

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ENERGÉTICA SOBRE LA REPRODUCCIÓN Y  
PRODUCCIÓN EN VACAS HOLANDO EN PASTOREO RESTRINGIDO**

Por

**Federica ALBANELL COMAS  
Ana Lucía SILVA RATTÍN**

**TESIS DE GRADO presentada como uno de los  
requisitos para obtener el título de Doctor en  
Ciencias Veterinarias  
(Orientación Producción Animal)**

**MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2006**

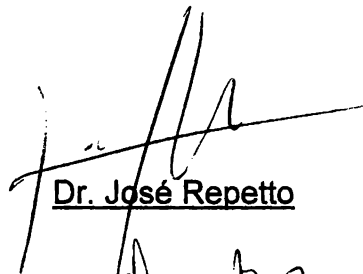
052 TG  
**Efecto de la su**  
*Albanell Comas, Federica*



FV/27088

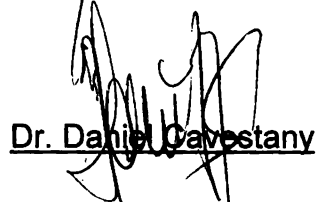
TRABAJO FINAL aprobado por:

Presidente de Mesa:



Dr. José Repetto

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Daniel Cavestany

Tercer Miembro:



Dra. Ana Meikle

Co-Tutor:

Dra. Carolina Viñoles

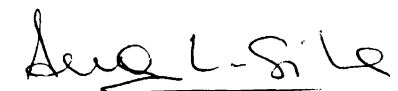
Fecha:

---

Autores:



Federica Albanell Comas  
Nombre completo y firma



Ana Lucía Silva Rattín  
Nombre completo y firma

27-088

II

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Daniel Cavestany por su apoyo incondicional durante todo momento y por darnos la oportunidad de realizar este proyecto.

A la Dra. Carolina Viñoles por su participación en el trabajo de campo, tanto en la parte profesional como personal.

A los Ing Agr. Alejandro La Manna, Juan Mieres y Alejandro Mendoza de INIA La Estanzuela.

A la familia López de INIA La Estanzuela y al personal del tambo que nos supieron dar un lugar en su rutina diaria.

Al Dr. Gonzalo Uriarte quien nos ayudó con el procesamiento de las muestras.

A Noel y Fede que más que amigos ya son hermanos y con quienes supimos convivir y trabajar todos esos meses.

A nuestras familias porque gracias a ellos llegamos a cumplir nuestra meta.

A todos aquellos que nos ayudaron a construir nuestro camino...GRACIAS.

## TABLA DE CONTENIDO

Página

|  |     |
|--|-----|
| PÁGINA DE APROBACIÓN.....  | II  |
| AGRADECIMIENTOS.....   | III |
| LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....  | IV  |
| <br>   |     |
| 1. <u>RESUMEN</u> .....  | 1   |
| 2. <u>SUMMARY</u> .....  | 1   |
| 3. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....   | 2   |
| 4. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....   | 4   |
| 4.1. <u>ALIMENTACION</u> .....   | 4   |
| 4.1.1. <u>Interacciones Nutrición/Reproducción</u> .....                             | 6   |
| 4.2. <u>PRODUCCIÓN DE LECHE</u> .....  | 8   |
| 4.3. <u>REPRODUCCIÓN</u> .....   | 9   |
| 4.3.1. <u>Desarrollo folicular</u> .....   | 9   |
| 4.3.1.1. <u>Ondas foliculares</u> .....  | 9   |
| 4.3.1.2. <u>Ondas foliculares en el posparto</u> .....                               | 12  |
| 4.3.2. <u>Hormonas</u> .....   | 14  |
| 4.3.2.1. <u>Hormonas reproductivas</u> .....   | 14  |
| 4.3.2.2. <u>Hormonas metabólicas</u> .....   | 15  |
| 5. <u>DETERMINACIONES METODOLÓGICAS</u> .....  | 18  |
| 5.1. <u>CONSUMO</u> .....  | 18  |
| 5.2. <u>PERFILES METABÓLICOS</u> .....   | 18  |
| 5.2.1. <u>BHOB</u> .....   | 18  |
| 5.2.2. <u>Colesterol</u> .....   | 19  |
| 5.2.3. <u>NEFA</u> .....   | 19  |
| 5.2.4. <u>Urea</u> .....   | 19  |
| 5.2.5. <u>Enzimas</u> .....  | 19  |
| 5.2.5.1. <u>Aspartato amino transferasa (AST)</u> .....                              | 19  |
| 5.2.5.2. <u>Gama glutamil transferasa (GGT)</u> .....                                | 20  |
| 5.3. <u>REPRODUCCIÓN</u> .....   | 20  |
| 5.3.1. <u>Determinación de la ovulación</u> .....                                    | 20  |
| 5.3.2. <u>Estudio de las características de las ondas foliculares posparto</u> ..... | 20  |
| 5.3.3. <u>IGF-I</u> .....  | 20  |
| 6. <u>MATRIALES Y MÉTODOS</u> .....  | 21  |
| 6.1. <u>LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN</u> .....  | 21  |
| 6.2. <u>ANIMALES Y TRATAMIENTOS</u> .....  | 21  |
| 6.3. <u>ALIMENTACIÓN Y MANEJO PREPARTO</u> .....                                     | 21  |
| 6.4. <u>ALIMENTACIÓN Y MANEJO POSPARTO</u> .....                                     | 23  |
| 6.5. <u>DETERMINACIONES</u> .....  | 23  |
| 6.5.1. <u>Consumo</u> .....  | 23  |

|          |   |    |
|----------|---|----|
| 6.5.1.1. | <u>Técnica de determinación de consumo por cromo:</u> .....   | 24 |
| 6.5.2.   | <u>Pastura</u> .....  | 24 |
| 6.5.3.   | <u>Concentrado y ensilaje</u> .....   | 25 |
| 6.5.4.   | <u>Condición corporal</u> .....   | 25 |
| 6.5.5.   | <u>Determinación del peso corporal</u> .....  | 25 |
| 6.5.6.   | <u>Metabolitos y hormonas</u> .....   | 25 |
| 6.5.7.   | <u>Producción de leche</u> .....  | 26 |
| 6.5.8.   | <u>Composición de la leche (grasa y proteína)</u> .....   | 26 |
| 6.5.9.   | <u>Análisis estadístico</u> .....   | 26 |
| 7.       | <u>RESULTADOS</u> .....   | 27 |
| 7.1.     | CONSUMO.....  | 27 |
| 7.2.     | CONDICIÓN CORPORAL.....   | 28 |
| 7.3.     | EVOLUCIÓN DEL PESO CORPORAL.....  | 30 |
| 7.4.     | PRODUCCIÓN DE LECHE.....  | 30 |
| 7.5.     | COMPOSICIÓN DE LA LECHE.....  | 31 |
| 7.5.1.   | <u>Porcentaje de grasa en leche</u> .....   | 31 |
| 7.5.2.   | <u>Porcentaje de proteína en leche</u> .....  | 32 |
| 7.6.     | PERFILES METABÓLICOS.....   | 32 |
| 7.6.1.   | <u>Betahidroxibutirato (BHOB)</u> .....   | 32 |
| 7.6.2.   | <u>Colesterol</u> .....   | 33 |
| 7.6.3.   | <u>Aspartato amino transferasa (AST)</u> .....  | 33 |
| 7.6.4.   | <u>Gama glutamil transferasa (GGT)</u> .....  | 33 |
| 7.6.5.   | <u>NEFA</u> .....   | 35 |
| 7.6.6.   | <u>Urea</u> .....   | 36 |
| 7.7.     | CORRELACIONES.....  | 37 |
| 7.8.     | REPRODUCCIÓN.....   | 38 |
| 7.8.1.   | <u>Rango del intervalo parto-ovulación</u> .....  | 39 |
| 7.8.2.   | <u>Concentraciones de IGF-I</u> .....   | 40 |
| 7.8.3.   | <u>Niveles de IGF-I y diámetro folicular</u> .....  | 41 |
| 7.8.4.   | <u>Características del reinicio de la actividad ovárica posparto</u> .....  | 42 |
| 7.8.5.   | <u>Diferencias en algunos parámetros entre animales que ovulan y que no lo hacen dentro de los 50 días posparto</u> ..... | 44 |
| 7.8.5.1. | Condición corporal.....   | 44 |
| 7.8.5.2. | Porcentaje de grasa en leche.....   | 44 |
| 7.8.5.3. | Niveles de IGF-I.....   | 45 |
| 8.       | <u>DISCUSIÓN</u> .....  | 45 |
| 9.       | <u>CONCLUSIONES</u> .....   | 51 |
| 10.      | <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....   | 52 |

## LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Página

|  |    |
|--|----|
| Cuadro I. Suplementos energéticos utilizados tradicionalmente en el Uruguay y sus principales características. ....  | 5  |
| Cuadro II. Composición de los alimentos ofrecidos en el parto al grupo control. ....   | 22 |
| Cuadro III. Composición de los alimentos ofrecidos en el parto al grupo tratamiento. ....  | 22 |
| Cuadro IV. Características de las dietas parto para los grupos control y tratamiento. ....   | 22 |
| Cuadro V. Composición de los alimentos ofrecidos en el posparto a ambos grupos. ....   | 23 |
| Cuadro VI. Características de las dietas posparto para ambos grupos. ....  | 23 |
| Cuadro VII. Detalle de los análisis para metabolitos y enzimas. ....   | 26 |
| Cuadro VIII. Producción de leche (litros/vaca/día). ....   | 30 |
| Cuadro IX. Porcentaje de proteína en leche. ....   | 32 |
| Cuadro X: Valores promedio de los parámetros sanguíneos desde el día -21 hasta el día del parto (0). ....  | 33 |
| Cuadro XI: Valores promedio de los parámetros sanguíneos desde el día 7 hasta el día 49. ....  | 34 |
| Cuadro XII. Coeficientes de correlación entre los diferentes parámetros estudiados. ....   | 38 |
| Cuadro XIII. Intervalos del parto a la primera ovulación, primer servicio y concepción. ....   | 39 |
| Cuadro XIV: Características de la dinámica folicular. ....   | 43 |
| Cuadro XV. Diámetros máximos iniciales y alcanzados (mm), y niveles de IGF-I (mMol/L) en hembras que ovularon antes de 50 DPP y las que no lo hicieron. .... | 45 |
| Figura 1: Modelo esquemático de un ciclo estral en la vaca. ....   | 11 |
| Figura 2: Esquema de los factores que deben estar presentes para que la vaca ovule en su primer onda folicular. ....   | 14 |
| Figura 3: Consumo de materia seca digestible (MSD) (Kg/vaca/día). ....   | 27 |
| Figura 4: Evolución semanal de la condición corporal. ....   | 29 |
| Figura 5: Porcentaje de grasa en leche. ....   | 31 |
| Figura 6: Niveles de NEFA plasmáticos. ....  | 35 |
| Figura 7: Niveles de urea en plasma. ....  | 37 |
| Figura 8: Porcentaje de animales primíparas y múltiparas que ovulan en distintos rangos de días posparto. ....   | 40 |
| Figura 9: Relación entre la concentración de IGF-I (mMol/L) y el diámetro del folículo dominante (mm) en el grupo control y tratamiento. ....                | 41 |
| Figura 10: Evolución del número de folículos que emergen en vacas y vaquillonas en los diferentes días posparto. ....  | 42 |
| Figura 11: Evolución del número de folículos totales a medida que avanzan los días posparto. ....  | 42 |

|   |    |
|---|----|
| Figura 12: Evolución de la condición corporal en animales que ovulan o no ovulan a los 50 DPP. ....         | 44 |
| Figura 13: Evolución del porcentaje de grasa de leche en animales que ovulan o no ovulan a los 50 DPP. .... | 44 |

## 1. RESUMEN

Para estudiar el efecto de la suplementación energética durante el preparto tardío sobre parámetros reproductivos, productivos y perfiles metabólicos se utilizaron 48 vacas Holando, 24 primíparas y 24 multíparas, con partos de otoño, las cuales fueron distribuidas en 2 grupos: un control y un tratamiento, cada uno con 12 primíparas y 12 multíparas. Al control se le suministró 12 Kg/vaca/día de ensilaje de trigo (base fresca), y al grupo tratado 12 Kg/vaca/día de ensilaje de maíz planta entera (base fresca) y 4 Kg de afrechillo de trigo con 12 g de urea. Ambos grupos se mantuvieron sobre campo natural. Luego del parto todos los animales pasaron a conformar un solo grupo con una misma dieta. El ensayo comprendió las tres semanas previas al parto y las siete posteriores al mismo. Se constató una disminución de la condición corporal (CC) hasta el parto a excepción de las multíparas del grupo tratado que tendieron a mantener CC durante el ensayo. El grupo tratado tuvo un mayor consumo de materia seca durante el preparto, pero esto no afectó su consumo en el posparto. No se detectaron diferencias entre grupos en la producción de leche, pero sí entre categorías (las multíparas presentaron una mayor producción). El porcentaje de grasa en leche aumentó con la suplementación energética preparto. Los niveles de NEFA tuvieron un pico máximo a los 7 días posparto en todos los grupos. Los niveles de BHOB y colesterol mostraron una tendencia ascendente durante el ensayo. Un 50% de primíparas y multíparas suplementadas energéticamente ovularon dentro de los primeros 21 días posparto. Los niveles de IGF-I fueron mayores en animales que presentaron un mayor diámetro folicular a la ecografía así como en los animales del grupo tratado al compararse un mismo diámetro. Se realizaron comparaciones entre animales que ovularon o no dentro de los 50 días posparto, estas revelaron una mayor CC, producción de grasa en leche, mayores concentraciones de IGF-I y diámetros foliculares en aquellos animales que ovularon dentro del período.

Palabras clave: primíparas, multíparas, suplementación energética, diámetro folicular.

## 2. SUMMARY

To study the effect of an energetic supplementation during late prepartum period on reproductive and productive parameters and metabolic profiles, 48 Holstein cows (24 primiparous and 24 multiparous) with autumn calvings were used. They were distributed in two treatments (control and treated), each with 12 multiparous and 12 primiparous. Control group received 12 Kg/cow/day of wheat silage (fresh base), and treated group received 12 Kg/cow/day of corn silage (fresh base) and 4 Kg of wheat bran plus 12 g of urea. Both groups grazed on natural pastures. Experimental period was from 3 weeks prior to calving to 7 weeks postpartum. There was a decrease in body condition score (BCS) during the prepartum period, except for the multiparous in the treated group, that maintained BCS throughout the experimental period. Treated group had a higher dry matter intake (DMI) during the prepartum, but after calving DMI was similar in both groups. There were no treatment differences in milk production, although multiparous produced more than primiparous. Energetic supplementation resulted in a higher fat percentage in the milk. NEFA had peak values at day 7 postpartum (PP) in all groups. BHOB and cholesterol had ascending levels during the experimental period. Fifty



percent of the cows in the treated group ovulated during the first 21 days PP. IGF-I levels were greater in cows that had greater follicular diameter, as well as in treated animals. Comparisons between animals that ovulated or not during the first 50 days PP were made, and cows ovulating in that period had higher BCS, higher milk fat percentage, higher IGF-I concentrations, and greater dominant follicle diameter.

Key words: primiparous, multiparous, energetic supplementation, follicular diameter.

### 3. INTRODUCCIÓN

La selección genética para la producción de leche durante las últimas décadas ha sido asociada a una disminución de la eficiencia reproductiva (Lucy, 2001), siendo ésta un factor importante que afecta los índices económicos del tambo. La función reproductiva durante el posparto está muy relacionada al manejo que se realiza en el período de transición y a la magnitud de los cambios que en él se producen (Bell, 1995; Calsamiglia, 2001; Correa Cardona, 2004).

El periodo de transición es el que transcurre desde tres semanas antes del parto hasta tres o cuatro semanas luego del parto (Oetzel, 1997; Weiss, 1997; Stallings, 1999; Drakley, 1999), siendo un periodo caracterizado por modificaciones dramáticas en el estado endocrino y metabólico de las vacas que las preparan para una nueva situación productiva (Bell, 1995; Calsamiglia, 2001; National Research Council, 2001; Correa Cardona, 2004). En él se define en buena medida el futuro productivo, reproductivo y sanitario del animal. Un deficiente manejo nutricional lleva a un fracaso en el proceso de adaptación, lo que puede comprometer no solo la velocidad con que la vaca llega al máximo de su producción de leche en el posparto temprano sino que además puede afectar negativamente las funciones reproductivas y su salud (Holtenius y col., 2003; Correa Cardona, 2004).

Los requerimientos energéticos para mantenimiento y preñez del ganado lechero aumentan dramáticamente durante el último mes preparto, pero durante este período la ingesta de materia seca (IMS) puede estar reducida (Grummer, 1999a; Ingvarsen y col., 1999). Estas circunstancias son responsables del desarrollo de un balance energético negativo (BEN) que se inicia unas semanas antes del parto (Grummer, 1995) y llega a su nadir 2 semanas después del mismo (Butler y Smith, 1989). Las adaptaciones metabólicas a esta situación incluyen un aumento en la neoglucogénesis hepática a partir de sustratos endógenos, disminución de la utilización de glucosa por los tejidos periféricos, aumento de la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo, y posiblemente, aumento de la movilización de aminoácidos desde el músculo (Bell, 1995). La lipomovilización se manifiesta externamente como una disminución en la condición corporal (cc), por lo tanto ésta puede ser utilizada indirectamente para identificar animales que presenten BEN (Edmonson y col., 1989). Simultáneamente hay cambios en la concentración sanguínea de algunos metabolitos, que pueden ser detectados a través del uso de perfiles metabólicos (Manston y col., 1975). Los niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en sangre comienzan a aumentar en las últimas 2 semanas de gestación, así como el  $\beta$ -hidroxibutirato (BHOB), ambos reflejan el grado de lipólisis y déficit energético (Whitaker y col., 1993; Von Gravert y col., 1986).

El aumento de la densidad energética de la dieta previa al parto estimula el crecimiento de las papilas ruminales, que tienen su tamaño reducido en un 50% a

causa de la dieta fibrosa del período seco, adapta a la población microbiana ruminal a dietas energéticas (celulolítica a aminolítica) (Andersen, 2001), aumenta la absorción de ácidos grasos volátiles (AGV) desde el rumen, lo que lleva a un aumento de la insulina sanguínea y disminución de la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo (Dyk y col., 1995; Grummer, 1995; Minor y col., 1996; Goff y Horst, 1997; Campabadal y Navarro, 1998; Doepel y col., 2002). Por lo tanto la densidad energética de la dieta debería aumentarse previo al parto (Grummer, 1999b). Si bien la suplementación con concentrados en el último período preparto no afecta la CC al parto (Grum y col., 1996) ni se evita su pérdida en la semana previa al parto (Cavestany y col., 2003), tiene un importante efecto en el reinicio de la actividad ovárica. La deficiencia en energía es un problema en vacas en las primeras semanas de lactación, ya que pierden CC y retardan el inicio de la ciclicidad normal posparto (Butler, 2000). Vacas con CC al parto menor de 3 presentan un anestro más prolongado, así como un intervalo al primer servicio más largo que vacas con CC mayor a 3 (Meikle y col., 2004). Esto se debe a que las funciones de mantenimiento o lactación tienen prioridad sobre las funciones reproductivas, por lo tanto pequeños desajustes nutricionales mostrarán antes sus consecuencias sobre la reproducción que sobre la producción de leche (Bach, 2001).

La producción lechera en Uruguay es básicamente pastoril con suplementación estratégica de silo de maíz, heno y concentrados durante el invierno, en cantidades variables de acuerdo a diferentes sistemas de manejo. El manejo reproductivo se basa en esquemas de partos estacionales con períodos de servicios cortos, para aprovechar las épocas de máxima producción de forraje (Durán, 1996). En esta situación, un pronto restablecimiento de la actividad ovárica normal es indispensable para maximizar la eficiencia reproductiva (Thatcher y Wilcox, 1973; Butler y Smith, 1989) lo que implica la ocurrencia de por lo menos una ovulación seguida de un diestro de duración normal (Malven, 1984), para lograr un mayor número de vacas preñadas en el menor tiempo y no afectar el subsiguiente intervalo entre partos.

Por todo lo dicho anteriormente, es en el período de transición de la vaca lechera donde se pueden provocar los mayores impactos tanto reproductivos como productivos, mediante un manejo planificado de la alimentación durante el mismo.

La hipótesis de este trabajo fue que un aumento en la cantidad de energía de la dieta preparto promovería una mejor adaptación endocrina y metabólica al inicio de la lactancia, determinando un aumento en la producción y cambios en la composición de la leche y un reinicio más temprano de la actividad ovárica posparto.

#### Objetivos:

- 1) Estudiar el efecto de dos niveles de suplementación preparto en vacas multíparas y primíparas en transición sobre los índices reproductivos (el reinicio y las características de la ciclicidad ovárica, desarrollo folicular, intervalos parto a primera ovulación).
- 2) Evaluar los cambios ocasionados por la alimentación en la fisiología metabólica del animal durante este período y sus efectos en la producción y fertilidad.

## 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. ALIMENTACION

El reconocimiento de que la reducción en el consumo de materia seca (MS) antes del parto es debida a una restricción del volumen del rumen y el aumento de las concentraciones de estrógenos ( $E_2$ ) (Stockdale y Roche, 2002), así como de los cambios fisiológicos y nutricionales asociados a gestación avanzada, parto y lactogénesis, ha llevado a la necesidad de formular una ración especial para las vacas de preparto, capaz de reducir el riesgo de trastornos metabólicos en el período posparto y mejorar el rendimiento reproductivo y productivo (Campabadal y Navarro, 1998; Andersen, 2001).

La ración preparto debería introducirse 3-4 semanas antes del parto para permitir que la flora ruminal se adapte a la dieta posparto (Goff y Horst, 1997; Van Saun, 1997). Raciones energéticas preparto estimulan el desarrollo de las poblaciones de bacterias que utilizan el ácido láctico y permiten que el propiónico producido estimule el desarrollo de las papilas ruminales (Grummer, 1999a; Butler, 2000). Así se evitan además las consecuencias negativas de la súbita introducción de granos inmediatamente después del parto (Andersen, 2001). También es crucial para minimizar el grado de la reducción de la IMS antes y después del parto (Roche y col., 2000) ya que varios autores confirmaron que raciones más energéticas antes del parto, resultan en un mayor consumo de MS y de energía (Campabadal y Navarro, 1998; Andersen, 2001).

La mayor producción de ácido propiónico podría activar la respuesta insulínica (por ser transformado en glucosa en su pasaje por el hígado) y así se evitaría la excesiva movilización de grasa desde el tejido adiposo, disminuirían las concentraciones circulantes de NEFA y los consiguientes trastornos metabólicos relacionados (Grummer, 1999a; Andersen, 2001). Es importante recordar que el excesivo consumo de energía en el preparto, lleva a un aumento en la deposición de tejido adiposo, lo que esta altamente correlacionado con enfermedades metabólicas como cetosis y síndrome de hígado graso (Grummer y col., 1995).

En producción animal en general y lechería en particular, el nutriente más limitante es la energía, la que es aportada fundamentalmente por los concentrados (Acosta, 2000). Se recomienda una dieta de tipo fibrosa dos a tres semanas previas al parto y el suministro de concentrados con buen nivel energético (Cuadro I). Los concentrados, además, ocupan menos volumen en el tracto digestivo y son generalmente más palatables que los forrajes (Schmidt y Van Vleck, 1974).

**Cuadro I. Suplementos energéticos utilizados tradicionalmente en el Uruguay y sus principales características.**

| CONCENTRADO  | CARACTERÍSTICAS  |
|--|--|
| Afrechillo de Trigo                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Barato</li> <li>- Buena relación energía/proteína</li> <li>- Fuente de fósforo</li> <li>- Uso sin limitación</li> <li>- 5-6 kg/vaca/día</li> </ul>                            |
| Afrechillo de arroz                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- buena relación energía/proteína</li> <li>- alto nivel de fósforo, buena relación P/Ca</li> <li>- limitante: alto contenido de lípidos</li> <li>- 2.5-3 Kg/vaca/día</li> </ul> |
| Afrechillo de arroz desgrasado (deriva del anterior) | <ul style="list-style-type: none"> <li>- características muy similares al A. de trigo</li> <li>- no mas de 2.5-3 Kg/vaca/día</li> </ul>  |
| Grano de maíz  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Energético, palatable</li> <li>- Muy bajo en proteínas y minerales</li> </ul>   |
| Grano de sorgo                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Energético</li> <li>- Bajo en proteínas y minerales</li> <li>- Requiere molienda</li> </ul>   |
| Grano de cebada                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Energético (similar o mayor que el maíz)</li> <li>- Bajo en minerales</li> <li>- Alto riesgo de acidosis</li> </ul>   |
| Grano de trigo                                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Similar al grano de cebada</li> </ul>   |

(Adaptado de Acosta, 2000).

La relación entre la proteína y energía ingerida es muy importante, ya que un aporte adecuado de proteína acompañado de niveles limitantes de energía obligará al animal a metabolizar los excesos de proteína (Bach, 2001). Un buen indicador del estado proteico del animal es la urea en sangre. Cualquier exceso proteico generará amoníaco, ya sea por excesiva producción de amoníaco en el rumen o por excesiva desaminación a nivel hepático (Bach, 2001), proceso que a su vez requiere de energía.

Es probable que una suplementación de energía en el corto plazo este directamente involucrada en el reclutamiento folicular y también en su crecimiento (Boland, 2003). La influencia del nivel de alimentación sobre la reproducción ha sido ampliamente estudiada, estableciéndose su acción en varios puntos del sistema reproductivo (eje hipotálamo-hipófisis-ovario (HHO)) (Butler, 2000; Webb y col., 2004).

La glucosa es un importante mediador entre la nutrición y la reproducción (Diskin y col, 2003). En la vaca en lactación hay una importante demanda de glucosa por la glándula mamaria para la síntesis de lactosa (Bell, 1995). Sus concentraciones sanguíneas son menores en las vacas de alta producción en comparación con las de baja producción. Aumenta dramáticamente al momento del parto y luego cae (Andersen, 2001). El aumento en el nivel de glucosa en plasma está relacionado positivamente con la fertilidad, mientras que altas concentraciones de NEFA están asociadas negativamente con la fertilidad (Boland, 2003).

En conclusión, la alimentación en el período de transición es el factor que más influye sobre los futuros rendimientos productivos y reproductivos de las vacas (Campabadal y Navarro, 1998).

#### 4.1.1. Interacciones Nutrición/Reproducción

La condición corporal es una herramienta sencilla, rápida y económica basada en la observación o palpación de diferentes partes de la anatomía del animal que tiene como objetivo cuantificar su estado de engrasamiento (reservas energéticas) (Wright y col., 1988). Una escala muy utilizada, en vacas lecheras, es la de Edmonson y col. (1989), basada en la observación y evaluación del animal en una escala de 1 a 5. En el momento del parto la CC es de suma importancia, ya que determina el período que permanecerá el animal en anestro, ella afecta de forma significativa el intervalo entre partos (Castillo y col., 1997). Se ha señalado que una CC al parto excesiva (>4.0 puntos) (Butler, 2003) o insuficiente (<2.0 puntos) (Grummer, 1999a) reduce los subsecuentes índices de fertilidad, vacas que llegan al parto con buena condición y la mantienen después del mismo, tienen mejores índices reproductivos (Rutter y Randel, 1984). Britt (1995) indicó que no es la condición corporal del momento sino la magnitud de su pérdida lo que afecta a la función reproductiva, ya que vacas que pierden mas CC (>1.0 punto de CC) durante el primer mes posparto experimentan un mayor intervalo a la primera ovulación que vacas que pierden <1.0 de CC (Beam y Butler, 1999). La pérdida de un punto o más de CC después del parto, reduce significativamente la fertilidad y la tasa de concepción en vacas que tenían buena condición antes del parto (Gaines, 1989; Galina y Arthur, 1989, Butler 2000, 2001).

Los mecanismos que relacionan estado nutricional y reproducción podrían incluir el nivel de grasa corporal, señales metabólicas vía hormonas como la insulina y/o la disponibilidad de substratos energéticos determinada por la CC.

El balance energético es el resultado de la diferencia entre las necesidades energéticas del animal para mantenimiento y gestación o lactación, y la energía consumida en la dieta (Bauman y col., 1989) y el requerimiento de energía de una vaca recién parida, está determinado por el tamaño corporal de la vaca y por su producción de leche (Campabadal y Navarro, 1998). Durante las 2-4 últimas semanas de gestación se produce un aumento sustancial de las necesidades energéticas debido al desarrollo fetal y a las necesidades de síntesis de calostro. Esta situación se acompaña de una disminución en la ingestión de materia seca (fundamentalmente en la última semana de gestación). Estas circunstancias son responsables del desarrollo de un balance energético negativo que inicia unas semanas antes del parto (Grummer, 1995; Goff y Horst, 1997; Grummer, 1999a; Andersen, 2001; Butler, 2003; Pushpakumara y col, 2003; Reist y col., 2003) y puede durar hasta 15 semanas después del mismo (Beever y col., 2001), llegando a su nadir generalmente en la segunda semana posparto (Butler y Smith, 1989).

Para mantener la salud, función reproductiva y la capacidad productora, una hembra debe tener cantidades adecuadas de reservas corporales, particularmente si es una vaca que produce leche (Edmonson y col., 1989). En ellas los requerimientos nutricionales aumentan rápidamente con la producción de leche después del parto, lo que esta en defasaje con el lento aumento en la IMS (Butler y Smith, 1989; Gearhart y col., 1990; Van Saun, 1991), llevando a un BEN (Bell, 1995; Butler, 2000) que como se dijo anteriormente está a su vez relacionado con la CC al parto. En estas condiciones, los mecanismos de regulación homeorrética (acción de distribuir la energía disponible hacia las distintas funciones metabólicas) establecen la prioridad de utilización de nutrientes hacia la producción por encima de la función reproductiva (Bauman y Currie,

1980). En esta etapa la vaca pierde peso dado que moviliza y utiliza sus reservas corporales de grasa para la producción de leche, disminuyendo progresivamente su CC y conduciendo a un retraso en el reinicio de la actividad ovárica posparto (Roberts, 1986; Gallo y col., 1996; Beam y Butler, 1999). Las vacas lecheras de primera lactación pueden presentar un mayor antagonismo entre producción de leche y fertilidad, pues aún no completaron su desarrollo (Ferguson, 1991). Probablemente la movilización de grasa en la preñez tardía está facilitada por una disminución en la disponibilidad de insulina para promover la lipogénesis y oponerse a la lipólisis (Bell, 1995).

El BEN causa los siguientes efectos:

**Metabolismo:**

- mayor producción de hormona de crecimiento (GH)
- disminución en la CC
- menores concentraciones de insulina y glucosa
- Mayores concentraciones de NEFA, BHOB y triacilglicerol

**Reproducción:**

- Disminución de los pulsos de hormona luteinizante (LH)
- Disminución en el diámetro del folículo dominante (FD) con baja producción de estradiol
- Disminución del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) sistémica y posiblemente también en su disponibilidad en el ovario
- Aumento en el intervalo al primer estro (Roche y col., 2000).

Las vacas en BEN liberan NEFAs desde la grasa corporal como una fuente energética (Andersen, 2001) y se producen cuerpos cetónicos (acetona, acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato) en el hígado mientras que se metabolizan los ácidos grasos. Por lo tanto, las concentraciones circulantes de NEFA y BHOB aumentan después del parto, la magnitud de este aumento refleja el grado de movilización grasa. (Wathes y col., 2001).

El tiempo a la primera ovulación posparto es variable entre individuos, y está estrechamente relacionado con el tiempo que tardan en superar el BEN (Butler y Smith, 1989; Canfield y Butler, 1990). Muchos de los metabolitos sanguíneos y hormonas involucradas en la adaptación metabólica tienen el potencial de trasladar la información del status energético (BE) al funcionamiento reproductivo, mediante la interacción con el eje gonadorópico en un nivel central (hipotálamo-hipófisis) o periférico (gónadas) (Butler, 2000), disminuyendo la fertilidad (Beam y Butler, 1999; Webb y col., 1999b; Grummer, 1999a; Wathes y col., 2001; Pushpakumara y col., 2003), lo que se manifiesta como un retraso en el reinicio de la ciclicidad ovárica (Villa-Godoy y col., 1988; Spicer y col., 1990; Staples y col., 1990; Butler, 2000).

El BEN no solo suprime la secreción pulsátil de LH, sino que también reduce la respuesta ovárica a la estimulación de la LH (Butler, 2001), además desencadena mecanismos que inhiben la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de la hormona folículo estimulante (FSH), también interviene retrasando la involución uterina o retardando la actividad ovárica por diferentes vías: alteración de la función luteal, disminución de la población folicular y retraso en el reinicio de las ovulaciones (Ibarra y Latrille, 1999). En este período la IGF-I, glucosa e insulina plasmáticas están disminuidas (Beam y Butler, 1999; Butler, 2001; Pushpakumara y col., 2003). Según Butler (2000), la habilidad de los folículos para producir suficiente estradiol para ovular parece depender de la disponibilidad de insulina e IGF-I séricas y

de un cambio en el perfil del BE. Además una nutrición deficiente afecta la disponibilidad del colesterol en el ovario como precursor de las hormonas esteroideas (Staples y col., 1998).

El número de días a la primera ovulación está positivamente correlacionada con los días al nadir del BEN, hay cierta evidencia (Beam y Butler, 1997) de que los folículos que emergen después del nadir de BEN tienen tasas de crecimiento más rápidas, mejores diámetros y mayor producción de estradiol, y son por lo tanto más factibles de ovular que los que se desarrollan antes del nadir. Es probable que estas diferencias se deban a un aumento de la frecuencia de los pulsos de LH que aumenta una vez que se ha pasado el nadir del BEN (Zurek y col., 1995; Diskin y col., 2003). Además Britt (1992) creó la hipótesis de que los folículos ováricos son afectados perjudicialmente por la exposición a un BEN durante las fases de crecimiento y desarrollo temprano y que la ovulación de folículos afectados llevaría a una menor secreción de progesterona (P4). La habilidad de producir y mantener las concentraciones de P4 óptimas es importante para la fertilidad debido a los efectos de la misma de un ciclo al siguiente (Folman y col., 1990). La P4 en la circulación periférica aumenta durante los primeros 2 o 3 ciclos ovulatorios posparto (Villa-Godoy y col., 1988; Spicer y col., 1990; Staples y col., 1990), el rango del aumento en los niveles de P4 se reduce o es moderado por el BEN en el posparto temprano (Villa-Godoy y col., 1988; Spicer y col., 1990).

Existen algunas alternativas para mejorar el BE en el período de transición como la composición de la dieta, principalmente en el aporte de energía, y el manejo de la alimentación (Ibarra y Latrille, 1999). El retorno a un BE positivo lleva a un incremento en los pulsos de LH, generando el máximo tamaño del folículo dominante y la producción de estradiol folicular (Armstrong y col., 2001; Reksen y col., 2002).

#### 4.2. PRODUCCIÓN DE LECHE

El manejo de la lactación comienza durante la lactancia previa y el período seco, las buenas prácticas durante estos períodos otorgan un equilibrio entre la producción, salud y buenos índices reproductivos (Davidson y col., 1997). Un inicio eficiente de la lactación tiene un efecto importante sobre el pico de la misma (50 – 70 días) y la futura persistencia de la curva de producción de leche, además permite que el animal desarrolle su potencial genético (Campabadal y Navarro, 1998).

La ingesta de materia seca es uno de los factores que mayoritariamente afecta la producción de leche y las variaciones en el peso vivo del ganado en la lactancia temprana. El alimento ingerido afecta más la cantidad que a la composición de la leche.

La glándula mamaria efectúa la síntesis de la mayor parte de los componentes orgánicos de la leche como son la lactosa, materia grasa (triglicéridos), caseínas, beta lactoglobulinas, alfa lactoalbuminas y ácido cítrico. Los otros componentes proceden directamente del circuito sanguíneo (Alais, 1985).

La lactosa es quien determina el volumen de leche producida y su síntesis está íntimamente relacionada a la ingestión de alimentos, ya que la mayor parte de la lactosa proviene de la glucosa y ésta del ácido propiónico y aminoácidos absorbidos en el tracto digestivo (Bauman y Curie, 1980).

Los ácidos grasos y el glicerol, que constituyen los triglicéridos de la materia grasa, proceden en parte del torrente sanguíneo, pero otra cantidad se sintetiza en la mama a partir de moléculas pequeñas, siendo el acetato el precursor más importante de esta

síntesis (Alais, 1985). Alimentos fibrosos aumentan la producción de ácido acético a nivel ruminal, lo que va a ocasionar un aumento del porcentaje de grasa en leche. La producción de grasa en la primera semana de lactancia coincide con la intensa lipomovilización, por lo que la misma puede usarse como un indicador del déficit de energía durante este periodo (de Vries y Veerkamp, 2000). A medida que la lactancia avanza, la producción de grasa disminuye en forma paulatina al igual que la lipomovilización (Cirio y Tebot, 1998)

La tasa de proteína en la leche depende por un lado del nivel de producción y por otro lado de la genética del animal. Las principales proteínas de la leche se sintetizan en la glándula mamaria a partir de un conjunto de aminoácidos libres provenientes del aparato digestivo (Crespi y col., 2005).

#### 4.3. REPRODUCCIÓN

La vaca es un animal poliéstrico continuo, esta actividad cíclica se mantiene excepto durante la preñez, de 3 a 6 semanas luego del parto con altas producciones de leche y en condiciones patológicas (Arthur, 1991).

Los requerimientos de energía para mantener un crecimiento folicular, la ovulación y la preñez temprana son extremadamente bajos (menos de 3 MJ de energía metabolizable (EM) por día) comparado con los requerimientos de mantenimiento y producción (60-250 MJ EM por día en una vaca en lactación). Sin embargo en las vacas lecheras la nutrición inadecuada en el corto plazo, o como una consecuencia de un periodo prolongado de depleción de las reservas corporales durante la lactación temprana, podrían tener efectos deletéreos significativos en el retorno a la actividad ovárica posparto, índice de concepción y fertilidad (Boland, 2003).

Desde que Thatcher y Wilcox (1973) reportaron que la ocurrencia de múltiples periodos estrales (hasta 4) durante los primeros 60 días posparto estaba asociada con un aumento en la tasa de concepción; el temprano reinicio de la actividad ovárica y la presencia de concentraciones de P4 provenientes del cuerpo lúteo (CL) se han considerado benéficas para la fertilidad. Butler (2001) también documentó la asociación positiva entre un temprano comienzo de los ciclos ovulatorios y mejores tasas de concepción a la inseminación; por lo tanto minimizar el intervalo a la primera ovulación provee más tiempo para que se completen más ciclos ováricos antes de la inseminación lo que a su vez lleva a mejores tasas de concepción (Butler y Smith, 1989).

##### 4.3.1. Desarrollo folicular

###### 4.3.1.1. Ondas foliculares

El crecimiento folicular continuo es controlado primariamente por gonadotrofinas y factores producidos localmente, pero factores ambientales como la nutrición pueden influenciar el desarrollo folicular y la calidad del oocito, y por lo tanto la fertilidad (Garnsworthy y Webb, 1999; Webb y col., 1999a, 2003). Un concepto importante que se debe tener claro cuando se habla de la dinámica folicular durante el ciclo estral en el bovino es el de ondas foliculares (Pérez Marín y col., 2004). Sirois y Fortune (1988) definen el desarrollo folicular como una secuencia dinámica de eventos organizados. La misma se realiza en forma de ondas, conformadas por cohortes de folículos que son



seleccionados para crecer a partir de las reservas en reposo, éstos inician el crecimiento bajo el estímulo de la FSH (Hena y Turjillo, 2000; Fortune y col., 2001). El desarrollo folicular desde 1 a 4 mm en las vacas es completamente dependiente de las gonadotropinas, más tarde en su desarrollo hay una transferencia de la dependencia de la FSH a la LH (Webb y col., 2004).

Los folículos pasan por tres etapas o procesos: reclutamiento, selección y dominancia (Driancourt, 1991; Lucy y col., 1992; Diskin y col., 2003) (Figura 1):

- **Reclutamiento:** es la estimulación del crecimiento de un conjunto de folículos (onda folicular). Para que un folículo pueda ser reclutado y continúe su desarrollo, debe haber llegado a la etapa dependiente de gonadotropinas, esto se da a partir de los 4-5 mm de diámetro (Driancourt, 1991; Lucy y col., 1992). En el bovino se reclutan folículos con niveles basales de gonadotropinas, especialmente FSH (Fortune, 1993).
- **Selección:** en esta etapa, del grupo de folículos reclutados se selecciona uno de los más desarrollados para convertirse en dominante (Fortune y col., 1991), mientras que los demás folículos se convierten en subordinados e inician un proceso de atresia (Huanca, 2001).
- **Dominancia:** mecanismo por el cual se produce el crecimiento selectivo del folículo dominante, que al mismo tiempo inhibe el crecimiento de los subordinados, provocando su atresia (Fortune y col., 1991; Lucy y col., 1992; Fortune, 1993). Esta situación se da cuando el folículo dominante llega a los 8.5 mm de diámetro (Ginther y col., 1997, 1998, 1999; Kulick y col., 1999). Para el establecimiento de la dominancia durante el desarrollo folicular, se requiere que ocurra divergencia o desviación, que corresponde al tiempo durante el cual el folículo dominante y el subordinado más desarrollado crecen a una tasa diferente, antes de que el subordinado manifieste atresia (Hena y Turjillo, 2000).

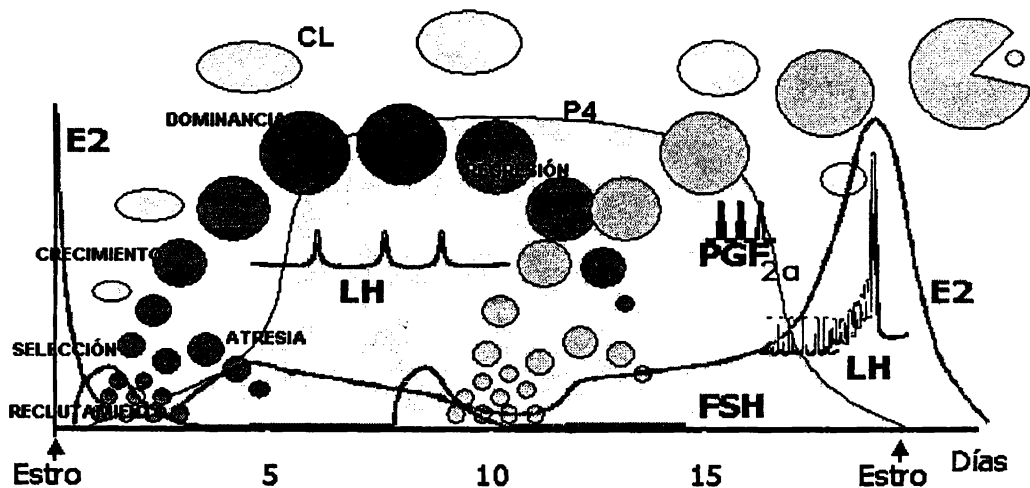


Figura 1: Modelo esquemático de un ciclo estral en la vaca. Se puede ver el desarrollo de ondas foliculares (fases de reclutamiento, selección, dominancia y luego regresión del FD) y su relación con los niveles de las hormonas reproductivas (FSH, LH, P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub> y PgF<sub>2α</sub>) y también la formación y luego regresión del cuerpo lúteo, lo que permite la ovulación del folículo dominante.

Cada aumento de FSH resulta en el surgimiento de una onda, mientras que su disminución da como resultado la selección de un solo FD (Webb y col., 2004). Todos los folículos reclutados aparentemente colaboran en la declinación de la FSH (Gibbons y col., 1997), el folículo de mayor tamaño tiene el rol más importante sobre la disminución de FSH hasta niveles más bajos de los que son requeridos para soportar el crecimiento de los folículos más pequeños de la cohorte (Webb y col., 1999<sup>a</sup>; Ginther y col., 2001). Los factores más importantes producidos por los folículos en crecimiento que actúan sobre esta disminución de FSH son el estradiol y la inhibina (Webb y col., 1999<sup>a</sup>). Esta supresión resulta en una rápida desviación del diámetro folicular del FD (Webb y col., 2004) y en un estímulo atrésico para los folículos subordinados (Ireland y col., 1979; Ireland y Roche, 1982); promueven la expresión de receptores de la hormona luteinizante (LHR) en las células de la granulosa del folículo dominante haciendo que el crecimiento del folículo dominante sea dependiente de la LH hasta alcanzar el tamaño preovulatorio, también ejercen un estímulo inhibitorio sobre la liberación de FSH de la adenohipófisis (Williams y Griffith, 1995; Fortune y col., 2001; Henao y Turjillo, 2000) hasta niveles insuficientes para los folículos pequeños. Además existen factores autócrinos, tales como el factor de crecimiento similar a la insulina-I, que se encuentra en mayor concentración en los folículos de mayor tamaño, estimulando su crecimiento (Mondschein y col., 1989; Echterkamp y col., 1990). Los E<sub>2</sub> actúan sobre el cerebro, que es preparado por la P<sub>4</sub>, para provocar el comportamiento estral, y sobre la unidad hipotálamo-hipófisis para estimular la liberación de la oleada preovulatoria de LH, lo que ocurre alrededor del inicio del estro y dura 8-10 horas, resultando en la ovulación 24-36 horas más tarde (Wright y Malmo, 1992), esto ocurre si hay regresión lútea durante la fase de crecimiento o cuando el folículo dominante alcanza la talla máxima (Kastelic y col., 1990; Kastelic y Ginther, 1991). En ausencia de

regresión lútea el folículo dominante involuciona y comienza una nueva onda folicular (Savio y col., 1990; Fortune y col., 1991; Roche y Boland., 1991). Esto es porque la concentración de P4 permanece elevada durante la permanencia del CL, ésta a su vez, bloquea los pulsos de LH y la ovulación del FD (Zeleznik, 1998; Henao y Turjillo, 2000; Wiltbank y col., 2002).

Hay diferentes patrones de ondas, siendo las más frecuentes aquellas compuestas por 2 ondas (Pierson y Ginther, 1988; Ginther y col., 1989) y 3 ondas foliculares (Ireland y Roche, 1983; Stock y Fortune, 1993). También es posible encontrar ciclos estrales con 1 o 4 ondas foliculares, aunque no es lo más frecuente (Savio y col., 1988; Sirois y Fortune, 1988). Las variaciones en el número de ondas pueden ocurrir en función de varios factores, como la dieta, manejo, producción de leche, período de lactación y posparto inmediato (Ginther y col., 1996). Cada onda tiene una vida media de 7 a 10 días (Diskin y col., 2003).

#### 4.3.1.2. Ondas foliculares en el posparto

Las vacas en el posparto presentan una dinámica ovárica caracterizada por ondas foliculares (cohortes de folículos que crecen), con o sin formación de folículo dominante (Montaño y Ruiz Cortés, 2005). Estudios realizados mediante ultrasonografía en vacas lecheras en el post-parto temprano comprobaron que hay crecimiento y regresión de folículos pequeños (< 4 mm) y medianos (5 a 9 mm) (Wright y Malmo, 1992). El temprano reinicio del desarrollo folicular en bovinos se debe a una elevación de las concentraciones plasmáticas de FSH después del parto (Schallenberger, 1985), luego de la cual todas las vacas experimentaron una onda de desarrollo folicular durante la segunda semana posparto, independientemente de la dieta o BE (Beam y Butler, 1997).

El reinicio de la ciclicidad ovárica posparto está estrechamente relacionado con el BEN en este período; el tiempo al comienzo de la recuperación del BE esta positivamente correlacionado con el tiempo a la primera ovulación (Butler y col., 1981; Beam y Butler, 1997) y además con la tasa de sobrevivencia embrionaria (Dunne y col., 1999).

Una deficiente alimentación al inicio de la lactancia produce una depresión de la síntesis de GnRH, lo que afecta a la liberación de FSH y a la frecuencia pulsátil de LH (Roche y col., 2000), provocando una disminución de la función ovárica que origina un retraso en la ovulación y el consiguiente incremento del período de anestro (Jimeno y col., 1998). El BEN no afecta la población de folículos pequeños o medianos, pero si afecta el tamaño y el destino del folículo dominante (Diskin y col., 2003).

Se distinguen 3 patrones de crecimiento folicular basados en el destino del folículo dominante de la primera onda folicular (Beam y Butler, 1997):

1. ovulación de un folículo dominante estrógeno-activo durante la primera onda folicular posparto
2. desarrollo de una primera onda folicular no ovulatoria, seguida de otras ondas anovulatorias hasta que ocurre la ovulación
3. Desarrollo de un folículo dominante estrógeno-activo en la primera onda, que se vuelve quístico.

La falta de ovulación del primer folículo dominante se atribuye a una insuficiente frecuencia de los pulsos de LH, que resulta en una baja producción androgénica en el folículo (Fortune, 1986) e inadecuada retroalimentación positiva para inducir la oleada

de LH. La inadecuada frecuencia de la secreción pulsátil de LH en el post-parto temprano (10 a 20 días) se debe principalmente a la depleción de las reservas de LH de la hipófisis anterior durante la gestación, y a que los pulsos de GnRH están también ausentes durante este período (Yavas y Walton, 2000). Los factores que afectan la frecuencia de pulsos de LH, tales como el BE y la condición corporal, afectan el momento de la primera ovulación y el período de anestro post-parto (Lucy y col., 1992; Beam y Butler, 1994; Roche y col., 2000; Montiel, 2001). En el ganado lechero el intervalo parto-primer estro es de 30-76 días (Wright y Malmo, 1992), pudiéndose detectar actividad folicular desde el día 9 post-parto (Morales y col., 1983), las primeras ovulaciones ocurren a las 2 a 4 semanas del parto (Morrow y col., 1969; Roberts, 1986; Macmillan y Asher, 1990), detectándose reanudación de la actividad del eje HHO alrededor del día 10, con evidencias de desarrollo y maduración folicular (Kesler y col., 1977; Savio y col., 1988). Por lo tanto el anestro posparto anovulatorio en vacas lecheras no se debe a una falta de desarrollo folicular, sino a una falla del folículo dominante para ovular, estando esta situación acompañada de un menor pico de estradiol plasmático, menor diámetro folicular alcanzado, niveles menores de IGF-I plasmática y un mayor intervalo al nadir del BEN (Beam y Butler, 1997).

El FD se atresia antes de ovular debido a su falla en producir concentraciones suficientes de estradiol como para inducir una adecuada producción de gonadotrofinas (Roche y Diskin, 2000). La inhabilidad del FD en vacas en anestro para producir elevadas concentraciones de estradiol esta relacionada al grado de BEN en el posparto temprano (Beam y Butler, 1997). La regresión de una onda folicular sin ovulación tiene como significado practico el alargamiento del intervalo parto-primer ovulación y parto-concepción.

La primera ovulación posparto refleja la recuperación de las condiciones hormonales de la gestación tardía y el recobro y consumación del desarrollo de folículos preovulatorios (Butler, 2000, 2003)

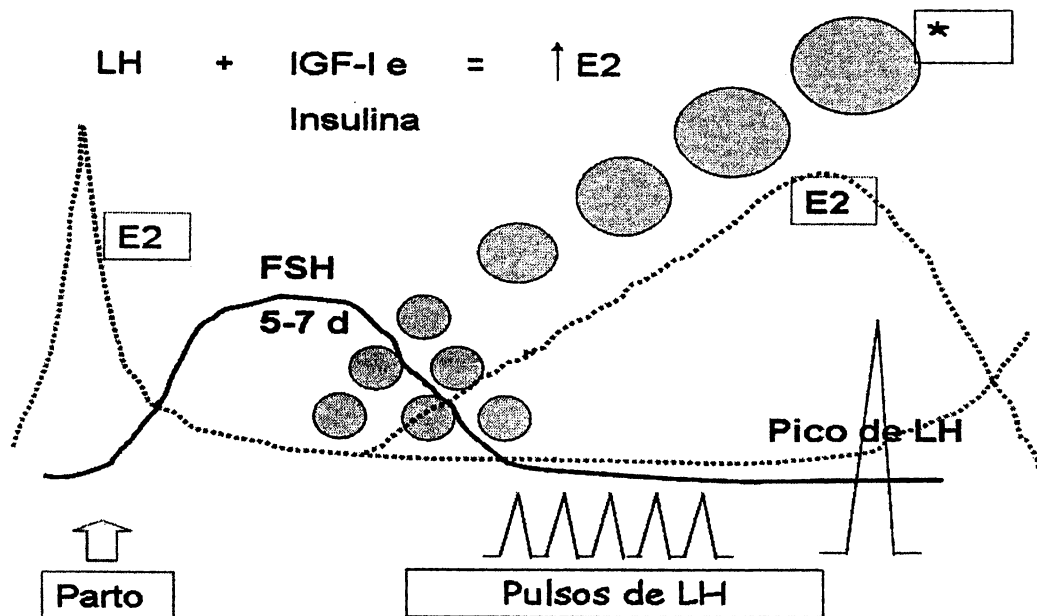


Figura 2: Esquema de los factores que deben estar presentes para que la vaca ovule en su primer onda folicular (cortesía de la Dra. Carolina Viñoles). Cabe señalar que es la CC al parto y posparto inmediato el factor más importante que influye sobre esto.

#### 4.3.2. Hormonas

##### 4.3.2.1. Hormonas reproductivas

Como ya se dijo anteriormente la nutrición actúa en diferentes puntos afectando el funcionamiento reproductivo a través de modificaciones en las hormonas reproductivas.

- A- A nivel hipotalámico, disminuye la síntesis y liberación de GnRH lo que lleva a una falla en la ovulación, ya que esta hormona es la encargada de liberar FSH y LH (Mackey y col., 1999).
- B- Hipófisis, mediante el control de la síntesis y liberación de LH, FSH y GH. La menor frecuencia de los pulsos de LH llevarán a una disminución en la producción de andrógenos por las células tecales (Roche y col., 2000), además una adecuada pulsatilidad de LH parece ser requerida para mantener la capacidad ovulatoria de los folículos más grandes (>9mm de diámetro) (Webb y col., 2004). Aparentemente ni la síntesis ni la secreción de FSH están adversamente afectadas por una deficiencia dietética y la misma no limita la ovulación.
- C- Ovario, regulando el crecimiento folicular y la síntesis de estrógenos. Una nutrición deficiente afecta a la disponibilidad de colesterol como precursor de las hormonas esteroideas (Staples y col., 1998). Los estrógenos aumentan las concentraciones de GH y estimulan la secreción de IGF-I (Richards y col., 1991)

La inhabilidad de los folículos para responder al aumento de LH puede deberse a una falta de receptores de LH en las células de la granulosa, los mismos son dependientes de las acciones combinadas de la FSH y el 17-β estradiol (Webb y col.,

1999b). El 17- $\beta$  estradiol folicular es a su vez dependiente de la producción de andrógenos por las células de la teca estimuladas por la LH, que es realizado por la insulina e IGF-I. Por lo tanto bajas concentraciones plasmáticas de insulina pueden reducir la producción de andrógenos y estradiol y así comprometer la capacidad de los folículos para adquirir receptores de LH (Stewart y col., 1995).

#### 4.3.2.2. Hormonas metabólicas

Las vías fisiológicas mediante las cuales el eje HHO es informado a cerca del status energético del animal son muy complejas, y también involucran metabolitos y hormonas metabólicas, tales como la hormona de crecimiento, IGF-I, insulina, hormonas tiroideas y leptina (Meikle y col., 2004), éstas afectan la dinámica folicular y la calidad del oocito (Webb y col., 2004).

Las alteraciones en las hormonas metabólicas inducidas por un cambio en la alimentación pueden estar correlacionadas con cambios en el funcionamiento hepático. Los esteroides ováricos también pueden modular las acciones y producción de estas hormonas metabólicas resultando en feedback positivos y negativos. Los cambios inducidos por la alimentación en las concentraciones de estas hormonas metabólicas tienen el potencial de interactuar directamente con las gonadotrofinas para regular el crecimiento folicular y la esteroidogénesis (Webb y col., 2004).

Los animales en BEN presentan un perfil hormonal que se caracteriza por niveles sanguíneos elevados de GH y NEFA, y bajas concentraciones de IGF-I, insulina y glucosa. (Canfield y Butler, 1991; Whitaker y col., 1993; Bach, 2001). Todos estos colectivamente limitan la producción de estrógenos por el FD (Butler, 2003), además afectan negativamente el desarrollo y el diámetro del FD (Roche y col., 2000). La GH e IGF-I son hormonas importantes que están directamente involucradas en el control nutricional de la reproducción, porque sus concentraciones varían en respuesta al status nutricional (en BEN la GH aumenta y la IGF-I disminuye) (Lucy, 2000).

#### A- Hormona del crecimiento (GH)

La GH es producida a nivel hipofisario, sus efectos en la reproducción son a través de su efecto regulador sobre la síntesis y secreción de IGF-I a nivel hepático (Lucy y col., 1999; Gong, 2002; Lucy, 2003). Actúa mediante el aumento de la concentración periférica de la insulina y/o IGF-I para alterar el desarrollo folicular (Gong y col., 1997; Webb y col., 2004). La restricción dietética ha demostrado que aumenta la concentración de GH en el ganado (Armstrong y Benoit, 1996). Sus concentraciones en sangre son mas elevadas en vacas lecheras con alto merito genético para la producción de leche, que además tienen retrasos en la primera ovulación posparto, en comparación con vacas de menor merito (Webb y col., 1999b).

## B- Insulina

Durante la transición de la preñez a la lactancia la concentración de insulina plasmática disminuye debido al BEN (Mackey y col., 2000) y la respuesta de tejido esquelético y adiposo a ella esta reducida (Debrass y col., 1989; Bell y Bauman, 1997). Ella también sirve como señal metabólica para la liberación de LH por la hipófisis anterior, y juega un rol importante en la respuesta ovárica a las gonadotropinas (Diskin y col., 2003) mediante la regulación de los receptores de LH (Butler, 2003).

La insulina es una hormona que, además de mantener la glucemia, participa en: 1) la estimulación de la secreción de FSH (Adashi y col., 1981), 2) la secreción pulsátil de LH (Bach, 2001) y 3) la secreción de P4 por parte del cuerpo lúteo (Ladenheim y col., 1984). Por lo tanto, niveles bajos de insulina en sangre pueden resultar en bajas concentraciones de P4. La concentración baja de P4 durante el principio de lactación reduce la fertilidad (Boland, 2003) y es una de las causas más comunes del fallo reproductivo en el vacuno lechero. El flujo sanguíneo hepático y el clearance metabólico de la P4 esta positivamente correlacionado con un aumento en el consumo de energía en las vacas lecheras. La insulina aumenta la concentración plasmática de IGF-I en las vacas lecheras (McGuire y col., 1995) e interactúa con la GH en el control de la secreción hepática (Molento y col., 2002).

Hay evidencia que afirma la asociación que existe entre la baja fertilidad de la vaca lechera en el posparto con el BEN y bajas concentraciones de IGF-I e insulina (Beam y Butler, 1999, Butler, 2000).

## C- Leptina

La leptina, secretada por el tejido adiposo, actúa como señal de las reservas metabólicas sobre regiones del hipotálamo que controlan el comportamiento alimenticio, funciones metabólicas y endocrinas para mantener la homeostasis energética (Keisler y col., 1999; Chilliard y col., 2001; Spicer, 2001). Una de las funciones de la leptina es mantener un adecuado balance energético, y por ello si su secreción aumenta (debido a un exceso de energía o excesivo contenido graso en el animal) disminuye la ingestión (Bach, 2001). La disminución de la secreción de GnRH durante estadios de balance energético negativo está, en parte, inducida por la leptina.

## D- Factores de crecimiento insulinoide

Es un complejo proteico sintetizado principalmente en el hígado, conformado por dos ligandos IGF-I e IGF-II, su receptor y proteínas transportadoras (Humbel, 1990). Las IGFs influyen fuertemente la función reproductiva (Zulu y col., 2002). Siendo la IGF-I crítica para el desarrollo folicular (Beam y Butler, 1999). Una deficiencia en la secreción de IGF-I o de sus receptores resulta en graves consecuencias reproductivas, que incluyen un desarrollo lento y anormal de los folículos, que nunca llegan a ovular (Bach, 2001) y extensos intervalos parto-ovulación (Diskin y col., 2003; Pushpakumara y col., 2003).

Durante el posparto en el ganado, la IGF-I muestra cambios en sus concentraciones circulantes, estando la magnitud de esos cambios directamente relacionados con el estatus energético (Beam y Butler, 1999; Zulu y col., 2002),

representado por la CC, consumo de alimento y BE (Montaño y Ruiz Cortés, 2005). Algunos estudios revelan una relación inversa entre producción de leche y secreción de IGF-1 (Falconer y col., 1980; Spicer y col., 1990). Las concentraciones circulantes de IGF-I en el periparto son buenos indicadores de la capacidad que tienen las vacas con restricción energética para reiniciar la ciclicidad después del parto (Roberts y col., 1997). Condiciones fisiológicas severas como BEN, subnutrición, parto, enfermedades y envejecimiento; están asociadas con disminución en la síntesis y liberación de IGF-I por el hígado, niveles bajos de esta hormona en sangre influyen la función ovárica mediante mecanismos endócrinos (Spicer y col., 1990, 1991; Lucy, 2000). El descenso de la producción de IGF-I por parte del hígado durante el posparto es debido, en parte, al descenso del número de receptores hepáticos para la GH, de modo que aunque su concentración aumente en plasma no puede inducir un aumento de la producción de IGF-I (Lucy, 2000), a su vez la IGF-I es un potente inhibidor de la producción de GH (Gluckman y col., 1987).

La IGF-I influye la función reproductiva promoviendo la síntesis de receptores de FSH y de LH seguido por la esteroidogénesis y la producción de inhibina en las células foliculares, y es requerida para la formación y funcionamiento normal del CL (Spicer y Stewart, 1996; Stewart y col., 1996; Zulu y col., 2002; Montaño y Ruiz Cortés, 2005). Este ligando (IGF-I) tiene efectos directos en el hipotálamo, hipófisis y ovario, pudiendo ser potencial regulador endócrino del retorno de la ciclicidad en las vacas posparto (Baskin y col., 1999). En el hipotálamo, modula la respuesta de LH a la GnRH durante la fase estral. Al elevarse la IGF-I durante la fase estral puede contribuir al aumento de la secreción de LH preovulatoria a nivel hipofisario (Hashizume y col., 2002). En el ovario, estimula la proliferación de células de la granulosa, promueve la esteroidogénesis, foliculogénesis, ovulación, fertilización, implantación y el desarrollo embrionario (Montaño y Ruiz Cortés, 2005).

La IGF-I y las gonadotropinas se sinergizan estimulando la esteroidogénesis ovárica y actuando sobre el crecimiento y diferenciación del folículo (Lucy, 2000). Por lo tanto el crecimiento folicular y la esteroidogénesis en el posparto deberían correlacionarse con una mayor secreción de LH, así como también con mayores concentraciones sanguíneas de IGF-I (Lucy, 2000). Las vacas que ovulan durante los primeros 35 días posparto presentan mayores concentraciones de IGF-I, así como también de glucosa e insulina y menores concentraciones de NEFA y BHOB (Huszenicza y col., 2001).

La IGF-I y la leptina potencializan la acción de las gonadotropinas en la fase folicular (principalmente FSH) para la producción de E<sub>2</sub> inicial por las células de la granulosa del folículo, promueven la producción de inhibina y permiten a los folículos alcanzar características ovulatorias. A nivel central, ejercen su efecto en el hipotálamo como vínculos señalizadores del BE y condición corporal, reflejando su acción en la liberación de GnRH y LH (Montaño y Ruiz Cortés, 2005).



## 5. DETERMINACIONES METODOLÓGICAS

### 5.1. CONSUMO

El consumo se determina por medio de marcadores indigestibles que se administran al animal. En general, éstos se usan más comúnmente en la determinación de cantidad de heces excretadas y a través de éstas se estima el consumo (Owens y Hanson, 1992). Una sustancia utilizada como marcador es el cromo (Sandoval-Castro y col., 2001) que sirve para calcular tasa de dilución/flujo, volumen, digestibilidad, total de heces y consumo. Pero presenta un problema que es la variación que posee en su excreción en heces, lo que se puede subsanar en parte con muestreos estratégicos y seguidos en el tiempo. Es necesario un periodo de 5 a 7 días de dosificación con el marcador previo al muestreo de heces para lograr un equilibrio en la extracción.

El muestreo de heces debe hacerse por un periodo de tiempo no menor a 3 días de manera de poder obtener un promedio de concentración del marcador en heces de aceptable precisión.

### 5.2. PERFILES METABÓLICOS

Rowland (1980) define a los perfiles metabólicos como un grupo o combinación de elementos sanguíneos analizados todos juntos en un test. La elección de los constituyentes a estudiar depende de factores relevantes al problema a investigar, el costo, el tipo de análisis, estabilidad de la muestra en relación con el tiempo de transporte entre el predio y el laboratorio. Estos han contribuido a entender las relaciones entre los constituyentes sanguíneos y varios fenómenos fisiológicos (Ingraham y Kappel, 1988). El valor del uso de los perfiles metabólicos depende del cuidado con el que se colecten las muestras de sangre, de la selección de las vacas y esto incluye la colección y el uso de información pasada y presente del establecimiento, de los sistemas de alimentación, de los alimentos y además, y no menos importante, del estado físico de los animales (Whitaker, 2003).

Los perfiles metabólicos son usados generalmente para:

- Predecir la ocurrencia de enfermedades metabólicas
- El diagnóstico o confirmación de enfermedades metabólicas
- Monitoreo del estado nutricional.

Los metabolitos usados para medir el grado de balance energético son el BHOB y los NEFA (Whitaker, 2003).

#### 5.2.1. BHOB

En vacas en lactación el nivel óptimo de BHOB en sangre es por debajo de 1.0 mMol/L. El BHOB refleja la movilización grasa y los altos valores están asociados con un grado severo de balance energético negativo. Valores por debajo de 0.6 mMol/L representan una situación donde las vacas tiene una leve pérdida de condición corporal, entre 0.6 y 1.0 es una aceptable tasa de movilización, dependiendo de la etapa de la lactación. Cerca de 1.0 mMol/L la salud y la productividad se ve afectada y en vacas con cetosis los valores probables son cercanos a 2.0mMol/L (Whitaker, 2003).

### 5.2.2. Colesterol

Es un alcohol esteroideo insaturado. Constituye un componente estructural importante de las membranas de las células y un precursor en la biosíntesis de los ácidos biliares y las hormonas esteroideas. Dos tercios del colesterol plasmático está esterificado, el tercio restante está libre. Del 60% al 70% va vehiculizado por lipoproteínas de baja densidad (LDL), del 20% al 35% por proteínas de alta densidad (HDL) y del 5% al 12% por lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

La colesterolemia es de 62.1-192.5 mg/dl (Kaneko, 1980).

### 5.2.3. NEFA

Los niveles óptimos de vacas en lactación es por debajo de 0.7 mMol/L y para vacas secas dentro de las últimas 4 semanas de preñez su valor es por debajo de 0.4; los NEFA son una medida más directa de la movilización grasa que el BHOB (Whitaker, 2003).

### 5.2.4. Urea

Para una función satisfactoria ruminal los niveles de urea en sangre deben estar cercanos a 1.7 mMol/L (Whitaker, 2003). Los niveles sanguíneos de urea reflejan una tasa de arribo en el rumen de proteína degradable efectiva y el balance con la energía fermentable metabolizable (Whitaker, 2003). Bajos valores son muy importantes para la práctica desde el punto de vista nutricional y es importante para distinguir entre bajos valores por poca cantidad de alimento ofrecido y que la dieta no cubre los requerimientos básicos (Whitaker, 1983).

### 5.2.5. Enzimas

#### 5.2.5.1. Aspartato amino transferasa (AST)

La aspartato amino transferasa (AST) cataliza la transaminación de aspartato al alfa cetoglutarato. Está presente en la mitocondria y el citosol de la mayoría de las células y en el plasma, refleja daño celular hepático o muscular ya que no es específica de un determinado órgano (Kaneko, 1980). La patología involucra al músculo esquelético y cardíaco además del parénquima hepático. La mayoría de los tejidos contiene elevadas concentraciones de esta enzima, la búsqueda de valores elevados no significa necesariamente daño hepático por necrosis, sin embargo es utilizada en rumiantes frecuentemente para pronosticar o evaluar el grado de necrosis en el hígado (Kaneko, 1980). Su nivel en el suero normalmente es de hasta 90 UI (Majó, 2004).

La aspartato amino transferasa ha sido usada como un indicador del aumento de la actividad glucogénica en varias situaciones catabólicas, como en restricción alimentaria, administración de glucocorticoides, etc. un aumento de la AST es altamente correlacionado con una disminución de la respuesta de la pituitaria a la estimulación por parte de la hormona liberadora de LH durante el postparto (Nolan y col., 1988)

### 5.2.5.2. Gama glutamil transferasa (GGT)

El rango normal de GGT es de 5 y 20 UI/L (Uriarte 2005, comunicación personal). El riñón y en menor grado el hígado y páncreas son ricos en GGT. Estudios preliminares sugieren que la actividad de esta enzima no necesariamente indica daño celular hepático temprano sino más bien puede ser utilizada como elección en la medición del daño intra y extra hepático de colestasis (Kaneko, 1980). Esta enzima está ausente del tejido esquelético, animales con desordenes a nivel óseo nunca exhiben niveles normales, la GGT es originaria del tejido hepático biliar y no es producida en enfermedades hepáticas.

## 5.3. REPRODUCCIÓN

### 5.3.1. Determinación de la ovulación

La ultrasonografía transrectal ha aumentado el conocimiento y entendimiento de la selección folicular y las asociaciones temporales entre los cambios en la dinámica folicular y las concentraciones de hormonas periféricas (Adams, 1999; Ireland y col., 2000; Ginther y col., 2001).

Se realizaron 3 ecografías semanales por vaca para determinar el inicio de la actividad ovárica y la primera ovulación, mediante la observación y seguimiento del folículo dominante y la desaparición del mismo, con la posterior aparición de un cuerpo lúteo.

### 5.3.2. Estudio de las características de las ondas foliculares posparto

Se estudió mediante ultrasonografía transrectal con una frecuencia de tres por semana las características del reinicio de las ondas foliculares en el posparto, las características de los folículos y su comportamiento en el tiempo

### 5.3.3. IGF-I

Conjuntamente con las ecografías se extrajeron muestras de sangre de la vena yugular en tubos con heparina para evaluar los niveles de IGF-1 circulantes. Las muestras se procesaron en el laboratorio de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Dublin, Irlanda. Para el estudio de resultados se tomaron en cuenta las muestras extraídas que coincidieron con el máximo diámetro folicular registrado a la ecografía.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN

El ensayo se realizó entre los meses de febrero y junio de 2004 en la Unidad de Lechería del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental "La Estanzuela", Ruta 50 Km 11, del Departamento de Colonia, en la República Oriental del Uruguay.

### 6.2. ANIMALES Y TRATAMIENTOS

Se utilizaron 48 hembras de raza Holando, seleccionadas por CC y con fecha probable de parto en otoño (período Marzo a Mayo 2004) siendo 24 multíparas y 24 primíparas.

A los 21 días previos al parto previsto, los animales ingresaron a los tratamientos, donde se identificaron mediante collares con números relativos según fecha probable de parto y se asignaron aleatoriamente a cada grupo, los mismos se armaron de acuerdo a los siguientes criterios:

- Control (C), formado por 12 primíparas y 12 multíparas.
- Tratado (T), formado por 12 primíparas y 12 multíparas.

Se ubicaron en potreros que tenían una superficie de 2 há cada uno, con un tapiz de campo natural mejorado. La asignación del forraje fue realizada diariamente mediante el uso de franjas determinadas en base al número de animales, la disponibilidad de forraje y el rechazo diario de la pastura. Cada potrero tenía un bebedero y 3 comederos colectivos de madera en donde eran suministrados los respectivos ensilajes correspondientes a control y tratamiento. Ambos grupos recibieron diariamente en horario matutino el suplemento asignado.

### 6.3. ALIMENTACIÓN Y MANEJO PREPARTO

La alimentación del grupo suplementado energéticamente (T) consistió, además del pastoreo en el campo natural mejorado (CNM), de 12 Kg de ensilaje de maíz planta entera (base fresca) y 4 Kg de afrechillo de trigo al cual se le agregaron 12 g de urea más 14 g de cromo por día por animal. El grupo control (C) pastoreó en CNM y recibió 12 Kg. (base fresca) de silo de trigo. Durante este período el grupo T recibió afrechillo de trigo en comederos individuales en la sala de ordeño dos veces por día, a las 7:30 hs. y 14:30 hs., hasta el acostumbramiento de los animales al nuevo manejo, luego se pasó a racionar a los mismos una vez por día a las 7:30 hs. El consumo de concentrado se controló individualmente determinando la cantidad ofrecida y rechazada. Al grupo T se le suministró 14 g de sesquióxido de cromo como marcador indigestible mezclado con el afrechillo de trigo y 12 g de urea. El grupo C fue dosificado con 14 grs. del mismo marcador dispuesto en cápsulas de gelatina, que fueron administradas por vía oral con un sistema lanza bolo elaborado a tal fin, utilizando una manguera externa de 1.0 m por 3.5 cm de diámetro introducida hasta el esófago, dentro de la cual se introducía otra manguera de 1.4 m por 2 cm de diámetro, la cual expulsaba la cápsula de gelatina.

En los cuadros II y III se describen las dietas preparto y posparto.

Cuadro II. Composición de los alimentos ofrecidos en el preparto al grupo control, expresados como % de Materia seca<sup>a</sup>.

| TIPO          | DMO <sup>1</sup> | PC <sup>2</sup> | FDN <sup>3</sup> | FDA <sup>4</sup> | ENL/MS <sup>5</sup> | %MS <sup>6</sup> |
|---------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|---------------------|------------------|
| Pastura       | 54.68            | 10.44           | 61.82            | 40.94            | 1.35                | 29.4             |
| Silo de trigo | 57.75            | 9.01            | 59.41            | 42.36            | 1.29                | 43.0             |

<sup>a</sup>: Análisis realizado en el Laboratorio de Nutrición de INIA La Estanzuela

<sup>1</sup>: Digestibilidad materia orgánica

<sup>2</sup>: Proteína cruda

<sup>3</sup>: Fibra detergente neutra

<sup>4</sup>: Fibra detergente ácida

<sup>5</sup>: Mcal/Kg

<sup>6</sup>: Porcentaje de materia seca

Cuadro III. Composición de los alimentos ofrecidos en el preparto al grupo tratamiento, expresados como % de Materia seca<sup>a</sup>.

| TIPO                     | DMO <sup>1</sup> | PC <sup>2</sup> | FDN <sup>3</sup> | FDA <sup>4</sup> | ENL/MS <sup>5</sup> | %MS <sup>6</sup> |
|--------------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|---------------------|------------------|
| Pastura                  | 56.32            | 10.50           | 61.54            | 40.41            | 1.36                | 28.3             |
| Silo de maíz             | 67.00            | 6.03            | 52.31            | 30.98            | 1.46                | 39               |
| Concentrado <sup>7</sup> | 70.64            | 16.40           | 44.22            | 14.47            | 1.69                | 87.3             |

<sup>a</sup>: Análisis realizado en el Laboratorio de Nutrición de INIA La Estanzuela

<sup>1</sup>: Digestibilidad materia orgánica

<sup>2</sup>: Proteína cruda

<sup>3</sup>: Fibra detergente neutra

<sup>4</sup>: Fibra detergente ácida

<sup>5</sup>: Mcal/Kg

<sup>6</sup>: Porcentaje de materia seca

<sup>7</sup>: Afrechillo de trigo más 12 gramos de urea

En el cuadro IV se describe la composición de la dieta recibida durante el preparto como valores promedio entre pastura, concentrado y silo para el grupo tratado y pastura y silo para el grupo control.

Cuadro IV. Características de las dietas preparto para los grupos control y tratamiento.

| Valor (%)                             | Control | Tratamiento |
|---------------------------------------|---------|-------------|
| Materia seca                          | 32.1    | 34.0        |
| Proteína cruda                        | 10.1    | 10.6        |
| Fibra detergente neutra               | 61.2    | 56.8        |
| Fibra detergente ácida                | 41.3    | 34.3        |
| Digestibilidad de la materia orgánica | 55.5    | 60.8        |
| Energía neta de lactación (Mcal)      | 1.34    | 1.43        |

## 6.4. ALIMENTACIÓN Y MANEJO POSPARTO

Después del parto los animales se integraron en un lote único manejado en forma independiente del rodeo general del tambo y la alimentación fue la misma para todos, independientemente del tratamiento preparto al que habían sido sometidos. Dicha alimentación consistió en pastoreo restringido de praderas de leguminosas (*Medicago Sativa*, *Lotus Corniculatus* y *Trifolium Repens*) y gramíneas (*Festuca Arrundinacea* y *Dactyles Glomerata*) mediante asignación de franjas diarias, se les ofreció en promedio 10 Kg de MS/vaca/día, luego de los ordeñes de la mañana y la tarde. Se les administró silo de maíz planta entera base fresca (12 Kg/vaca/día) en comederos en una sola comida posterior al ordeño de la mañana. También se les suministró 8 Kg/vaca/día de un concentrado comercial (18% PC y 1.7 ENL), el que se dividió en los dos ordeñes aumentando progresivamente durante la primer semana posparto de cada animal. Los animales luego del ordeño eran conducidos a las instalaciones de manejo donde se les administro 14 g de sesquióxido de cromo en forma de bolo.

Cuadro V. Composición de los alimentos ofrecidos en el posparto a ambos grupos, expresados como % de Materia seca<sup>a</sup>.

| TIPO                     | DMO <sup>1</sup> | PC <sup>2</sup> | FDN <sup>3</sup> | FDA <sup>4</sup> | ENL/MS <sup>5</sup> |
|--------------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|---------------------|
| Pastura                  | 67.62            | 21.05           | 47.75            | 34.01            | 1.45                |
| Silo de maíz             | 67.00            | 6.03            | 52.31            | 30.98            | 1.46                |
| Concentrado <sup>6</sup> | 71.75            | 20.61           | 34.52            | 13.82            | 1.70                |

<sup>a</sup>: Análisis realizado en el Laboratorio de Nutrición de INIA La Estanzuela

<sup>1</sup>: Digestibilidad materia orgánica

<sup>2</sup>: Proteína cruda

<sup>3</sup>: Fibra detergente neutra

<sup>4</sup>: Fibra detergente ácida

<sup>5</sup>: Mcal/Kg.

<sup>6</sup>: Concentrado comercial

Cuadro VI. Características de las dietas posparto para ambos grupos.

| Parámetro (%)                         | Valor |
|---------------------------------------|-------|
| Materia seca                          | 34.9  |
| Proteína cruda                        | 17.6  |
| Fibra detergente neutra               | 44.4  |
| Fibra detergente ácida                | 26.8  |
| Digestibilidad de la materia orgánica | 68.8  |
| Energía neta de lactación (Mcal)      | 1.53  |

## 6.5. DETERMINACIONES

### 6.5.1. Consumo

Para la estimación del consumo, se consideró la pastura y el ensilado globalmente, como forraje, ya que no se pudo medir el consumo individual de ensilaje. El consumo individual de forraje se determinó mediante el uso de cromo como marcador indigestible (Owens y Hanson, 1992). El porcentaje de cromo en heces fue determinado por

espectrofotómetro de absorción atómica PerkinElmer 3300 (PerkinElmer, Wellesley, MA, 02481, USA) en el Laboratorio de Suelos de INIA La Estanzuela. Se dosificaron diariamente los animales con 14 g de sesquióxido de cromo utilizando cápsulas de gelatina impulsado mediante un sistema de mangueras de fabricación propia desde el día -21 hasta el +24.

Se colectaron heces durante 4 días consecutivos a partir de los días -14, -7, 0, +7, +14, +21. Esto se realizó previo al ordeño tomando muestras directamente del recto de los animales. Las muestras se secaron en estufa a 100 °C, se molieron y se realizó un pool con 150 g con las muestras de los cuatro días consecutivos que fueron enviadas al laboratorio. Se guardaron muestras individuales en caso de que al ser procesadas hubiera que repetir el análisis.

#### 6.5.1.1. Técnica de determinación de consumo por cromo:

Como el marcador no es absorbido, es posible calcular el consumo a través de la dosificación del marcador en las heces, según los siguientes cálculos:

$$\text{Heces totales (Kg MS/día)} = \text{consumo de cromo (g/día)} / \text{concentración de cromo en heces (g/Kg MS)}$$

A partir de la fórmula: producción de heces = consumo x (1-digestibilidad), y usando el consumo determinado de concentrado y conociendo el contenido de materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica (MO) in vitro de este alimento (Tilley y Terry, 1963) se determina la producción de MO de heces "atribuible" al mismo. Por diferencia con el total, se determina la producción de MO de heces "atribuible" al forraje (pastura y ensilaje), y se obtiene el valor de consumo de forraje con la siguiente fórmula:

$$\text{Consumo de forraje (Kg MS/día)} = [\text{Kg MO heces "atribuibles" al forraje} / (1 - \% \text{ digestibilidad de la MO})] / (\% \text{ MO del forraje} / 100)$$

El contenido de MO de los alimentos y heces se determinó como: 100 - %cenizas, las que se determinaron en mufla a 600 °C durante 6 horas. El contenido promedio de cenizas para la pastura, ensilaje de trigo y afrechillo, utilizados durante el parto, fue de 12.2%, 10.7% y 6.2% respectivamente; y para la pastura, ensilaje de maíz y concentrado administrados en el posparto, 11.8%, 7.0% y 8.0% respectivamente, mientras que el contenido de cenizas promedio de las heces fue de 10.0%.

Cabe señalar que hubo un error en el diseño del experimento en cuanto a la administración del ensilaje ya que no se realizó de forma individual, por este motivo el cálculo anterior abarca al ensilaje y la pastura juntas (forraje).

#### 6.5.2. Pastura

Se midió disponibilidad y rechazo de la pastura a la entrada y a la salida de los animales de la franja por corte de tijera al ras, utilizando cuadros de metal de 20 por 50 cm. Se determinó el peso fresco de las muestras de forraje previo a su secado en

estufa a 60 °C durante 72 hrs. Una vez secas se registró el peso de las muestras que fueron molidas previo a su envío al Laboratorio de Nutrición del INIA de La Estanzuela, donde se realizó el análisis químico de la pastura obteniendo datos de Materia Seca (MS), Fibra Detergente Ácida (FDA), Fibra Detergente Neutra (FDN), Proteína cruda (PC) y Digestibilidad de Materia orgánica (DMO) (Cuadros II y III).

#### 6.5.3. Concentrado y ensilaje

Se tomaron muestras del concentrado posparto y del ensilaje cada 15 días durante el período experimental y se procesaron siguiendo la misma metodología de las descriptas para las muestras de forraje.

#### 6.5.4. Condición corporal

Se evaluó semanalmente, utilizando la escala de 1 a 5 de Edmonson y col. (1989), desde los 21 días previos al parto hasta los 50 días posteriores, por el mismo observador.

#### 6.5.5. Determinación del peso corporal

Para determinar el peso corporal se utilizó una cinta que se coloca por detrás de la paleta del animal alrededor del perímetro torácico, a la que se le aplicó una presión constante de 5 Kg.

#### 6.5.6. Metabolitos y hormonas

Se extrajeron muestras de sangre por punción de la vena yugular para la determinación de los perfiles metabólicos. Los tubos contenían heparina como anticoagulante para el análisis de los metabolitos. Luego de colectadas las mismas se centrifugaron a 3000 rpm por 10 min y el plasma se colocó en crioviales identificados (por número de vaca y fecha de colección) que se almacenaron a -20 °C. Las muestras se obtuvieron semanalmente a partir del día 21 preparto hasta el día 35 posparto, antes de la administración del suplemento durante el preparto y antes del ordeño de la tarde en el posparto.

Los metabolitos y la glucosa se determinaron en el DILAVE, Miguel C Rubino, Pando, Uruguay. La bioquímica sanguínea fue analizada por las siguientes metodologías calorimétricas (Cuadro VII).



**Cuadro VII. Detalle de los análisis para metabolitos y enzimas.**

| <b>Metabolito</b>                               | <b>Método</b>   | <b>Kit</b>                 |
|---|---|----------------------------|
| Urea  | urease UV   | Human Lab<br>Lote: 10521   |
| AspartatoAminoTransferasa<br>(AST)              | IFCC optimizado (37°C)                                  | Wiener Lab<br>Lote: 503595 |
| Colesterol                                      | CHOD-PAP  | Lote: 169                  |
| Ácidos Grasos No Esterificados<br>(AGNE o NEFA) | ACS-ACOD (acil-CoA<br>sintetasa y acil-CoA<br>oxidasa)  | Wako<br>Lote: 994-75409    |
| Betahidroxibutirato (BHOB)                      | 3-HBDH-NAD+3-<br>hidroxibutirato<br>deshidrogenasa-NAD+ | Randox<br>Lote:053561      |
| GGT   | IFCC (37° C)  | Wiener Lab<br>Lote: 504573 |

#### 6.5.7. Producción de leche

Se midió producción de leche de cada ordeño diariamente durante los primeros 35 días posparto y para el análisis de los resultados se realizó un promedio de las siete medidas obtenidas en la semana. A partir del día 36 se realizó un control semanal.

#### 6.5.8. Composición de la leche (grasa y proteína)

Los porcentajes de grasa y proteína de la leche se determinaron a partir de una muestra individual compuesta de cuatro ordeños consecutivos por semana durante los primeros 21 días y luego se colectaron semanalmente muestras de dos ordeños consecutivos hasta el día 35 posparto; a partir del cual se tomaron muestras mensuales de dos ordeños consecutivos. Las mismas fueron colectadas en recipientes plásticos individuales a los que se les agregó ácido de sodio como conservante y mantenidas a 4 °C en la heladera hasta su envío al Laboratorio de Leche de INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. Allí se les realizó el análisis de composición, mediante el método Mojonnier para grasa y método Kjeldahl para proteína. Se utilizó un equipo Bentley 2000 (Bentley Instruments Inc.Chaska, MN 55318, USA).

#### 6.5.9. Análisis estadístico

Se realizó un arreglo factorial en el que se combinó tratamiento (suplementación energética preparto) y paridad (múltiparas y primíparas). La respuesta a los tratamientos (producción y composición de leche, condición corporal, metabolitos, enzimas y hormonas) se analizó por el modelo Proc Mixed (SAS, Statistical Analysis System, V 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2005) y el modelo incluyó los efectos de tratamiento, tiempo (semanas), y las interacciones (tratamiento\*paridad, tratamiento\*tiempo, paridad\*tiempo y tratamiento\*paridad\*tiempo). La estructura de

covarianza fue auto regresiva de orden 1 y vaca se definió como efecto al azar. Se calcularon las funciones para cada variable. Los datos se presentan como medias de mínimos cuadrados  $\pm$  error estándar. Las diferencias entre medias fueron analizadas por el método LSD, con un nivel de probabilidad del 5%. Las correlaciones se analizaron por el Proc Corr de SAS (correlaciones de Pearson). El intervalo parto a primera ovulación se estudió por el modelo general lineal (Proc GLM) de SAS y las frecuencias (rangos de ovulación posparto) mediante el Proc Freq (SAS) y las diferencias por la prueba de chi cuadrado.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. CONSUMO

No se detectaron diferencias de paridad en cuanto al consumo de materia seca digestible (MSD) ( $P > 0.1$ ) durante todo el período experimental, por lo que en la Figura 3 se muestran los promedios semanales de consumo diferenciados solamente entre grupos Control y Tratamiento. Globalmente, el consumo de MSD en el preparto fue de  $6.3 \pm 0.2$  Kg/vaca/día y en el posparto fue de  $9.9 \pm 0.2$  Kg/vaca/día ( $P < 0.001$ ). Los animales del grupo control consumieron menos MSD durante el período preparto ( $4.7 \pm 0.4$  vs.  $9.8 \pm 0.4$ ;  $P < 0.001$ ), pero aumentaron su consumo después del parto logrando niveles similares a los del grupo suplementado energéticamente ( $P > 0.1$ ).

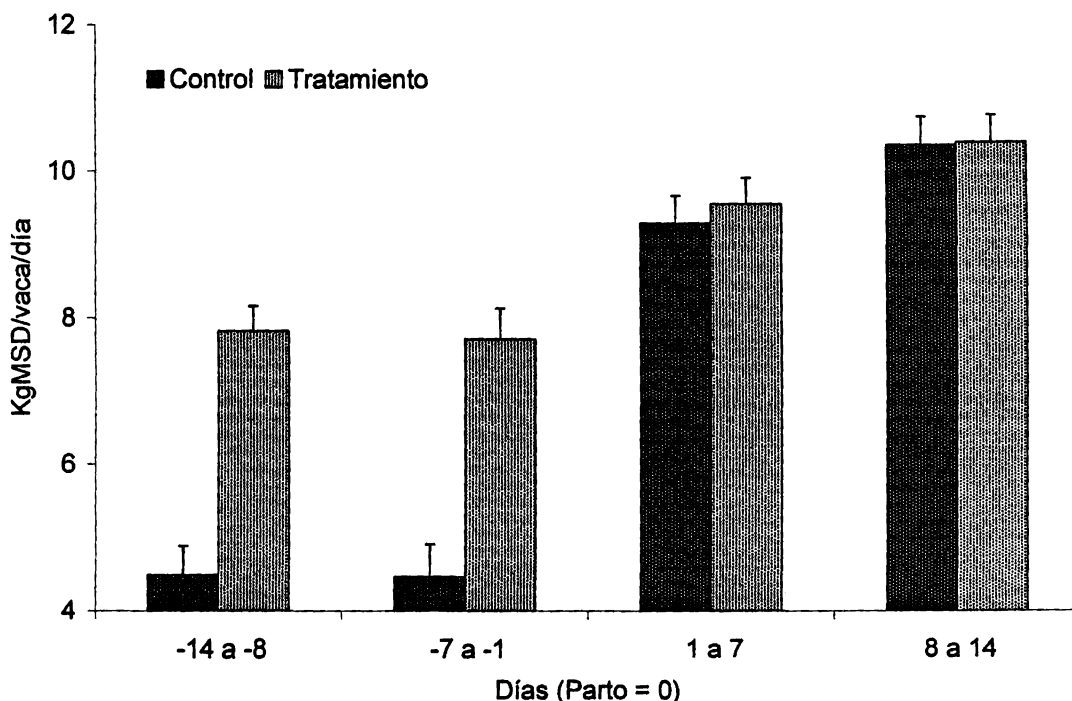


Figura 3: Consumo de materia seca digestible (MSD) (Kg/vaca/día) en animales de los grupos control y tratamiento en las dos semanas previas y las dos posteriores al parto.

## 7.2. CONDICIÓN CORPORAL

La evolución de la condición corporal (CC) del día -21 al día 49 (día 0 = parto) estuvo afectada por la suplementación energética preparto y por los días con respecto al parto, pero no existió efecto de paridad sobre la CC. Se observaron interacciones significativas paridad\*día y paridad\*tratamiento\*día ( $P < 0.05$ ). Las primíparas del grupo control tuvieron una marcada disminución de la CC del día -7 al parto ( $P < 0.001$ ), no observándose una recuperación de la misma hasta el final del experimento. En primíparas del grupo tratado la caída en la CC no fue significativa hasta el día 14 posparto ( $P < 0.001$ ) y la recuperación de la CC comenzó hacia el día 49 posparto (Figura 4, panel superior). Las multíparas del grupo control tuvieron una evolución similar a las primíparas ( $P < 0.05$ ), con una disminución de la CC luego del parto, sin mostrar recuperación hacia el final del ensayo. Las multíparas del grupo suplementado energéticamente mantuvieron la CC a lo largo del período experimental (Figura 4, panel inferior). La evolución de la CC determinó que los animales del grupo tratamiento tuvieron una mejor CC a los días 0, 14, 21 y 49 posparto que los del grupo control ( $P < 0.05$ ).

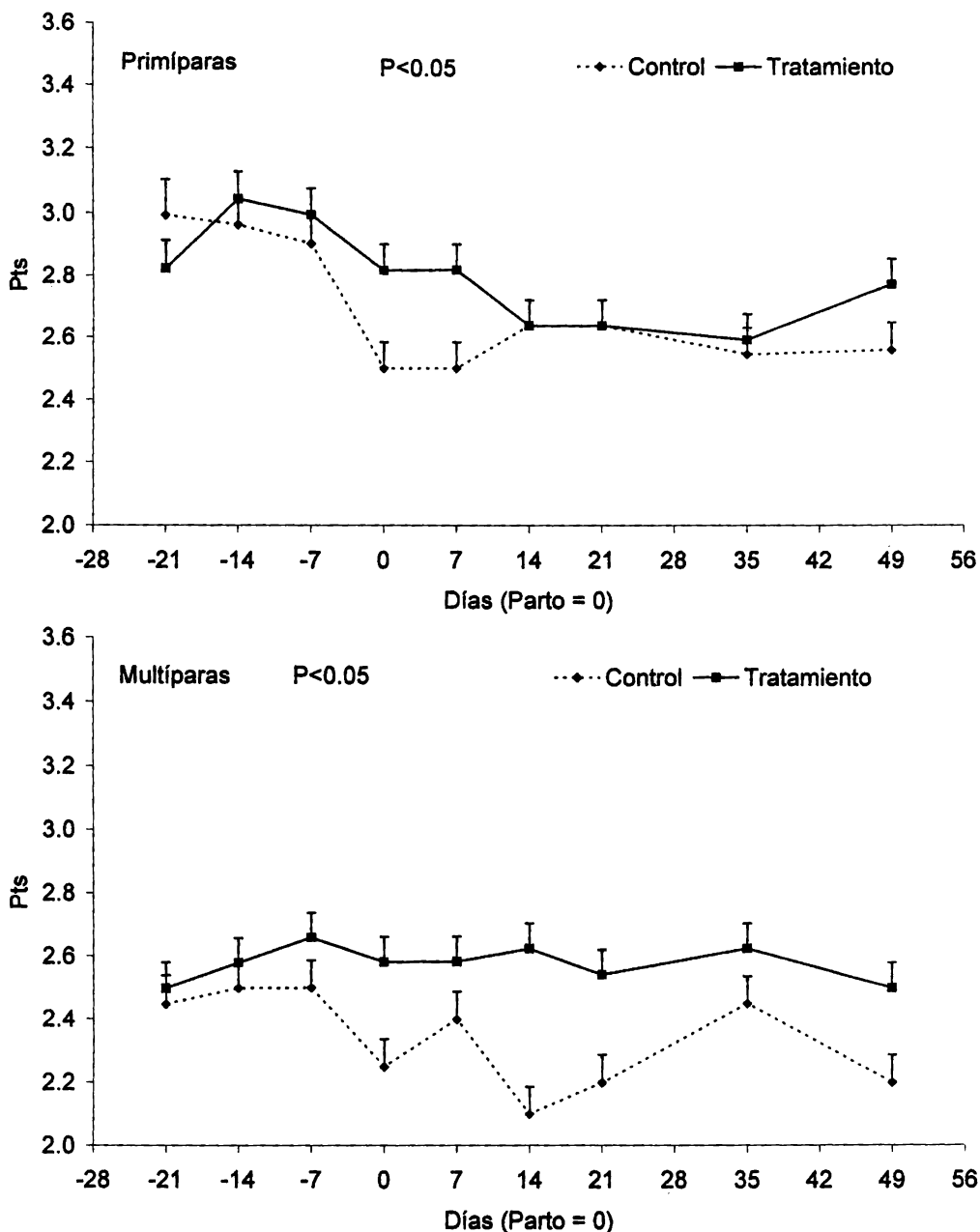


Figura 4: Evolución semanal de la condición corporal, desde el día -21 preparto al día 49 posparto en vacas primíparas (panel superior) y múltiparas (panel inferior) de los grupos control y suplementado energéticamente.

La CC estuvo correlacionada negativamente con la urea ( $r = -0.20$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 387$ ) y con los NEFA ( $r = -0.12$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 385$ ) y positivamente con el porcentaje de grasa de la leche ( $r = 0.29$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 180$ ) (Cuadro XII).

### 7.3. EVOLUCIÓN DEL PESO CORPORAL

El peso corporal se mantuvo constante a lo largo del ensayo, no registrándose diferencias significativas entre los grupos dentro de cada categoría ( $P>0.1$ ). Las primíparas comenzaron el experimento con un peso promedio de  $512\pm 20$  Kg y lo finalizaron al día 50 posparto con  $483\pm 18$  Kg, habiéndose registrado el menor peso al día 21 posparto ( $469\pm 16$ ). Las multíparas de ambos grupos tuvieron un peso promedio al día -21 de  $562\pm 19$  y de  $539\pm 17$  al día 50 posparto, presentando un peso mínimo al día 21 posparto de  $518\pm 16$ .

### 7.4. PRODUCCIÓN DE LECHE

No se observaron diferencias entre grupos en la producción de leche, que fue aumentando hasta la tercera semana PP en primíparas y multíparas, manteniéndose constante posteriormente. La producción promedio de los grupos control fue de  $22.1\pm 0.9$  litros y en los grupos tratados fue de  $22.4\pm 0.8$  litros ( $P>0.1$ ), pero sí se observa una diferencia entre multíparas y primíparas ( $P<0.05$ ); las vaquillonas produjeron menos leche que las vacas ( $20.4\pm 0.5$  vs.  $24.2\pm 0.5$ ,  $P<0.001$ ). También la evolución de la producción fue diferente entre categorías, mientras que las primíparas alcanzaron el pico de producción al día 21 posparto, las multíparas lo hicieron al día 35 posparto (cuadro VIII). Los promedios de la producción total de leche en los diferentes grupos fueron: primíparas control  $20.2\pm 0.8$  litros, primíparas suplementadas:  $20.6\pm 0.8$  litros, multíparas control:  $24.0\pm 0.9$  litros y multíparas suplementadas:  $24.3\pm 0.8$  litros. La producción de leche estuvo positivamente correlacionada con los niveles de colesterol ( $r= 0.33$ ;  $P<0.001$ ;  $n=188$ ) (Cuadro XII).

Cuadro VIII. Producción de leche (litros/vaca/día) desde la primera semana posparto hasta la séptima semana en primíparas y multíparas separadas por grupos.

| DÍAS<br>POSPARTO | CONTROL       |               | TRATAMIENTO   |               |
|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                  | PRIMÍPARAS    | MULTÍPARAS    | PRIMÍPARAS    | MULTÍPARAS    |
| 7                | $17.6\pm 0.8$ | $21.0\pm 0.9$ | $18.4\pm 0.8$ | $21.7\pm 0.8$ |
| 14               | $19.3\pm 0.8$ | $23.1\pm 0.9$ | $20.3\pm 0.8$ | $24.3\pm 0.8$ |
| 21               | $20.4\pm 0.8$ | $24.1\pm 0.9$ | $21.3\pm 0.8$ | $24.7\pm 0.8$ |
| 28               | $20.8\pm 0.8$ | $25.3\pm 0.9$ | $21.1\pm 0.8$ | $24.8\pm 0.8$ |
| 35               | $21.4\pm 0.8$ | $25.1\pm 0.8$ | $21.2\pm 0.8$ | $25.8\pm 0.8$ |
| 49               | $21.9\pm 0.9$ | $25.6\pm 0.8$ | $21.1\pm 0.8$ | $24.5\pm 0.8$ |

## 7.5. COMPOSICIÓN DE LA LECHE

### 7.5.1. Porcentaje de grasa en leche

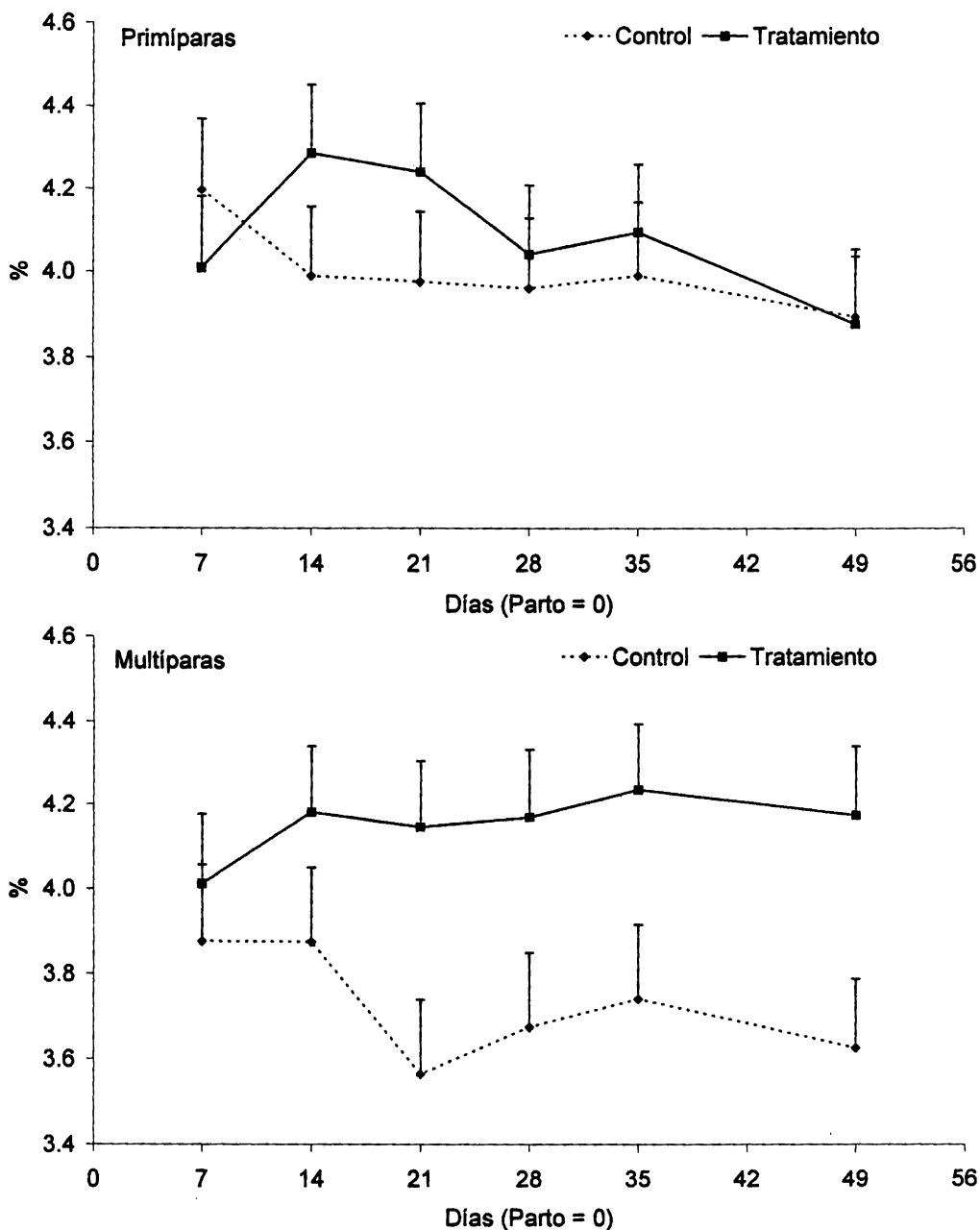


Figura 5: Porcentaje de grasa en leche durante las primeras 7 semanas de lactancia en primíparas (panel superior) y múltiparas (panel inferior) de los grupos control y tratamiento.

La suplementación energética preparto resultó en un mayor porcentaje de grasa en leche en las múltiparas pero no en las primíparas ( $P < 0.05$ ). Las primíparas (figura 5,

panel superior) del grupo control registraron un máximo valor a la primer semana posparto de 4.2% para luego disminuir, llegando con un 3.9% de grasa al termino del ensayo, sin embargo esto no representó una diferencia significativa, así como tampoco se encontraron en el grupo tratamiento que comenzó con un 4.0% logrando su máximo valor al día 14 posparto (4.3%), para luego disminuir progresivamente hasta el final del período experimental. En las multíparas (figura 5, panel inferior) del grupo tratamiento, el porcentaje de grasa en leche se mantuvo constante durante las primeras 7 semanas posparto, mientras que en el grupo control declinó a partir del día 21. Estas últimas, a su vez, produjeron menos grasa que las tratadas, registrándose diferencias significativas ( $P<0.05$ ) en los días 21, 28, 35 y 49 posparto.

### 7.5.2. Porcentaje de proteína en leche

El porcentaje de proteína de la leche promedio comenzó en  $3.5\pm 0.1$  en la primer semana posparto, para caer a  $2.8\pm 0.1$  en la quinta semana posparto ( $P<0.001$ ), éste fue el menor valor registrado. No se registraron diferencias significativas entre tratamientos ni categorías de animales ( $P>0.1$ ) (Cuadro IX).

Cuadro IX. Porcentaje de proteína en leche durante las primeras 7 semanas de lactancia en primíparas y multíparas de los grupos control y tratamiento.

| DÍAS<br>POSPARTO | CONTROL      |              | TRATAMIENTO  |              |
|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                  | PRIMÍPARAS   | MULTÍPARAS   | PRIMÍPARAS   | MULTÍPARAS   |
| 7                | $3.6\pm 0.1$ | $3.6\pm 0.1$ | $3.4\pm 0.1$ | $3.5\pm 0.1$ |
| 14               | $3.1\pm 0.1$ | $3.1\pm 0.1$ | $3.1\pm 0.1$ | $3.1\pm 0.1$ |
| 21               | $2.9\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ |
| 28               | $2.8\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ |
| 35               | $2.8\pm 0.1$ | $2.8\pm 0.1$ | $2.8\pm 0.1$ | $2.8\pm 0.1$ |
| 49               | $2.8\pm 0.1$ | $2.9\pm 0.1$ | $2.8\pm 0.1$ | $2.8\pm 0.1$ |

## 7.6. PERFILES METABÓLICOS

### 7.6.1. Betahidroxibutirato (BHOB)

En las primíparas del grupo control, los niveles de BHOB disminuyeron significativamente al parto (día -7 al día 0) pasando de  $0.51\pm 0.04$  a  $0.40\pm 0.04$  mMol/L ( $P<0.05$ ), mientras que los mismos aumentaron durante la primer semana posparto (día 0 al día 7,  $P<0.05$ ) llegando a valores de  $0.49\pm 0.04$  mMol/L. En las primíparas del grupo energético se observó un aumento de los niveles de BHOB al parto (día -7 al día 0,  $P<0.05$ ) ( $0.41\pm 0.04$ ;  $0.52\pm 0.04$  mMol/L respectivamente) y éstos se mantuvieron más altos durante el período experimental (cuadros X y XI).

Las multíparas mostraron niveles de BHOB ascendentes durante el ensayo, habiendo diferencias significativas entre el grupo control y tratamiento en los días 21 ( $0.47\pm 0.04$  vs.  $0.58\pm 0.04$ ) y 35 ( $0.54\pm 0.04$  vs.  $0.63\pm 0.04$ ) ( $P<0.05$ ) (cuadros X y XI).

El BHOB tuvo una correlación positiva con el colesterol ( $r=0.18$ ;  $P<0.001$ ;  $n=392$ ) y con la urea ( $r=0.23$ ;  $P<0.001$ ;  $n=392$ ) (cuadro XII).

### 7.6.2. Colesterol

Los niveles plasmáticos de colesterol comenzaron a aumentar luego de la primera semana posparto, y esta tendencia continuó hasta el final del ensayo. No se observaron diferencias entre tratamientos ( $P>0.1$ ), pero hubo una interacción significativa tratamiento\*día ( $P<0.001$ ) y entre tratamiento\*paridad\*día ( $P<0.05$ ). Esto resultó en niveles mayores durante el posparto temprano en las vaquillonas del grupo tratado, mientras que este aumento se registró más tarde en el posparto en las múltiparas del mismo grupo (cuadros X y XI).

### 7.6.3. Aspartato amino transferasa (AST)

Todos los animales presentaron un comportamiento similar con respecto a la actividad de la enzima AST, notándose un aumento en su concentración plasmática durante la primera semana posparto (control:  $72.98\pm 5.79$  a  $92.58\pm 5.90$  UI/L; tratamiento:  $80.44\pm 5.52$  a  $88.3\pm 5.37$  UI/L) y una disminución de los valores hacia la segunda semana posparto. No se observaron diferencias entre grupos ( $P>0.1$ ) (cuadro XII y XIII).

### 7.6.4. Gama glutamil transferasa (GGT)

En todos los animales se observó una disminución de la concentración plasmática de la enzima GGT alrededor de la primera y segunda semana posparto, a partir de la cual los niveles de la misma comienzan a aumentar. No se registraron diferencias significativas entre tratamientos ni categorías ( $P>0.1$ ) (cuadros X y XI). La GGT se correlacionó positivamente con el colesterol ( $r=0.13$ ;  $P<0.05$ ;  $n=233$ ) (cuadro XII).

Cuadro X: Valores promedio de los parámetros sanguíneos desde el día -21 hasta el día del parto (0) diferenciados por grupo (control y tratamiento) y categoría (primíparas y múltiparas).

| DÍA | PARÁMETRO               | CONTROL    |            | TRATAMIENTO |            |
|-----|-------------------------|------------|------------|-------------|------------|
|     |                         | PRIMÍPARAS | MULTÍPARAS | PRIMÍPARAS  | MULTÍPARAS |
| -21 | BHOB <sup>1</sup>       | 0.44±0.05  | 0.40±0.05  | 0.47±0.04   | 0.47±0.04  |
| -21 | Colesterol <sup>1</sup> | 2.33±0.20  | 2.78±0.21  | 2.18±0.21   | 2.53±0.18  |
| -7  | BHOB <sup>1</sup>       | 0.51±0.04  | 0.39±0.04  | 0.41±0.04   | 0.47±0.03  |
| -7  | Colesterol <sup>1</sup> | 2.40±0.20  | 2.41±0.20  | 2.19±0.20   | 1.94±0.19  |
| 0   | BHOB <sup>1</sup>       | 0.40±0.04  | 0.48±0.04  | 0.52±0.04   | 0.51±0.04  |
| 0   | Colesterol <sup>1</sup> | 2.26±0.20  | 2.13±0.21  | 2.04±0.20   | 1.90±0.19  |
| 0   | AST <sup>2</sup>        | 74.46±5.76 | 71.50±5.82 | 77.09±5.55  | 83.79±5.49 |
| 0   | GGT <sup>2</sup>        | 31.50±2.65 | 27.06±2.76 | 26.65±2.63  | 28.39±2.64 |

<sup>1</sup>: mMol/L

<sup>2</sup>: UI/L



Cuadro XI: Valores promedio de los parámetros sanguíneos desde el día 7 hasta el día 49 diferenciados por grupo (control y tratamiento) y categoría (primíparas y multíparas).

| DÍA | PARÁMETRO               | CONTROL    |            | TRATAMIENTO |            |
|-----|-------------------------|------------|------------|-------------|------------|
|     |                         | PRIMÍPARAS | MULTÍPARAS | PRIMÍPARAS  | MULTÍPARAS |
| 7   | BHOB <sup>1</sup>       | 0.49±0.04  | 0.48±0.04  | 0.56±0.04   | 0.51±0.03  |
| 7   | Colesterol <sup>1</sup> | 1.86±0.21  | 1.73±0.21  | 2.36±0.20   | 2.00±0.19  |
| 7   | AST <sup>2</sup>        | 84.16±5.99 | 101.0±5.82 | 77.63±5.55  | 98.37±5.20 |
| 7   | GGT <sup>2</sup>        | 24.67±2.69 | 25.98±2.76 | 26.02±2.63  | 25.54±2.51 |
| 21  | BHOB <sup>1</sup>       | 0.46±0.04  | 0.47±0.04  | 0.50±0.04   | 0.58±0.04  |
| 21  | Colesterol <sup>1</sup> | 2.65±0.20  | 2.31±0.21  | 3.10±0.20   | 3.22±0.19  |
| 21  | AST <sup>2</sup>        | 75.53±5.55 | 83.5±5.82  | 75.63±5.55  | 84.12±5.31 |
| 21  | GGT <sup>2</sup>        | 23.43±2.62 | 26.37±2.76 | 25.51±2.63  | 27.23±2.51 |
| 35  | BHOB <sup>1</sup>       | 0.52±0.04  | 0.54±0.04  | 0.56±0.04   | 0.63±0.04  |
| 35  | Colesterol <sup>1</sup> | 4.05±0.2   | 3.38±0.21  | 4.08±0.20   | 4.08±0.19  |
| 35  | AST <sup>2</sup>        | 74.63±5.55 | 92.66±6.05 | 71.54±5.55  | 85.66±5.31 |
| 35  | GGT <sup>2</sup>        | 22.83±2.63 | 29.21±2.78 | 27.17±2.63  | 31.12±2.52 |

<sup>1</sup>: mMol/L

<sup>2</sup>: UI/L

### 7.6.5. NEFA

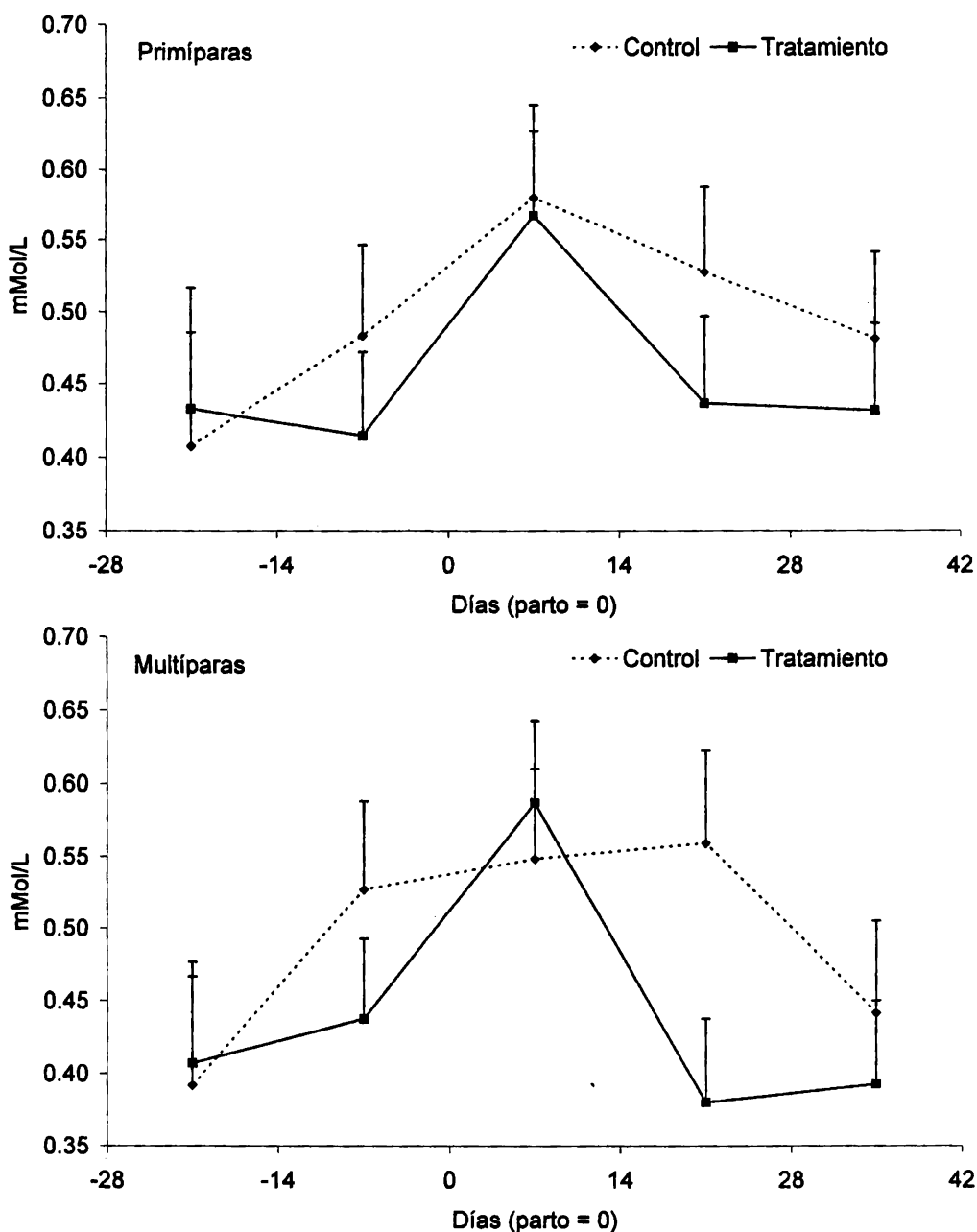


Figura 6: Niveles de NEFA plasmáticos medidos en mMol/L desde la tercera semana preparto hasta la quinta semana posparto en primíparas (panel superior) y multiparas (panel inferior) de los grupos control y tratamiento.

Los niveles plasmáticos de NEFA aumentaron en todos los animales luego del parto, excepto en las vacas multiparas del grupo control, en las que aumentó en el periodo preparto ( $P < 0.05$ ). Después de la primera semana posparto, los niveles de NEFA disminuyeron, a excepción de las multiparas del grupo control, en las que se

mantuvieron elevados hasta el día 21 posparto ( $P < 0.05$ ) (figura 6, panel inferior). No se observaron diferencias significativas entre los grupos ( $P > 0.1$ ).

Los niveles de NEFA presentaron una correlación positiva con los niveles plasmáticos de la enzima AST ( $r = 0.13$ ;  $P < 0.05$ ;  $n = 233$ ) (Cuadro XII).

#### 7.5.6 Urea

Se observaron pequeñas diferencias de tratamiento en los niveles plasmáticos de urea ( $P = 0.06$ ), pero sí hubo interacciones significativas entre tratamiento\*día ( $P < 0.01$ ), lo que fue el resultado de una disminución de los niveles de urea en vacas y vaquillonas del grupo energético previo al parto. Luego del parto, las concentraciones de urea aumentaron en todos los animales con un patrón similar (figura 7). Se presentaron diferencias significativas entre grupos los días -14, -7 y 0 ( $P < 0.05$ )

Los niveles de urea se correlacionaron positivamente con los niveles de colesterol ( $r = 0.41$ ;  $P < 0.001$ ;  $n = 392$ ) (Cuadro XII).

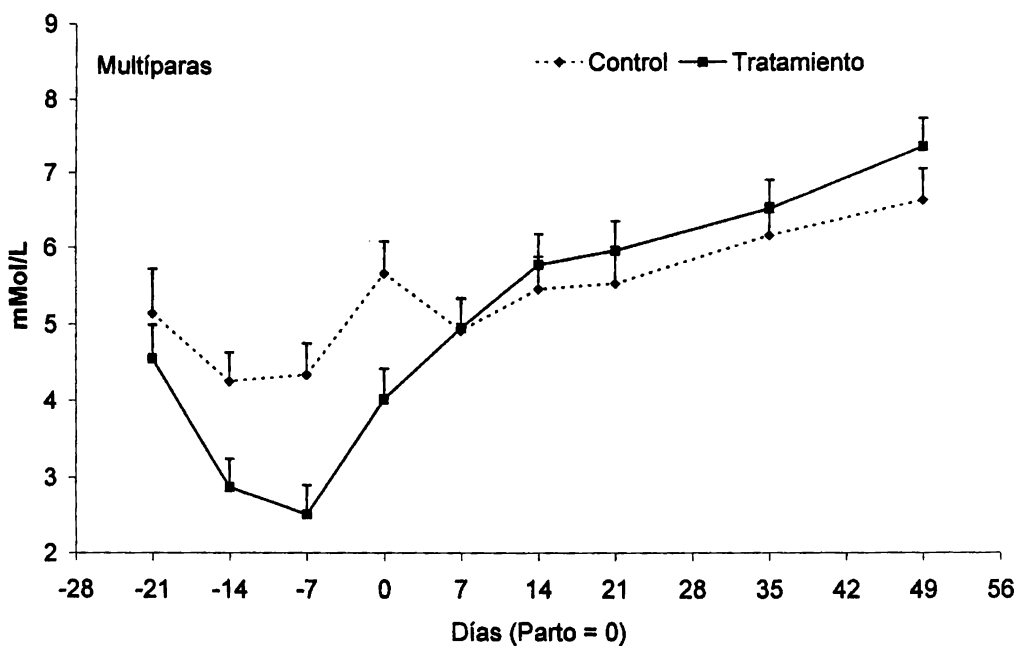
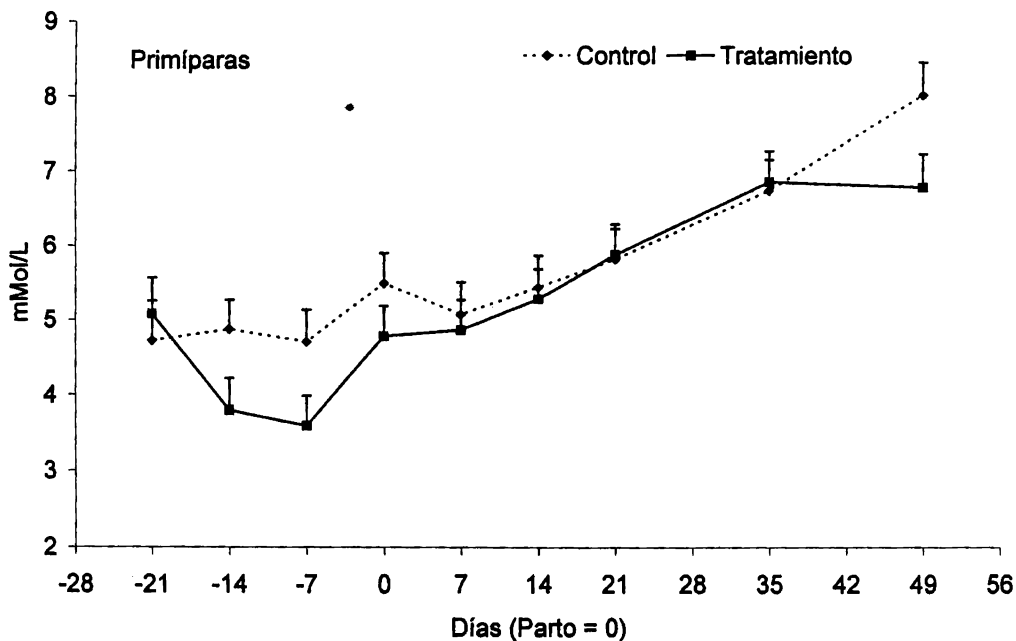


Figura 7: Niveles de urea en plasma medidos en mMol/L desde la tercera semana preparto hasta la séptima semana posparto en primíparas (panel superior) y multíparas (panel inferior) de los grupos control y tratamiento.

## 7.7. CORRELACIONES

En el cuadro XII se describen las distintas correlaciones halladas entre los diferentes parámetros analizados en el experimento. Se observó una correlación positiva entre la producción de leche y el colesterol plasmático ( $r = 0.327$ ,  $P < 0.001$ ,  $n =$

188). La CC presentó correlación positiva con el porcentaje de grasa en leche ( $r = 0.286$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 180$ ), y negativa con la urea ( $r = -0.197$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 387$ ) y con los NEFA ( $r = -0.121$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 385$ ). Los niveles de NEFA en plasma tuvieron una correlación positiva con los niveles de AST ( $r = 0.131$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 233$ ). Los niveles de BHOB presentaron una correlación positiva con el colesterol ( $r = 0.175$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 392$ ) y con la urea ( $r = 0.227$ ,  $P < 0.01$ ,  $n = 392$ ). El colesterol mostró correlación positiva con los niveles de urea ( $r = 0.415$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 392$ ) y con la enzima GGT ( $r = 0.132$ ,  $P < 0.05$ ,  $n = 233$ ). Las enzimas AST y GGT presentaron una correlación positiva ( $r = 0.274$ ,  $P < 0.01$ ,  $n = 233$ ).

Cuadro XII. Coeficientes de correlación entre los diferentes parámetros estudiados.

| Variable          | NEFA       | BHOB | Col <sup>1</sup> | AST <sup>2</sup> | GGT <sup>3</sup> | Urea         | Grasa       |
|-------------------|------------|------|------------------|------------------|------------------|--------------|-------------|
| Leche             |            |      | .327<br>***      |                  |                  |              |             |
| CC <sup>4</sup>   |            |      | 188              |                  |                  |              |             |
|                   | -.121<br>* |      |                  |                  |                  | -.197<br>*** | .286<br>*** |
|                   | 385        |      |                  |                  |                  | 387          | 180         |
| NEFA <sup>5</sup> |            |      |                  | .131<br>*        |                  |              |             |
|                   |            |      |                  | 233              |                  |              |             |
| BHOB <sup>6</sup> |            |      | .175<br>***      |                  |                  | .227<br>***  |             |
|                   |            |      | 392              |                  |                  | 392          |             |
| Col               |            |      |                  |                  | .132<br>*        | .415<br>***  |             |
|                   |            |      |                  |                  | 233              | 392          |             |
| AST               |            |      |                  |                  | .274<br>**       |              |             |
|                   |            |      |                  |                  | 233              |              |             |

<sup>1</sup>Col = colesterol

<sup>2</sup>AST = Aspartato amino transferasa

<sup>3</sup>GGT = Gama glutamil transferasa

<sup>4</sup>CC = condición corporal

<sup>5</sup>NEFA = ácidos grasos no esterificados

<sup>6</sup>BHOB = betahidroxibutirato

\*=  $P < 0.05$

\*\*= $P < 0.01$

\*\*\*= $P < 0.001$

## 7.8. REPRODUCCIÓN

En el Cuadro XIII se resumen los principales parámetros reproductivos. El intervalo promedio a la primera ovulación posparto, determinada por ultrasonografía ovárica fue de 33 días. Las primíparas tuvieron un intervalo parto-ovulación muy similar tanto para las del grupo control como para las del grupo suplementado energéticamente, en esta categoría no hubieron diferencias significativas entre grupos ( $P > 0.1$ ). Las multiparas del grupo control presentaron un mayor intervalo parto-ovulación que las del grupo

tratamiento, observándose una diferencia significativa entre grupos ( $P < 0.05$ ). El intervalo parto a primer servicio fue de 95 días promedio, registrándose una tendencia ( $P = 0.06$ ) para las multíparas del grupo control a tener un mayor intervalo. El intervalo parto a concepción fue de 136 días, sin diferencias entre grupos o paridad.

Cuadro XIII. Intervalos del parto a la primera ovulación, primer servicio y concepción para primíparas y multíparas de los grupos control y tratamiento.

| Intervalo del parto a: | CONTROL                 |                         | TRATAMIENTO             |                         |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                        | PRIMÍPARAS              | MULTÍPARAS              | PRIMÍPARAS              | MULTÍPARAS              |
| Ovulación              | 38.2±4.6 <sup>a</sup>   | 33.6±4.6 <sup>a</sup>   | 37.8±4.6 <sup>a</sup>   | 22.9±4.6 <sup>b</sup>   |
| Primer servicio        | 89.6±7.3 <sup>c</sup>   | 107.5±7.3 <sup>d</sup>  | 94.1±8.1 <sup>c</sup>   | 88.0±7.3 <sup>c</sup>   |
| Concepción             | 128.2±15.9 <sup>a</sup> | 145.5±15.9 <sup>a</sup> | 150.4±19.9 <sup>a</sup> | 123.4±15.9 <sup>a</sup> |

<sup>a, b</sup>: Letras diferentes en una misma fila difieren ( $P < 0.05$ )

<sup>c, d</sup>: Letras diferentes en una misma fila difieren ( $P = 0.06$ )

### 7.8.1. Rango del intervalo parto-ovulación

El 50% de las primíparas del grupo suplementado energéticamente ovularon dentro de los 21 días posparto, mientras que en el grupo control lo hicieron solo un 35% (figura 8, panel superior). Entre los días 21 y 50 posparto ovularon un 35% de los animales del grupo control y un 20% del tratamiento; aproximadamente un 30% de ambos grupos no ovularon antes del día 50 posparto, no se registraron diferencias significativas entre los grupos ( $P > 0.1$ ). En las multíparas (figura 8, panel inferior) el 60% del grupo tratado ovuló dentro de los primeros 21 días posparto mientras que en el grupo control lo hizo solo un 10% ( $P < 0.05$ ). En el rango de días de 21 a 50 posparto ovularon un 40% del grupo control y un 20% del suplementado energéticamente; mientras que el 50% del grupo control y el 20% del grupo suplementado energéticamente no ovularon antes de los 50 DPP ( $P < 0.05$ ).

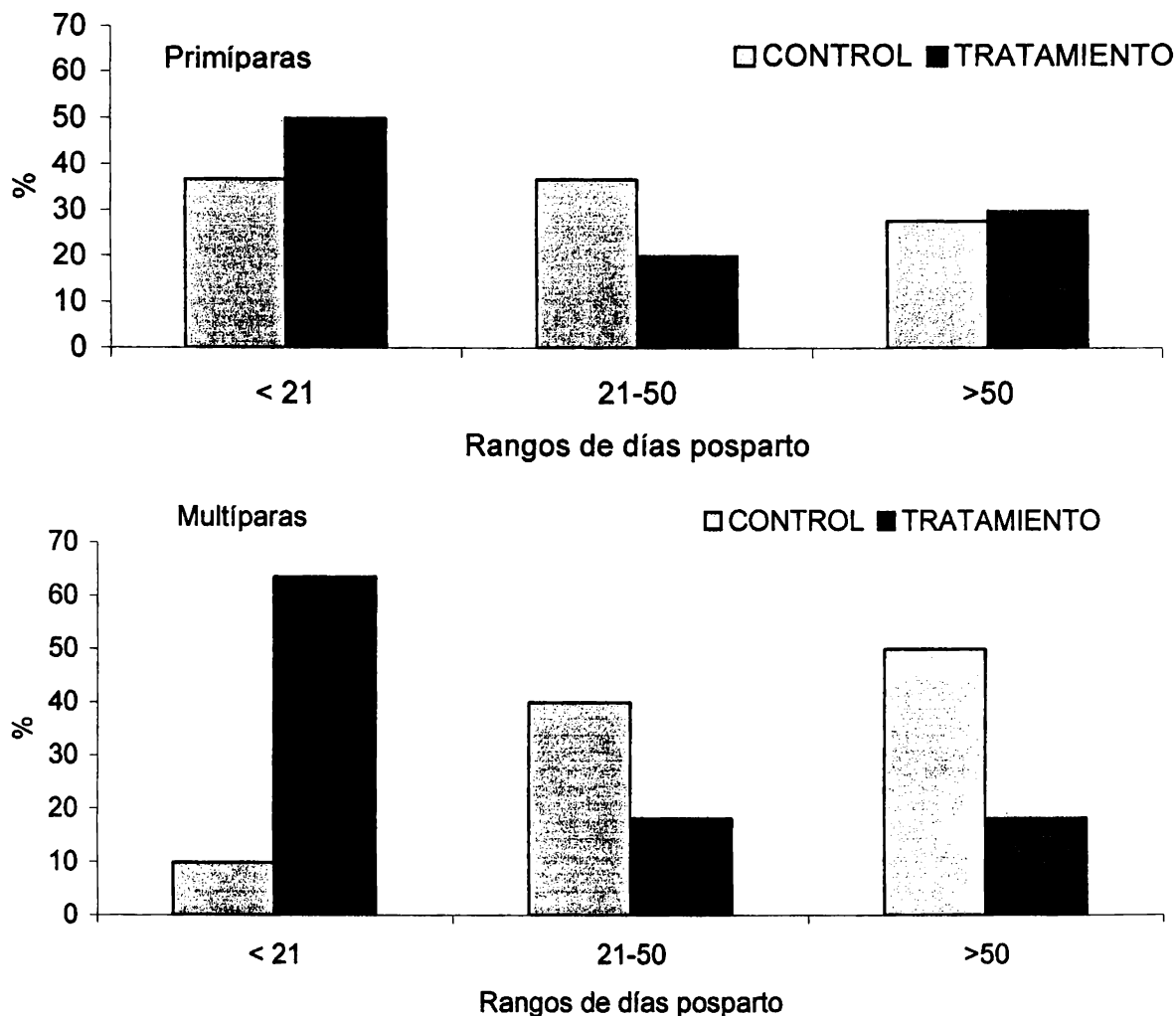


Figura 8: Porcentaje de animales primíparas (A) y múltiparas (B) que ovulan en distintos rangos de días posparto.

### 7.8.2. Concentraciones de IGF-I

Las primíparas de ambos grupos tuvieron concentraciones plasmáticas similares de IGF-I, con un valor aproximado de  $56.7 \pm 7.3$  mMol/L ( $P > 0.1$ ). Las concentraciones de esta hormona metabólica fueron diferentes en las múltiparas de ambos grupos, presentándose una diferencia significativa entre ellos ( $P < 0.05$ ), en el grupo control se observaron valores promedio de  $31.6 \pm 7.3$  mMol/L y en el grupo tratado de  $60.3 \pm 7.3$  mMol/L.

### 7.8.3. Niveles de IGF-I y diámetro folicular

Los animales con folículos de menor diámetro presentaron menores concentraciones plasmáticas de IGF-I que aquellos que tuvieron folículos de mayor tamaño. Además existieron diferencias significativas en las concentraciones de IGF-I para un mismo diámetro folicular entre los grupos control y tratamiento, siendo en este último siempre mayores (figura 9). Se encontró una correlación positiva significativa entre estos dos parámetros ( $r=0.546$ ,  $P<0.0001$ ) y también entre IGF-I y CC ( $r=0.328$ ,  $P<0.05$ ,  $n=42$ )

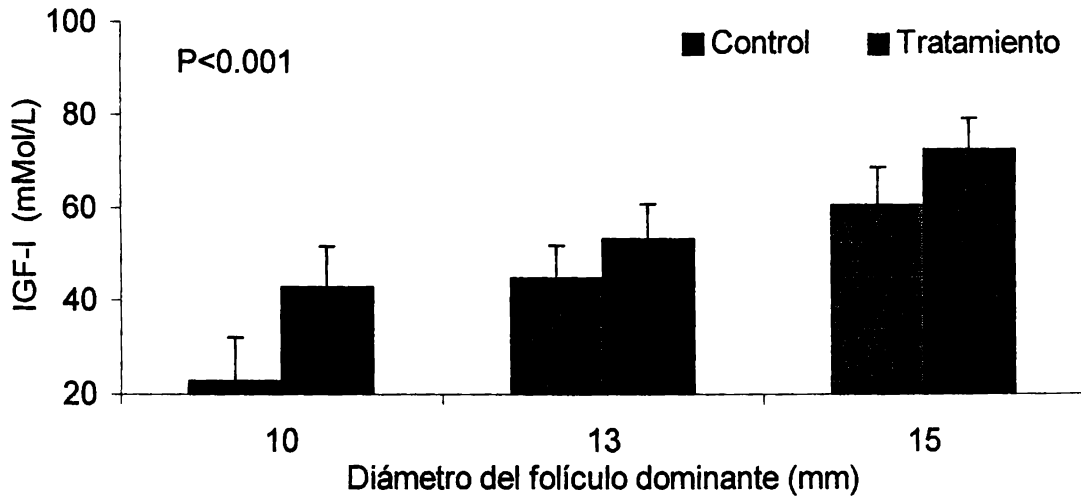


Figura 9: Relación entre la concentración de IGF-I (mMol/L) y el diámetro del folículo dominante (mm) en el grupo control y tratamiento.



#### 7.8.4. Características del reinicio de la actividad ovárica posparto

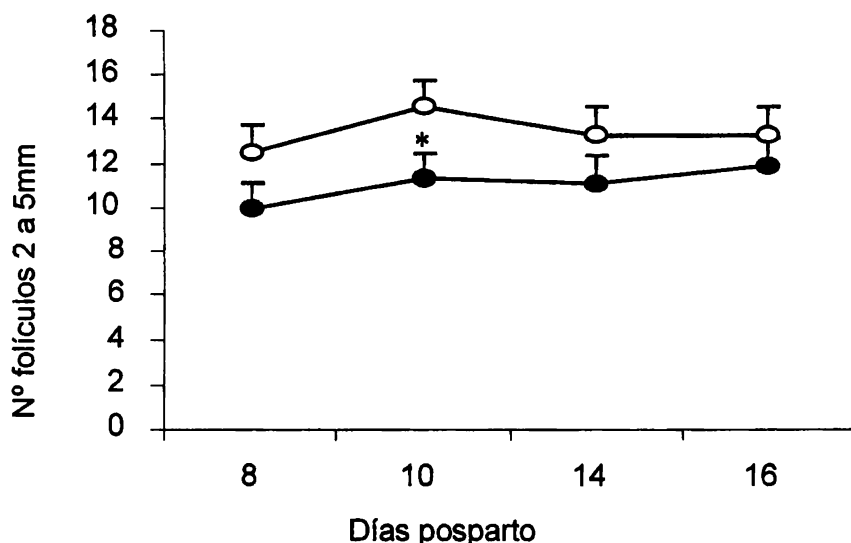


Figura 10: Evolución del número de folículos que emergen en vacas (○) y vaquillonas (●) en los diferentes días posparto (\* P=0.06).

No se encontraron efectos significativos de categoría, tratamiento o la interacción entre ambos factores en la evolución del número de folículos por clases (2-5 mm, 6-9 mm, 10-14 mm, >15 mm). Sin embargo, se observó una tendencia (P=0.06) a que las multíparas tuvieran mayor número de folículos que emergen (2 a 5 mm) comparado con las primíparas (Figura 10).

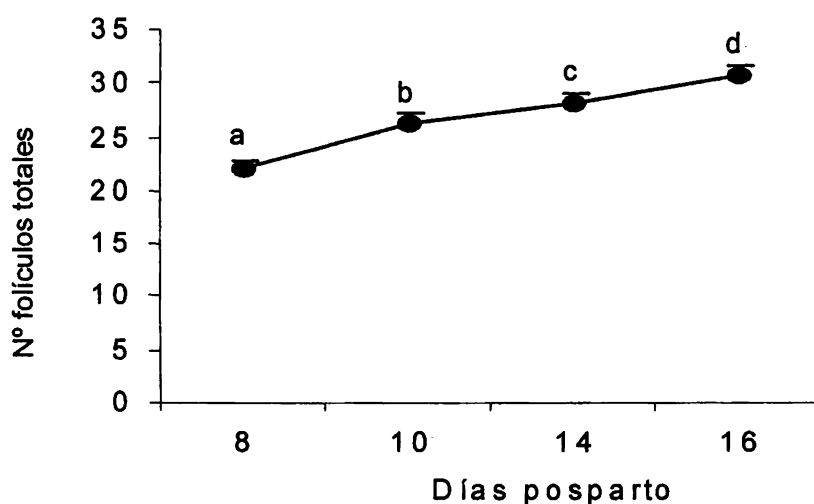


Figura 11: Evolución del número de folículos totales a medida que avanzan los días posparto.

En todos los animales del ensayo el número de folículos totales aumentó a medida que transcurrieron los días posparto ( $P < 0.001$ ) (figura 11).

En el cuadro XIV se resumen las características de la dinámica folicular de los animales de ambos grupos. No se registraron diferencias entre grupos o tratamientos en la dinámica folicular posparto ( $P > 0.1$ ). Al día 8 PP, cuando se comenzaron a realizar las ultrasonografías, el folículo dominante (FD) tenía un diámetro promedio de 8 mm y a los 14 días PP éste folículo alcanzó un diámetro promedio de 14.6 mm. Esta primera onda folicular finalizó (ya sea mediante ovulación o regresión del FD) a los 21 días PP. Solamente 66% de los animales ovularon esta primer onda y el promedio de ondas ovulatorias para todos los animales fue de 1.3. En los animales que no ovularon la primer onda folicular, se registró un promedio de 3.8 ondas foliculares en los primeros 50 días PP. El diámetro máximo del FD fue de 15.1 mm.

Cuadro XIV: Características de la dinámica folicular en primíparas y múltiparas de los grupos control y tratamiento.

| Parámetro   | Primíparas control | Múltiparas control | Primíparas tratamiento | Múltiparas tratamiento |
|---|--------------------|--------------------|------------------------|------------------------|
| Diámetro del folículo dominante de la onda 1 al día 7-9 pp (mm) | 9.0±1.0            | 7.3±1.0            | 8.1±1.0                | 7.7±1.0                |
| Diámetro máximo del folículo dominante de la onda 1 (mm)        | 14.5±0.9           | 14.1±0.8           | 13.0±0.8               | 14.5±0.8               |
| Día de máximo diámetro del folículo dominante de la onda 1      | 14.7±1.2           | 14.1±1.2           | 15.2±1.2               | 14.3±1.2               |
| Día en que finalizó la onda 1 (regresión/ovulación)             | 21.1±2.0           | 21.1±1.9           | 23.8±1.9               | 18.5±1.9               |
| Nº de animales que ovulan                                       | 8/11               | 5/11               | 7/11                   | 9/11                   |
| Onda ovulatoria   | 1.4±0.2            | 1.4±0.3            | 1.1±0.2                | 1.2±0.2                |
| Diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante             | 15.9±0.7           | 15.54±0.7          | 14.1±0.7               | 15±0.7                 |
| Nº ondas en animales que no ovulan (al día 50 pp)               | 3.7±0.5            | 3.7±0.3            | 3.3±0.4                | 4.5±0.6                |

### 7.8.5. Diferencias en algunos parámetros entre animales que ovulan y que no lo hacen dentro de los 50 días posparto.

#### 7.8.5.1. Condición corporal

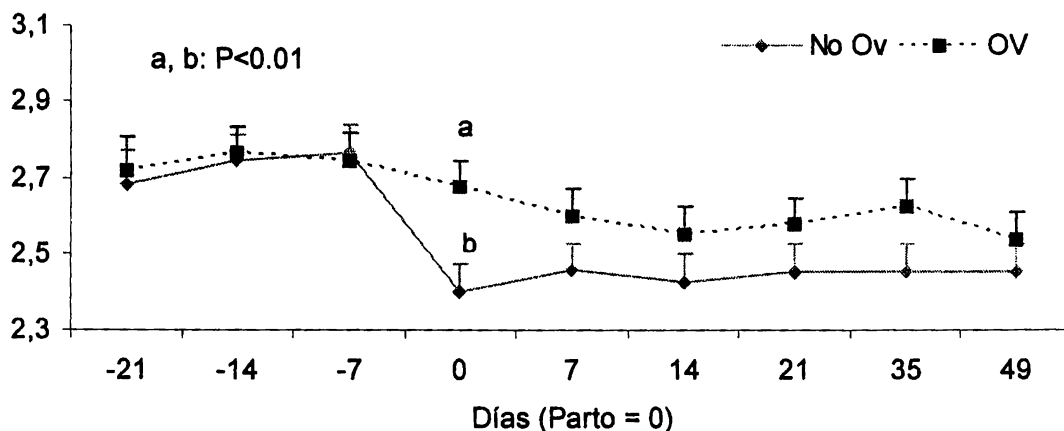


Figura 12: Evolución de la condición corporal en animales que ovulan o no ovulan a los 50 DPP.

Se verificó una diferencia significativa ( $P < 0.01$ ) de CC entre ambos grupos de animales al momento del parto, observándose una caída más pronunciada en aquellos animales que no ovulan dentro del periodo experimental, y continúan con una CC menor que aquellos que sí lo hicieron (figura 12).

#### 7.8.5.2. Porcentaje de grasa en leche

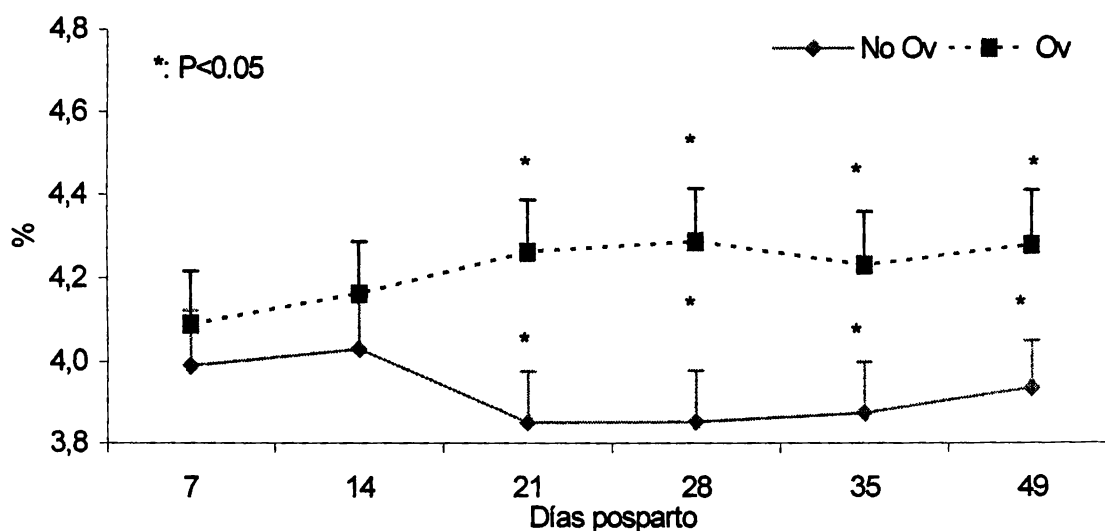


Figura 13: Evolución del porcentaje de grasa de leche en animales que ovulan o no ovulan a los 50 DPP.

Hasta la segunda semana posparto la producción de grasa en leche fue similar entre los animales, luego se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los animales que ovularon, que tuvieron una tendencia ascendente en cuanto a la producción de grasa, y los animales que no ovularon que tendieron a disminuir su producción. Las diferencias se observaron hasta el final del período experimental (figura 13).

### 7.8.5.3. Niveles de IGF-I

Existió una diferencia significativa en los niveles de IGF-I entre los animales que ovularon antes de los 50 días posparto y los que no ovularon ( $P < 0.01$ ). El valor promedio del grupo que no ovuló fue de  $32.11 \pm 7.6$  mMol/L, mientras que las hembras que ovularon dentro del período experimental tuvieron un valor promedio de  $61.26 \pm 4.8$  mMol/L (cuadro XV).

Cuadro XV. Diámetros máximos iniciales y alcanzados (mm), y niveles de IGF-I (mMol/L) en hembras que ovularon antes de 50 DPP y las que no lo hicieron.

| Diámetro del folículo dominante              | Ovuladas            | No ovuladas         |
|--|---------------------|---------------------|
| Diámetro máximo inicial al día 7 – 9 PP (mm) | $9.5 \pm 0.5^*$     | $6.9 \pm 0.7^*$     |
| Diámetro máximo alcanzado (mm)**             | $15.7 \pm 0.4^{**}$ | $14.1 \pm 0.6^{**}$ |
| Niveles de IGF-I (mMol/L)*                   | $61.3 \pm 4.8^*$    | $32.1 \pm 7.6^*$    |

\* $P < 0.01$

\*\* $P < 0.05$

Los animales que ovularon antes del día 50 posparto, tienen un folículo de mayor tamaño al día 7 a 9 posparto ( $9.5 \pm 0.5$  mm) comparado con los animales que no ovulan durante éste período ( $6.9 \pm 0.7$  mm;  $P < 0.01$ ;  $n = 15$ ). Los animales que ovulan tienen folículos dominantes que alcanzan un mayor diámetro ( $15.7 \pm 0.4$  mm) comparado con los animales que no ovulan ( $14.1 \pm 0.6$  mm,  $P < 0.05$ ) y a su vez presentan niveles de IGF-I superiores (cuadro XV).

Se observó una correlación positiva significativa entre el tamaño del diámetro folicular y los niveles de IGF-I ( $r = 0.55$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 44$ ).

## 8. DISCUSIÓN

La hipótesis de que la suplementación energética durante el parto tendría un impacto positivo en la adaptación metabólica de la vaca al inicio de la lactancia, con repercusiones positivas en la composición de la leche y el reinicio de la actividad ovárica fue confirmada.

El consumo preparto estuvo afectado por el tipo de dieta, lo que concuerda con lo reportado por Moyá y Coppock (1997). Los animales suplementados energéticamente tuvieron una mayor ingesta de MSD durante el parto que los del grupo control, reflejo de los 4 kg de afrechillo de trigo diario que recibieron. Durante este período, el consumo de MSD se mantuvo estable durante las dos semanas previas al parto, lo que se contradice con lo hallado por Moyá y Coppock (1997), Grummer (1995), Stockedale y

Roche (2002) y Crespi y col (2005) quienes reportaron una disminución del consumo total en la semana previa al parto. No se observó este efecto en el posparto ya que ambos grupos tendieron a igualar su consumo. La diferencia de consumo preparto entre grupos podría deberse a que en el grupo suplementado energéticamente hubo un efecto de adición (pastura + ración), mientras que el grupo control sustituyó la pastura por el ensilaje, resultados que concuerdan con Campabadal y Navarro (1998) y Andersen (2001) quienes confirmaron que raciones más energéticas antes del parto resultan en un mayor consumo de MS y de energía. El consumo similar de ambos grupos durante el posparto es el reflejo de que los mismos tuvieron la misma dieta en este período. A pesar de los consumos logrados de  $9.9 \pm 0.2$  Kg/vaca/día éstos son menores a los óptimos para vacas lecheras de alta producción. Esto podría deberse a que hubo un déficit de forraje durante este período, situación que limitó a los animales tratados a expresar su mayor adaptación ruminal a la alimentación posparto.

La disminución de la CC registrada en la semana previa al parto en el grupo control podría deberse al menor consumo de MSD que se observó durante el preparto en éste grupo. A su vez las primíparas tuvieron una disminución de la CC mas marcada con respecto a las multíparas dentro de éste grupo. Los animales suplementados energéticamente no presentaron un comportamiento similar entre categorías, ya que las multíparas mantuvieron su CC a lo largo de todo el período experimental, lo mismo fue observado por Grum y col. (1996). Mientras que las primíparas manifestaron una caída de la CC luego del parto, no siendo ésta tan marcada como en las vaquillonas del grupo control. La mayor caída de la CC en la categoría vaquillonas de ambos grupos se debería a que éstas tienen mayores requerimientos ya que a los de mantenimiento y producción se le suman los requerimientos para el crecimiento y desarrollo, esto concuerda con lo observado por Meikle y col. (2004). Las diferencias que se encontraron entre ambos grupos al momento del parto concuerdan con Moyá y Coppock (1997) y son opuestas a Crespi y col. (2005) quienes utilizaron como concentrado energético grano de maíz partido y heno de pradera.

La suplementación con concentrados energéticos durante el preparto no afectó la producción de leche. Esto podría deberse a un aporte inadecuado de pasturas en cantidad suficiente durante el posparto temprano, al igual que lo reportado en otros trabajos (Grummer, 1995; Crespi y col., 2005). La curva de lactancia de las primíparas presentó el pico máximo antes que las multíparas, a su vez produjeron menos leche durante la misma, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Meikle y col. (2004) y Cavestany y col. (2005). Ésto puede atribuirse a un menor desarrollo de la glándula mamaria y a que, como se dijo anteriormente, parte de la energía se utiliza para el crecimiento.

La mayor producción de grasa que se verifica en las multíparas del grupo tratado concuerda con los resultados obtenidos por Crespi y col. (2005). Esto impactaría directa y positivamente sobre los índices económicos del tambo, ya que la composición de la leche es uno de los componentes por el cual se fija el precio de la leche. La correlación positiva entre CC y la grasa de la leche, podría explicar lo sucedido ya que ésta categoría dentro del grupo tratamiento mantuvo su CC a lo largo del experimento, lo que estaría indicando una mejor adaptación ruminal y por lo tanto un mejor

aprovechamiento del alimento y menor movilización de las reservas corporales (Grummer, 1999<sup>a</sup>; Andersen, 2001).

La producción de proteína en leche tuvo una curva normal, presentando su mayor nivel a las dos semanas posparto, y luego declinó progresivamente durante la lactancia. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ni categorías, al igual que lo observado por Grummer (1995) y Crespi y col. (2005).

En los animales suplementados energéticamente durante el parto se registraron mayores niveles de BHOB, a partir del día -7 parto, en comparación con el grupo control, lo que concuerda con lo reportado por Grummer (1995) y Crespi y col. (2005). Los niveles de este metabolito tendieron a aumentar a lo largo del experimento, resultados similares a los reportados por Crespi y col. (2005), pero opuestos a los reportados por Meikle y col. (2004) donde los niveles disminuyeron al final del período experimental momento en el cual se registra una recuperación de la CC. El aumento de BHOB podría explicarse por dos mecanismos: 1) una mayor movilización de tejido adiposo y/o 2) por un aumento en la absorción de ácido butírico en la pared de los preestómagos en la cual se hidroxila para formar BHOB (Cirio y Tebot, 1998). Es poco probable que el primer mecanismo sea el responsable del aumento en las concentraciones de BHOB, ya que la CC de los animales suplementados tuvo un perfil de evolución superior a los animales control, reflejo indirecto de la movilización de reservas adiposas. Nuestros resultados sugieren que el segundo mecanismo sería el responsable del mayor aumento de BHOB registrado en el grupo tratado, reflejo del aumento de consumo de pasturas durante éste periodo.

El significado de los niveles sanguíneos del colesterol en sangre es motivo de controversia, ya que algunos autores plantean que se debería a un mejor BE o elevada ingesta de grasa (Wittwer y col., 1987), mientras que otros postulan que es el resultado de una deficiencia energética (Bruss, 1997). En nuestro ensayo se verifica un aumento del colesterol luego de la primera semana posparto en ambos grupos. Éste aumento podría tener dos explicaciones: 1) a una falta de aporte energético en la dieta posparto lo que lleva a un catabolismo lipídico o 2) a un aumento de la síntesis hepática de lipoproteínas (Margolles, 1983; Wittwer y col., 1987, Cavestany y col., 2005). Nuestros resultados respaldan la segunda explicación, ya que el colesterol sérico total es una medida indirecta de las lipoproteínas de transporte en sangre (LDL, HDL, VLDL), y por lo tanto de la capacidad del hígado para producirlas (Van Saun, 2000), ya que éstas son las responsables de transportar los lípidos desde el hígado hacia otros tejidos. Se encontró una correlación positiva entre el colesterol y el BHOB esto estaría confirmando una falta de aporte energético en la dieta, ya que los niveles de BHOB aumentan cuando los animales están en BEN.

En el presente trabajo todos los animales tuvieron valores similares de la enzima AST mostrando un aumento de sus concentraciones en la primera semana posparto y una disminución de la enzima GGT en los primeros 14 días posparto. A su vez existió una correlación positiva entre la AST y los niveles de NEFA, también entre la GGT y el colesterol. Todo lo anterior indica que existe un BEN en este período que conlleva a una lipomovilización, normal en este período, que no necesariamente implica la existencia

de daño celular hepático ya que los niveles de dichas enzimas son similares a los rangos normales (Majó, 2004; Uriarte 2005, comunicación personal). Los niveles de las enzimas AST y GGT son utilizados comúnmente para evaluar el funcionamiento hepático (Kaneko,1989), sin embargo no indican más que un daño ha ocurrido en el hígado, por lo tanto sus valores deben ser interpretados en conjunto con los resultados de los NEFA y colesterol (Van Saun, 2000).

Los niveles plasmáticos de NEFA se mantuvieron dentro de los rangos descritos por Whitaker (2003), menores a 0.7 mMol/L para vacas en lactación temprana y 0.4 mMol/L para el fin del parto. Los niveles en nuestro ensayo tendieron a aumentar una o dos semanas preparto y presentaron un pico máximo al día 7 posparto luego del cual los niveles disminuyeron.

Las multíparas control fueron la excepción ya que sus niveles comenzaron a aumentar antes y se mantuvieron elevados hasta la segunda semana posparto. Este aumento más prolongado de los NEFA, podría indicar que el nadir del BEN ocurrió más tarde en ésta categoría, después de la emergencia de la primera onda, y por ese motivo no ovuló esa onda. Butler (2003) dice que el nadir del BEN tiene que ocurrir antes de la emergencia de la onda para que las vacas ovulen en la primera onda folicular. Este comportamiento concuerda con la evolución de la CC de estos animales en los que no se observó una recuperación de la CC durante el ensayo. El aumento de las concentraciones de NEFA circulantes (provenientes de la lipomovilización) estarían indicando que el metabolismo lipídico está alterado, ya que éstos deben ingresar al hígado para ser metabolizados a triglicéridos los que son transportados luego hacia otros tejidos como fuente de energía. Entonces si el metabolismo en el hígado está saturado se comienzan a acumular triglicéridos en el hígado y a aumentar los NEFA en sangre.

Además se detectó una correlación negativa de los NEFA con la CC y positiva con la enzima AST, lo que en su conjunto explica el balance energético de los animales del experimento, demostrando una mayor lipomovilización y pérdida de la CC (Edmonson y col., 1989; Whitaker y col.,1993) en los animales en que la energía de la dieta durante el parto fue insuficiente para satisfacer las demandas. Butler (2003) afirma que el balance energético es el principal factor que modula la fertilidad y que durante el BEN los niveles sanguíneos de NEFA están elevados y los de IGF-I disminuidos, y esto está asociado con una disminución en el desarrollo folicular, primera ovulación y fertilidad durante el posparto, por lo tanto estos resultados deberían reflejarse en los índices reproductivos.

Al igual que lo reportado por Margolles y col. (1988) y Cavestany y col. (2005) los niveles de urea plasmáticos tienden a disminuir durante el parto y a aumentar en el posparto, situación contraria fue observada por Wittwer y col. (1987). Se observó un efecto de la dieta sobre los niveles de urea durante el parto, donde los animales del grupo control presentaron mayores niveles de este metabolito. Esto podría deberse a que éstos animales recurren antes a la movilización de sus reservas ya que no tuvieron una suplementación energética durante el parto, Contreras (1998) afirma que los aumentos de urea en sangre están directamente asociados a un aporte importante de proteínas en la dieta o a un consumo deficiente de energía. Esto último además se respalda en la correlación positiva hallada entre urea y BHOB y con el colesterol, y

negativa con la CC, lo que indicaría una deficiencia energética con consecuente movilización de las reservas grasas. Durante el posparto ambas categorías presentaron el mismo patrón ascendente de los niveles de urea sin diferencias entre ellas, lo que se contradice con los hallazgos de Cavestany y col. (2005) quienes dentro de este mismo patrón sí encontraron diferencias significativas entre categorías sin encontrar una explicación para ello.

Como se dijo anteriormente ambas categorías del grupo control mostraron niveles superiores de NEFA durante el período posparto con respecto al grupo suplementado energéticamente. Además las multíparas control mantuvieron sus niveles elevados por más tiempo. Todo lo anterior estaría indicando un mayor periodo de BEN, que se refleja en un mayor intervalo parto-primera ovulación observado en esta categoría, lo que concuerda con lo afirmado por Butler y col. (1981) y Beam y Butler (1997). Estos resultados concuerdan con Boland (2003) que describe que altas concentraciones de NEFA están asociadas negativamente con la fertilidad y con Grum y col. (1996) quienes afirman que la suplementación energética durante el parto tiene un importante efecto en el inicio de la ciclicidad ovárica. Contrariamente, Keady y col. (2001) encontraron que la suplementación con concentrados energéticos durante el parto retrasó el reinicio de la ciclicidad. Dentro de las primíparas las diferencias entre los grupos no fueron significativas para este parámetro ni para los perfiles de NEFA ni CC (a partir del día 7 posparto) para lo cual no se pudo encontrar una explicación obvia a partir de los datos recaudados en el experimento.

El rango en días descrito por algunos autores (Morrow y col., 1986; Roberts, 1988; Butler y Smith, 1989; Staples y col., 1990) para el intervalo parto primera ovulación es de 2 a 4 semanas, nuestros animales tuvieron un promedio de días a la primera ovulación de 33 días. Cavestany y col. (1996) y Cavestany (1998) realizaron un estudio comparativo del efecto de la paridad sobre los índices reproductivos en vacas holando (21 primíparas vs 21 multíparas) en los cuales se vieron un intervalo parto-ovulación de 36 días en primíparas y 25 días en multíparas para el primer experimento y para el segundo 46 y 31 días respectivamente, en nuestro ensayo las primíparas tuvieron un intervalo promedio a la ovulación de 38 días y las multíparas de 28 días, valores que se asemejan a lo reportado anteriormente, siendo las primíparas quienes mas demoran en retornar a la ciclicidad.

Se calcularon indicadores de eficiencia reproductiva a partir de registros llevados en el tambo, como intervalo parto-primer servicio y parto-concepción, no encontrándose diferencias significativas entre grupos ni categorías. Cabe señalar que éstos son afectados por factores que no se tuvieron en cuenta en el experimento y que los afectan directamente (detección de celo, técnica y momento de inseminación, etc.) por este motivo no se pueden sacar conclusiones relevantes en base a ellos.

Las primíparas tuvieron similares concentraciones circulantes de IGF-I en ambos grupos, las multíparas del grupo tratamiento tuvieron niveles notoriamente superiores con respecto a los del grupo control. Esto concuerda con los resultados que se observaron en el intervalo parto a primera ovulación descrito anteriormente, ya que esta hormona tiene efectos directos en el eje HHO regulando el retorno a la ciclicidad ovárica en las vacas posparto (Baskin y col., 1999) ya que a nivel hipotalámico regula la



respuesta de la LH a la GnRH estimulando el pico preovulatorio (Hashizume y col, 2002), y según Smith y col. (2002) y Montaña y Ruiz Cortés (2005) promueve la ovulación del FD, ya que tiene un efecto positivo sobre la foliculogénesis, estimulando la proliferación de las células de la granulosa y la esteroidogénesis, que es clave para estimular la descarga preovulatoria de LH.

En este estudio se encontró una correlación positiva significativa entre los niveles de IGF-I y el diámetro del FD, observándose mayores concentraciones de la hormona en vacas que presentaron mayores diámetros foliculares, al igual que lo observado por otros autores (Mondschein y col., 1989; Echternkamp y col., 1990). A su vez los animales del grupo control tuvieron menores concentraciones de IGF-I que los del grupo tratamiento para un mismo diámetro folicular. Esto coincide con los resultados reportados por Webb y col. (2004) que describen que los niveles circulantes de IGF-I están positivamente correlacionados con el nivel de alimentación y por lo tanto con una mejora del BE dentro de 2-7 semanas posparto (Spicer y col., 2002) y con los resultados de Zulu y col. (2001) quienes encontraron una fuerte correlación negativa entre IGF-I y NEFA. En el presente experimento no se pudo hallar dicha correlación debido a que los días de toma de las muestras para la medición de ambos parámetros no fueron los mismos. Pero si se encontró una correlación positiva entre IGF-I y CC, y negativa entre CC y NEFA, lo que indicaría que animales con mayor BEN (reflejado en los NEFA) tendrían menores concentraciones de IGF-I circulantes y por lo tanto un mayor intervalo parto-primera ovulación.

De acuerdo con lo hallado por Beam y Butler (1997, 1998), todas las vacas experimentaron una onda de desarrollo folicular durante la segunda semana posparto independientemente de la dieta o BE, ya que éste último no afecta la población de folículos pequeños o medianos, pero si el destino del FD (Diskin y col., 2003). Beam y Butler (1997) encontraron que el número de folículos pequeños y medianos se reduce significativamente del día 8 al 14 posparto, nuestro experimento difiere de esto ya que la cantidad de folículos para estas clases tendió a mantenerse durante el período citado. Tampoco se hallaron diferencias significativas entre grupos o categorías en el número de folículos totales, número de ondas foliculares, evolución folicular por clase y características del FD, estas dos últimas observaciones coinciden con lo hallado por Beam y Butler (1998). De acuerdo con estudios anteriores, observamos que la mayoría de las vacas ovulan el folículo dominante de la primera onda (74% de 22 vacas en lactación), y que el retraso de la ovulación en  $\pm 50$  días se asocia con la ocurrencia de más de 3 ondas foliculares (Savio y col, 1990 y Sakaguchi y col., 2004).

Cabe resaltar que a diferencia de otros ensayos (Savio y col., 1990; Beam y Butler, 1997; Sakaguchi y col., 2004) no se registró la ocurrencia de quistes foliculares.

Se encontraron diferencias en algunos parámetros entre los animales que ovularon o no dentro de los 50 días posparto. Los que no ovularon presentaron una disminución mas acentuada de su CC al parto que los que si lo hicieron ( $P < 0.01$ ), además continuaron con una CC menor hasta el final del experimento. Estos animales tendieron a una menor producción de grasa en leche hasta el final del período experimental, esto contradice los resultados de Beam y Butler (1998) que reportaron que una falla en la ovulación del FD en el posparto temprano esta asociado a una mayor producción de grasa en leche ( $> 4\%$ ). En cuanto a los parámetros reproductivos se encontraron

diferencias significativas para algunos de ellos, como el diámetro máximo observado y el diámetro folicular máximo de la primera onda en animales que ovularon o no, lo que coincide con Beam y Butler (1997) que reportaron que los animales que ovulan presentan mayores diámetros.

Beam y Butler (1998), Butler (2000) y Lucy (2000) afirman la existencia de una correlación negativa entre las concentraciones de IGF-I y el reinicio de la ciclicidad ovárica durante el posparto, nuestros resultados confirman lo anterior ya que los animales que ovulan antes de los 50 días posparto tienen mayores concentraciones de IGF-I que aquellos que no lo hacen.

## 9. CONCLUSIONES

Con la suplementación energética preparto se logró una menor pérdida de CC en primíparas, pero no en multíparas, la cual se mantuvo constante. Ésta afectó directamente la ovulación en el posparto ya que los animales que ovularon tuvieron mayor CC durante el ensayo.

El tratamiento no resultó en una mayor producción de leche, pero promovió un aumento en el porcentaje de grasa en leche en vacas multíparas.

Independientemente del tratamiento, en todos los animales se observó la emergencia de la primera onda de desarrollo folicular a los 7-9 días posparto que tuvo un perfil de desarrollo similar.

En el grupo suplementado energéticamente durante el preparto tardío se observó un menor intervalo parto-ovulación y mayores niveles de IGF-I para un mismo diámetro folicular en comparación con el grupo control. Cabe señalar que estas diferencias fueron mayores en la categoría multíparas.

Además los animales que ovularon antes de los 50 DPP presentaron mayores diámetros foliculares y mayores niveles de IGF-I.

En este ensayo se verificaron variaciones en parámetros reproductivos, productivos, endocrinos y metabólicos que estarían indicando que la suplementación energética durante el preparto tardío es una herramienta válida para mejorar la adaptación del ganado lechero a una nueva situación productiva. Sin embargo, creemos que es una línea de investigación en la que se debe continuar profundizando. Pensamos que deberían incluirse en futuros ensayos el estudio de los factores que afectan el celo y su detección, tiempo al primer servicio y concepción, ya que éstos al igual que la alimentación, afectan los índices del tambo.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Adashi EY, Hsueh AJW and Yen SSC. (1981). Insulin enhancement of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release by cultured pituitary cells. *Endocrinology*; 108:1441-1449.
2. Acosta Y. (2000). LECHERÍA: Sugerencias para enfrentar mejor la crisis. <http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/ara/2000/89pa.htm> Fecha de consulta: 03/06/2006.
3. Acosta Y. (2002). Alimentación y sólidos en leche. [http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/pol/2002/ali\\_5%F3\\_leche.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/pol/2002/ali_5%F3_leche.pdf) Fecha de consulta: 27/07/2006.
4. Adams GP. (1999). Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J Reprod Fertil*; 54:17-32.
5. Alais C. (1985). *Ciencia de la leche: principios de la técnica lechera*. 2ª ed. Barcelona, Ed. Reverté, 873 p.
6. Andersen H. (2001). Vacas secas y en transición. *Rev Investig Vet Perú*; 12(2):36-48.
7. Armstrong JD and Benoit AM. (1996). Paracrine, autocrine, endocrine factors that mediate the influence of nutrition on reproduction in cattle and swine: an in vivo IGF-1 perspective. *J Anim Sci*; 74(3):18-35.
8. Armstrong DG, McEvoy TG, Baxter G, Robinson JJ, Hoggc CO, Woad KJ, Webb R and Sinclair KD. (2001). Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production In vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biol Reprod*; 64:16.
9. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. (1991). 6ª ed. Londres. Ed. Interamericana. 626 p.
10. Bach A.(2001). La reproducción del vacuno lechero: nutrición y fisiología. XVII Curso de Especialización FEDNA: avanca en nutrición y alimentación animal; pp 105-130. <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/2001CAPV.pdf> Fecha de consulta: 29/05/2006.
11. Baskin DG, Lattemann DF, Seeley RJ, Woods SC, Porte D Jr, Schwartz MW. (1999). Insulin and leptin: dual adiposity signals to the brain for the regulation of food intake and body weight. *Brain Res*; 848:114-123.
12. Bauman DE and Currie WB. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci*; 63:1514-1529.
13. Bauman DE, Dunshea FR, Boisclair YR, McGuire MA, Harris DM, Houseknecht KL (1989). Regulation of nutrient partitioning: homeostasis, homeorhesis and exogenous somatotropin. En: *Seventh International Conference on Production Disease in Farm Animals*. Ithaca. pp. 306-323.
14. Beam SW and Butler WR. (1994). Ovulatory follicular development during the first follicular wave postpartum in cows differing in energy balance. *J Anim Sci*; 74(1): 77.
15. Beam SW and 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.

16. Beam SW and Butler WR. (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J Dairy Sci*; 81(1):121-131.
17. Beam SW and Butler WR. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl*; 54:411-424.
18. Beever DE, Hattan A, Reynolds CK, Cammell SB. (2001). Nutrient supply to high-yielding cows. *Br Soc Anim Sci Occas Publ*; 26:119-131.
19. Bell A. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci*; 73:2804-2819.
20. Bell A and Bauman DE. (1997). Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*; 2: 265-278.
21. Boland MP. (2003). Efectos nutricionales en la reproducción del ganado. En: XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay; 12 al 14 de junio. pp 96-101.
22. Britt JH. (1992). Influence of nutrition and weight loss on reproduction and early embryonic death in cattle. En: XVII World Buiatrics Congr. St. Paul, EUA; 31 de agosto al 4 de setiembre. 2:143-149.
23. Britt JH. (1995). Follicular development and fertility: Potential impacts of negative energy balance. En: III Congr Int Med Bov ANEMBE. Santander. 20 al 22 de enero.
24. Bruss ML. (1997). Lipids and Ketones. En: Eds. J Kaneko, JW Harvey, ML Bruss. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Academic Press. USA.
25. Butler WR, Everett RW, Coppok CE. (1981). The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci*; 53:742-748.
26. Butler WR and Smith RD. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cows. *J Dairy Sci*; 72:767-783.
27. Butler WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*; 60-61:449-457.
28. Butler WR. (2001). Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *Anim Sci; Occas Publ*; 26:133-145.
29. Butler WR. (2003). Energy Balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Prod Sci*; 83:211-218.
30. Calsamiglia S. (2001). Nuevos avances en el manejo y alimentación de la vaca durante el parto. *Nuestra Cabaña*; 305: 6-17. <http://www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/00CAP3.pdf>. Fecha de consulta: 15/03/2006.
31. Campabadal C y Navarro H. (1998). Alimentación de la vaca en el periodo de transición. *Asociación Americana de la Soya A N*; 154:16. (Mexico). <http://www.ag.uiuc.edu/~asala/espanol/nutricionanimal/publicaciones/Alimentaci%F3n%20de%20la%20vaca%20en%20el%20per%EDodo%20de%20transici%F3n.pdf> Fecha de consulta: 23/10/2005.
32. Canfield RW and Butler WR (1990). Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Dom Anim Endocrinol*; 7:323-330.

33. Canfield RW and Butler WR. (1991). Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J Anim Sci*; 69:740-746.
34. Castillo JH, Ruiz Cortés ZT, Olivera Ángel M, Jiménez C. (1997). Reactivación ovárica postparto en vacas cebú Brahman con relación al peso y condición corporal. *Rev Col Cienc Pec*;10:12-18.
35. Cavestany D, Viñoles C, Galina A. (1996). Resultados de Ensayos de Reproducción. Año 1994. En: *Jornadas de Producción Animal. Lechería y Pasturas. Serie de Actividades de Difusión N° 100.* INIA La Estanzuela, Uruguay.
36. Cavestany D. (1998). Postpartum anoestrus in dairy cattle. 4<sup>th</sup> SIPAR (Swedish International Programme on Animal Reproduction) follow up Seminar. Dept. of Obstetrics & Gynaecology. Swedish University of Agricultural Sciences. 8 al 20 de febrero. Belem, Brasil.
37. Cavestany D. (2000). Jornada técnica de discusión e intercambio. Medidas de manejo y alimentación en la unidad de lechería. [http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/ad/2000/ad\\_218.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/ad/2000/ad_218.pdf) Fecha de consulta: 06/03/2006.
38. Cavestany D, Meikle A, Chilbroste P. (2003). Manejo de la vaca lechera en transición en condiciones de pastoreo suplementado. Programa ECOS. Proyectos conjuntos de investigación científica Uruguay.
39. Cavestany D, Blanc JE, Kulcsar M, Uriarte G, Chilbroste P, Meikle A, Febel H, Ferraris A, Krall E. (2005). Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: I. Metabolic profiles. *J Vet Med Series A*; 52(1): 1-7.
40. Chilliard Y, Bonnet M, Delavaud C, Faulconnier Y, Leroux C, Djiane J and Bocquier F. (2001). Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Dom Anim Endocrinol*; 21:271-295.
41. Cirio A, Tebot I. (1998). Fisiología metabólica de los rumiantes. Montevideo, Depto. de Fisiología, Facultad de Veterinaria, 139 p. Ed. Cirio A, Tebot I.
42. Contreras PA. (1998). Síndrome de movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Arch med vet*; 30(2):17-27. [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301732X1998000200002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301732X1998000200002&script=sci_arttext) Fecha de consulta: 06/09/2006.
43. Correa Cardona HJ. (2004). Caracterización del período de transición. <http://www.agro.unalmed.edu.co/departamentos/panimal/docs/caracterizatransi.pdf> Fecha de consulta: 15/03/2006.
44. Crespi D, Medin J, Piana M, (2005). Efectos de la suplementación energética y del suministro de sales aniónicas durante el parto sobre la producción y reproducción en vacas Holando en pastoreo. Trabajo final. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay.
45. Davidson JA, Rodríguez LA, Mashek DG, Risch CC, Scheurer SJ, Pilbeam TE and Beede DK. (1997). Feeding the transition cow. En: *Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference.* 20-21 de mayo, Fort Wayne. pp 83-104.
46. de Vries MJ, van der Beek S, Kaal LMTE, Ouweltjes W and Wilmink JBM. (1998). Modeling of energy balance in early lactation and the effect of energy deficits in

- early lactation on first detected estrus postpartum in dairy cows. *J Dairy Sci*; 80:1927-1934.
47. de Vries MJ, Veerkamp RF .(2000). Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci*; 83:62-69.
  48. Debras E, Grizard J, Aina E, Tesseraud S, Champredon C and Arnal M. (1989). Insulin sensitivity and responsiveness during lactation and dry period in goats. *Anim J Physiol*; 256:295-302.
  49. Diskin MG, Mackey DR, Roche JF and Sreenan JM. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci*; 78:345-370.
  50. Doepel L, Lapiere H, Kennelly JJ. (2002). Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. *J Dairy Sci*; 85:2315-2334.
  51. Drakley JK. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?. *J Dairy Sci*; 82:2259 – 2273.
  52. Driancourt MA. (1991). Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*; 35:55-79.
  53. Dunne LD, Diskin MG, Boland MP, O'Farrell KJ, Sreenan JM. (1999). The effect of the pre and post- insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Anim Sci*; 64:411-417.
  54. Durán H. (1996). Sistema de alta producción de leche. En: Jornada de lechería y pasturas. Serie de actividades de difusión del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA La Estanzuela) N° 100. pp 1-15.
  55. Dyk PB, Emery RS, Lieman JL, Bucholtz HF, VandeHaar MJ. (1995). Prepartum nonesterified fatty acids in plasma are higher in cows developing peripartum health problems. *J Dairy Sci*; 78(1):264.
  56. Echtenkamp SE, Spicer LJ, Gregory KE, Canning SF and Hammond JM. (1990). Concentrations of insulin-like growth factor-I in blood and ovarian follicular fluid of cattle selected for twins. *Biol Reprod*; 43:8-14.
  57. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T and Webster G. (1989). A body scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci*; 72:68-78.
  58. Falconer J, Foerbes JM, Bines JA, Roy JHB, Hart IC. (1980). Somatomedin-like activity in cattle:the effect of breed, lactation and time of day. *J Endocrinol*; 86:183.
  59. Ferguson DJ. (1991). Nutrition and reproduction in dairy cows. *Vet Clin North Am. Food Anim Pract*; 7: 483-507.
  60. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosemberg M. (1990). Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J Dairy Sci*; 73: 2817-2825.
  61. Fortune JE. (1986). Bovine theca and granulosa cells interact to promote androgen production. *Biol Reprod*; 35:292-299.
  62. Fortune J, Sirois J, Turzillo AM and Lavoie M. (1991). Follicle selection in domestic ruminant. *J Reprod Fertil Suppl*; 43:187-198.
  63. Fortune JE. (1993). Follicular dynamics during the bovine estrus cycle: a limiting factor in improvement of fertility?. *Anim Reprod Sci*; 33:111-125.
  64. Fortune JE, Rivera GM, Evans ACO, Turzillo AM. (2001). Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod*; 65:648-654.

65. Gaines J. (1989). The relationship between nutrition and fertility in dairy herds. *Food Anim Pract Vet Med*; 10:997-1002.
66. Galina CS and Arthur GH. (1989). Review of cattle reproduction in the tropics. 2. Parturition and Calving Intervals. *Anim Breed Abstr*; 57:679-686.
67. Gallo L, Carrier P, Cassandro M, Mantovani R, Bailoni L, Contiero B and Bittante G. (1996). Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. *J Dairy Sci*; 79:1009-1015.
68. Garnsworthy PC and Webb R. (1999). The influence of nutrition on fertility in dairy cows. En: Ed. P.C. Garnsworthy and J. Wiseman. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press; pp 39-58.
69. Gearhart MA, Curbs CR, Erb HN, Smith RD, Sniffen CJ, Chase LE and Cooper MD. (1990). Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J Dairy Sci*; 73:3132-3140.
70. Gibbons JR, Wiltbank MC and Ginther OJ. (1997). Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and follicle-stimulating hormone surge in heifers. *Biol Reprod* 57:1066-1073.
71. Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycle with two and three follicular waves. *J Reprod Fert*; 87:223-230.
72. Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM et al. (1996). Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod*; 55:1187-1194.
73. Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ and Wiltbank MC. (1997). Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. *Theriogenology*; 48:75-87.
74. Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ and Kot K. (1998). Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle. *Theriogenology*; 50:507-519.
75. Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ and Kot K.(1999). Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. *Theriogenology*; 52:1079-1093.
76. Ginther OJ, Beg MA, Bergfelt DR, Donadeu FX and Kot K. (2001). Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod*; 65:638-647.
77. Gluckman PD, Breier BH and Davis SR. (1987). Physiology of the somatotrophic axis with particular reference to the ruminant. *J Dairy Sci*; 70:442-466.
78. Goff JP and Horst RL (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci*; 80:1260-1268.
79. Gong JG, Baxter G, Bramley TA and Webb R. (1997). Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotropin: A dose response study. *J Reprod Fertil*; 110:91-97.
80. Gong JG. (2002). Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest Anim Endocrinol*; 23:229-241.
81. Grum DE, Drackley JK, Younker RS, LaCount DW, Veenhuizen JJ. (1996). Nutrition during the dry period and hepatic metabolism of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*; 79:1850-1864.
82. Grummer RR. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition cow. *J Anim Sci*; 73:2820-2833.

83. Grummer RR, Hoffman PC, Luck ML and Bertics SJ. (1995). Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *J Dairy Sci*; 78:172-180.
84. Grummer RR. (1999)a. Transition Feeding. Dairy Herd Management N° 301, Instituto Babcock, Univ. Wisconsin.  
[http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/du/du\\_301.es.pdf](http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/du/du_301.es.pdf) Fecha de consulta: 15/03/2006.
85. Grummer RR. (1999)b. Energy and protein nutrition of the transition dairy cow.  
<http://www.wisc.edu/dysci/uwex/nutritn/pubs/NutrAndMgt/energya0.pdf> Fecha de consulta: 20/04/2006.
86. Hashizume T, Kumahara A, Fujino M, Okada K. (2002). Insulin-like growth factor I enhances gonadotropin releasing hormone stimulated luteinizing hormone release from bovine anterior pituitary cells. *Anim Reprod Sci*; 70:13-21.
87. Henao G, Turjillo LE. (2000). Establecimiento y desarrollo de la dominancia folicular bovina. *Rev Col Cienc Pec*; 13:108-120.
88. Holtenius K, Agenäs 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.
89. Huanca W. (2001). Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. *Rev Inv Vet Perú*; 12(2): 161-163.
90. Humbel RE. (1990). Insuline-like growth factors I and II. *Eur J Biochem*; 190:445-462.
91. Huszenicza G, 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: Ed. MG Diskin Edinburgh: British Society of Animal Science. Fertility in the high-producing dairy cow. pp 405-409.
92. Ibarra D y Latrille L. (1999). Relación entre el balance energético postparto y fertilidad en vacas lecheras de alta producción. Publicación del Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agronómicas, Univ. de Chile.  
<http://agronomia.uchile.cl/investigacion/publicaciones/avancesprodanimal/relacion.htm> Fecha de consulta: 25/11/2005.
93. Ingraham RH, Kappel LC. (1988). Metabolic Profile Testing. *Metabolic Diseases of Ruminant Livestock 0749-0720. Vet Clin North Am: Food Anim Pract*; 4:391-411.
94. Ingvarsen KL, Friggens NC, Faverdin, P. (1999). Food intake regulation in late pregnancy and early lactation. *Br Soc Anim Sci, Occas Publ*; 24:37-54.
95. Ireland JJ, Coulson PB and Murphree RL. (1979). Follicular development during four stages of the estrus cycle of beef cattle. *J Anim Sci*; 49:1261-1269.
96. Ireland JJ and Roche JF. (1982). Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers. *J Reprod Fert*; 64:295-302.
97. Ireland JJ and Roche JF. (1983). Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluids and receptors of gonadotropins. *Endocrinology*; 112:150-156.
98. Ireland JJ, Mihm M, Austin E, Diskin MG and Roche JF. (2000). Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: Key concepts, studies, advancements, and terms. *J Dairy Sci*; 83:1648-1658.



99. Jimeno V, Callejo A y Mazzucchelli F. (1998). Recomendaciones prácticas para el control de la reproducción a través de la alimentación de las vacas lecheras. *Bovis*, 82: 41-49; ISSN: 1130-4804.
100. Kaneko JJ. (1980). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 3ª ed. Orlando. Academic Press. 832 p.
101. Kaneko JJ. (1989). *Clinical biochemistry of domestic animals*, 4ª ed., San Diego. Academic Press.
102. Kastelic JP and Ginther OJ. (1991). Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. *Anim Reprod Sci*; 26:13.
103. Kastelic JP, Knopf L and Ginther OJ. (1990). Effect of day of prostaglandin F2, treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim Reprod Sci*; 23:169-180.
104. Keady TWJ, Mayne CS, Fitzpatrick DA, McCoys MA. (2001). Effect of Concentrate Feed Level in Late Gestation on Subsequent Milk Yield, Milk Composition, and Fertility of Dairy Cows. *J Dairy Sci*; 84:1468-1479.
105. Keisler DH, Daniel JA and Morrison CD. (1999). The role of leptin in nutritional status and reproductive function. *J Reprod Fertil Suppl*; 54:425-435.
106. Kesler DJ, Garverick HA, Youngquist RS, Elmore RG and Bierschwal CJ. (1977). Effect of days postpartum and endogenous reproductive hormones on GnRH induced release in dairy cows. *J Anim Sci*; 46:797-803.
107. Kulick LJ, Kot K, Wiltbank MC and Ginther OJ. (1999). Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. *Theriogenology*; 52:913-921.
108. Ladenheim RG, Tesone M and Charreu EH. (1984). Insulin action and characterization of insulin receptors in rat luteal cells. *Endocrinology*; 115: 752-756.
109. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL and Thatcher WW. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci*; 70:3615-3626.
110. Lucy MC, Bilby CR, Kirby CJ, Yuan W, Boyd CK. (1999). Role of growth hormone in development and maintenance of follicles and corpora lutea. *J Reprod Fertil*; 54:49-59.
111. Lucy MC. (2000). Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci*; 83:1635-1647.
112. Lucy MC. (2001). Reproductive loss in high- producing dairy cattle: where will it end?. *J Dairy Sci*; 84:1277-1293.
113. Lucy MC. (2003). Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reprod in dom Rum, V Reprod Suppl*; 61:415-417.
114. Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. (1999). The effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentration in beef heifers. *Biol Reprod*; 61:1901-1607.
115. Mackey DR, Wylie ARG, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. (2000). The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, steroid concentration in beef heifers. *J Anim Sci*; 78:429-442.
116. Macmillan KL and Asher GW. (1990). Developments in artificial insemination and controlled breeding in dairy cattle and deer in New Zeland. *Proc NZ Soc Anim Prod*; 50:123.
117. Majó, MC. (2004). Interpretación de la bioquímica clínica y hematológica en grandes animales. *Boletín 19*. Centro de Diagnostico Veterinario SA. Buenos Aires. 12 p.

118. Malven PV. (1984). Pathophysiology of the puerperium: definition of the problem. En: 10th Int Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination. 10 al 14 de junio, Illinois. pp 1-8.
119. Manston R, Russell AM, Dew SM, Payne JM. (1975). The influence of dietary protein upon blood composition in dairy cows. *Vet Rec*; 96:497-502.
120. Margolles E. (1983). Metabolitos sanguíneos en vacas altas productoras durante la gestación-lactancia en las condiciones de Cuba y su relación con los trastornos del metabolismo. *Rev Cub Cienc Vet*; 14:221-230.
121. Margolles E, Colomé H, Labrada I, Mayari R. (1988). Algunos resultados del perfil metabólico en vacas lecheras en Cuba. *Rev Salud Anim*; 10:228-235.
122. McGuire MA, Dwyer DA, Harrell RJ and Bauman DE. (1995). Insulin regulates insulin-like growth factors and some of their binding proteins in lactating cows. *Anim J Physiol Endocrinol Metab*; 269:723-730.
123. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D y Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reprod*; 127:727-737.
124. Minor DJ, Trower SL, Strang BD, Shaver RD, Grummer RR. (1996). Effects of nonfiber carbohydrate and niacin on periparturient metabolic status and lactation of dairy cows. *J Dairy Sci*; 81:189-200.
125. Molento CFM, Block E, Cue RI and Peticlerc D. (2002). Effects of insulin, recombinant bovine somatotropin, and their interaction on insulin-like growth factor-1 secretion and milk production in dairy cows. *J Dairy Sci*; 85:738-747.
126. Mondschein J, Canning S, Miller D and Hammond J. (1989). Insuline-like factors (IGFs) as autocrine/paracrine regulators of granulosa cell differentiation and growth: studies with a neutralizing monoclonal antibody to IGF-1. *Biol Reprod*; 40:79-85.
127. Montaña EL y Ruiz Cortés ZT. (2005). ¿Por qué no ovulan los primeros folículos dominantes de las vacas cebú posparto en el trópico colombiano?. *Rev Col Cienc Pec*; 18:2.
128. Montiel F. (2001). Actividad ovárica postparto en bovinos de doble propósito en el trópico húmedo mexicano. Tesis Doctoral. FMVZ, UNAM, México.
129. Morales JR, Mika J y Holy L. (1983). Conducta reproductiva de las hembras 3/4 Holstein x 1/4 Cebú. IV. Control Clínico de la actividad ovárica y celo en el postparto. *Rev Cub Reprod Anim*; 9 62-71.
130. Morrow DA, Roberts SJ and McEntee K. (1969). A review of postpartum ovarian activity and involutyion of the uterus and cervix in cattle. *Cornell Vet*; 59:134.
131. Moyá JR, Coppock C. (1997). Efecto del nivel energético inmediatamente antes del parto en el comportamiento de la vaca lechera lactante. *Arch Latin Prod Anim*; 5 (1):161-163.
132. National Research Council, 2001. The nutrient requirement of dairy cattle. 7ª ed. Washington, D.C. National Academic Press; pp 381.
133. Nolan CJ, Bull RC, Sasser RG, Ruder CA, Panlasigui PM, Shoенeman HM and Reeves JJ. (1988). Postpartum reproduction in protein restricted beef cows: effect on the Hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *J Anim Sci*; 66:3208.
134. Oetzel CR. (1997). Challenges to fulfill the requirements of dairy cows in transitation. Seminario Anual de Elanco. México; pp 1-12.

135. Owens FN y Hanson CF. (1992). External and internal markers for appraising site and extent of digestion in ruminants. *J Dairy Sci*; 75:2605-2617.
136. Pérez Marín CC, Rodríguez Artiles I, Dorado J, Hidalgo M, Corral S y Sanz J.(2004). Dinámica folicular ovárica en vacas repetidoras: estudio ecográfico y perfil de progesterona. *Arch Zootec*; 53:35-46.
137. Pierson RA and Ginther OJ.(1988). Follicular populations during the estrous cycle in heifers: III time of selection of the ovulatory follicle. *Anim Reprod*; 16:81-95.
138. Pushpakumara PGA, Gardner NH, Reynolds CK, Beaver DE and Wathes DC. (2003). Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology*; 60 (6):1165-1185.
139. Reist M, Erdin DK, von Euw D, Tschümperlin KM, Leuenberger H, Hammon HM, Morel C, Philipona C, Zbinden Y, Künzi N, Blum JW. (2003). Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. *Theriogenology*; 59(8): 1707-1723.
140. Reksen O, Göhn YT, Havrevoll O, Bolstad T, Waldmann. (2002). Relationships among milk progesterone, concentrate allocation, energy balance, milk yield and conception rate in norwegian cattle. *Anim Reprod Sci*; 73:169-184.
141. Richards MW, Welleman RP, Spicer LJ and Morgan CL. (1991). Nutritional anestrus in beef cows: Effect of body condition and Ovariectomy on serum luteinizing hormone and insulin-like growth factor-1. *Biol Reprod*; 44:961-966.
142. Roberts AJ, Nugent RA, Klindt J and Jenkins TG. (1997). Circulating insulin-like growth factor-1, insulin-like factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J Anim Sci*; 75:190.
143. Roberts SJ. (1986). *Veterinary Obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology)*. 3ª ed. Woodstock. Ed. David and Charles. pp: 981.
144. Roche JF and Boland MP. (1991). Turn over of dominant follicles in cattle of different reproductive states. *Theriogenology*; 35:81-90.
145. Roche JF and Diskin MD. (2000). Resumption of reproductive activity in the early postpartum period of cows. En: *Italian Association for Buiatrics, Vol. XXXII, Stresa* pp 5-7. Mayo de 2000.
146. Roche JF, Mckey D and Diskin MD. (2000). Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci*; 60-61:703-712.
147. Rowland GJ, (1980). A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. *World Rev Nutr Diet*; 35: 172-235.
148. Rutter LM and Randal RD. (1984). Postpartum nutrient intake and body condition: effect on pituitary function and onset of estrus in beef cattle. *J Anim Sci*; 58:265-274.
149. Sakaguchi M, Sasamoto Y, Suzuki T, Takahashi Y and Yamada Y. (2004). Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 87:2114-2121.
150. Sandoval-Castro C, Quijano-Cervera R, Ramírez-Avilés L, Cetina-Góngora R. (2001). Determinación de cromo en heces bovinas: variaciones en los resultados en función de la fuente de heces para la preparación de la curva de calibración. *Rev Biomed*; 12:180-184.

151. Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil*; 83:663-671.
152. Savio JD, Boland MP, Hynes N and Roche JF. (1990). Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J Reprod Fertil*; 88:569-579.
153. Schallenberger E. (1985). Gonadotropins and ovarian esterioids in cattle. III Pulsatile changes of gonadotropin concentrations in the jugular vein postpartum. *Acta Endocrinol*; 109:37-43.
154. Schmidt GH, Van vleek LD. (1974). Principles of dairy science. San Francisco. Ed W.H. Freeman and Company. 558 p.
155. Sirois J and Fortune JE. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod*; 39:308-317.
156. Smith GD, Jackson LM, Foster DL. (2002). Leptin regulation of reproductive function and fertility. *Theriogenology*; 57:66-73.
157. Spicer LJ, Tucker WB and Adams GD. (1990). Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior. *J Dairy Sci*; 73:929-937.
158. Spicer LJ, Enright WJ, Murphy MG and Roche JF. (1991). Effects of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor- 1 in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. *Dom Anim Endocrinol*; 8:431-437.
159. Spicer LJ, Stewart RE. (1996). Interaction among bovine somatotropin, insulin, and gonadotrophins on steroid production by bovine granulosa and theca cells. *J Dairy Sci*; 79:813-821.
160. Spicer LJ. (2001). Leptin: A possible metabolic signal affecting reproduction. *Dom Anim Endocrinol*; 21:521-270.
161. Spicer LJ, Chase CC Jr, Rutter LM. (2002). Relationship Between serum insulin-like growth factor-I and genotype during the postpartum interval in beef cows. *J Anim Sci*; 80:716-722.
162. Stalling CC. (1999). Transition Cow Nutrition. En: Poceedings Virginia Tech. Feed and Nutritional Management Cow College. <http://www.dasc.vt.edu/nutritioncc/ccs99.pdf> Fecha de consulta: 06/08/2006.
163. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. (1990). Relatinship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci*; 73:938-947.
164. Staples CR, Burke JM and Thatcher WW. (1998). Influence of supplemental fat on reproductive tissues and performance in lactating cows. *J Dairy Sci*; 81:856-871.
165. Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE, Dawson LJ, Morgan GL, Echterkamp SE. (1996). Levels of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins, luteinizing hormone and IGF-1 receptors, and steroids in dominant follicles during the first follicular wave in cattle exhibiting regular estrous cycles. *Endocrinology*, 137:2842-2850.
166. Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE. (1995). Effects of insulin-like growyh factor-1 and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone. *J Anim. Sci*; 73(12):3719-3731.

167. Stock AE and Fortune JE. (1993). Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*; 132:1108-1114.
168. Stockdale CR, Roche JR. (2002). A review of the energy and protein nutrition of dairy cows through their dry period and its impact on early lactation performance. *Aust. J. Agric. Res*; 53:737-753.
169. Thatcher WW and Wilcox CJ. (1973). Postpartum estrus as an indicator of reproductive status of the dairy cow. *J Dairy Sci*; 56:608-610.
170. Tilley JMA, Terry RA. (1963). A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J Brit Grass Soc*; 18(21):104-111.
171. Van Saun RJ. (1991). Dry cow nutrition: the key to improving fresh cow performance. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*; 7:599.
172. Van Saun RJ. (1997). Prepartum nutrition: the critical key to diagnosis and management of periparturient disease. En: *Proc 30th Annual Am Asso Bov Pract Conf. Montreal. Setiembre 19.* pp 33-42.
173. Van Saun RJ. (2000). Blood Profiles as Indicators of Nutritional Status. En: 18<sup>th</sup> Annual West Can Dairy Seminar. Red Deer, Alberta. 7 al 10 de marzo. <http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/2000/Chapter33.htm> Fecha de consulta: 15/06/2005.
174. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. (1988). Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*; 71:1063-1072.
175. Von Gravert HO, Langner R, Diekmann L, Pabst K, Shulte-Coerne H. (1986). Ketokörper in Milch als Indikatoren für die Energiebilanz der Milchkühe. *Züchtungskunde*; 58:309.
176. Wathes DC, Beever DE, Cheng ZC, Pushpakumara PGA, Taylor VJ. (2001). Lifetime organisation and management of reproduction in the dairy cow. *Br Soc Anim Sci, Occas Publ*; 28:59-69.
177. Webb R, Campbell BK, Garverick HA, Gong JG, Gutierrez CG and Armstrong DG. (1999)a. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *Reproduction in Domestic Ruminants IV. J Reprod Fertil Suppl*; 54:33-48.
178. Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Robinson RS, Wathes DC. (1999)b. Consequences for reproductive function of metabolic adaptation to load. *Br Soc Anim Sci, Occas Publ*; 24:99-112.
179. Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA and Armstrong DG. (2003). Mechanism regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction in Domestic Ruminants V. Reprod Suppl*; 61:71-91.
180. Webb R, Garnsworthy, PC, Gong J-G and Armstrong DG. (2004). Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci*; 82:E63-E74. [http://jas.fass.org/cgi/content/full/82/13\\_suppl/E63](http://jas.fass.org/cgi/content/full/82/13_suppl/E63) Fecha de consulta: 25/02/2006.
181. Weiss WP. (1997). Nutrition and management of the periparturient cows. En: *Memorias del curso de actualización en nutrición del ganado de leche (LANCE)*. San José, Costa Rica. 9 p.
182. Whitaker DA, Smith EJ, da Rosa GO, Kelly JM. (1993). Some effects of nutrition and management on the fertility of dairy cattle. *Vet Rec*; 133:61-64.

183. Whitaker DA. (2003). Metabolic Profiles. En: Ed. Andrews AH, Boyd H, Blowey RW and Eddy RG. Bovine Medicine. 2<sup>a</sup> ed, Blackwell Publishing, UK, 1230 p.
184. Williams GL and Griffith MK. (1995). Sensory and behavioral control of gonadotropin secretion during suckling-mediated anovulation in cows. *J Reprod Fertil*; 49:463-475.
185. Wiltbank MC, Gtimen A, Sartori R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*; 57:21-52.
186. Wittwer F, Bohmwald H, Contreras P, Phil M and Filoza J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lechros en Chile. *Arch Med Vet (Chile)*; 19:35-45.
187. Wright PJ, Davis KE, Clarke IJ et al. (1988). The effect of undernutrition on the inhibitory effect of oestradiol on plasma LH concentrations in ewes during seasonal anoestrus and during the post partum period. En: 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Dublin, 26 de junio al 1 de Julio. pp 75.
188. Wright PJ and Malmo J. (1992). Pharmacologic manipulation of fertility. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract*; 8(1): 57-89.
189. Yavas Y and Walton JS. (2000). Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*; 54:25-55.
190. Zulu VC, Nakao T, Moriyoshi M, Nakada K, Sawamukai Y, Tanaka Y and Zhang W C. (2001). Relationship between body condition score and ultrasonographic measurement of subcutaneous fat in dairy cows. *As-Aus J Anim Sci*; 14:816-820.
191. Zulu VC, Sawamukai Y, Nakada K, Kida K and Moriyoshi M. (2002). Relationship among insulin like growth factor -1, blood metabolites and postpartum ovarian function in dairy cows. *J Vet Med Sci*; 64(10): 879-885.
192. Zurek E, Foxcroft GR and Kennelly JJ. (1995). Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci*; 78:1909-1920.