 11/5/08
40. División Contralor de Semovientes (DI.CO.SE) (2007). Datos de declaración jurada de Lechería 2007/2008. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DICOSE/Informe2007/DJ_Lechería2007.pdf Fecha de consulta: 19/7/08
41. Domínguez P, Grau M. (2003). La harina de pescado como suplemento proteico. Efectos sobre la producción y composición sobre la leche de vacas holando. Tesis Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Uruguay, 114 p.
42. Donovan DC, Schingoethe DJ, Baer RJ, Ryali J, Hippen AR, Franklin ST. (2000). Influence of Dietary Fish Oil on Conjugated Linoleic Acid and Other Fatty Acids in Milk Fat from Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci*; 83:2620-2628.
43. Doreau M, Chilliard Y. (1997). Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British J Nutr*; 78:15-35.
44. Doreau M, Ferlay A. (1994). Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. *Anim Feed Sci Tech*; 45:379-396.
45. Drackley JK, Klusmeyer TH, Trusk AM, Clark JH. (1992). Infusion of long-chain fatty acids varying in saturation and chain length into the abomasum of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 75:1517-1526.
46. Drackley, JK. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy Sci*; 82:2259-2273.
47. Edmonson AJ, Lean J, Weaver LD, Farver T, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*; 72:68-78.
48. Emery RS, Liesman JS, Herdt TH. (1992). Metabolism of long chain fatty acid by ruminant liver. *J Nutr*; 122:832-837.
49. FEDNA. (1997). Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos. Disponible en: http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/suplementacion/47-propilenglicol.htm Fecha de consulta: 21/7/08
50. Galbraith H, Miller TB. (1973). Effect of long chain fatty acids on bacterial respiration and amino acid uptake. *J Applied Microb*; 36:659-675.

51. Garnsworthy, PC. (1997). Fats in dairy cow diets. En: Garnsworthy PC, Cole DJA. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham, University of Nottingham pp. 87–103.
52. Grompone, MA. (1992). Aceites de pescado de interés nacional. *Ing Química*; 3:14-19.
53. Grummer, RR. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cows. *J Anim Sci* 73:2820–2833.
54. Grummer RR, Hayirli A. (2000). Factors Affecting Dry Matter Intake of Prefresh Transition Cows. 4-State Professional Dairy Management Seminar proceedings. Disponible en: http://www.soychlor.com/soychlornews/drymatter_page1.html Fecha de consulta: 18/2/08
55. Grummer RR, Rabelo E. (1999). Utilization of whole soybeans in dairy cattle diets. En: Drackley, J.K. *Soy in Animal Nutrition*. Savoy Illinois, Federation of Animal Science Societies pp. 215–237.
56. Grummer RR, Hoffman PC, Luck ML, Bertics SJ. (1995). Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *J Dairy Sci*; 78:172-180.
57. Grummer RR, Carroll DJ. (1991). Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J Anim Sci*; 69:3838-3852.
58. Gunter SA, Judkins MB, Krysl LJ, Broesder JT, Barton RK, Rueder BR, Hallford DM, Holcombe DW. (1990). Digesta kinetics, ruminal fermentations characteristics and serum metabolites of pregnant and lactating ewes fed chopped alfalfa hay. *J Anim Sci*; 68:3821-3831.
59. Harfoot CG, Hazlewood GP. (1988). Lipid metabolism in the rumen. *The Rumen Microbial Ecosystem*. New York, Elsevier Applied Science, pp. 285-322.
60. Harfoot CG, Noble RC, Moore JH. (1973). Food particles as a site for biohydrogenation of unsaturated fatty acids in the rumen. *Bioch J*; 132:829-832.
61. Harfoot CG. (1981). Lipid metabolism in the rumen. En: Schroeder GF. *Lipid Metabolism in Ruminant Animals*. New York, Christie, pp. 21–56.
62. Herdt, TH. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance: influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North America. Food Anim Prac*; 16:215–230.
63. Hightshoe RB, Cochran RC, Corah LR, Kiracofe GH, Harmon DL, Perry RC. (1991). Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cattle. *J Anim Sci*; 69:4097-4103.
64. Hoffman PC, Grummer RR, Shaver RD, Broderick GA, Drendel TR. (1991). Feeding supplemental fat and undegraded intake protein to early lactation dairy cows. *J Dairy Sci*; 74:3047-3054.
65. Holman, RT. (1986). Nutritional and biochemical evidences of acyl interaction with respect to essential polyunsaturated fatty acids. *Prog Lipid Res*; 25:29-39.
66. Holtenius K, Agenas S, Delavaud C, Chilliard Y. (2003). Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. *J Dairy Sci*; 86:883-891.
67. Hoover WH, Miller TK, Stokes SR, Thayne WV. (1989). Effects of fished on rumen bacterial fermentation in conlimum cultwe. *J Dairy Sci*; 73:2991.
68. Hussein HS, Jordan RM. (1991). Fishmeal as a protein supplement in ruminant diets: A review. *J Anim Sci*; 69:2147–2156.

69. Huszenicza GY, Kulcsar M, Nikolic JA, Schmidt J, Korodi P, Katai L, Dieleman S, Ribiczei-Szabo P, Rudas P. (2001). Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with Monensin or inert fat in feed. En: Disking MG, Fertility in the High-Producing Dairy Cow. British Society of Animal Science, MG Diskin. Edinburgh: pp 405–409.
70. Ibarra D, Chilibroste P. (2003). Evolución de la condición corporal y variables reproductivas. En: Proyecto “Interacción Alimentación – Reproducción”. Informe final 2003. CONAPROLE. Área Producción Lechera y Recursos Cooperativos. Montevideo, Uruguay. pp. 34-45.
71. Ibarra, D. (2002). Indicadores reproductivos en la cuenca lechera de CONAPROLE en los servicios de otoño de 2001. 30ª Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. 12-15 de junio de 2002. pp. 256-258.
72. Jenkins, TC. (1993). Lipid metabolism in the rumen. *J Dairy Sci*; 76:3851–3863.
73. Jenkins TC, Jenny BF. (1989). Effect of hydrogenated fat on feed intake, nutrient digestion and lactation performance of dairy cows. *J Dairy Sci*; 72:2316-2324.
74. Jerred MJ, Carroll DJ, Combs DK, Grummer RR. (1990). Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on lactation performance of dairy cattle. *J Dairy Sci*; 73:2842-2854.
75. Jones DF, Weiss WP, Palmquint DL, Jenkins TC. (1998). Dietary fish oil for dairy cows: 1 Effects on milk fatty acid production and composition. Disponible en: http://ohioline.osu.edu/sc163/sc163_16.html Fecha de consulta: 19/7/08
76. Kadokawa H, Blache D, Yamada Y, Martin GB. (2000). Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first postpartum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. *Reprod Fert Develop*; 12:405–411.
77. Keady T, Mayne C, Fitzpatrick D. (2000). Effects of supplementation of dairy cattle with fish oil on silage intake, milk yield and milk composition. *J Dairy Res*; 67:137-153.
78. Kellaway RC, Porta S. (1993). Feeding Concentrates: Supplements for dairy cows. En: Kellaway RC, Harrington T. Feeding Concentrates: Supplements for dairy cows. Melbourne, Landlinks pp. 79-82.
79. Kelly ML, Kolver ES, Bauman ME, Van Amburgh ME, Muller LD. (1998). Effects of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *J Dairy Sci*; 81:1630–1636.
80. Kolver ES, Muller LD. (1998). Performance and nutrient intake of high producing Holsteins cows consuming pasture or a total mixed ration. *J Dairy Sci*; 81:1403-1411.
81. Komaragiri MV, Erdman RA. (1997). Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. Effect of dietary protein on mobilization on body fat and protein. *J Dairy Sci*; 80:929–937.
82. Krall E, Chilibroste P. (2003). Efecto de dos niveles de oferta de concentrado y el estado corporal al parto sobre la producción y la reproducción del ganado lechero. *Vet (Montevideo)*; 38:150-151.
83. Lacasse P, Kennelly J, Delbecchi L, Ahnadi C. (2002). Addition of protected and unprotected fish oil to diets for dairy cows. Effects on the yield, composition and taste of milk. *J Dairy Res*; 69:511-520.
84. Leat WM, Northrop CA. (1979). Supplementation with linolenic acid of a diet deficient in essential fatty acids results in impaired parturition in rats. *J Physiol* 290:370.

85. Liefers SC, Veerkamp RF, Te Pas MFW, Delavaud C, Chilliard Y, Van der Lende. (2003). Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and oestrus in dairy cows. *J Dairy Sci*; 86:799–807.
86. Littell R, Henry P, Ammerman C. (1998). Statistical analysis of repeated measures using SAS procedures. *J Anim Sci*; 76:1216-1231.
87. Lock AL, Garnsworthy PC. (2003). Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and D9-desaturase activity in dairy cows. *Livest Prod Sci*; 79:47– 59.
88. Louca A, Legates JE. (1968). Production losses in dairy cattle due to open days. *J Dairy Sci*; 51:573-583.
89. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci*; 70:3615-3626.
90. Lucy M, Staples R, Michel F, Thatcher W. (1991). Effect of Feeding Calcium Soaps to Early Postpartum Dairy Cows on Plasma Prostaglandin F_{2α}, Luteinizing Hormone, and Follicular Growth. *J Dairy Sci*; 74:483-489.
91. Mäntysaari PE, Sniffen CJ, Muscato TV, Lynch JM, Barbano DM. (1989). Performance of cows in early lactation fed isonitrogenous diets containing soybean meal or animal by-products meals. *J Dairy Sci*; 72:2958-2967.
92. Mariane L. (1998). "La Dieta como Determinante del Desarrollo del Sistema Nervioso Central: Rol de los Ácidos Grasos Esenciales".(Resumen) Disponible en: http://www.alanrevista.org/ediciones/19981/dieta_desarrollo_sistema_nervioso_central.asp Fecha de consulta: 19/7/08
93. Mattos R, Staples CR, Arteché A, Wiltbank MA, Diaz FJ, Jenkins TC, Thatcher WW. (2004). The effects of feeding fish oil on uterine secretion of PGF_{2α}, Milk composition and metabolic status of periparturient Holstein cows. *J Dairy Sci*; 87:921-932.
94. Mattos R, Staples CR, Williams J, Amorochó A, McGuire MA, Thatcher WW. (2002). Uterine, Ovarian, and Production Responses of Lactating Dairy Cows to Increasing Dietary Concentrations of Menhaden Fish Meal. *J Dairy Sci*; 85:755–764.
95. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. (2004). Studies of the transition dairy cow under a pasture-based milk production system: Endocrine and Reproductive Parameters. *Reproduction*; 127:727-737.
96. Morales S, Sol M. (1999). Factores que afectan la composición de la leche. *Tecno Vet*: Año 5 N°1, marzo 1999. Disponible en: http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9670%2526ISID%253D459,00.html Fecha de consulta: 19/7/08
97. Muller LD, Fales SL. (1998). Supplementation of cool-season grass pastures for dairy cattle. En: Cherney JH, Cherney DJR. *Grass for Dairy Cattle*, CAB International Wallingford, UK, pp. 335–350.
98. National Research Council, (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th revised Edition Natl. Disponible en: http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=9825&page=214 Fecha de consulta: 19/7/08
99. Nebel RL, McGilliard ML. (1993). Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci*; 76:3257–3268.
100. Overton TR, Waldron MR, (2004). Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *J Dairy Sci*; 87:105-119.
101. Palmquist, DL. (1988). The feeding value of fat. En: Orskov, ER. Amsterdam, Feed Science Elsevier, pp. 293–311.

102. Palmquist, DL. (1984). Use of fats in diets for lactating dairy cow. En: Wiseman J. Fat in Animal Nutrition. London, Bultersworkts, pp. 357– 381.
103. Palmquist DL, Jenkins TC. (1980). Fat in lactation ration: Review. *J Dairy Sci*; 63:1– 14.
104. Palmquist DL, Conrad NR. (1978). High fat rations for dairy cows. Effects on feed intake, milk and fat production, and plasma metabolites. *J Dairy Sci*; 61:890– 901.
105. Petit HV. (2002). Effects of fatty acids on Reproduction in the Dairy Cow: The Good and the bad. Disponible en: http://www.dsm.com/en_US/html/dnpus/an_r_d_index.htm 14 de marzo 2008 Fecha de consulta: 19/7/08
106. Petit HV, Dewhurst RJ, Proulx JG, Khalid M, Haresign W, Twagiramungu H. (2001). Milk production, milk composition, and reproductive function of dairy cows fed different fats. *J Anim Sci*; 81:263-271.
107. Pike, IA. (1999). Health benefits from feeding fish oil and fish meal; the role of long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids in animal feeding. International Fishmeal and Oil Manufacturers Association (INFOMA). Hertfordshire, College Yard Lower II Street, pp. 22.
108. Rabiee AR, Lean IJ, Gooden MJ, Miller BG. (1999). Relationships Among Metabolites Influencing Ovarian Function in the Dairy Cow. *J Dairy Sci*; 82:39–44.
109. Rearte DH, Pieroni GA. (2001). Supplementation of temperate pasture. Proceedings of the XIX International Grassland Congress, Sao Paulo, Brasil. pp. 679–689.
110. Rearte, DH. (1992). Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. Buenos Aires, Centro Regional Sur., 94 p.
111. Rhodes FM, McDougall S, Burke CR, Verkerk GA, Macmillan KL. (2003). Invited review: treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *J Dairy Sci*; 86:1876-1894.
112. Richards MW, Wettemann RP, Schoenemann HM. (1989). Nutritional anestrous in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarium activity. *J Anim Sci*; 67:1520-1526.
113. Roche, JF. (2006). The effects of nutricional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*; 96:282-296.
114. Roche JF, Diskin MG. (2005). Efecto de la nutrición sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. 33ª Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp. 21-26.
115. Rodriguez A, Barrera-Arellano D, Grompone MA. (1993). Estabilidad oxidativa del aceite de hígado de merluza. *Grasas Aceites*; 44:270-273.
116. Ruegsegger GJ, Schultz LH. (1985). Response of high producing dairy cows in early lactation to the feeding of heat-treated whole soybeans. *J Dairy Sci*; 68:3272.
117. Ryan DP, Bao B, Griffith MK, Williams GL. (1995). Metabolic and luteal sequelae to heightened dietary fat intake in undernourished, anestrous beef cows induced to ovulate. *J Anim Sci*; 73:2086-2093.
118. Schingoethe DJ, Casper DP. (1991). Total lactational response to added fat during early lactation. *J Dairy Sci*; 74:2617-2622.
119. Schroeder GF, Gagliostro GA, Bargo F, Delahoy JE, Muller LD. (2004). Effects of fat supplementation on milk production and composition by dairy cows on pasture: a review. *Livest Prod Sci*; 86:1-18.
120. Schroeder GF, Gagliostro GA, Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido I. (2002). Supplementation with partially hydrogenated oil in grazing dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci*; 85:580–594.

121. Seymour WM, Nocek JE, Siciliano-Jones J. (1994). The effect of dietary fat level on performance of dairy cows at different stages of lactation. *J Dairy Sci*; 72:344 (Abstr.)
122. Sklan D, Bogin E, Avidar Y, Gur-arie S. (1989). Feeding calcium soaps of fatty acids to lactating cows: effect on production, body condition, and blood lipids. *J Dairy Res*; 56:675–681.
123. Smith WL, Marnertt LJ. (1991). Review. Prostaglandin endoperoxide synthase: structure and catalysis. *Biochim Biophys Acta*; 1083:1-17.
124. Sotelo, F. (2006). Cómo andan “reproductivamente” nuestros Tambos? Instituto Nacional de Mejoramiento Lechero. Disponible en: <http://www.mejoramientolechero.org.uy/articulos/comportamientoreproductivo.pdf>
Fecha de consulta: 19/7/08
125. Spain JN, Polan CE. (1995). Evaluating effects of yield of dairy cows fish meal on milk fat. *J Dairy Sci*; 78:1142-1153.
126. Spicer L, Echternkamp S. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endoc*; 12:223-245.
127. Stalling, CC. (1999). Transition Cow Nutrition. Proceedings Virginia Tech. Feed and Nutritional Management Cow College. Disponible en: <http://www.dasc.vt.edu/nutritioncc/ccs99.pd>. Fecha de consulta: 19/7/08
128. Staples CR, Thatcher WW. (2001) Nutrient Influences on Reproduction of Dairy Cows. Disponible en: <http://www.txanc.org/proceedings/2001/NutrientReproductionDairyCows.pdf> 14 marzo 2008 Fecha de consulta: 19/7/08
129. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. (1998). Influence of Supplemental Fats on Reproductive Tissues and Performance of Lactating Cows. Symposium: Optimizing energy nutrition for reproducing dairy cows. *J Dairy Sci*; 81:856–871.
130. Sutton J, Broster W, Schuller E, Napper D, Broster V, Bines J. (1988). Influence of plane of nutrition and diet composition on rumen fermentation and energy utilization by dairy cows. *J Agric Sci*; 110:261–70.
131. Thatcher WW, Meyer MD, Danet-Desnoyers G. (1995). Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fert (Suppl)*; 49:15-28.
132. Thomas M, Bao B, Williams G. (1997). Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *J Anim Sci*; 75:2512–2519.
133. Van Soest, PJ. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant* Comstock Publishing Associates. Ithaca (New York), Cornell University Press 476 pp.
134. Vidal, ME. (2007). Producción lechera: situación y perspectivas. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario07/docs/05_Prod_lechera.pdf
Fecha de consulta: 21/7/08.
135. Waltner SS, McNamara JP, Hillers JK. (1993). Relationships of body condition score to production variables in high producing cattle. *J Dairy Sci*; 76:3410-3419.
136. Wathes D, Bourne N, Cheng Z, Mann G, Taylor V, Coffey M, Brotherstone S. (2007)^b Differences between primiparous and multiparous dairy cows inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest Anim Endoc*; 33:203–225.
137. Wathes D, Bourne N, Cheng Z, Mann G, Taylor V, Coffey M. (2007)^a. Multiple Correlation Analyses of Metabolic and Endocrine Profiles with Fertility in Primiparous and Multiparous Cows. *J. Dairy Sci*; 90:1310–1325.

138. Wehrman ME, Welsh JR, Williams GL. (1991). Diet induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol Reprod*; 45:514-522.
139. Whitaker, DA. (2004). Metabolic profiles. En: Andrews AH, Blowey RW, Boys H, Eddy RG. *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of cattle*. (Eds) 2a ed. Oxford, Blackwell Science; pp 804-817.
140. Whitlock L, Schingoethe D, Hippen A, Kalscheur K, Baer R, Ramaswamy N, Kasperson K. (2002). Fish Oil and Extruded Soybeans Fed in Combination Increase Conjugated Linoleic Acids in Milk of Dairy Cows More Than When Fed Separately. *J Dairy Sci*; 85:234-243.
141. Wittwer, F. (2000). Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. En: Gonzalez FHD, Barcellos J, Ospina Patiño H, Ribeiro LA. *Perfil metabólico em Rumiantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais*. Porto Alegre, Univ Federal Rio Grande do Sul; pp 9-22.
142. Zanoniani R, Zibil S, Ernst O, Chilbroste P. (2004). Manejo del pastoreo y producción de forraje: resultados del monitoreo realizado durante el año 2003. Proyecto "Interacción Alimentación – Reproducción". Informe final 2003. CONAPROLE. Paysandú, Área Producción Lechera y Recursos Cooperativos. pp. 25-34.
143. Zhang Q, Wu WW, Nathanielsz PW, Brenna JT. (1995). Distribution of arachidonic, eicosapentaenoic, docosahexaenoic and related fatty acids in ovine endometrial phospholipids in late gestation and labor. *Prostaglandins-Leukot-Essent-Fatty-Acids*; 53:201-209.
144. Zulu VC, Nakao T, Sawamukai Y. (2002). Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *J Vet Med Sci*; 64:657-665.
145. Zulu V, Sawamukai Y, Nakada K, Nakao T, Tanaka Y, Moriyoshi M. (2001). Characterization of peripheral insulin-like growth factor-I in dairy cows spontaneously developing ovarian cysts early postpartum. *Biotechnol Agron Soc Environ*; 5:39 (Abstr).