



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

REGULACIÓN NUTRICIONAL DEL ESTADO CORPORAL AL INICIO DEL PERIODO DE TRANSICIÓN EN VACAS LECHERAS EN CONDICIONES DE PASTOREO:

Efectos Sobre Producción De Leche, Reinicio De La Ciclicidad Ovárica Posparto y Parámetros Metabólicos

María de Lourdes Adrien Delgado

TESIS DE MAESTRIA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**URUGUAY
2010**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrado

**REGULACIÓN NUTRICIONAL DEL ESTADO CORPORAL AL INICIO DEL
PERIODO DE TRANSICIÓN EN VACAS LECHERAS EN CONDICIONES DE
PASTOREO:**

**Efectos Sobre Producción De Leche, Reinicio De La Ciclicidad Ovárica Posparto y
Parámetros Metabólicos**

María de Lourdes Adrien Delgado

**Dra. Ana Meikle
Director de Tesis**

**Ing. Arg. Diego Mattiauda
Co-director**

2010

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE

DEFENSA DE TESIS

Daniel Cavestany, DMV, PhD
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República, Uruguay

Pablo Chilibroste, Ing. Agr. PhD
Facultad de Agronomía
Universidad de la República, Uruguay

Guillermo Milano, DMV
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional Centro de la Provincia de Buenos Aires, Argentina

2010



FACULTAD DE VETERINARIA
Programa de Posgrados
ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS
DE MAESTRÍA en PRODUCCIÓN ANIMAL

“ Endocrinología metabólica de la vaca lechera en transición sobre pastoreo controlado: efectos de diferentes balances energéticos al parto.”

Por: Dra. Lourdes Adrien Delgado

Directora de tesis: Dra. Ana Meikle

Tribunal

Presidente: Dr. Daniel Cavestany

Segundo Miembro: Dr. Guillermo Milano

Tercer Miembro: Ing. Agr. Pablo Chilibroste

Resultado: Aprobada

Montevideo, 5 de marzo de 2010

AGRADECIMIENTOS

A toda mi familia, mis padres, hermano, cuñada y sobrinos por el apoyo recibido como siempre.

A la Dra. Ana Meikle por su dedicación y su preocupación constante por mi formación.

Al Ing. Diego Mattiauda por su dedicación y preocupación por mi formación.

Al Ing. Enrique Cairus, Jefe de Operaciones de la EEMAC, por su incondicional apoyo como exjefe y compañero de trabajo. Así como el apoyo durante el trabajo de campo realizado en dicha Estación experimental.

A la Ing. Agr. María de los Ángeles Bruni. Por su apoyo hacia mi formación como exdirectora de la EEMAC.

A todos los becarios y tesistas que colaboraron en la implementación del experimento: Gianni Motta, Virginia Artegoitia, Carolina Carballo y Martín Claramunt, María Marcela Farías Santos y Edgar Silva.

A la Ing. Agr. Mariana Carrquiry por su invaluable apoyo.

A los funcionarios de la sección del tambo de la EEMAC que fueron piezas claves para llevar adelante el trabajo de campo.

Al Dr. Jorge Moraes por su apoyo constante e incondicional para terminar mi maestría como director del Departamento que hoy día integro.

Al Dr. Alfredo Ferraris por su apoyo en el trabajo de campo y por su colaboración incondicional como jefe y amigo.

Al Dr. Eduardo Blanc por su apoyo en el trabajo de campo y por su colaboración como compañero de trabajo en la Facultad de Veterinaria.

Al Dr. Rodolfo Rivero por permitirme ingresar al Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE y realizar allí mi pasantía y por su apoyo incondicional en esta etapa.

Al Dr. Gonzalo Uriarte por la realización de análisis de metabolitos en la DILAVE central.

Al Ing. Agr. Oscar Bentancur por su imprescindible apoyo en el análisis estadístico de los datos de esta tesis.

A todo el personal del Laboratorio de Técnicas Nucleares que siempre estuvieron a disposición de mi persona siempre que lo necesité.

A todos mis compañeros docentes de Facultad de Veterinaria de Paysandú: Dres. Liber Acosta, Julio Olivera, Sergio Fierro, Oscar Feed, Jorge Gil y los Ing. Agr. Gonzalo Oliveira, Ramiro Zanoniani y Martín Claramunt.

INDICE

1) Resumen.....	1
2) Summary.....	1
3) Introducción.....	1
4) Antecedentes específicos.....	3
a) Caracterización de la producción de leche en el Uruguay.....	3
b) Eficiencia reproductiva: efectos sobre las empresas agropecuarias.....	4
c) Periodo de transición en la vaca lechera: perfiles metabólicos y endocrinos.....	5
d) Anestro posparto: características y factores que lo afectan.....	7
e) Estado corporal en el periparto: efectos sobre la producción de leche y la reproducción.....	9
5) Planteamiento del problema y objetivos.....	10
6) Materiales y métodos.....	11
7) Análisis estadístico.....	15
8) Resultados.....	16
a) Estado corporal y peso vivo.....	16
b) Producción de leche y composición.....	21
c) Ácidos grasos no esterificados y β - hidroxibutirato.....	22
d) Proteínas totales, albumina, urea y colesterol.....	23
e) Insulina.....	25
f) Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I).....	26
g) Reinicio de la ciclicidad ovárica posparto.....	27
9) Discusión.....	28
10) Conclusiones.....	31
11) Referencias bibliográficas.....	32

1) RESUMEN

Se investigó el efecto de diferentes estados corporales a los 30 días antes del parto (-30 dpp) inducida por un manejo nutricional diferencial desde -100 dpp hasta -30 dpp sobre los parámetros productivos, los días a la primera ovulación y los parámetros sanguíneos en vacas primíparas (L1, n=30) y multíparas (L2, n=32), raza Holando en condiciones de pastoreo. Las vacas tuvieron similares escore de estado corporal a los -100 dpp y difirieron después del tratamiento nutricional, pero todos los grupos presentaron un estado corporal similar a los 21 dpp. La producción de leche corregida por grasa fue mayor en vacas de alto estado corporal (23 ± 0.7 vs 20.9 ± 0.8 para L1 y 27 ± 0.7 vs 25 ± 0.8 para L2). La probabilidad de días para la primera ovulación fue afectada por el estado corporal anidado a la paridad ($P=0.13$) los días 30 y 50 posparto. El tratamiento afectó varios perfiles metabólicos/endocrinos de acuerdo a la paridad, lo que sugiere que las reservas metabólicas señalan el eje productivo/reproductivo con el fin de provocar una partición de nutrientes diferencial en vacas adultas frente a vacas de primer parto. El hallazgo más interesante de este estudio fue que la diferencia más pequeña en la puntuación de estado corporal inducido entre los grupos (0,5 puntos en una escala de 1 a 5) tuvo efectos relevantes en la probabilidad del día a la primera ovulación y en la leche corregida por grasa al 4%.

2) SUMMARY

We investigated the effect of different body condition score at 30 days before calving (-30 dpp) induced by a differential nutritional management from -100 dpp until -30 dpp on productive parameters, the days to first ovulation and blood parameters in primiparous (L1, n=30) and multiparous (L2, n=32) Holstein cows under grazing conditions. Cows had similar body condition score at -100 dpp and differ after the nutritional treatment, but all groups presented a similar body condition score 21 dpp. Fat corrected milk production was higher in high body condition cows (23 ± 0.7 vs $20.9\pm 0.8L$ for L1 and 27 ± 0.7 vs $25\pm 0.8L$ for L2). The probability of days to first ovulation was affected body condition within parity at 30 and 50 days postpartum. Treatment affected various endocrine/metabolic profiles according to parity; suggesting that the metabolic reserves signal the productive/reproductive axis so as to provoke a differential nutrient partitioning in adults cows vs first-calving cows. The more interesting finding of this study was that the rather small difference in the induced body condition score among groups (0.5 points in a 1 to 5 scale) had relevant effects on the probability of cycling and fat corrected milk production.

3) INTRODUCCIÓN

Durante la lactancia temprana, el principal reto que enfrentan las vacas, es un aumento súbito y marcado de los requerimientos de nutrientes para la producción de leche, en un momento cuando el consumo de materia seca y por lo tanto el suministro de nutrientes, se atrasan respecto a los requerimientos (Drackley. 1999). Por otra parte, la disminución del consumo que caracteriza el período de transición, puede llegar hasta un 30%, siendo esta una de las causas del balance energético negativo (BEN), (Grummer. 1995;

Grummer et al. 2004). Este período de BEN se caracteriza por la movilización de la grasa que se refleja en con una elevación de las concentraciones circulantes de los ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Pedron et al. 1993; Ingvarsen & Andersen. 2000; Burke y Roche. 2007), que se acompaña a menudo con un aumento de la producción de β -hidroxibutirato (BHB) (Whitaker et al. 1999).

La evaluación del estado corporal (EC) al momento del parto, y el grado de pérdida de EC entre el parto y el nadir tienen profundos efectos en la producción de leche en vacas lecheras en pastoreo (Roche et al. 2007). Estos autores sugirieron que el EC óptimo al momento del parto para maximizar la producción de leche fue de 3,5 (en una escala de 5 puntos). El EC preparto tienen efectos positivos en el pico de producción de leche, la leche y leche corregida por grasa al 4%: por cada unidad de incremento en EC a las 8 semanas preparto, la producción de leche a los 60 días y la leche corregida por grasa al 4% determinó un aumento lineal de 32,5 y 55,8 kg/vaca/día, respectivamente, y a los 270 días, la producción de leche y leche corregida al 4% se incrementó de 89,2 y 114,0 kg/vaca/día, respectivamente (Roche et al. 2007).

Además, una pérdida importante de EC tiene efectos negativos sobre la reproducción: las vacas que pierden un punto de EC durante la lactancia temprana tienen alto riesgo de infertilidad, con tasas de concepción del 17% al 38% (Butler. 2000). Es aceptado que las vías endocrinas que informan sobre el estado metabólico al eje reproductivo incluyen la insulina y el factor similar a la insulina tipo I (IGF-I) (Kawashima et al. 2007). Wathes et al. (2007a) reportó en condiciones de confinamiento, que la concentración de IGF-I y de insulina descendió antes y alrededor del parto respectivamente y alcanzaron la concentración más baja a las 2-3 semanas después del parto. En las vacas en pastoreo, la concentración de insulina empezó a disminuir antes del parto, las concentraciones mínimas fueron encontrados alrededor del parto, pero los niveles se recuperaron totalmente en el día 30 después del parto (Meikle et al. 2004). La reducción de las concentraciones de IGF-I se asocian con anestro posparto largo, quistes ováricos, y cuerpo lúteo persistente en las vacas lecheras en sistemas de producción en condiciones de confinamiento (Taylor et al. 2004; Roberts et al. 1997; Königsson et al. 2008) y en pastoreo (Meikle et al. 2004). Sin embargo, Wathes et al. (2007b) reportaron que las concentraciones de IGF-I no estaban relacionadas con el comienzo de la actividad luteal en la semana -1, -2 y 2 a las 8 semanas posparto. Del mismo modo, Taylor et al. (2003) encontró que las concentraciones de insulina de 2 semanas antes del parto a 20 semanas al momento del parto no fue diferente entre las vacas que presentaron ovulación prematura o tardía.

Por otra parte, la paridad tiene un efecto sobre la duración del anestro posparto: a pesar de presentar el mismo EC al momento del parto, las vacas primíparas (L1) presentaron anestro posparto más prolongado que las múltiparas (L2), tanto en confinamiento (Tanaka et al. 2008) como en sistemas de producción de pastoreo (Meikle et al. 2004). Sin embargo, hay trabajos que no han encontrado ningún efecto de la paridad (Cavestany et al. 2009) o incluso que las vacas L1 presentaron anestro más corto que las vacas L2 (Kawashima et al. 2006). Además, se ha reportado que la concentración de hormonas difiere de acuerdo a la paridad. Las concentraciones de IGF-I fueron mayores en L1 que en las vacas L2, antes y después del parto en condiciones de confinamiento

(Taylor et al. 2004; Wathes et al. 2007a). En cambio, lo contrario ha sido determinado bajo condiciones de pastoreo (Meikle et al. 2004). Dado que varios factores afectan el medio endocrino, estos resultados contradictorios podrían deberse a diferencias en el manejo de los animales, principalmente en los aspectos relacionados con la nutrición.

La mayoría de los reportes sobre el efecto del EC en los parámetros productivos y reproductivos se basan en una clasificación de las vacas de acuerdo al estado corporal al parto (Meikle et al. 2004; Gallo et al. 1996; Patton et al. 2007) y/o en el momento de la iniciación del período de transición (Shrestha et al. 2005). No se encontraron reportes sobre el efecto inducido (por ejemplo controlado) del EC en el inicio del período de transición sobre las respuestas productivas y reproductivas, por lo que los hallazgos previamente reportados podrían ser el resultado de una capacidad diferencial de los animales para hacer frente a un balance energético negativo durante este período. Además, considerando que las vacas de primer parto aun no han finalizado su propio crecimiento hipotetizamos que la partición de nutrientes – determinada en este trabajo a través de los parámetros productivos, endocrinos y metabólicos – en vacas con alto y bajo EC es diferente en vacas primíparas vs multíparas.

4) ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

a. Caracterización de la Producción de leche en el Uruguay

La producción de leche se ha duplicado en la última década (1990 al 2001, incremento de 699 a 1582 millones de litros). El número de establecimientos lecheros se redujo (6500 en 1990 a 3600 en el 2007/2008) siendo mayor la desaparición de los establecimientos de menos de 50 ha. El total de animales destinados a la producción lechera en 2007/08, fue de 744 mil cabezas bovinas. Las exportaciones de productos lácteos en 2008, tuvieron un valor de 434 406 miles de U\$S (dólares americanos), lo que representa 7.6% del total de las exportaciones de origen agropecuario. En nuestro país por tratarse de un sistema pecuario de base pastoril, la producción de leche acompaña la producción estacional de las pasturas dándose en primavera el máximo de producción de leche, seguida por los meses de otoño (DIEA. 2009).

La dinámica de los sistemas de producción lechera ha estado caracterizada por un proceso de permanente intensificación productiva. Si bien el aporte forrajero fundamental proviene de praderas, la demanda de reservas ha registrado a nivel de los tambos un crecimiento permanente. En relación al origen de las reservas, en la primavera se generan excedentes de praderas y de algunos cultivos invernales, siendo su destino mayoritario la realización de fardos y en segundo lugar henilajes y ensilajes. En otoño se cosechan los cultivos estivales implantados, caracterizados por una alta producción de materia verde y cuyo destino fundamental es la realización de ensilajes de planta entera y/o grano húmedo y en segundo lugar la producción de grano seco para suplementación (DIEA. 2009).

En Uruguay se ha reportado que el 60% de los tambos tienen sistema de parición continua, pero que los mismos comprenden tambos de menos de 200 ha y el 40%

restante presenta parición estacional en otoño. Lo que es de resaltar también es que los tambos de parición estacional de otoño aportan el 61% de la leche remitida (DIEA. 2009).

En investigaciones nacionales llevadas a cabo con partos de otoño, se ha llegado a la conclusión de que se produce una baja producción de leche en el posparto temprano, no alcanzando los picos potenciales de producción (Chilibroste et al. 2003). El otoño se transforma en la estación crítica ya que coincide el fin del ciclo de la oferta de verdes de verano y praderas, con la siembra de verdes de invierno y nuevas praderas, y con el inicio de la estación de crecimiento de otoño-invierno de las praderas de segundo y tercer año que representan una baja proporción del área potencial de pastoreo. Por tanto, es una estación crítica para la producción de forraje y leche en los sistemas lecheros (Chilibroste et al. 2003; Ernst. 2004). Estos sistemas de producción por tanto, están caracterizados por no alcanzar el máximo potencial de los recursos, pasturas y animales, siendo el otoño la época de partos más vulnerable a producir menos con una mayor brecha entre requerimientos y oferta de alimentos, siendo ésta época de estudio de este trabajo de tesis.

b. Eficiencia reproductiva: efectos sobre las empresas agropecuarias

Producir un ternero a intervalos regulares es un prerrequisito para obtener una performance de la lactación rentable (Royal et al. 2000). Si la meta reproductiva es lograr un intervalo entre partos de 12 meses (Louca & Legates. 1976), el intervalo parto concepción (IPC) es quien lo determina, ya que la longitud de la gestación es constante.

El intervalo parto primer servicio (IPS) está influenciado por tres factores: 1) el período de espera voluntario luego del parto, 2) el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto y 3) la eficiencia en la detección de celos. Si el IPS es largo se puede deber a una falla en la detección de celos, en el registro de éstos o a un anestro posparto prolongado. Si el IPC es largo se puede deber a un problema en el semen que se está utilizando, a la técnica de IA o a los puntos mencionados anteriormente (Cavestany. 2000).

Por otra parte, la primera ovulación ocurre entre los días 14 y 35 posparto y por lo menos el 50 % de las vacas presentan ovulación silenciosa (Schams et al. 1978). Para que el celo se manifieste, además de tener niveles de estradiol significativos, es necesario que la vaca haya tenido previamente concentraciones elevadas de progesterona (Gatica. 1993).

A nivel internacional, Lucy (2001) reporta que en los establecimientos lecheros de Estados Unidos ha aumentado el número de animales en el rodeo (por encima de los 200 animales) y que este incremento crea un nuevo paradigma para el manejo reproductivo. Las vacas lecheras modernas (Década del 90 en adelante) tienen largos intervalos a la primera ovulación, alta incidencia de anestro y fases luteales anormales, baja concentración de progesterona e IGF-I en sangre, aumento de las ovulaciones múltiples, tasas melliceras y grandes pérdidas embrionarias. Según Roche & Diskin (2005), la baja eficiencia reproductiva afecta la rentabilidad debido a: largos IEP con menos leche y menor número de terneros por año, un aumento del descarte por fallas reproductivas que

reduce en el progreso genético y aumenta a su vez los costos por reemplazos, las bajas tasas de concepción que aumentan los costos de inseminación y vacas con largos períodos secos o con bajas lactancias que pueden llevar a tener vacas en excesivo EC con subsecuentes problemas reproductivos.

En Uruguay, existen dos problemas diagnosticados, el anestro posparto y la falla en la detección de celos (Ibarra. 2002). Además en la encuesta realizada por CONAPROLE ("Leche Invierno 2002") con información de los servicios de otoño de 2001 se reporta que el IPC fue de 147 días, con un porcentaje de preñez de 67.7%. Por otro lado, Según la encuesta 2007, el 23% de las explotaciones tienen IEP de 12 meses, el 54% entre 13 y 14 meses y el 23% restante, 15 meses (DIEA. 2009). Un alargamiento del IEP, determinado principalmente por anestro posparto y falla en la detección de celos, provoca la pérdida de 36, 142, 245 y 317 litros de leche al año/vaca, si se extiende por 10, 20, 30 o 40 días, respectivamente (Cavestany. 2004).

c. Periodo de transición en la vaca lechera: perfiles metabólicos y endocrinos

En la vaca lechera ocurren eventos claves que se enmarcan bajo el término de teleforesis u homeoiresis, definido por los autores Bauman & Currie. (1980) como: "la coordinación de los cambios en el metabolismo de los tejidos corporales, necesarios para soportar una etapa fisiológica". Estos eventos ocurren mayormente durante el periodo de transición y durante la lactancia temprana.

Esta transición de la gestación tardía, a la lactación temprana, es la etapa más interesante del ciclo de lactación (Drackley. 1999). La longitud de este periodo es variable según autores, pero Grummer (1995), lo ha definido como el periodo correspondiente a las tres semanas previas al parto y las tres semanas posteriores a éste. Durante el mismo, la gestación, el descenso del consumo de materia seca durante la gestación tardía, la lactogénesis y el parto tienen dramáticos efectos en el metabolismo de vacas lecheras. Sumado a esto, la mayoría de los desordenes de la salud de los animales ocurren durante éste período (Drackley. 1999).

Como se mencionó anteriormente, ocurre un descenso en el consumo de materia seca pudiendo llegar a una reducción del 30% antes del parto, generando un balance negativo de nutrientes (Grummer. 1995). Esta caída es aún mayor en vaquillonas que en vacas (Grummer et al. 2004) y esto es más grave ya que las mismas tienen mayores requerimientos, debiendo de afrontar la preñez y su propio crecimiento.

El déficit energético se genera por un desequilibrio entre los aportes y los requerimientos del momento. Estos requerimientos aumentan en el último tercio de la gestación por el crecimiento fetal, y luego del parto sufren un aumento aún mayor debido a la producción láctea. Todos estos eventos que la vaca debe de contrarrestar están mediados o desencadenan cambios a nivel endocrino y metabólico que caracterizan este periodo. La

glucosa es utilizada prioritaria y obligatoriamente por la glándula mamaria de manera que, la consecuencia del déficit de energía es la movilización de los depósitos de grasa, con la liberación de ácidos grasos libres en sangre. Una parte de éstos aparecen por un lado en la leche y provoca un aumento de la grasa en la misma y también un aumento de los depósitos grasos en hígado, pudiendo provocar degeneración grasa (Lotthamer. 1992).

Las adaptaciones para afrontar el periodo de transición, suceden principalmente a nivel del tejido adiposo, hígado, músculo, intestino y glándula mamaria. Diez días antes del parto se produce un incremento de los NEFA que puede preceder al descenso en el consumo de materia seca. Drackley (2000) establece que la lipólisis ocurre por un balance energético negativo o en respuesta al estrés. El inicio de la lipólisis es catalizada por la activación de una enzima que es la lipasa, que es estimulada por varias hormonas que tienen un rol primordial en la redistribución de nutrientes.

Meikle et al. (2004, 2006) demostraron el perfil de los NEFA para las vacas y vaquillonas en condiciones pastoriles. En ambas categorías se elevaron al parto, pero las primíparas presentaron mayores niveles de NEFA en sangre. En acuerdo con este perfil, las vacas primíparas presentaron más muestras con concentraciones mayores a 1 mmol/L de BHB indicativas de cetosis subclínica (Meikle et al. 2004). Además este incremento en los niveles de NEFA y BHB, es consistente con el descenso del EC (Meikle et al. 2006). Las enzimas hepáticas (AST: aspartato amino transferasa, LDH: Lactato deshidrogenasa y GLDH: Glutamato deshidrogenasa), aumentan luego del parto, evidenciando el estado catabólico (Reist et al. 2003).

Los severos cambios que generan el balance energético negativo están asociados con cambios en el eje la hormona de crecimiento (GH), existiendo una desregulación en el hígado de los receptores de dicha hormona (Andersen et al. 2004). Este estado se caracteriza por altos niveles de GH y baja producción del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I) por existir una baja concentración de receptores para GH en el hígado para estimular la producción de IGF-I. A su vez, estos bajos niveles de IGF-I no logran inhibir la secreción de GH lo que caracteriza una mayor producción de GH y por ende el desacople del eje somatotrófico.

Teniendo en cuenta lo que sucede con las concentraciones de IGF-I entorno al parto, el IGF-I es un indicador del estado energético y juega un rol importante en el control del metabolismo y la reproducción (Taylor et al. 2004). Las concentraciones de las hormonas tiroideas, insulina e IGF-I se mantienen bajas durante el periparto acompañando las concentraciones altas de BHB y NEFA (Meikle et al. 2004). La concentración de IGF-I se recupera durante el posparto y evidencia el balance energético negativo del animal: vacas con un peor balance energético presentan menores concentraciones de IGF-I (Meikle et al. 2004). Roche et al. (2005) establecieron que las vacas que son subalimentadas en el preparto movilizan reservas corporales y tienen altas concentraciones de GH, NEFA y BHB, y bajas concentraciones de IGF-I, glucosa, insulina y leptina antes del parto. Además en las primeras 20 semanas posparto, las vacas que presentan peor balance energético, presentan menores concentraciones de insulina, IGF-I y T3 y mayores de GH (Reist et al. 2003). Wathes et al. (2007a) reporta

que la concentración de insulina desciende alrededor del parto y que llega a la concentración mínima 2 a 3 semanas posparto en vacas en condiciones de confinamiento y que la concentración de IGF-I decae en el preparto, alcanzando el mínimo 2 a 3 semanas posparto.

Por otro lado, existen diferencias en las concentraciones de insulina e IGF-I en plasma según la paridad. La concentración de IGF-I es mayor en vacas primíparas con respecto a las multíparas antes y después del parto (Taylor et al. 2004 y Wathes et al. 2007a). Sin embargo esto es opuesto a lo reportado por Meikle et al. (2004), ya que las multíparas tuvieron mayor concentración en condiciones de pastoreo. Wathes et al. (2007a) reportan que las diferencias encontradas entre las concentraciones de IGF-I entre vacas de sistemas de confinamiento del Reino Unido y los de Uruguay, pueden estar explicadas por diferencias de manejo y/o genéticas entre continentes pudiendo tener un efecto importante en la relativa madurez con que las vacas tienen su primer parto y la subsecuente respuestas en las futuras lactancias.

d. Anestro posparto: características y factores que lo afectan

El anestro es el resultado de una insuficiente liberación de GnRH desde el hipotálamo para estimular y mantener la secreción de gonadotrofinas (Senger. 2003). La condición del anestro está caracterizada por el crecimiento de folículos que se atresian y que no llegan a un tamaño preovulatorio (Wiltbank et al. 2002).

Además es conocido que la nutrición afecta los pulsos de la hormona luteinizante (LH), lo que a su vez determina la concentración de estradiol producida por el folículo dominante. El estradiol es un factor clave en determinar si se establecerá o no un feed-back positivo con la GnRH y por ende su concentración determinará la magnitud de los niveles de LH y de la hormona folículo estimulante (FSH), y si el folículo dominante llegará a ovular o a la atresia (Roche & Diskin, 2005). Existe una clara evidencia de que la subnutrición actúa incrementando la sensibilidad del hipotálamo al feed-back negativo provocado por los estrógenos (Wiltbank et al. 2002).

Beam & Butler (1998) estudiaron el balance energético, el desarrollo folicular y los días a la primera ovulación en vacas en condiciones de estabulación suplementadas con distintos niveles de grasa en dietas posparto. Clasificaron el patrón de desarrollo folicular en tres tipos: 1) ovulación de la primera onda folicular, 2) regresión de la primera onda y el desarrollo de ondas adicionales y 3) desarrollo de quistes foliculares. En primer lugar observaron una correlación positiva entre los días a la primera ovulación y los días donde ocurrió el peor balance energético. El diámetro del folículo dominante (FD) no se diferenció entre las vacas que ovularon y aquellas que sufrieron atresia de FD de la primera onda, sin embargo las concentraciones de estrógenos fueron menores para éstas últimas. También encontraron mayores concentraciones de IGF-I (entre los días 1-14 posparto) en las vacas que ovularon. Sin embargo, Noseir (2003) estableció diferencias entre los folículos que ovulan y los que se atresian: los primeros tienen un diámetro mayor 10 mm y determinan una mayor concentración de estradiol plasmática. Lucy (2000) expresa que la función ovárica posparto probablemente dependa de la pulsatilidad de la LH y de la concentración de IGF-I en sangre. La contribución de cada

hormona para una función normal, sería difícil de establecer, pero ambos factores se incrementan en el posparto cuando se incrementa la nutrición.

El balance energético negativo durante las primeras 3-4 semanas posparto está altamente correlacionado con los días a la primera ovulación, por lo tanto la longitud de éste intervalo representa una importante interacción del estatus energético y la performance reproductiva. Kadokawa et al. (2006), provocaron balance energético negativo a un grupo de vacas y detectaron correlación positiva entre la frecuencia de los pulsos de LH y el BEN; así como también entre la frecuencia de los pulsos de LH y los niveles de leptina.

Las vacas que pierden un punto o más de EC durante la lactación temprana, tienen mayor riesgo de tener menor fertilidad con tasas de concepción que van desde 17 a 38%, según lo reportado por varios estudios (Butler. 2000). Butler et al. (1981) establecieron que el intervalo a la primer ovulación fue de 36 días y que estaba influenciado por el BEN o sea que a mayor BEN, mayor cantidad de días a la primera ovulación. En promedio la primera ovulación ocurrió a los 10 días del nadir del balance energético. Sin embargo, Patton et al. (2007) no demostraron asociación entre el momento en que ocurrió el nadir del balance energético y el momento del inicio de la actividad luteal, explicado esto por la escasa variación entre las vacas, ya que el 80% de las mismas tuvieron el nadir a la primera semana posparto.

Por otro lado, Pushpakumara et al. (2003) encontraron que las vacas con ciclos anormales posparto, fueron las que presentaron menor EC al parto, menores niveles de IGF-I y altos niveles de GH. Esto fue coincidente con Adrien et al. (2006), donde los animales con peor EC a los 10 días previos a la primera ovulación, demoraron más en reiniciar la ciclicidad ovárica posparto.

En trabajos nacionales se han reportado intervalos a la primera ovulación para vaquillonas en condiciones pastoriles de 12 a 48 días (Blanc et al. 2002). Posteriormente, Adrien et al. (2006), determinaron una longitud al reinicio de la ciclicidad ovárica de 30 ± 12 días para vacas primíparas en condiciones de pastoreo.

También se ha asociado la frecuencia en los ordeños con el día a la primera ovulación, vacas ordeñadas una vez por día tuvieron anestros mas cortos que aquellas ordeñadas tres veces por día, sin afectar el intervalo parto concepción (Patton et al. 2007). Esto surge de la idea de que a mayor frecuencia de ordeño, mayor demanda de energía para producir leche, pero estos autores reportan que no existió asociación entre la producción de leche y la función reproductiva, y existió una relación positiva entre el contenido de proteína de la leche y parámetros reproductivos tales como tasa de concepción y reinicio de la ciclicidad ovárica posparto.

Otro factor importante que puede afectar el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto es la paridad: las vaquillonas demoran más en reiniciar su actividad con respecto a vacas adultas, ya que además de los requerimientos para la producción de leche, deben de destinar nutrientes para completar su desarrollo corporal (Cavestany, 2004). Esto coincide con otras investigaciones nacionales como las de Meikle et al. (2004), en las

que las vacas primíparas presentaron un intervalo parto primera ovulación más prolongada. Las vaquillonas demoraron 50 días más en reiniciar su ciclicidad (estimado como intervalo parto-primer servicio o como probabilidad de recibir servicios) con respecto a las vacas adultas en el relevamiento de Ibarra & Chilbroste (2004) realizado a gran escala y en 37 predios comerciales. Evaluando la probabilidad de recibir servicios en distintas etapas en el posparto, encontraron que a los 60 días posparto (dpp) existe un bajo número de vacas que pueden recibir servicios (16-33%), entre los 60-120 el número se eleva, pero la mayoría de las mismas son vacas multíparas, mientras que a los 120 dpp se encuentran la mayoría de las vacas primíparas (40%).

Tanto la insulina como el IGF-I están vinculados al anestro posparto, tanto Taylor et al. (2004), como Meikle et al. (2004) determinaron una correlación negativa entre IGF-I y la longitud del anestro: vacas con niveles mayores de IGF-I reiniciaron su ciclicidad ovárica posparto rápidamente. Sin embargo, Patton et al. (2007) para condiciones de estabulación reportaron una asociación positiva entre las concentraciones de IGF-I desde el día 1 a 14 posparto con el comienzo de la actividad luteal, pero no hubo relación con la concentración de insulina plasmática.

En resumen, el anestro posparto está influenciado por el balance energético generado en los animales a partir de los aportes de la dieta y los requerimientos energéticos para la producción y mantenimiento (Butler et al. 1981; Beam & Butler. 1998; Lucy. 2001). El balance energético y sus consecuencias se reflejan a través de la evolución del EC de las vacas (Blanc et al. 2002; Butler. 2000 e Ibarra & Chilbroste. 2004). También la paridad afecta el reinicio, siendo las vacas primíparas las de anestro más prolongado (Cavestany. 2004)

e. Estado corporal en el periparto: efectos sobre la producción de leche y la reproducción

En un relevamiento en 31 tambos comerciales de Uruguay remitentes a CONAPROLE, se concluyó que en los últimos 15 días preparto, ya sea vacas primíparas como multíparas, pierden EC, llegando al parto con niveles inferiores a los deseables (ideal 3.5-3.75, Ibarra & Chilbroste. 2004; ≥ 3 a 4, Krall & Bonnacarrere. 1997). Además de existir una correlación negativa entre el EC y la longitud del anestro posparto; las vacas con menor EC demoraron más en reiniciar su actividad reproductiva.

En reportes nacionales e internacionales existen muchos estudios en los cuales se ha tomado en cuenta la evaluación del EC de las vacas en el periparto (previo, al momento y posterior al parto) y su vinculación con parámetros metabólicos, endocrinos, productivos y reproductivos.

Como ejemplo de estudios a nivel nacional en condiciones pastoriles, Meikle et al. (2004), seleccionaron animales con alto y bajo EC al parto y se estudiaron la vinculación entre el score de EC con parámetros productivos, metabólicos, endocrinos, hormonales y reproductivos. Estos últimos autores demostraron una relación entre el EC al parto y concentraciones de leptina e IGF-I, vacas con $EC \geq 3$ tuvieron mayores concentraciones y a su vez una caída más abrupta inmediatamente luego del parto, respecto a vacas con

menor EC. A su vez demostraron una pérdida de EC más abrupta en el parto en vacas primíparas con respecto a multíparas. No encontraron un efecto del EC sobre la producción de leche, ni en primíparas, ni multíparas. Las vacas primíparas y con $EC \leq 3$ tuvieron un anestro más prolongado.

Waltner et al. (1993) en condiciones de estabulación establecieron una relación positiva entre EC al parto y la producción de leche a los 90 dpp, pero con ciertas limitantes. Incrementos de 2 a 3 puntos (escala 1=flaca y 5=gorda) de EC representaron incremento de 322 Kg de leche, de 3 a 4 puntos, incremento de 33 kg, pero incrementos mayores de EC significaron pérdida de producción de leche de 223 kg. Esto estaría relacionado con que vacas de mayor estado movilizarían mayor cantidad de reservas con liberación excesiva de NEFA que significarían un descenso en el consumo de materia seca. Estos últimos autores concluyen que la cantidad de reservas grasas al parto podrían ser un factor limitante en alcanzar el potencial de producción. Respecto a variables reproductivas, los autores no evaluaron el reinicio de la ciclicidad ovárica posparto, pero si enfermedades reproductivas (metritis, retención de placenta, ovarios quísticos, piometra) e intervalo a la primera IA y a la concepción, no encontrando relación entre el EC al parto y las mismas.

En condiciones de confinamiento, Pedron et al. (1993) estudiaron la relación entre el EC al parto y demostraron que vacas que parían con EC de 3, 3.5 y 4 (escala de 1=flaca y 5=gorda), tenían una pérdida máxima durante la lactancia de EC de 0.6, 0.8 y 1.05; respectivamente. Pero no se demostró relación entre el EC al parto con la producción de leche, ni con parámetros reproductivos (días abiertos, IPC, intervalo parto primera IA). Reportando que la movilización de lípidos soporta la síntesis de leche durante la lactación temprana.

Patton et al. (2007) reportaron una asociación positiva entre el EC al momento de la primera inseminación artificial con las tasas de concepción al primer servicio.

En los predios lecheros de Uruguay, no está claro que los productores tengan en cuenta todos estos acontecimientos que ocurren en el periodo de transición. En los relevamientos nacionales surge la información de que, las vacas de primer parto como las multíparas, llegan al parto o manteniendo el EC con el que fueron secadas o inclusive, perdiendo EC, llegando en BEN al parto, hipotecando producción de leche y enlenteciendo el reinicio de la ciclicidad posparto (Chilibroste et al. 2004).

5) PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

El estado corporal es una herramienta útil para el seguimiento del balance energético de los animales, que se puede utilizar para monitorear el estado de salud del rodeo a nivel de los sistemas comerciales. El anestro posparto es la primer limitante en el logro de una buena eficiencia reproductiva a nivel de rodeo y es conocido – tanto a nivel internacional como nacional – el impacto negativo de un mal EC sobre el mismo. Como se ha mencionado anteriormente, este efecto parece ser aun más importante en vacas primíparas que en multíparas.

No hemos encontrado reportes que estudien el impacto del grado de reservas (EC) inducido sobre los parámetros productivos y reproductivos. La mayor parte de los reportes encontrados clasifican los animales al parto o al momento del inicio de la transición, por lo que las variables de respuesta descritas (producción, reproducción) pueden ser afectadas por capacidades inherentes del animal a enfrentar en mejor o peor medida el estrés metabólico que implica la vaca lechera en transición (es decir, el EC es también una variable de respuesta de esta capacidad).

Por lo tanto la hipótesis del trabajo fue que tanto la paridad y el EC inducido en el inicio del período de transición afectan el rendimiento productivo y los días a la primera ovulación, y que esto está reflejado en una respuesta diferencial del sistema endocrino y medio ambiente metabólico. Hipotetizamos que vacas en mejor EC, tendrían la mayor producción de leche y mejor resultado reproductivo (anestros más cortos) y a su vez vacas multíparas tendrán una mejor performance que las primíparas.

El objetivo general de esta tesis fue contribuir al conocimiento de la endocrinología metabólica de la vaca lechera y más específicamente determinar el efecto diferencial del EC logrado un mes antes de la fecha probable de parto sobre la producción de leche, perfiles metabólicos y endocrinos y sobre el día a la primera ovulación en vacas raza Holando, primíparas y multíparas en condiciones de pastoreo.

Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- ❖ Determinar los efectos del EC al inicio del periodo de transición en vacas primíparas y multíparas sobre:
 - Parámetros productivos (producción y composición de la leche) y reproductivos (reinicio de la ciclicidad ovárica posparto) y
 - Los perfiles metabólicos (NEFA, BHB, colesterol, proteínas totales, albumina y urea) y endocrinos (IGF-I, insulina).

6) MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de campo se llevó a cabo en la Estación Experimental “Dr. Mario A. Cassinoni”, Facultad de Agronomía, departamento de Paysandú, entre el periodo del 15 de diciembre de 2006 al 7 de junio de 2007.

Animales: 62 vacas raza Holando (30 primíparas y 32 multíparas). Las mismas se agruparon en bloques según peso vivo y fecha probable de parto, buscando la mayor homogeneidad dentro de los mismos, 3.5 meses antes del parto. Luego, los animales de cada bloque fueron asignados en forma aleatoria a los diferentes grupos.

El diseño del experimento consistió en un arreglo factorial de dos categorías de animales (primíparas y multíparas) por dos estados corporales (4 semanas antes del parto) (alto y bajo).

Los grupos (ver Cuadro I), fueron definidos según el estado corporal 4 semanas antes del

parto.

Cuadro I. Grupo, estado corporal (EC) un mes antes del parto y número de partos

Grupo	EC	Nº de partos
L1 bajo	Bajo	Primíparas
L1 alto	Alto	Primíparas
L2 bajo	Bajo	Múltiparas
L2 alto	Alto	Múltiparas

Para lograr el EC correspondiente a cada grupo, se realizaron diferentes manejos alimenticios tres meses y medio (o 100 días) previos al parto de los animales hasta los 30 días preparto, la alimentación se realizó en función de las necesidades de los animales. Se formaron tres grupos: uno que debía ganar (asignación de forraje: 20Kg MS/vaca/día), otro que debía de mantener (14Kg MS/vaca/día) y otro que debía de perder EC (7 Kg MS/vaca/día), en función del EC objetivo. La alimentación se basó en pastoreo de praderas viejas (+3 años), con una disponibilidad promedio de 1200 Kg MS/ha.

Cada 15 días se estimaba el EC y según el resultado se evaluaba la continuación de los animales en el grupo o se asignaba a otro para intentar llegar al EC objetivo. Para las evaluaciones de EC, se utilizó la escala de 1-5 (1= flaca, 5=gorda), de las cartillas de Elanco®, (Edmonson et al. 1989).

Solo permanecieron en el ensayo los animales que respondieron a los tratamientos nutricionales y los criterios utilizados fueron los siguientes: vacas primíparas y múltiparas en alto EC que ganaron 0.5 puntos de EC, primíparas en bajo EC que perdieron 0.5 puntos y múltiparas en bajo EC que mantuvieron el EC, en dos observaciones subsecuentes desde los -100 a -30 días posparto (dpp).

Un mes antes parto, todos animales se manejaron de la misma manera, independientemente del manejo previo en el cual se intentaba modificar el EC. Por tanto, el manejo preparto propiamente dicho comenzó el 1º de marzo de 2007 para aquellas vacas que tenían fecha probable de parto a fines de marzo y el 15 de marzo, para aquellas a parir en el mes de abril. En esta etapa se dividieron los animales en 2 lotes, vacas primíparas y múltiparas. La alimentación para vacas múltiparas fue: 5,1 Kg MS/vaca/día de ensilaje de maíz (planta entera) y 4,6 Kg MS/vaca/día de concentrado comercial. Y para las vacas primíparas: 4,2 Kg MS/vaca/día de ensilaje de maíz y 3,7 Kg MS/vaca/día de concentrado comercial. El ensilaje y el concentrado se ofrecieron mezclados por una mezcladora “silodis” en comederos grupales una vez al día. También se les ofreció heno de Moha (*Setaria italica*) en rollos enteros distribuidos en el campo, *ad libitum*. Según la oferta de alimentos, se estima que la composición de la dieta preparto (desde los 30 días antes del parto, al parto) fue de 9.5% proteína cruda (PC), 54.2% fibra detergente neutra (FDN), 30.8% fibra detergente ácida (FDA) con una

concentración de energía metabolizable (EM) de 2.22 Mcal/Kg MS.

Durante el posparto, todos los animales tuvieron acceso a la misma cantidad de alimentos a partir del parto. La dieta consistió básicamente de tres componentes: pasturas, ensilaje de maíz y concentrado.

Durante los dos ordeñes (realizados 5:00 y 15:00 hs) se ofreció 1,3 Kg MS de concentrado comercial 16% de proteína cruda por vaca en cada ordeño.

Luego del ordeño de la mañana se suministró el suplemento en comederos individuales con cepo, ubicados en las instalaciones del tambo. El suplemento se presenta en el Cuadro II.

Cuadro II. Componentes del suplemento hasta el 18/04/07.

ALIMENTO	Cantidad en Kg MS
Ensilaje de Maíz	3,1
Concentrado comercial 16 % PC	3,7

El pastoreo se realizó en parcelas semanales para cada grupo de forma separada, en dos momentos del día, luego del ordeño de la mañana y posterior a la administración del concentrado en cepos, de 9:30 a 14:30 y luego del ordeño de la tarde, de 17:30 a 4:00 hs. con una asignación de 30 Kg MS/vaca/día. La administración del alimento en cepos individuales tuvo como objetivo administrar de forma individual los suplementos a los animales.

Se utilizó una pastura de segundo año mezcla de *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens* y *Lotus corniculatus*. La composición de la pastura fue: 25% MS (materia seca), 90% MO (materia orgánica), 14.2% PC, 49.0% FDN y 24.5% FDA. La composición del ensilaje fue 31.1% MS, 6.9% PC, 65.0% FDN y 33.0% FDA y del concentrado comercial 89% MS, 18.1% PC, 19.2% FDN y 12.0% FDA.

Debido a las condiciones de exceso de precipitaciones ocurrida en los meses de otoño, se generó una situación de déficit de pasturas que no permitió continuar con la rutina de alimentación planteada inicialmente. A partir del 18/04/07, se implementaron modificaciones importantes en la rutina. Se redujo la cantidad de pastura asignada por vaca por día, pasando a 20 Kg MS/vaca/día, en un solo pastoreo diario, de 8:00 a 14:30 hs. Asimismo, aumentó la cantidad de ensilaje de maíz ofrecida (6.7 Kg MS/vaca/día) y se comenzó a dar 0.5 Kg MS/vaca/día de heno de Moha (*Setaria italica*) y 150 grs/vaca/día de sal mineral (Bovigol®). La cantidad de concentrado se mantuvo constante a lo largo de todo el período. También se modificó el horario en que se suministraba el suplemento, luego del ordeño de la tarde y en la noche los animales permanecieron todos juntos en un encierro con disponibilidad de agua.

Los animales se pesaron desde el mes de diciembre de 2006, una vez por mes y al momento del parto. La estimación del EC se realizó cada 15 días en el preparto y

semanalmente en el posparto. Las observaciones fueron realizadas por un único observador.

Semanalmente en el parto y dos veces por semana en el posparto, se extrajeron muestras de sangre. Las mismas se tomaron en animales en ayunas, de la vena caudal en la base de la cola. Se utilizaron tubos Vacutainers con heparina sódica. Las muestras se centrifugaron, inmediatamente luego del sangrado, durante 10 minutos a 4000 rpm. El plasma obtenido fue conservado a -20°C, para las determinaciones que se detallaran posteriormente.

La producción de leche se midió diariamente en ambos ordeñes. Los días martes de tarde, miércoles (en ambos ordeñes) y jueves de mañana se tomaron muestras para determinar la composición de leche. Para estas determinaciones se utilizaron medidores comerciales Waikato®, tomando una alícuota de la producción total. Estos frascos contenían conservante Lactopol®. Las muestras de los 4 ordeñes fueron procesadas en el laboratorio. Se colocaron a “baño maría” (37 °C), por 10 min, se homogeneizaron y se tomó una alícuota de la producción de cada ordeño (0.5% de la producción). Posteriormente, en un frasco se mezclaron las alícuotas de los 4 ordeñes y se tomó una muestra de 35 ml para completar la muestra compuesta para enviar al Laboratorio COLAVECO (Cooperativa Laboratorio Veterinario de Colonia). Las determinaciones que se realizaron fueron: % grasa, % proteína y % lactosa.

Los perfiles metabólicos que incluyeron los ácidos grasos no esterificados (NEFA)β - hidroxibutirato, colesterol, proteínas totales, albumina y urea, se determinaron en un mismo ensayo en el Laboratorio "Dr. Miguel C. Rubino", DILAVE, Pando, Uruguay, utilizando las metodologías que se detallan en el cuadro III.

Cuadro III. Metabolitos analizados y metodologías utilizadas

Metabolitos analizados	Metodología
Proteína total	Reacción de Biuret (Wiener Lab 864102502)
Albumina	Reacción de Verde de Bromocresol (Wiener Lab 861250000)
Urea	Ureasa UV (Wiener Lab 861237004)
Colesterol	CHOD-PAP (Wiener Lab 861231904)
Ácidos grasos no esterificados	Método ACS-ACOD (kit NEFAC, FA 115, Wako Chemicals)
β-Hidroxibutirato	d-3-hydroxybutyrate (Cat. RB 1007 Randox Laboratories Ltd, Ardmore, UK)

Para éstas determinaciones se utilizaron kit comerciales del laboratorio Wiener (Rosario, Argentina) y fueron usados calibradores “suero calibrador A plus” (Wiener Lab 861244507). Se usó un auto analizador Vitalab Selectra 2 (Vital Scientific, Dieren, Países bajos). Los controles de calidad fueron, Lyotrol N (Ref. 62 373, lot no. 7490620) y P (Ref. 62 373, lot no. 7348842), y controles internos del Laboratorio “Dr. Miguel C. Rubino” (DILAVE, Uruguay). El coeficiente de variación intra-ensayo fue 6.8%, 4.8%,

0.1%, 3.8%, 4.0%, y 18% para proteína, albumina, urea, colesterol, NEFA y BHB; respectivamente.

Las determinaciones de la concentración de insulina, IGF-I y la progesterona (P4) fueron realizadas en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

La insulina fue determinada por radioinmunoanálisis (RIA) con un kit de RIA con I^{125} -Insulina (Diagnostic Products Co Los Angeles, CA, USA). La sensibilidad del ensayo fue de 2.2 μ IU/ml. El coeficiente de variación intra-ensayo fue de 8.2% y 9.4% para controles de baja concentración (2,2 μ IU/ml) y media (12.6 μ IU/ml), respectivamente.

El factor de crecimiento IGF-I fue determinado usando un ensayo inmunoradiométrico con un kit comercial (IGF1-RIACT Cis Bio International, GIF-SUR-YVETTE CEDEX, France). El kit contenía dos anticuerpos monoclonales contra dos diferentes sitios de antígenicos de la molécula de IGF-I, uno en fase sólida y el otro radiactivo con I^{125} . Las muestras fueron primero tratadas con una solución ácida para separar la proteína transportadora y luego se saturó con IGF-II, para evitar la reasociación entre IGF-I y la proteína transportadora. La sensibilidad del ensayo fue 0.7 ng/mL. Los coeficientes de variación intra-ensayo para el control 1 (74 ng/mL) y el control 2 (535 ng/mL) fueron 6.9% y 7.2%, respectivamente.

Para la determinación de progesterona se utilizaron kit comerciales (Diagnostic Products Co. Los Angeles, CA, USA). La sensibilidad del ensayo fue de 0.01 ng/mL. El coeficiente de variación intra-ensayo para los controles bajo (0.5 ng/mL) y medio (2 ng/mL) fueron 15.6 y 8.1%, respectivamente.

El día a la primera ovulación, se determinó como el primer día luego del parto en el que la concentración de progesterona fue mayor a 1 ng/ml de P4 (luteales). También se determinó la probabilidad de encontrar vacas que hayan reiniciado su ciclicidad ovárica posparto, desde el día 15 al día 60 posparto.

7) ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La producción de leche, composición de leche, EC, la concentración de metabolitos y hormonas y fueron analizados ajustando un modelo lineal general con la siguiente forma:

$$Y_{ijk} = \beta_0 + v_i + \lambda_j(v_i) + \tau_k(v_j) + \epsilon_{ijk} + \phi_l + (\phi v)_{il} + \phi_l \tau_k(v_j) + \delta_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijk} : es la variable de respuesta

β_0 es el intercepto

v_i es el efecto de i-ésimo número de lactancias

$\lambda_j(v_i)$ es el efecto del j-ésimo bloque anidado en el i-ésimo número de lactancias

$\tau_k(v_i)$ es el efecto del k-ésimo estado corporal anidado en el i-ésimo número de

lactancias

ϵ_{ijk} es el error experimental (entre vacas)

φ_i es el efecto del i-ésimo días posparto

$(\varphi_v)_{il}$ es la interacción entre días posparto y número de lactancias

$\varphi_l \tau_k(v_j)$ es la interacción entre días posparto y estado corporal dentro de número de lactancias

δ_{ijkl} es el error de la medida repetida (dentro de vacas)

Se usó el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). La autocorrelación entre medidas sucesivas se estimó según un modelo autoregresivo de orden 1 (AR(1)). Los datos son presentados en graficas con medias \pm el error estándar.

La separación de medias de los efectos significativos fue efectuada usando el test de Tukey-Kramer al 5%, excepto cuando se especifique.

Los días a la primera ovulación se estudiaron ajustando un modelo similar reducido ya que se determinó una sola vez en cada animal.

La probabilidad de día para la primera ovulación se analizó ajustando un modelo lineal generalizado con la siguiente forma general:

$$\text{Ln}(p / (1-p)) = \beta_0 + v_i + \lambda_j(v_i) + \tau_k(v_j)$$

Donde:

$\text{Ln}(p / (1-p))$ es la función logit de la probabilidad de primera ovulación

β_0 es el intercepto

v_i es el efecto de i-ésimo número de lactancias

$\lambda_j(v_i)$ es el efecto del j-ésimo bloque anidado en el i-ésimo número de lactancias

$\tau_k(v_i)$ es el efecto del k-ésimo estado corporal anidado en el i-ésimo número de lactancias

Se usó el procedimiento GENMOD del mismo paquete estadístico. Se asumió que la variable número de vacas que ovularon en relación a las vacas observadas tuvo distribución binomial.

8) RESULTADOS

Estado corporal y peso vivo

Las vacas primíparas presentaron mayor EC que las vacas multíparas al inicio del experimento (3.90 ± 0.15 vs 2.67 ± 0.12 , $P < 0.001$). No existieron diferencias entre grupos alto y bajo EC(NL) antes de que los tratamientos nutricionales se iniciaran, pero estos se diferenciaron entre los días 85 a 40 preparto (datos no mostrados).

La evolución de EC y el peso corporal de las vacas consideradas (que fueron las que respondieron con cambios en el EC a los tratamientos nutricionales) en este estudio se

muestran en la Figura 1. La evolución del EC desde los -30 a 60 días posparto estuvo afectada por el EC a los 30 días antes del parto, por los días posparto y por sus interacciones (Cuadro IV). En las vacas L1 alto (n= 13) el EC aumentó entre -100 a -60 días posparto y ya partir de ese momento disminuyó hasta 21 días después del parto, L1 bajo (n = 9) perdió EC de los días de -75 a -30 y volvió a disminuir a partir de los - 15 días hasta los 15 días (Figura 1).

El EC a los 30 días antes del parto y al momento del parto fue diferente entre L1 bajo y L1 alto: 2.98 ± 0.07 y 2.94 ± 0.07 para L1 bajo y 3.43 ± 0.05 y 3.18 ± 0.05 para L1 alto respectivamente.

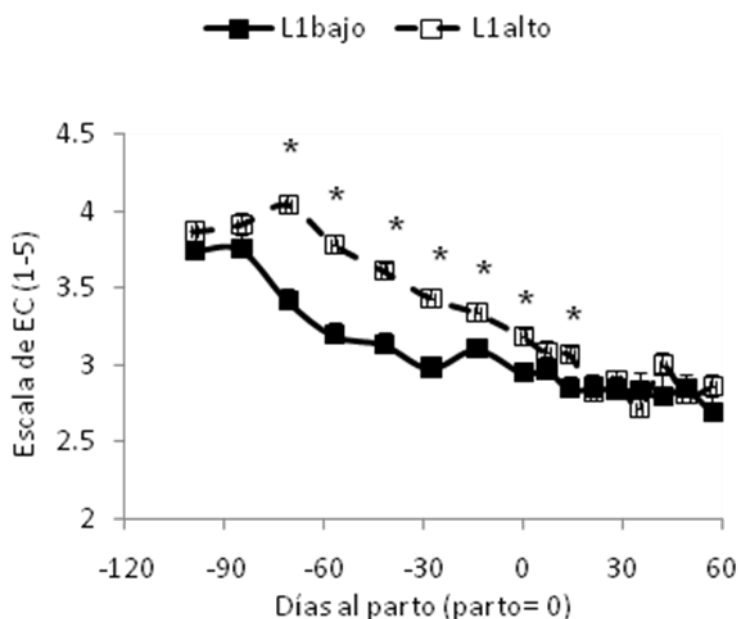


Figura 1. Estado corporal desde -100 hasta 56 días. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

El EC de las vacas L2 alto (n=9) se incrementó desde el día -100 al -75 respecto al parto, permaneciendo constante hasta el día -30 y descendió posteriormente hasta el día 15 posparto, mientras que el EC en las vacas L2 bajo (n=8) se mantuvo constante durante todo el periodo del experimento excepto desde el día -15 al día del parto donde hubo un descenso del mismo (Figura 2).

El EC a los 30 días antes del parto y al momento del parto también fue diferente entre L2 bajo y L2 alto: 2.89 ± 0.07 y 2.68 ± 0.07 para L2 bajo y 3.44 ± 0.07 y 3.12 ± 0.05 para L2 alto respectivamente.

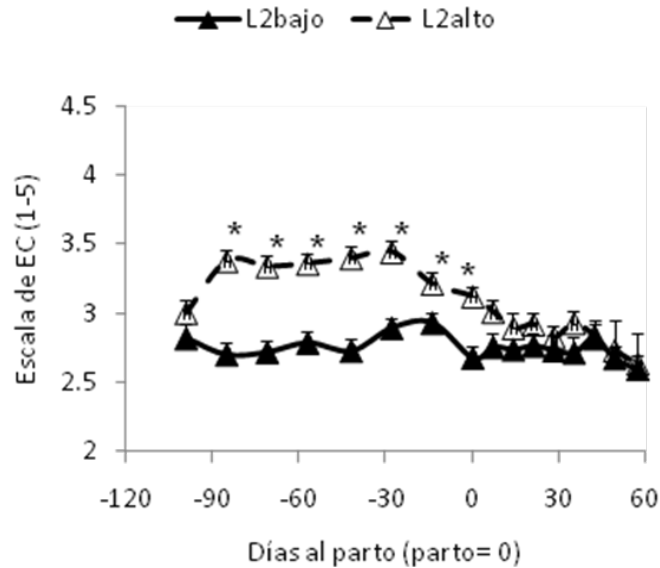


Figura 2. Estado corporal desde -100 hasta 56 días. L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

El peso corporal estuvo afectado por los dpp, el número de lactancia y por la interacción entre el número de lactancia y dpp (cuadro IV). Al momento del parto el peso fue de 572 ± 15 , 539 ± 15 , 610 ± 18 kg y 582 ± 17 , respectivamente para L1 alto, L1 bajo, L2 alto y L2 bajo, siendo las vacas multíparas más pesados que las vacas primíparas. El peso corporal 115 días antes del parto fue similar entre los grupos alto y bajo. Las vacas L1 bajo tendieron a presentar un menor peso corporal 30 y 15 días antes del parto ($P=0,06$) respecto a las L1 alto (Figura 3 y 4).

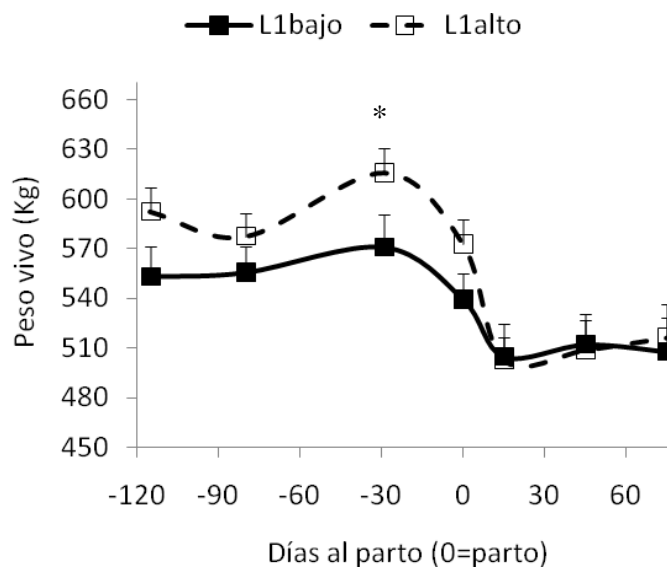


Figura 3. Peso vivo desde -115 días posparto. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

El grupo L1 alto pierde peso desde el parto a los 15 dpp y los grupos L1 bajo y L2 bajo tienden a perder en el mismo periodo ($P=0.07$ y $P=0.11$, respectivamente). Mientras que en el grupo L2 alto, recién a los 45 días se hace significativa la pérdida de peso vivo. A partir de los 15 días posparto mantuvieron peso hasta el día 75, exceptuando el grupo L2 alto que ganó peso a los 75 días posparto respecto a los 45 dpp.

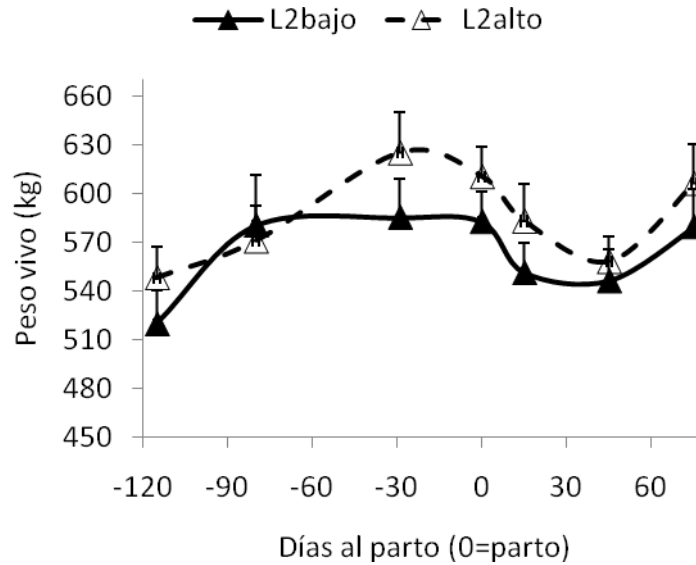


Figura 4. Peso vivo desde -115 días posparto. L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC.

Cuadro IV. Test F, efectos fijos incluidos en el modelo para las mediciones de los parámetros: días posparto (dpp), número de lactancia (NL), estado corporal 4 semanas antes del parto [EC(NL)], y las interacciones entre los mismos.

*=P<0.05, **=P<0.01, ***=P<0.001

VARIABLE	n	dpp	NL	EC(NL)	dpp* EC(NL)	dpp*NL
EC	616	***	***	***	***	***
Peso vivo (kg)	159	***	*	-	-	**
Grasa de la leche (%)	385	***	-	**	-	-
Grasa de la leche (kg)	1390	**	**	*	***	***
Proteína de la leche (%)	385	**	-	-	-	-
Lactosa de la leche (%)	385	**	0,11	-	-	-
Producción de leche (L)	1715	***	***	-	**	**
Producción de leche acumulada (L)	40		***	-		
Producción de leche corregida por grasa al 4%	1423	***	***	0.07	***	***
NEFA (mmol/L)	118	***	-	**	-	-
BHB (mmol/L)	118	**	-	-	-	-
Colesterol (mmol/L)	118	***	-	-	-	**
Proteína plasmática (g/L)	118	***	*	-	-	-
Albumina plasmática(g/L)	118	**	-	0.08	-	-
Urea plasmática (mmol/L)	118	**	-	*	-	-
IGF-I plasmático (ng/mL)	146	***	-	-	0.07	-
Insulina plasmática (μIU/mL)	162	-	0.13	0.14	-	-

Producción de leche y composición

La producción de leche (L) no se vio afectada por el EC(NL), pero las vacas multíparas produjeron más leche que las primíparas (Cuadro IV y Cuadro V). La producción de leche disminuyó en las semanas 7 y 8 después del parto.

Cuadro V. Producción de leche en litros para los diferentes grupos. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC.

Semanas posparto	2	3	4	5	6	7	8	Error estándar (\pm)
L1bajo	24.2	25.1	24.1	24.0	23.5	22.0	21.6	0.85
L1alto	24.5	25.2	24.6	24.8	23.5	23.0	22.0	0.67
L2bajo	29.7	29.4	28.8	28.2	27.8	27.1	26.8	0.85
L2alto	28.5	28.6	29.4	29.1	28.4	27.2	27.4	0.87

La leche corregida por grasa al 4% fue afectada por la paridad y los días posparto y hubo una tendencia del EC – 30 dpp ($P=0.06$) y por los días posparto (Figura 5 y Cuadro IV). Las vacas en alto EC produjeron más leche que las de bajo EC en distintos momentos en el posparto (se muestran con asteriscos en la figura 5), también las L2 alto tendieron a producir más leche que L2 bajo el día 42 posparto ($P=0.08$).

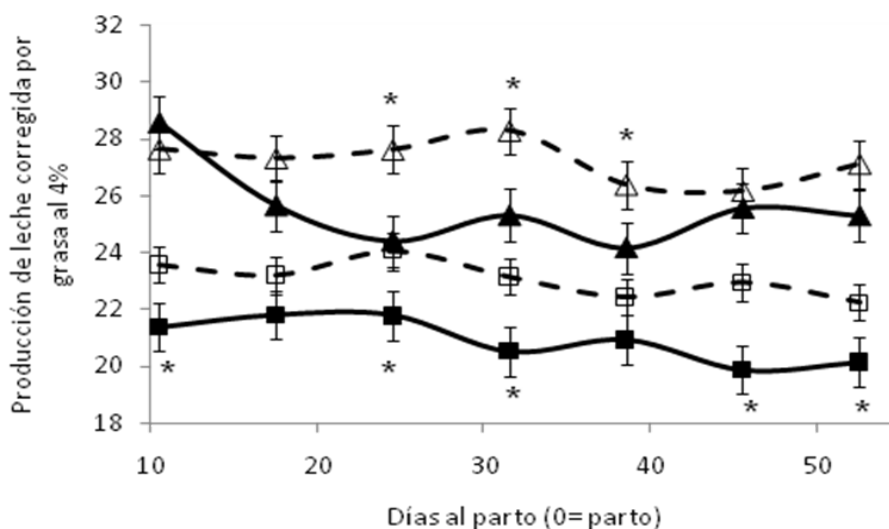


Figura 5. Producción de leche corregida por grasa al 4% durante los 60 días posparto. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

El porcentaje de grasa se vio afectada por la interacción entre el EC(NL) y la paridad: L1 alto tuvo mayor porcentaje de grasa que L1 bajo (Cuadro IV y VI), pero no se encontraron diferencias en las vacas L2. Los porcentajes de proteína, grasa y lactosa

disminuyeron con las semanas después del parto en todos los grupos, además no hubo diferencias en las medias de % proteína y lactosa (Cuadro IV y Cuadro VI).

Cuadro VI. Composición de la leche: % de grasa, proteína y lactosa. Producción de leche acumulada en los 60 días posparto (L). L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas múltíparas en bajo EC, L2 alto= vacas múltíparas en alto EC. Letras diferentes entre columnas difieren estadísticamente ($P < 0.05$).

	L1 bajo	L1 alto	L2 bajo	L2 alto
% de grasa	3.38±0.06 ^b	3.72±0.05 ^a	3.41±0.07 ^b	3.49±0.06 ^{ab}
% de proteína	3.03±0.04 ^a	2.98±0.03 ^a	3.04±0.04 ^a	2.97±0.04 ^a
% de lactosa	4.84±0.03 ^a	4.81±0.03 ^a	4.83±0.03 ^a	4.72±0.03 ^a
Producción de leche acumulada a los 60 dpp	1079±44 ^b	1105±32 ^b	1359±45 ^a	1437±45 ^a

La paridad, el EC(NL), la semana posparto así como sus interacciones afectaron los kilos de grasa de la leche (Cuadro IV). Las vacas del grupo L1 alto produjeron más kilos de grasa que las del L1 bajo. La producción acumulada en 60 días presentó los mismos patrones de la producción diaria de leche (Cuadro IV y Cuadro VI).

Ácidos grasos no esterificados y β - Hidroxibutirato

La concentración de NEFA se vio afectada por el EC(NL) y la semana posparto (Cuadro IV), pero no hubo efecto de la paridad. La concentración de NEFA aumentó al parto (Figura 6A) y los niveles disminuyeron un mes después del parto. Las vacas L1 alto presentaron las mayores concentraciones de NEFA que las L1 bajo al momento del parto, pero no se encontraron diferencias a partir de ese momento.

Las vacas L1 bajo tuvieron bajas concentraciones de NEFA durante el período experimental, pero los niveles tienden a aumentar al día 15 y 30 después del parto ($P=0,08$ y $P=0,09$, respectivamente).

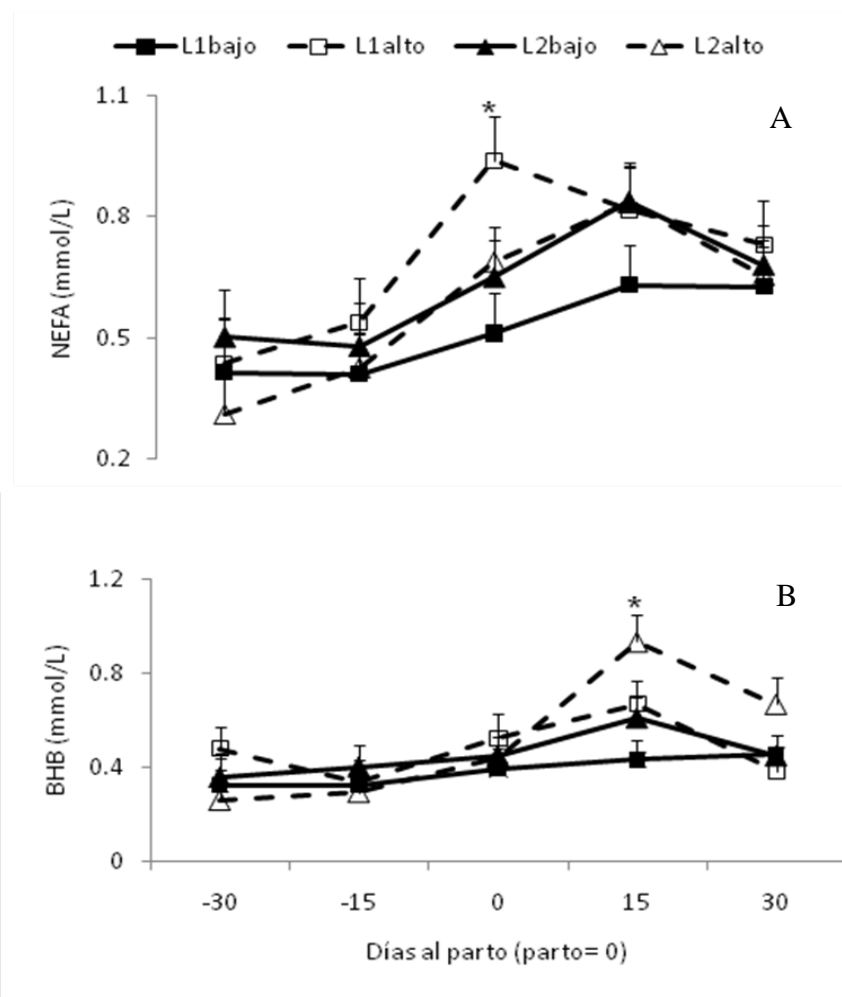


Figura 6. Concentración de NEFA (A) y BHB (B) en plasma. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

La concentración de BHB fue afectado sólo por la semana después del parto (Figura 6B y Cuadro IV), aumentando la concentración a los 15 días en todos los grupos, excepto las vacas L1 bajo que se mantuvo constante. Las vacas de L2 alto tuvieron mayor concentración de BHB el día 15 posparto respecto a las L2 bajo.

Proteínas totales, albumina, urea y colesterol.

La concentración de proteínas totales se vio afectada por la paridad y la semana después del parto (Cuadro IV). La concentración de proteínas disminuyó a -15 días y al parto. Por otro lado la mayoría de los grupos retomaron las concentraciones de proteínas inicial a los 15 después del parto, excepto L1 bajo. Las vacas L2 alto tuvieron mayor concentración de proteínas que el resto de los grupos (Figura 7A). La albúmina también se vio afectado por la interacción de entre EC(NL) y el NL y por la semana después del parto (Figura 7B y Cuadro IV), las concentraciones más bajas se

encontraron al parto. Las vacas L1 bajo presentaron mayor concentración de albúmina que las vacas L1 alto.

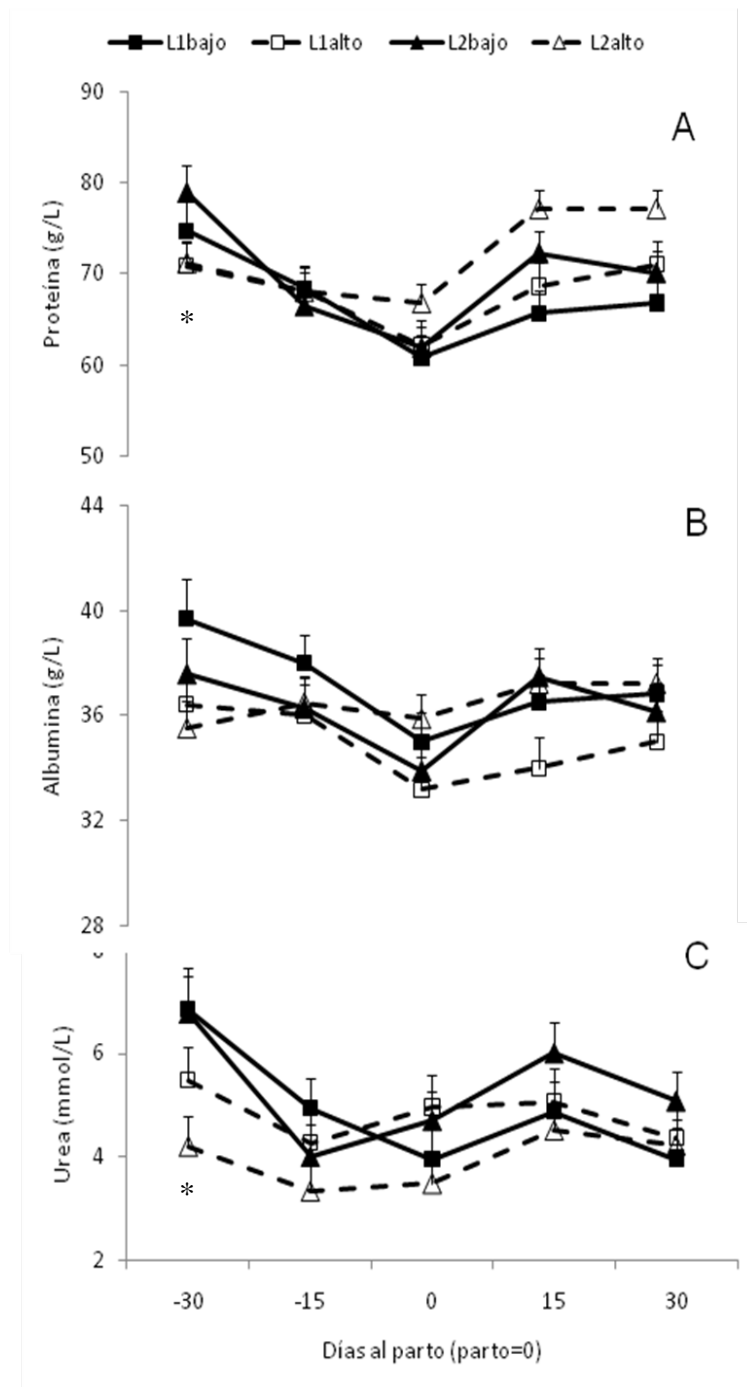


Figura 7. Concentración de proteína (A), albúmina (B) y urea (C) en plasma. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas múltiparas en bajo EC, L2 alto= vacas múltiparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

La concentración de urea fue afectada por el EC(NL) y los días posparto (Cuadro IV): vacas L2 bajo tuvieron concentraciones más altas que las vacas L2 alto, lo que fue evidente en el día -30 (Figura 7C). Mientras que en L1 alto la concentración de urea se mantuvo constante durante el período de transición, en L1 bajo la concentración más baja se presentó al momento del parto y luego se mantuvieron bajas. En las vacas L2 bajo la concentración de urea disminuyó en el día -15 y se incrementó inmediatamente a los 15 días posparto. Las vacas L2 alto tuvieron una concentración constante de urea hasta el parto y después aumentó el día 15 posparto.

El colesterol se vio afectado por la semana posparto y la interacción en la semana después del parto y la paridad (Cuadro IV). La concentración disminuyó al momento del parto, y volvió a aumentar 15 días posparto. Las vacas L2 tuvieron mayor concentración que las L1 a los 30 días posparto (datos no mostrados).

Insulina

La concentración de insulina tendió a estar afectada por la paridad ($P=0.14$) y el EC(NL) ($P=0.13$). Ver Cuadro IV. A su vez la concentración de insulina fue mayor en L2 alto con respecto a L2 bajo.

En vacas primíparas y multíparas en bajo EC las concentraciones de insulina fueron bajas a los 37 días antes del parto (al final del tratamiento nutricional) y más tarde se incrementó la concentración durante el periodo preparto, mientras que lo contrario sucedió en vacas en alto EC primíparas y multíparas.

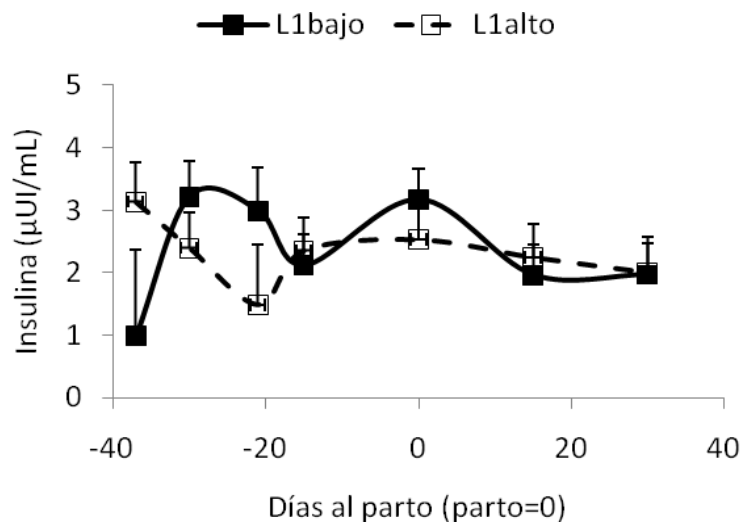


Figura 8. Concentración de insulina en plasma. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC.

Las vacas en alto EC tuvieron concentraciones constantes durante el periodo de posparto, mientras que en las vacas primíparas en bajo EC tendió a descender a los 15

días de parir ($P=0.07$), mientras que las L2 bajo tiende a descender al parto ($P=0.11$) (Figura 8 y 9).

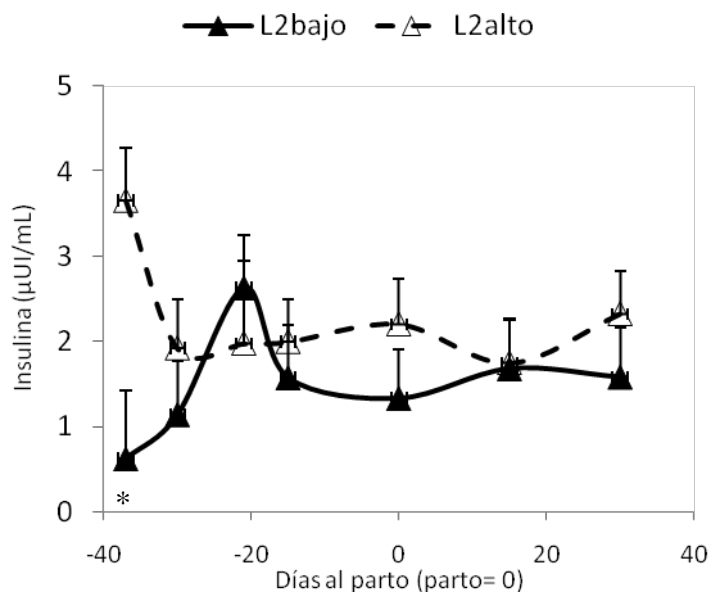


Figura 9. Concentración de insulina en plasma. L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

Cuando se analizaron estadísticamente los datos a partir del momento del parto, las vacas L1 presentaron mayor concentración de insulina con respecto a las L2.

Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I)

La concentración de IGF-I estuvo afectada por la semana posparto y la concentración descendió al parto en todos los grupos. Hubo una tendencia ($P=0,07$) entre semana posparto y el EC(NL), (Cuadro IV).

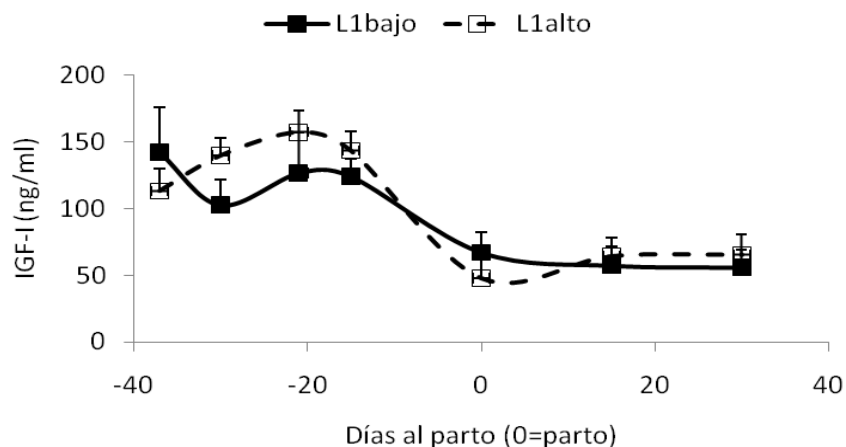


Figura 10. Concentración del factor tipo I similar a la insulina en plasma. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC.

Las concentraciones de IGF-I fueron similares entre L1 y L2. En L1 bajo la concentración fue constante en el preparto y descendió al parto. Mientras que en L1 alto hay un aumento de IGF-I desde el día -37 al día -21 y al parto descende (Figura 10).

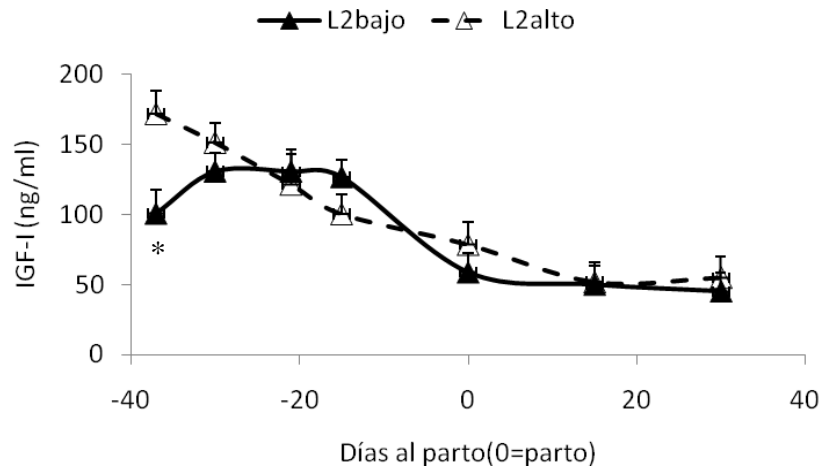


Figura 11. Concentración del factor tipo I similar a la insulina en plasma. L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC. (*) Los asteriscos indican diferencias significativas entre alto y bajo EC para cada paridad.

En el grupo L2 bajo hubo una tendencia de $P=0.09$ a aumentar la concentración desde el día -37 al día -30, posteriormente se mantiene constante y descende al parto. Mientras que en el grupo L2 alto la concentración descendió desde los días 37 antes del parto hasta el día 15 posparto y luego se mantuvo constante (Figura 11).

Reinicio de la ciclicidad ovárica posparto

El reinicio de la ciclicidad ovárica posparto estuvo afectada por paridad y hubo una tendencia del EC(NL) de $P=0.14$. Las vacas primíparas presentaron un anestro posparto 16 días más largo que las multíparas. A su vez las L2 alto tendieron a presentar un anestro más corto que las L2 bajo ($P=0.13$). La longitud del anestro posparto se presenta en el Cuadro VII.

Cuadro VII. Días al reinicio de la ciclicidad ovárica posparto. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC.

Grupo	L1 bajo	L1 alto	L2 bajo	L2 alto
Días al reinicio de la ciclicidad ovárica posparto	55.2±2	40.6±2	39.1±2	22.1±2

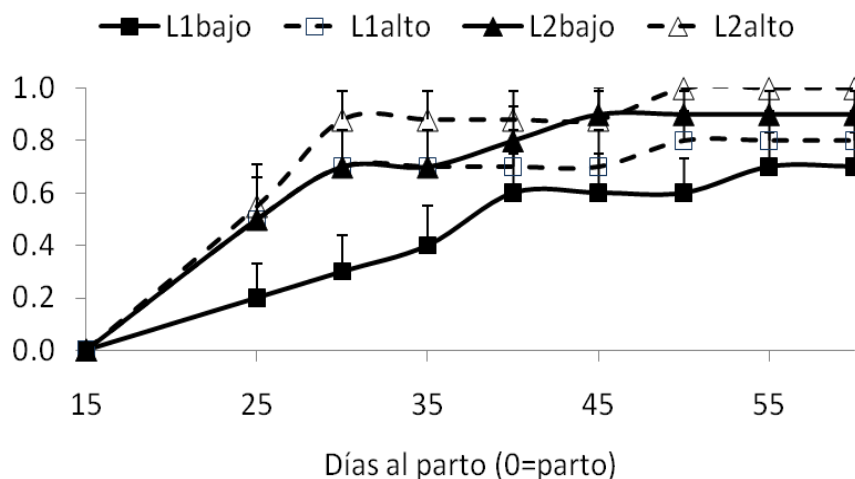


Figura 12. Probabilidad de reinicio de la ciclicidad ovárica posparto. L1 bajo= vacas primíparas en bajo EC, L1 alto= vacas primíparas en alto EC, L2 bajo= vacas multíparas en bajo EC, L2 alto= vacas multíparas en alto EC.

La probabilidad del día a la primera ovulación fue afectada por el EC(NL) solo los días 30 y 50 posparto (Figura 12). La probabilidad al día 30 posparto fue: 0.3 y 0.7 para L1 bajo y alto, respectivamente y para L2 bajo y alto 0.7 y 0.8 y para el día 50 posparto la probabilidad fue 0.6, 0.7, 0.9 y 0.8 para los grupos L1 bajo y alto y L2 bajo y alto, respectivamente. Las diferencias en estos dos momentos se dieron entre el grupo L2 alto que tuvo mayor probabilidad que el grupo L1 bajo.

9) DISCUSIÓN

En este trabajo se demuestra que el EC inducido 30 días antes del parto afecta de manera distinta el porcentaje de grasa de la leche y el día a la primera ovulación, así como varios perfiles endocrinos/metabólicos de acuerdo a la paridad, lo que sugiere que las reservas metabólicas señalan al eje productivo-reproductivo con el fin de provocar una partición de nutrientes diferencial en vacas adultas y vacas de primer parto. El hallazgo más interesante de este estudio fue que una diferencia relativamente pequeña en la puntuación de EC inducidos entre los grupos (0,5 puntos en una escala de 1 a 5) tiene efectos relevantes en la probabilidad de reinicio de la ciclicidad ovárica posparto.

Varios estudios han reportado la importancia de las reservas corporales (EC) al momento del parto o durante el período de preparto en la reproducción/rendimiento productivo (Pedron et al. 1993, Waltner. 1993; Mackey et al. 2000; Meikle et al. 2004; Sherestha et al. 2005; Roche et al. 2007; Stockdale et al. 2008). El aspecto diferencial en este estudio fue que se indujo el EC; vacas que tenían EC similares a aprox. 100 días antes del parto fueron manejadas nutricionalmente de manera diferente para llegar a diferentes EC un mes antes del parto.

Se encontró que una diferencia de 0,5 puntos en EC (escala de 1-5) afectó la leche corregida por grasa durante las primeras 6 u 8 semanas posparto en las vacas primíparas o multíparas, respectivamente. Pedron et al. (1993) y Agenas et al. (2003) no encontraron ningún efecto del estado corporal al parto sobre los kilos de leche en sistemas de confinamiento. Sin embargo, Stockdale (2008) utilizando vacas gordas y vacas flacas al momento del parto (0,5 punto las diferencias en EC, en una escala de 8 puntos), demostró una producción de leche de 33,7 vs 31,6 vs kg/vaca/día, respectivamente, en los primeros 92 días de lactancia. Roche et al. (2007) establecieron que el EC al parto o preparto afectó positivamente el promedio de producción de leche, más aún a los 270 días de lactancia cuando se compara con la producción de leche a los 60 días posparto (140% más). Esto indica un efecto positivo del EC en la producción de leche diaria más allá de nadir de EC, que podría ser debido a un aumento del consumo en lactancia media en las vacas que hayan parido en mejores condiciones y/o una reducción de la partición de los nutrientes a la reposición del tejido de reserva en estas vacas.

Los NEFA reflejaron la movilización de reservas, que fue mayor en las vacas L1 alto, que está de acuerdo con la pérdida de EC, así como el aumento del porcentaje de grasa láctea en la fase inicial del período de lactancia. El rápido aumento de las concentraciones de NEFA al momento del parto en vacas L1 alto podría ser el resultado de una instalación más temprana del balance energético negativo, probablemente debido a las exigencias de la gestación, lactogénesis y la disminución del consumo en esta categoría. Las concentraciones más bajas de NEFA en el grupo de vacas L1 bajo podría indicar una movilización de reservas corporales más temprana con respecto al grupo L1 alto (ver Figura 1) durante el período preparto que puede haber limitado la capacidad de producción de leche. Esto estaría apoyado por el hecho de que BHB en este grupo no aumentó durante el período de postparto. Aunque no se observaron diferencias según el tratamiento, en las concentraciones de NEFA en las vacas multíparas, el nadir de EC fue más tarde en L2 alto durante el período de postparto que las vacas L2 bajo. Esto se asocia con la mayor producción de leche corregida por grasa al 4% que se encuentran en las semanas 3 a 7 semanas en el primer grupo. De hecho, las vacas lecheras pueden movilizar las reservas de grasa hasta 12 semanas posparto (Komaragiri & Erdman. 1997), y esto se refleja en este estudio por los ácidos grasos preformados que fueron mayores en L2 alto con respecto a las L2 bajo (datos no publicados).

El momento de menor concentración de proteínas totales ocurrió al parto lo que puede reflejar la derivación de proteínas a la glándula mamaria, principalmente para la secreción de inmunoglobulinas en el calostro. La concentración de albúmina, urea y colesterol disminuyó al momento del parto lo que puede sugerir la disminución del consumo en el periparto como se ha informado anteriormente (Cavestany et al. 2005; Seifi et al. 2007). En las vacas L2 hubo mayor concentración de colesterol que en las L1 durante el período de posparto, lo que puede reflejar una recuperación más rápida del balance energético asociado a una ingesta superior en el posparto temprano en esta categoría. Además la concentración de proteínas totales plasmáticas fue superior en las vacas L2 alto lo que muestra un mejor balance de energía/nitrógeno. Esta idea se ve reforzada por la mayor concentración de urea en L2 bajo que alcanzó el máximo a las 2 semanas posparto, lo que posiblemente indica una movilización creciente de la proteína

para mantener una producción de leche similar a las L2 alto. Este incremento en la concentración de urea posparto ha sido reportado por otros autores como Cavestany et al. (2005), pero han sido atribuidos a incrementos del consumo posparto. Según Komaragiri et al. (1998) las proteínas tienen una capacidad limitada para la movilización y esto es posible hasta la semana 5 posparto (Komaragiri & Erdman. 1997). Las vacas L2 bajo mantuvieron una producción de leche corregida por grasa al 4% similar a L2 alto hasta la semana 4 posparto, pero posteriormente esta fue inferior, y esto se puede atribuir a las bajas reservas de energía disponible para mantener la producción de leche.

Los perfiles de insulina reflejaron los tratamientos inducidos: vacas en bajo EC al final del período de nutrición (por ejemplo, 40 días antes del parto) tuvieron concentraciones inferiores a las vacas de alto EC. Después del periodo de tratamiento las vacas fueron tratadas de manera similar, y es posible que el cambio de alimentos - mejor para las vacas de bajo EC - provocara una señal positiva en las concentraciones de insulina para que aumentaran inmediatamente en los animales de bajo EC como se observó entre los días -30 y -10. Esto dio lugar a que los perfiles de la insulina alrededor del parto fueran diferentes en los grupos de bajo vs alto EC: mientras que las concentraciones de insulina fueron descendiendo alrededor de un mes antes del parto en vacas de alto EC, el descenso en la concentración de insulina en vacas de bajo EC fue próxima al parto. El descenso en las concentraciones de la insulina en el parto es una adaptación metabólica para hacer frente a las demandas de energía de la lactancia como se informó anteriormente (Taylor et al. 2003 y Wathes et al. 2007a), ya que los niveles bajos de insulina favorecen la gluconeogénesis y la lipólisis (Herdt. 1988, por ejemplo, efecto homeostático). Wathes et al. (2007a) informaron que las concentraciones de insulina tienden a ser menores en los animales adultos, que es consistente con los hallazgos del presente trabajo. Esto podría ser debido a un mejor estatus de energía durante el período pre-parto en vacas L1 (en mejor estado corporal a los 30 días antes del parto), pero también podría explicar una capacidad más limitada de movilización de proteínas y de reservas grasas (EC y perfiles metabólicos) para la producción de leche.

En el presente experimento no hubo diferencias en las concentraciones de IGF-I entre L1 y L2, en contraste a lo encontrado por Wathes et al. (2007a) que informaron de que tanto la insulina y el IGF-I tienen una mayor concentración en los animales jóvenes que se asocia con su rol en el crecimiento de los animales. La concentración de IGF-I disminuyó al momento del parto, como se informó anteriormente (Lucy et al. 2001; Taylor et al. 2003; Meikle et al. 2004). La concentración de IGF-I pareció reflejar los perfiles de la evolución del EC, en contraste con los perfiles de insulina que se asociaron más al efecto de la alimentación día a día (aumento de pre-parto en vacas de bajo EC). Se puede postular que las concentraciones de IGF-I pueden integrar la memoria metabólica (reservas de energía) y la situación de estado de energía, mientras que la insulina está más afectada por la ingesta diaria de alimento. Las vacas multíparas de alto EC presentaron una leve demora en la disminución de IGF-I, que se asocia con niveles elevados de insulina pre-parto y un mejor estado global de energía durante el período de postparto (mayores concentraciones de proteína plasmática total, aumento de peso corporal y mejor performance reproductiva).

La probabilidad de reinicio de la ovulación posparto se vio afectada por el EC(NL) y la paridad, lo que muestra que las vacas en peor EC y vacas primíparas están en anestro por más tiempo, lo cual es coherente con otros estudios (Spicer et al. 1990; Meikle et al. 2004; Sakaguchi et al. 2004; Burke & Roche., 2007; Tanaka et al. 2008) quienes mostraron que la actividad ovárica reducida iba acompañada de severos balances energéticos negativos. La posible explicación de la demora de la reanudación de la ciclicidad ovárica de las vacas L1 puede ser porque tienen requisitos adicionales para el crecimiento. Una disminución en EC de ≥ 1 unidad a las 7 semanas después del parto aumentó la aparición tardía de la primera ovulación (Shrestha et al. 2005). El balance energético negativo durante las primeras 3-4 semanas después del parto está altamente correlacionado con los días de la primera ovulación (Butler. 2000). Mientras tanto Kawashima et al. (2007) demostró que las concentraciones de IGF-I fueron factores determinantes en el desencadenamiento de la ovulación tanto en las primíparas como en multíparas. En nuestro estudio, las concentraciones de IGF-I después del parto no explican las diferencias encontradas en la probabilidad de reinicio de la ciclicidad ovárica, que se vio afectada tanto por la paridad y por el EC 30 días antes del parto. Del mismo modo, Chagas et al. (2006) demostraron que las concentraciones preparto de IGF-I eran mayores en las vacas de alto EC que las de baja EC, pero que a pesar de que las concentraciones de IGF-I después del parto fueron similares, la mayoría de las vacas de alto EC habían ovulado a los 77 días posparto, mientras que sólo el 8% de las vacas de bajo EC lo hicieron. Sabiendo que la insulina y el IGF-I estimulan el crecimiento folicular y la ovulación durante el posparto, sugerimos que la diferente performance en el reinicio de la ciclicidad posparto se debe principalmente a una evolución endocrina distinta durante el período de preparto, es decir, la memoria metabólica.

10) CONCLUSIONES

En resumen, el EC inducido 30 días antes del parto tienen efectos positivos en la producción de leche corregida por grasa y en los días de la primera ovulación, y se asoció con un mejor medio endocrino preparto. Además, las vacas multíparas están más adaptadas para una mayor producción de leche y para reiniciar la ciclicidad ovárica posparto respecto vacas primíparas, y esto puede deberse a una mayor capacidad para la movilización de proteínas y una recuperación más rápida de la ingesta de posparto, que se refleja en los perfiles metabólicos medidos en este estudio.

11) REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrien ML, Chilbroste P, Mattiauda D, Blanc JE, Ferraris A, Cavestany D, Meikle A. (2006). Efecto de las cantidades crecientes de forraje sobre la performance reproductiva de vaquillonas lecheras en condiciones pastoriles. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Pp: 174-176.
2. Andersen, JB; Friggens, NC; Larsen, T; Vestergaard, MV and Ingvarsten, KL. (2004). Effect of energy density in the diet and milking frequency on plasma metabolites and hormones in early lactation dairy cows. *J. Vet. Med. A.* 51:52–57.
3. Agenas, S; Burstedt, E and Holtenius, K. (2003). Effects of feeding intensity during the dry period. 1. Feed intake, body weight, and milk production. *J. Dairy Sci.* 86:870–882.
4. Bauman, D. E., and W. B. Currie. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63:1514-1529.
5. Beam SW & Butler WR. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of reproduction.* 56: 133-142.
6. Beam, SW & Butler, WR. (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J Dairy Sci.* 81:121-131.
7. Blanc JE, Meikle A, Ferraris A, Herrmann J, Rodríguez Irazoqui M y Cavestany D. (2002). Manejo reproductivo tradicional vs Inseminación a tiempo fijo en vacas Holando primíparas en el Uruguay. X Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp 308-311.
8. Burke, C & Roche, R. (2007). Effects of pasture feeding during the periparturient period on postpartum anovulation in grazed dairy cows. *J Dairy Sci.* 90:4304-4312.
9. Butler, WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 449-457
10. Butler WR, Everett RW y Coppock CE. (1981). The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.* 53-3:742-748.
11. Cavestany, D. (2000). Manejo reproductivo en vacas lecheras. Serie técnica 115, INIA La Estanzuela. pp. 1-10.
12. Cavestany, D. (2004). Sincronización de celos y tratamientos hormonales. Curso a distancia: manejo de la reproducción en ganado lechero. Módulo 4. Facultad de Veterinaria-CONAPROLE. pp:1-30.
13. Cavestany, D; Blanc, JE; Kulcsar, M; Uriarte, G; Chilbroste, P; Meikle, A; Febel, H; Ferraris, A and Krall, E. (2005). Studies of the transition cow under and pasture-based milk production system: metabolic profiles. *J Vet Med A.* 52:1-7.
14. Cavestany, D; Viñoles, C; Crowe, MA; La Manna, A; Mendoza, A. (2009). Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-based dairy system. *Animal Reproduction Science* 114: 1–13.

15. Chagas, LM; Rhodes, FM; Blache, D; Gore, PJ; Macdonald, KA and Verkerk, GA. (2006). Precalving effects on metabolic responses and postpartum anestrus in grazing primiparous dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:1981–1989.
16. Chilibróste P, Ibarra D, Zibil S y Laborde D. (2003). Proyecto alimentación reproducción, CONAPROLE 2002. Informe final. pp 1-28.
17. DIEA. Estadísticas del sector lácteo: La producción lechera en el Uruguay. Año 2007. (2009). Serie de trabajos especiales N° 282. Pp 1:43.
18. Drackley, JK. (1999). Biology of dairy cow during the transition period: the final frontier? *J Dairy Science* 82: 2259-2273.
19. Drackley, JK. (2000). *Farm animal metabolism and nutrition.* CAB International. P: 1-448.
20. Edmonson, AJ; Lean, L; Weaver LD; Farver, T and Wevster, G. (1989). A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 72:68-78.
21. Ernst, O. (2004). Uso del suelo en los tambos relevados. Proyecto: "Interacción alimentación-reproducción" Informe final 2003. CONAPROLE. pp:1-52.
22. Gallo, L; Carnier, 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.
23. Gatica, R. (1993). Causas, incidencia, control y tratamiento de Anestro. XXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: C1-C24.
24. Grummer, RR. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 73: 2820-2833.
25. Grummer, RR; Mashek, DG y Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet .Clin. N.A Food Anim.Pract.* 20:447-470.
26. Herdt, T. Ruminat adaptation to negative energy balance: influence on the etiology of ketosis and fatty liver. *Metabolic disorders of ruminants. Veterinary clinics of North American: Food animal Practice.* Vol 16. N° 2. July (2000). Pp: 215-229.
27. Ibarra, D. (2002). Indicadores reproductivos de la cuenca lechera de CONAPROLE en los servicios de otoño 2001. X Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: 256-258.
28. Ibarra, D y Chilibróste, P. (2004). Evolución de la condición corporal y variables reproductivas. Proyecto: "Interacción alimentación-reproducción" Informe final 2003. CONAPROLE. pp: 1-52.
29. Ingvarstsen, K and Andersen, J. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci* 83:1573–1597.
30. Kadokawa H and Martin GB. (2006). A new perspective on management of reproduction in dairy cows: the need for detailed metabolic information, an improved selection index and extended lactation. *J. Reprod. Dev.* 52: 161-168.
31. Kawashima, Ch; Kaneko, E; Amaya, C; Matsui, M; Yamagishi, N; Matsunaga, N; Ishii, M; Kida, K; Miyake, Y; Miyamoto, A. (2006). Relationship between the first ovulation within three week postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 52: 479-486.
32. Kawashima, Ch; Sakaguchi, M; Susuki, T; Sasamoto, Y; Takahashi, Y; Matsui, M and Miyamoto, A. (2007). Metabolic profiles in ovulatory and anovulatory

- primiparous dairy cows during de first follicular wave postpartum. *J. Reprod. Dev.* 53: 113-120.
33. Königsson, K; Savoini, G; Govoni, N; Invernizzi, G; Prandi, A; Kindahl, H; Veronesi, MC. (2008). Energy balance, leptin, NEFA and IGF-I plasma concentrations and resumption of post partum ovarian activity in swedish red and white breed cows. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 50:3.
 34. Komaragiri, M and Erdman, R. (1997). Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 1. Effect of dietary protein on mobilization of body fat and protein. *J Dairy Sci.* 80: 929-937.
 35. Komaragiri, M; Casper and Erdman, R. (1998). Factors affecting body tissue mobilization in early lactation dairy cows. 2. Effect of dietary fat on mobilization of body fat and protein. *J Dairy Sci* 81:169–175.
 36. Krall, E y Bonnacarrere, LM. (1997). Relación entre el estado corporal y la producción de leche y su composición. *Revista Cangué (EEMAC).* N°11. pp: 2-6.
 37. Lotthamer, KH. (1992). Influencia de algunos factores nutricionales sobre metabolitos, enzimas y minerales en el suero sanguíneo y leche de vacas lecheras. VII Congreso Latinoamericano de Buiatría, XX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: K1-K20.
 38. Louca, A y Legates, JE. (1976). Production losses in dairy cattle due to days open. *J Dairy Sci.* 51:573-583.
 39. Lucy, MC. (2000). Regulation of Ovarian Follicular Growth by Somatotropin and Insulin-Like Growth Factors in Cattle. *J Dairy Sci.* 83:1635–1647.
 40. Lucy, MC. (2001). Reproductive loss in alto-producing dairy cattle: Where will it end? *J Dairy Sci.* 84:1277-1293.
 41. Lucy, MC; Jiang, H and Kobayashi, Y. (2001). Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation. *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.): E113-E119.
 42. Mackey, DR; Wylie, AR; Sreenan, JM; Roche, JF and Diskin, MG. (2000). The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, and steroid concentration in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 78:429–442.
 43. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D and Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction.* 127: 727-737.
 44. Meikle A, Mattiauda D, Soca P, Bruni M, Uriarte G, Adrien ML, Cavestany D, Chilibroste P. (2006). Perfiles metabólicos durante el pre y posparto de vacas lecheras primíparas sometidas a cantidades crecientes de forraje. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Pp: 171-173.
 45. Nosier, W. (2003). Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. *Reproductive Biology and Endocrinology,* 1:50.
 46. Patton, J, Kenny, DA; McNamara, S; Mee, JF; O'Mara, FP, Diskin, MG and Murphy, JJ. (2007). Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 90: 649-658.

47. Pedron, O; Cheli, F; Senatore, E; Baroli, D and Rizzi, R. (1993). Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. *J Dairy Sci* 76:2528-2535.
48. Pushpakumara PGA, Gardner NH, Reynolds DE, Beever DE, Wathes DC. (2003). Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology* 60: 1165-1185.
49. Roberts, A.J; Nugent III, R.A; Klindt, J; Jenkins, T.G. (1997). Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 75, 1909–1917.
50. Roche, JF y Diskin, MG. (2005). Inducción hormonal de la ovulación y sincronización del celo en Bovinos. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: 27-32.
51. Roche, JR; Kolver ES y Kay, JK. (2005). Influence of precalving feed allowance on periparturient metabolic and hormonal responses and milk production in grazing dairy cows. *J Dairy Sci.* 88: 677-689.
52. Roche, JR; Lee, JM; Macdonald, KA and Berry, DP. (2007). Relationships Among Body Condition Score, Body Weight, and Milk Production Variables in Pasture-Based Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:3802–3815.
53. Royal M, Mann GE, Flint AP. (2000). Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet J.* 2000 Jul; 160(1):10-2.
54. SAS Institute. 1999. SAS Online Doc, version 8. SAS Institute Inc., Cary, NC.
55. Schams D, Schallenberger E, Menzer CH, Stangl J, Zottmeier K, Hoffmann B and Kang H (1978). Profiles of LH, FSH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. *Theriogenology.* 10:453-468.
56. 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.
57. Seifi, H; Gorji-Dooz, M; Mohri, M; Dalir-Naghadeh, B; Farzaneh, N. (2007). Variations of energy-related biochemical metabolites during transition period in dairy cows. *Comp Clin Pathol* 16:253–258.
58. Senger, P. (2003). Pathways to pregnancy and parturition. Second revised edition. Current Conceptions, Inc. Washington.
59. Shrestha, H; Nakao, T; Suzuki, T; Akita, M; Higaki, T. (2005). Relationships between body condition score, body weight, and some nutritional parameters in plasma and resumption of ovarian cyclicity postpartum during pre-service period in high-producing dairy cows in a subtropical region in Japan. *Theriogenology* 64: 855–866.
60. Spicer, LJ; Tucker, WB and Adams, JD. (1990). Insulin-Like Growth Factor-I in Dairy Cows: Relationships Among Energy Balance, Body Condition, Ovarian Activity, and Estrous Behavior. *J Dairy Sci* 13: 929-931.
61. Stockdale, CR. (2008). Effects of body condition score at calving and feeding various types of concentrate supplements to grazing dairy cows on early lactation performance. *Livestock Science* 116: 191-202.

62. Tanaka, T; Arai, M; Ohtani, S; Uemura, S; Kuroiwa, T; Kim, S; Kamomae; H. (2008). Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Animal Reproduction Science* 108: 134–143.
63. Taylor, V; Beever, D; Bryant, M; Wathes, D. (2003). Metabolic profiles and progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology* 59: 1661-1677.
64. Taylor VJ, Cheng Z, Pushpakumara PGA, Beever DE, Wathes DC. (2004). Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-1 in dairy cows and their fertility and milk yield. *The Veterinary Record*, Nov 6, 583-588.
65. Waltner, S; Mcnamara, J; Hillers, J. (1993). Relationships of body condition score to production variables in high producing holstein dairy cattle. *J Dairy Sci* 76:3410-3419.
66. Wathes, D; Cheng, Z; Bourne, N; Taylor, V; Coffey, M; Brotherstone, S. (2007a). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology* 33: 203–225.
67. Wathes, D; Bourne, N; Cheng, Z; Mann, G; Taylor, V and Coffey, M. (2007b). Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 90:1310–1325.
68. Whitaker D, Goodger W, Garcia M, Perera B, Wittwer F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Prev Vet Med.* Jan 27; 38(2-3):119-31.
69. Wiltbank, MC; Gumen, A y Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology.* 57:21-52.
70. Direcciones electrónicas: www.mgap.gub.uy/Diea fecha de consulta: 15/11/2009.

1 **Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition**
2 **period in dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of**
3 **postpartum ovarian cyclicity and metabolic parameters**

4 Adrien, ML¹; Mattiauda, DA²; Artegoitia, V¹; Carriquiry, M²; Motta, G²; Bentancur,
5 O²; Meikle, A¹.

6

7 ¹ Faculty of Veterinary Medicine and ²Agronomy Sciences, University of Uruguay,
8 Montevideo and Paysandú, Uruguay;

9

10 Correspondence: María de Lourdes Adrien Delgado

11 Faculty of Veterinary

12 University of Uruguay

13 Ruta 3, km 363

14 Paysandú 60000

15 Uruguay

16 Fax: +598-7227950

17 Phone: +598-7227950

18 Email: lourdesadrien@gmail.com

19

20 **Summary**

21

22 The objective was to investigate the effect of different body condition score (BCS) at
23 30 days before calving (-30 days) induced by a differential nutritional management
24 from -100 days until -30 days on productive parameters, the interval to first ovulation
25 and blood parameters in primiparous (L1, n=22) and multiparous (L2, n=17)
26 Holstein cows under grazing conditions. Cows had similar BCS at -100 days and
27 differed after the nutritional treatment, but all groups presented similar BCS at 21
28 days postpartum. Fat corrected milk production was greater in high BCS cows. A
29 rather small difference in the induced BCS among groups (0.5 points in a 1 to 5
30 scale) affected the probability of cows cycling. Treatment affected various
31 endocrine/metabolic profiles according to parity; suggesting that the metabolic
32 reserves signal the productive/reproductive axis so as to induce a differential nutrient
33 partitioning in adult vs first-calving cows.

34

35 **Introduction**

36

37 During early lactation, the primary challenge faced by cows is a sudden and marked
38 increase in nutrient requirements for milk production, at a time when dry matter
39 intake (DMI), and thus nutrient supply, lags behind (Drackley, 1999). Moreover, the
40 decreased intake that characterizes the transition period can reach up to 30% and is
41 one of the causes of negative energy balance (NEB), (Grummer, 1995; Grummer *et al.*
42 *2004*). This period of NEB is characterized by fat mobilization which is reflected
43 by an elevation of circulating concentrations of non-esterified fatty acids (NEFA)
44 (Pedron *et al.* 1993; Ingvarlsen and Andersen, 2000; Burke and Roche, 2007), and
45 often accompanied with an increased production of β -hydroxybutyrate (BHB)
46 (Whitaker *et al.* 1999). The capacity to mobilize body reserves is dependent on body
47 condition score (BCS) at the initiation of the transition period.

48

49 Body condition score at calving, and the degree of BCS loss between calving and
50 BCS nadir have profound effects on milk production (Roche *et al.* 2007). These
51 authors suggested that the optimum BCS at calving to maximize milk production was
52 3.5 (scale 1-5). Pre-calving BCS had a positive effect on peak, milk, and 4% fat-
53 corrected-milk (FCM) yields: for each unit of increase in BCS 8-wk precalving, 60-d
54 milk FCM yields increased linearly by 32.5 kg/cow (Roche *et al.* 2007).

55

56 Body condition score loss also has negative effects on reproduction: cows that lost
57 one or more points of BCS during early lactation had a major risk for infertility with
58 reductions on conception rates of 17 to 38% (Butler, 2000). It is accepted that the
59 endocrine pathways that regulate the reproductive axis regarding metabolic status
60 include insulin and insulin-like growth factor I (IGF-I) (Kawashima *et al.* 2007).
61 Wathes *et al.* (2007a) reported for cows in confined management systems that IGF-I
62 and insulin concentrations decreased pre or around calving respectively and reached
63 their nadir at 2-3 wk postpartum. In cows under grazing conditions, insulin levels
64 started to decrease before parturition, minimum concentrations were found at
65 calving, but levels were fully recovered by 4 wk postpartum (Meikle *et al.* 2004).
66 Reduced IGF-I concentrations have been associated with prolonged postpartum
67 anestrus, ovarian cysts, and persistent corpus luteum in dairy cow in both, confined
68 (Roberts *et al.* 1997; Taylor *et al.* 2004; Konigsson *et al.* 2008) and grazing (Meikle
69 *et al.* 2004) production systems. However, Wathes *et al.* (2007b) reported that IGF-I
70 concentrations at -1, -2 and 2 at 8 wk postpartum were not related to resumption of

71 luteal activity. Similarly, Taylor *et al.* (2003) found that insulin concentrations from
72 2 wk before calving to 20 wk after calving did not differ between cows that presented
73 early or delayed ovulation.

74

75 Parity has an effect on the length of postpartum anestrus: even if cows had the same
76 BCS at calving, primiparous cows had longer postpartum anestrus than multiparous
77 cows under confined (Tanaka *et al.* 2008) and grazing (Meikle *et al.* 2004)
78 production systems. However, there are reports that have found no effect of parity
79 (Cavestany *et al.* 2009) or even that primiparous presented shorter anestrus than
80 multiparous cows (Kawashima *et al.* 2006). Also, endocrine concentrations have
81 been reported to differ according to parity: IGF-I concentrations after calving were
82 greater (Taylor *et al.* 2004; Wathes *et al.* 2007a) or lower (Meikle *et al.* 2004) in
83 primiparous than in multiparous cows, under confined or grazing conditions,
84 respectively. Since several factors affect the endocrine milieu, these contradictory
85 findings could be due to differences in animal management, mainly nutrition.

86

87 Most reports on the effect of BCS on productive and reproductive parameters are
88 based on a classification of the cows according to BCS at calving (Patton *et al.* 2007;
89 Meikle *et al.* 2004; Gallo *et al.* 1996) and/or at the moment of the initiation of the
90 transition period (Chagas *et al.* 2006; Shrestha *et al.* 2005). We did not find reports
91 on the effect of different nutritionally regulated BCS at the initiation of the transition
92 period; thus productive and reproductive responses to BCS could be the result of a
93 differential animal capacity to face negative energy balance during this period. Our
94 hypothesis was that both parity and nutritionally regulated BCS at the initiation of
95 the transition period (e.g., one month before calving) affect both productive and
96 reproductive performance, and that this would be associated with a differential
97 endocrine/metabolic environment.

98

99 The objectives of this study were to evaluate the effect of nutritionally regulated
100 differential BCS one month before the expected calving date on milk production,
101 metabolic and endocrine profiles and days to first ovulation in primiparous and
102 multiparous Holstein cows under grazing conditions.

103

104 **Materials and Methods**

105

106 Animal experimentation was approved by the Animal Experimentation Committee of
107 the University of Uruguay.

108

109 *Animals and Experimental design*

110

111 Holstein cows with 2 to 5 parturitions (multiparous cows, L2; n=32) and cows
112 without previous parturitions (primiparous cows, L1; n=30) (average 305 days
113 corrected milk yield: 6000 and 4800 kg respectively) with normal parturitions during
114 autumn (March, April and May) were selected from the herd of the experimental
115 dairy farm of the Faculty of Agronomy Sciences (Paysandú, Uruguay).

116

117 The experimental arrangement was a randomized complete block design, where cows
118 were blocked according to body weight (BW) and expected calving date and then
119 randomly assigned to different nutritional treatments from -100 to -30 days relative
120 to calving (days) to induce different BCS. Since the assignment of cows to
121 treatments was random, cows had to lose, maintain or gain BCS, thus, different
122 planes of nutrition were offered with approximately 7, 14 or 20 kg/day of dry matter
123 (DM) (estimated chemical composition: 12.7% crude protein (CP), 56.7% neutral
124 detergent fiber (NDF), 24.3% acid detergent fiber (ADF) and 1.25 Mcal/kgDM of net
125 energy of lactation (NEL)) of a long-term established pasture with a maximal
126 herbage mass of 1200 kgDM/ha. Body condition score was evaluated every 15 days
127 and animals were re-assigned in order to achieve the desired BCS -30 days. Only
128 animals that responded to nutritional treatment were considered and this was defined
129 as follows: primiparous and multiparous high cows (L1 high, L2 high) had to gain
130 0.5 points of BCS, primiparous low (L1 low) had to lose 0.5 points of BCS, and
131 multiparous low had to maintain BCS (L2 low) at least in two subsequent
132 observations from -100 to -30 days.

133

134 From -30 days to calving, L1 and L2 cows were managed apart. Cows were offered
135 once a day a diet that included whole-plant corn silage (4.2 and 5.1 kgDM) and of
136 commercial concentrate (3.7 and 4.6 kgDM), for L1 and L2, respectively and had *ad*
137 *libitum* access to Moha hay. This resulted in an estimated chemical composition of
138 9.5% CP, 54.2% NDF, 30.8% ADF and 1.33 Mcal/kgDM of NEL, for both groups.
139 From calving to 60 days, L1 and L2 cows grazed separately by group a 2nd year
140 pasture, mixture of *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens*, and *Lotus corniculatus*,

141 with a forage allowance of 30 kg DM/cow in weekly plots allocated twice per day
142 (9:30 AM to 02:30 PM and 05:30 PM to 04:00 AM). Pasture average composition
143 for the whole period was on average 25% DM, 14.2% CP, 49.0% NDF, and 24.5%
144 ADF. Cows were also supplemented individually with 3.1 kgDM of whole-plant corn
145 silage (31.1% DM, 6.9% CP, 65.0% NDF, and 33.0% ADF) and 3.7 kgDM of a
146 commercial concentrate (89% DM, 18.1% CP, 19.2% NDF and 12% ADF) after the
147 morning milking. In addition, cows received 1.3 kgDM of the same commercial
148 concentrate in the parlor during each milking (AM and PM).

149

150 Cows were milked twice a day (5:00 AM and 3:00 PM), milk production was
151 determined daily, and milk samples were obtained weekly from 4 consecutive
152 milking (milking of AM and PM) and combined for fat, protein and lactose
153 determinations. From 0 to 60 days, BCS was determined weekly and BW was
154 measured at 30-day intervals. Body condition score was evaluated according to a
155 scale of 1-5 (1=thin, 5=fat) (Edmonson *et al.* 1989) and the observations were
156 realized by the same observer throughout the experimental period. Blood samples
157 were collected once per week from -30 days to calving and twice a week from
158 calving to 60 days. Blood samples were collected from the coccygeal vein in
159 heparinized tubes approximately 1 hour before the morning milking. Samples were
160 centrifuged immediately and plasma was stored -20 °C until assayed.

161

162 *Metabolite and hormone determination*

163

164 The metabolic profiles included NEFA, BHB, cholesterol, total protein, albumin, and
165 urea. All samples were analyzed in one assay in the Laboratory "Dr. Miguel C.
166 Rubino" (DILAVE, Uruguay). Blood biochemistry was analyzed according to the
167 following colorimetric methodologies: cholesterol: CHOD-PAP (Wiener Lab
168 861231904), total protein: Biuret reaction (Wiener Lab 864102502), albumin:
169 Bromocresol green (Wiener Lab 861250000), and urea: Urease UV (Wiener Lab
170 861237004). For these determinations commercial kits from Wiener Laboratory
171 (Rosario, Argentina) were used and calibrated with control calibrator serum (Wiener
172 Lab 861244507) on a Vitalab Selectra 2 autoanalyser (Vital Scientific, Dieren, The
173 Netherlands). For quality controls, Lyotrol N (Ref. 62373), and P (Ref. 62 373), and
174 internal controls of the Laboratory "Dr. Miguel C. Rubino" were used.
175 Concentrations of NEFA were determined by the method ACS-ACOD (kit NEFA-C,

176 Wako Chemicals, USA) and BHB by the d-3-hydroxybutyrate kit (Randox
177 Laboratories Ltd, Ardmore, UK). The intra-assay CV were 6.8, 4.8, 0.1, 3.8, 4.0, and
178 18% for protein, albumin, urea, cholesterol, NEFA, and BHB assays, respectively.

179

180 Concentrations of insulin, IGF-I, and P4 were determined in the Laboratory of
181 Nuclear Techniques, Veterinary Faculty, Montevideo, Uruguay. Insulin was
182 determined by a ¹²⁵I-Insulin RIA kit (Diagnostic Products Co., Los Angeles, CA,
183 USA). The sensitivity of the assay was 2.2 μIU/mL and the intra-assay CV were 8.2
184 and 9.4% for low concentration (2.2 μIU/mL) and medium (12.6 μIU/mL) controls,
185 respectively.

186

187 Concentrations of IGF-I were determined using immunoradiometric assay with a
188 commercial kit (IGF1-RIACT Cis Bio International, GIF-SUR-YVETTE CEDEX,
189 France). The kit contains two monoclonal antibodies against two different antigenic
190 sites of IGF-I molecule, one is coated on the solid phase, the other radio labeled with
191 ¹²⁵I. Samples are first treated with an acidic solution to strip the carrier proteins
192 which is then saturated with IGF-II to avoid the re-association between IGF-I and the
193 carrier protein. The sensitivity of the assay was 0.7 ng/mL and the intra-assay CV for
194 control 1 (74 ng/mL) and control 2 (535 ng/mL) were 6.9 and 7.2%, respectively.

195

196 Progesterone concentrations were determined using a commercial kit (Diagnostic
197 Products Co Los Angeles, CA, USA). The sensitivity of the assay was 0.1 ng/mL and
198 the intra-assay CV for the low (0.5 ng/mL) and medium (2 ng/mL) controls were
199 15.6 and 8.1%, respectively. Days to first ovulation was defined as the first day after
200 calving in which the concentration of P4 was greater than 1 ng/mL.

201

202 *Statistical Analyses*

203

204 Milk production, BCS, metabolite and hormonal concentrations were analyzed with
205 repeated measures using a statistical model that included the effects of parity (L1 or
206 L2), BCS at -30 days (low or high BCS) nested in parity, days and their interactions
207 as fixed effects and block and cow as random effects (Mixed procedure, SAS
208 Institute Inc., Cary, NC, USA). The covariance structure was autoregressive order 1
209 and degrees of freedom were adjusted by the Kenward-Rogers method. The
210 probability of cows cycling was analyzed using generalized linear model with a

211 binomial distribution of the variable (Genmod procedure of SAS). Tukey-Kramer
212 tests were conducted to analyze differences between groups except for probability of
213 cows cycling where likelihood ratio tests were used. Data are presented in tables and
214 graphs as least square means \pm pooled standard error. Means were considered to
215 differ when $P < 0.05$, unless stated otherwise.

216

217 **Results**

218

219 *Body condition score and body weight*

220

221 Primiparous cows had greater BCS than multiparous cows at the initiation of the
222 experiment (3.90 ± 0.15 vs 2.67 ± 0.12 , $P < 0.001$). There were no differences between
223 BCS within parity groups before the nutritional treatments were applied, but they did
224 differ from -85 to -40 days (data not shown).

225

226 The changes in BCS and BW of the cows that were included (i.e., those that
227 responded with changes in BCS to the treatment) in the study are shown in Figure 1.
228 The changes of the BCS from -30 to 60 days were affected by parity, BCS at -30
229 days within parity, days, and their interactions (Table I). While in L1 high cows
230 ($n=13$) BCS increased from -100 to -75 days and decreased thereafter until to 21
231 days, L1 low cows ($n=9$) lost BCS from -75 to -30 days and from -15 to 15 days. The
232 BCS of L2 high cows ($n=9$) increased from -100 to -75 days, remained constant
233 until -30 days and decreased thereafter until 15 days, while BCS of L2 low cows
234 ($n=8$) was maintained throughout the experimental period except for the decrease
235 found from -15 to 0 days. At -30 days there were differences in BCS among
236 treatments: 3.43 ± 0.05 vs. 2.98 ± 0.07 for L1 high and low, respectively and 3.44 ± 0.07
237 vs 2.89 ± 0.07 for L2 high and low, respectively.

238

239 Body weight at calving was 539 ± 15 , 572 ± 10 , 594 ± 17 and 610 ± 18 kg for L1 low, L1
240 high, L2 low, and L2 high cows, respectively, with L2 cows being on average
241 heavier than L1 cows throughout the experimental period. Body weight at -115 days
242 was similar among groups, probably due to a better BCS in L1 cows (Figure 1B). All
243 cows lost BW from calving to 15 days and maintained their weight up to 75 days,
244 except L2 high cows that gained BW at 75 days.

245

246 *Milk production and composition*

247

248 Milk production was greater for L2 cows but was not affected by BCS at -30 days
249 within parity (Figure 2A and Table I).

250 Milk fat percentage was affected by BCS at -30 days within parity: L1 high had more
251 fat percentage than L1 low cows (Table I and table II), but no differences were found
252 in L2 cows. Milk protein, fat, and lactose percentages decreased with days in all the
253 groups of cows (Table I and Table II).

254

255 Fat corrected milk yield (4% FCM) was affected by parity and days and tended
256 ($P=0.067$) to be affected by BCS at -30 days within parity (Table I). L1 and L2 high
257 cows produced more 4% FCM than L1 and L2 low cows at several time points
258 during the experimental period (Figure 2, asterisks).

259

260 *NEFA and BHB profiles*

261

262 Concentrations of NEFA were affected by the BCS at -30 days within parity and
263 days, but there was no effect of parity (Table I). NEFA concentrations increased
264 from -15 days to calving peaked between calving and 15 days and decreased at 30
265 days (Figure 3A). At calving, L1 high cows had greater NEFA concentrations than
266 L1 low cows, but no differences were found thereafter. The L1 low cows had
267 reduced NEFA concentrations throughout the experimental period.

268

269 BHB concentration was affected by days, levels increased at 15 days in all groups
270 except L1 low cows (Figure 3B). BHB concentration was greater in L2 high than in
271 L2 low cows.

272

273 *Total protein, albumin, urea and cholesterol*

274

275 Concentrations of total protein were affected by parity and days (Table I). Protein
276 concentrations decreased at -15 days and calving and cows restored their initial
277 protein concentrations by 15 days, except for the L1 low cows. L2 cows had greater
278 protein concentrations than L1 cows, but it was more evident in the high group
279 (Figure 4A).

280

281 Albumin concentrations tended to be affected by the BCS at -30 days within parity
282 ($P=0.08$) and days (Figure 4B and Table I), with minimum levels found at calving
283 and greater concentrations in L1 low than in L1 high cows.

284

285 Urea concentrations were affected by BCS at -30 days within parity groups and days
286 (Table I): L2 low had greater concentrations than L2 high cows (Figure 4C). While
287 urea concentrations in L1 high cows were maintained at constant levels during the
288 transition period, in L1 low cows the nadir in urea concentrations was reached at
289 calving and levels remained low. In L2 low cows, urea concentrations decreased
290 sharply at -15 days, while in L2 high cows levels remained constant until calving; in
291 both groups urea concentrations increased at 15 days.

292

293 Cholesterol concentrations were affected by days and there was an interaction
294 between parity and days (Table I) as concentrations decreased at calving, and
295 increased again at 15 days, and L2 had greater concentrations than L1 cows at 30
296 days (data not shown).

297

298 *Insulin*

299

300 In L1 and L2 low cows, insulin concentrations were already reduced at -37 days (end
301 of the nutritional treatment) and increased during the prepartum period, while the
302 opposite was found in L1 and L2 high cows.

303 L1 and L2 high cows maintained insulin concentrations during the postpartum
304 period, while concentrations of insulin decreased at calving and 15 days for L2 low
305 and L1 low cows respectively (Figure 5A).

306 When only postpartum data was considered, L1 cows had greater insulin
307 concentration than L2 cows.

308

309 *Insulin Like Growth Factor-I*

310

311 The concentration of IGF-I was affected by days and decreased at calving in all
312 groups. There was a tendency ($P=0.07$) for an interaction between days and BCS, in
313 L1 low cows IGF-I concentrations were constant in the prepartum period and
314 decreased at calving, while in L1 high cows IGF-I concentrations increased from
315 days -37 to -21 and decreased at calving (Figure 5B).

316

317 In the L2 low cows there was a tendency ($P=0.09$) for IGF-I concentrations to
318 increase from days -37 to -30, and remained constant thereafter until calving; while
319 in L2 high cows IGF-I concentrations decreased from - 37 days until 15 days and
320 then remained constant.

321

322 *First postpartum ovulation*

323

324 Time from calving to first ovulation was 16 days longer for L1 cows than L2 cows
325 ($P=0.05$) and tended to be 15.3 days longer in low BCS cows than in high BCS cows
326 ($P=0.14$). The first ovulation occurred at 40.6 ± 2 and 55.2 ± 2 days for L1 high and
327 low and 22.1 ± 2 and 39.1 ± 2 for L2 high and low cows, respectively.

328

329 The probability of cows cycling was affected by BCS within parity at 30 and 50 days
330 (Figure 6), L1 low cows had the least while L2 high cows presented the greatest
331 probability of cows cycling.

332

333 **Discussion**

334

335 In this study we report that the nutritional regulation of BCS at -30 days affected in a
336 distinct manner milk fat percentage and days to first ovulation as well as various
337 endocrine/metabolic profiles according to parity; suggesting that the metabolic
338 reserves signaling the productive/reproductive axis provoked a differential nutrient
339 partitioning in adult vs first-calving cows. An interesting finding of this study was
340 that the rather small difference in the induced BCS among groups (0.5 points on a 1
341 to 5 scale) had relevant effects on the probability of cows cycling.

342

343 The nutritional treatment succeeded in increasing BCS in L1 high and L2 high cows
344 during -85 to -40 days. The high BCS groups differed from the low BCS groups at -
345 30 days and at calving, but no differences were found 21 days after calving.
346 Similarly, cows under different prepartum nutritional treatments (*ad libitum* vs
347 restrictive intakes) reached the same nadir of BCS between 4 to 6 weeks postpartum
348 (Douglas *et al.* 2006).

349

350 Several studies have reported the importance of body reserves (BCS) at calving
351 and/or during the prepartum period on reproductive/productive performance (Pedron
352 et al. 1993, Waltner, 1993; Mackey *et al.* 2000; Meikle *et al.* 2004; Sherestha *et al.*
353 2005; Roche *et al.* 2007; Stockdale. 2008). The differential aspect of this study was
354 that BCS was nutritionally regulated; cows that had similar BCS at approximately -
355 100 days were managed differentially to reach different BCS one month before
356 calving.

357

358 We found that a 0.5 point difference in BCS (1-5 scale) affected FCM during the first
359 40 to 60 days in L2 or L1 cows respectively. Pedron *et al.* (1993) and Agenas *et al.*
360 (2003) did not find any effect of BCS at calving on milk yield in confined systems.
361 However, Stockdale (2008) utilizing fat and thin animals at calving (0.5 point
362 difference in BCS in a 1 to 8 scale), produced 33.7 vs 31.6 kg/day respectively, in the
363 first 92 days of lactation. Roche *et al.* (2007) established that BCS at calving or pre-
364 calving BCS affected positively average milk yield, especially when 270-d milk
365 yield was considered rather than 60-d milk yield (140% greater). This would indicate
366 a positive effect of BCS on daily milk yield beyond the BCS nadir, which could be
367 due to an increased DMI during mid-late lactation in cows that calved in better
368 condition and/or to a reduction in the partitioning of nutrients towards replenishment
369 of tissue stores in these cows (Roche *et al.* 2007).

370

371 Concentrations of NEFA reflected the mobilization of reserves and were greater in
372 L1 high cows which were consistent with the greater losses of BCS as well as the
373 increased milk fat percentage in early lactation period for this group of cows. The
374 rapid increase in NEFA concentrations found at calving in L1 high cows may be the
375 result of an earlier installation of the negative energy balance probably due to the
376 demands of gestation, lactogenesis, and DMI decrease in this category. The lower
377 NEFA concentrations in L1 low cows may be the result of an earlier mobilization of
378 body reserves during the prepartum period which may have limited the capacity for
379 milk production. Moreover, BHB in this group did not increase during the
380 postpartum period. Although no differences were observed according to treatment in
381 NEFA concentrations in L2 cows, BCS nadir was later during the postpartum period
382 for L2 high than for L2 low cows. This was associated with the greater FCM yields
383 found from approximately 3 to 5 wk postpartum in the former group. Indeed, dairy
384 cows can mobilize fat reserves up 12 wk postpartum (Komaragiri and Erdman,

385 1997); and this was reflected in this study by the concentrations of preformed fatty
386 acids (C>16) in milk fat which were greater in L2 high cows than in L2 low cows
387 (*unpublished data*).

388
389 Total plasma protein nadir found at calving reflected the mobilization of proteins
390 towards the mammary gland principally for the immunoglobulin secretion in the
391 colostrum. The decrease in albumin, urea, and cholesterol concentrations at calving
392 may reflect the decreased intake in the peripartum period as has been reported earlier
393 (Cavestany *et al.* 2005; Seifi *et al.* 2007). L2 cows had greater cholesterol
394 concentrations than L1 during the postpartum period, which may reflect a faster
395 recovery of intake in this category. Total plasma protein concentrations were greater
396 in L2 high cows showing the better energy/nitrogen balance. This idea was
397 reinforced by the greater urea concentrations found in L2 low cows that peaked at 2
398 wk postpartum, possibly indicating an increased protein mobilization to maintain
399 milk production. According to Komaragiri *et al.* (1998) the capacity for protein
400 mobilization is limited and occurs mainly during the first 5 wk postpartum
401 (Komaragiri and Erdman, 1997). Interestingly, L2 low cows decreased sharply the
402 FCM production during the first 4 wk, while L2 high cows maintained FCM
403 production in the experimental period, which may be attributed to the greater
404 disposable energy stores to maintain milk production.

405
406 Low BCS cows at the end of the nutritional treatment presented lower insulin
407 concentrations than high BCS cows which was consistent with the nutritional
408 treatment in these groups. After the treatment period cows were treated similarly, and
409 it is possible that the change of diet – e.g. better for low BCS cows - provoked a
410 positive signal as insulin concentrations increased immediately in low BCS animals.
411 This resulted in that insulin profiles around calving differed between high and low
412 BCS groups: while insulin concentrations were already decreasing one month before
413 calving in high BCS cows, the decrease observed in low BCS cows was closer to
414 calving. A decrease in insulin at calving is a metabolic adaptation to cope with the
415 energy demands of lactation as reported earlier (Taylor *et al.* 2003 and Wathes *et al.*
416 2007a), since low insulin levels favor gluconeogenesis and lipolysis (Herdt, 2000),
417 (e.g. homeorhetical effect). Wathes *et al.* (2007a) reported that insulin concentrations
418 tended to be lower in adult animals which were consistent with postpartum data of
419 the present study. These reduced insulin levels in L2 cows, can also be explained by

420 their poorer energetic status (BCS) during the prepartum period when compared with
421 L1 cows and may also explain the better capacity for protein/fat reserve mobilization
422 for milk synthesis.

423

424 In the present experiment no differences in IGF-I concentrations among L1 and L2
425 cows were found which is in contrast with Wathes *et al.* (2007a) that reported that
426 both insulin and IGF-I have greater concentrations in young animals associated with
427 their role in growth. Prepartum IGF-I concentrations in L1 high cows were greater
428 than in the other groups of cows, which was consistent with the better BCS of these
429 animals. IGF-I decreased at calving as reported previously (Lucy *et al.* 2001; Taylor
430 *et al.* 2003; Meikle *et al.* 2004). It is interesting to note that IGF-I profiles reflected
431 more likely the changes in BCS, in contrast with insulin profiles that were associated
432 more with the day-to-day effects of the nutritional input as observed in the prepartum
433 increases in low BCS cows. It can be speculated that IGF-I concentrations may
434 integrate the metabolic memory (energy reserves) and the current energy status,
435 while insulin may be more of a reflection of daily DMI. The L2 high cows presented
436 a slight delay in the IGF-I decrease – when compared with the other groups of cows -
437 which was associated with greater insulin levels prepartum and an overall better
438 energy status during the postpartum period (greater total plasma protein
439 concentrations, increase in body weight, and better reproductive performance).

440

441 The probability of cows cycling was affected by BCS at -30 days and parity, showing
442 that cows in lower BCS and L1 cows having longer anestrus, which was consistent
443 with other reports (Spicer *et al.* 1990; Meikle *et al.* 2004; Sakaguchi *et al.* 2004;
444 Burke and Roche, 2007; Tanaka *et al.* 2008). This showed that, reduced ovarian
445 activity was associated with a more severe negative energy balance. A possible
446 explanation of the delayed reinitiation of ovarian cyclicity in L1 cows may be their
447 extra requirements for growth. A decrease in BCS of ≥ 1 unit at 7 wk after calving
448 increased the occurrence of delayed first ovulation (Shrestha *et al.* 2005). Similarly,
449 the negative energy balance during the first 3-4 wk postpartum is highly correlated
450 with days to first ovulation (Butler, 2000). Kawashima *et al.* (2007) demonstrated
451 that IGF-I concentrations were a key determinant of time of ovulation. However, in
452 this study, postpartum IGF-I concentrations did not explain the differences found in
453 the probability of cows resuming cyclicity. Chagas *et al.* (2006) reported that
454 prepartum IGF-I concentrations were greater in high BCS unrestricted cows than

455 restricted cows, but even if postpartum IGF-I concentrations were similar, most high
456 BCS cows had ovulated by + 77 days, while only 8% of low BCS cows did so. Since
457 it is accepted that both insulin and IGF-I stimulates follicular growth and ovulation
458 during the postpartum period, we suggest that the differential reproductive
459 performance was mainly due to distinct endocrine changes during the prepartum
460 period, e.g., metabolic memory.

461

462 In summary, the nutritionally regulated BCS at -30 days had positive effects on fat
463 corrected milk production and on days to first ovulation, and it was associated with a
464 better prepartum endocrine milieu. Multiparous cows were more adapted to increased
465 milk production and to reinitiate postpartum ovarian cyclicity compared with
466 primiparous cows.

467

468 **Acknowledgments**

469

470 The authors want to thank Dr. M. Crowe for constructive criticism of this
471 manuscript. The present study received financial support from INIA Project No. 214,
472 Uruguay.

473

474 **References**

475

- 476 1. Agenas, S., Burstedt, E and Holtenius, K. (2003). Effects of feeding intensity
477 during the dry period. 1. Feed intake, body weight, and milk production.
478 Journal Dairy Science. 86, 870–882.
- 479 2. Burke, C.R and Roche, R. (2007). Effects of pasture feeding during the
480 periparturient period on postpartum anovulation in grazed dairy cows. Journal
481 Dairy Science. 90, 4304-4312.
- 482
- 483 3. Butler, W.R (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in
484 dairy cattle. Animal Reproduction Science. 60-61, 449-457.
- 485
- 486 4. Cavestany, D., Viñoles, C., Crowe, M.A., La Manna, A., Mendoza, A.
487 (2009). Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein

- 488 cows in a pasture-based dairy system. *Animal Reproduction Science*. 114, 1–
489 13.
- 490
- 491 5. Cavestany, D., Blanc, J.E., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilbroste, P., Meikle,
492 A., Febel, H., Ferraris, A and Krall, E. (2005). Studies of the transition cow
493 under and pasture-based milk production system: metabolic profiles. *Journal*
494 *Veterinary Medicine A*. 52, 1-7.
- 495
- 496 6. Chagas, L.M., Rhodes, F.M., Blache, D., Gore, P.J., Macdonald, K.A and
497 Verkerk, G.A. (2006). Precalving effects on metabolic responses and
498 postpartum anestrus in grazing primiparous dairy cows. *Journal Dairy*
499 *Science*. 89, 1981–1989.
- 500
- 501 7. Drackley, J.K. (1999). Biology of dairy cow during the transition period: the
502 final frontier? *Journal Dairy Science*. 82, 2259-2273.
- 503
- 504 8. Douglas, G.N., Overton, T.R., Bateman, H.G., Dann, H.M and Drackley, J.K.
505 (2006). Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source,
506 affects periparturient metabolism and dry matter intake in holstein cows.
507 *Journal Dairy Science*. 89, 2141–2157.
- 508
- 509 9. Edmonson, A.J., Lean, L.J., Weaver, L.D., Farver T and Webster, G. (1989).
510 A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal Dairy*
511 *Science*. 72: 68-78.
- 512
- 513 10. Gallo, L., Carnier, P., Cassandro, M., Mantovani, R., Bailoni, L., Contiero, B,
514 and Bittante, G. (1996). Change in body condition score of Holstein cows as
515 affected by parity and mature equivalent milk yield. *Journal Dairy Science*.
516 79, 1009-1015.
- 517
- 518 11. Grummer, R.R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on
519 feeding the transition dairy cow. *Journal Animal Science*. 73, 2820-2833.
- 520
- 521 12. Grummer, R.R., Mashek, D.G y Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and
522 energy balance in the transition period. *Veterinary Clinical North American*.

- 523 Food Animal Practice. 20, 447-470.
- 524
- 525 13. Herdt, T. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance: influence
526 on the etiology of ketosis and fatty liver. *Metabolic disorders of ruminants.*
527 *Veterinary Clinical North American. Food Animal Practice.* 16(2), 215-230.
- 528
- 529 14. Ingvarthsen K.L and Andersen J.B. (2000). Integration of metabolism and
530 intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *Journal Dairy*
531 *Science.* 83, 1573-1597.
- 532
- 533 15. Kawashima, Ch., Kaneko, E., Amaya, C., Matsui, M., Yamagishi, N.,
534 Matsunaga, N., Ishii, M., Kida, K., Miyake, Y., Miyamoto, A. (2006).
535 Relationship between the first ovulation within three week postpartum and
536 subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *Journal*
537 *Reproduction Development.* 52, 479-486.
- 538
- 539 16. Kawashima, Ch., Sakaguchi, M., Susuki, T., Sasamoto, Y., Takahashi, Y.,
540 Matsui, M and Miyamoto, A. (2007). Metabolic profiles in ovulatory and
541 anovulatory primiparous dairy cows during the first follicular wave
542 postpartum. *Journal Reproduction Development.* 53, 113-120.
- 543
- 544 17. Komaragiri, M and Erdman, R. Factors affecting body tissue mobilization in
545 early lactation dairy cows. (1997). 1. Effect of dietary protein on mobilization
546 of body fat and protein. *Journal Dairy Science.* 80, 929-937.
- 547
- 548 18. Komaragiri, M., Casper and Erdman, R. (1998). Factors affecting body tissue
549 mobilization in early lactation dairy cows. 2. Effect of dietary fat on
550 mobilization of body fat and protein. *Journal Dairy Science.* 81, 169–175.
- 551
- 552 19. Konigsson, K., Savoini, G., Govoni, N., Invernizzi, G., Prandi, A., Kindahl,
553 H., Veronesi, M.C. (2008). Energy balance, leptin, NEFA and IGF-I plasma
554 concentrations and resumption of post partum ovarian activity in swedish red
555 and white breed cows. *Acta Veterinaria Scandinavica.* 50:3.
- 556

- 557 20. Lucy, M., Jiang, H., and Kobayashi, Y. (2001). Changes in the somatotrophic
558 axis associated with the initiation of lactation. *Journal Dairy Science*. 84,
559 E113-E119.
- 560
- 561 21. Mackey, D.R., Wylie, A.R., Sreenan, J.M., Roche, J.F and Diskin, M.G.
562 (2000). The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover,
563 gonadotropin, and steroid concentration in beef heifers. *Journal Animal*
564 *Science*. 78, 429–442.
- 565
- 566 22. Meikle, A., Kulcsar, M., Chilliard, Y., Febel, H., Delavaud, C., Cavestany, D.
567 (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and
568 reproductive parameters of the cow. *Reproduction*. 127, 727–37.
- 569
- 570 23. Patton, J, Kenny, D.A., McNamara, S., Mee, J.F., O’Mara, F.P, Diskin, M.G
571 and Murphy, J.J. (2007). Relationships among milk production, energy
572 balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *Journal*
573 *Dairy Science*. 90, 649-658.
- 574
- 575 24. Pedron, O., Cheli, F., Senatore, E., Baroli, D and Rizzi, R. (1993). Effect of
576 body condition score at calving on performance, some blood parameters, and
577 milk fatty acid composition in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 76, 2528-
578 2535.
- 579
- 580 25. Roberts, A.J., Nugent III, R.A., Klindt, J., Jenkins, T.G. (1997). Circulating
581 insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins,
582 growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to
583 dietary energy restriction. *Journal Dairy Science*. 75, 1909–1917.
- 584
- 585 26. Roche, J.R., Lee, J.M., Macdonald, K.A and Berry, D.P. (2007).
586 Relationships among body condition score, body weight, and milk production
587 variables in pasture-based dairy cows. *Journal Dairy Science*. 90, 3802–3815.
- 588
- 589 27. Sakaguchi, M., Sasamoto, Y., Suzuki, T., Takahashi, Y and Yamada, Y.
590 (2004). Postpartum ovarian follicular dynamics and estrous activity in

- 591 lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*. 87, 2114–2121.
- 592
- 593 28. Seifi, H., Gorji-Dooz, M., Mohri, M., Dalir-Naghadeh, B., Farzaneh, N.
594 (2007). Variations of energy-related biochemical metabolites during
595 transition period in dairy cows. *Compendium Clinical Pathology*. 16, 253–
596 258.
- 597
- 598 29. Shrestha, H., Nakao, T., Suzuki, T., Akita, M., Higaki, T. (2005).
599 Relationships between body condition score, body weight, and some
600 nutritional parameters in plasma and resumption of ovarian cyclicity
601 postpartum during pre-service period in high-producing dairy cows in a
602 subtropical region in Japan. *Theriogenology*. 64, 855–866.
- 603
- 604 30. Spicer, L.J., Tucker, W.B and Adams, J.D. (1990). Insulin-like growth factor-
605 I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian
606 activity, and estrous behavior. *Journal Dairy Science*. 73, 929-937.
- 607
- 608 31. Stockdale, C.R. (2008). Effects of body condition score at calving and
609 feeding various types of concentrate supplements to grazing dairy cows on
610 early lactation performance. *Livestock Science*. 116, 191-202.
- 611
- 612 32. Tanaka, T., Arai, M., Ohtani, S., Uemura, S., Kuroiwa, T., Kim, S.,
613 Kamomae, H. (2008). Influence of parity on follicular dynamics and
614 resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Animal Reproduction
615 Science*. 108, 134–143.
- 616
- 617 33. Taylor, V., Beever, D., Bryant, M., Wathes, D. (2003). Metabolic profiles and
618 progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology*. 59, 1661-
619 1677.
- 620
- 621 34. Taylor, V.J., Cheng, Z., Pushpakumara, P.G.A., Beever, D.E and Whates, D.
622 (2004). Relationships between the plasma concentration of insulin-like
623 growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Veterinary
624 Record*. 155, 583-588.
- 625

- 626 35. Wathes, D., Cheng, Z., Bourne, N., Taylor, V., Coffey, M., Brotherstone, S.
627 (2007a). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the
628 inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition
629 score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology*. 33, 203–
630 225.
- 631
- 632 36. Wathes, D., Bourne, N., Cheng, Z., Mann, G., Taylor, V and Coffey, M.
633 (2007b). Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles
634 with fertility in primiparous and multiparous cows. *Journal Dairy Science*. 90,
635 1310–1325.
- 636
- 637 37. Waltner, S., Mcnamara, J., Hillers, J. (1993). Relationships of body
638 condition score to production variables in high producing Holstein dairy
639 cattle. *Journal Dairy Science*. 76, 3410-3419.
- 640
- 641 38. Whitaker, D., Goodger, W., Garcia, M., Perera, B and Wittwer, F. (1999).
642 Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries
643 on smallholder dairy farms. *Preventive Veterinary Medicine*. 38 (2-3), 119-
644 31.
- 645

646 **Legends to the Figures**

647

648 **Figure 1.** Body condition score (BCS) from -100 at 56 days of calving (A) and body
649 weight (B). L1 low= Primiparous cows in low body condition score, L1 high=
650 Primiparous cows in high body condition score, L2 low= multiparous cows in low
651 body condition score, L2 high= multiparous cows in high body condition score.

652

653 **Figure 2.** Milk production (A) and milk production corrected for 4% fat (B) during
654 60 days after of calving. L1 low= Primiparous cows in low body condition score, L1
655 high= Primiparous cows in high body condition score, L2 low= multiparous cows in
656 low body condition score, L2 high= multiparous cows in high body condition score.

657

658 **Figure 3.** Concentration of NEFA (A) and BHB (B) in plasma. L1 low= Primiparous
659 cows in low body condition score, L1 high= Primiparous cows in high body
660 condition score, L2 low= multiparous cows in low body condition score, L2 high=
661 multiparous cows in high body condition score.

662

663 **Figure 4.** Concentration of protein (A), albumin (B) and urea (C) in plasma. L1 low=
664 Primiparous cows in low body condition score, L1 high= Primiparous cows in high
665 body condition score, L2 low= multiparous cows in low body condition score, L2
666 high= multiparous cows in high body condition score.

667

668 **Figure 5.** Concentration of insulin (A) and IGF-I (B) in plasma. L1 low=
669 Primiparous cows in low body condition score, L1 high= Primiparous cows in high
670 body condition score, L2 low= multiparous cows in low body condition score, L2
671 high= multiparous cows in high body condition score.

672

673 **Figure 6.** Probability of days to first ovulation. L1 low= Primiparous cows in low
674 body condition score, L1 high= Primiparous cows in high body condition score, L2
675 low= multiparous cows in low body condition score, L2 high= multiparous cows in
676 high body condition score.

677

678

679

680

681

682

683

684

685

686 Table I. F-tests of fixed effects included in the model for measured parameters in cows under grazing conditions. Fixed effects are the effects of days
 687 postpartum (days), parity (P), body condition score at -4 week (BCS-P), and interactions between them.

688

*=P<0.05, **=P<0.01, ***=P<0.001

689

VARIABLE	Days	(P)	BCS(P)	days* BCS(P)	days* P
BCS	***	***	***	***	***
Body weight (kg)	***	**	0.12	-	**
Fat (%)	***	-	**	-	-
Fat (kg)	**	**	0.05	***	***
Protein (%)	**	-	-	-	-
Lactosa (%)	**	0,11	-	-	-
Milk production (L)	***	***	-	**	**
Accumulated milk production (L)	-	***	-	-	-
Milk production corrected for fat 4%	***	***	0.067	***	***
NEFA (mmol/L)	***	-	**	-	-
BHB (mmol/L)	**	-	-	-	-
Cholesterol (mmol/L)	***	-	-	-	**
Protein (g/L)	***	*	-	-	-
Albumin (g/L)	**	-	0.08	-	-

Urea (mmol/L)	**	-	*	-	-
IGF-I (ng/mL)	***	-	-	0.07	-
Insulin (μ IU/mL)	-	0.13	0.14	-	-

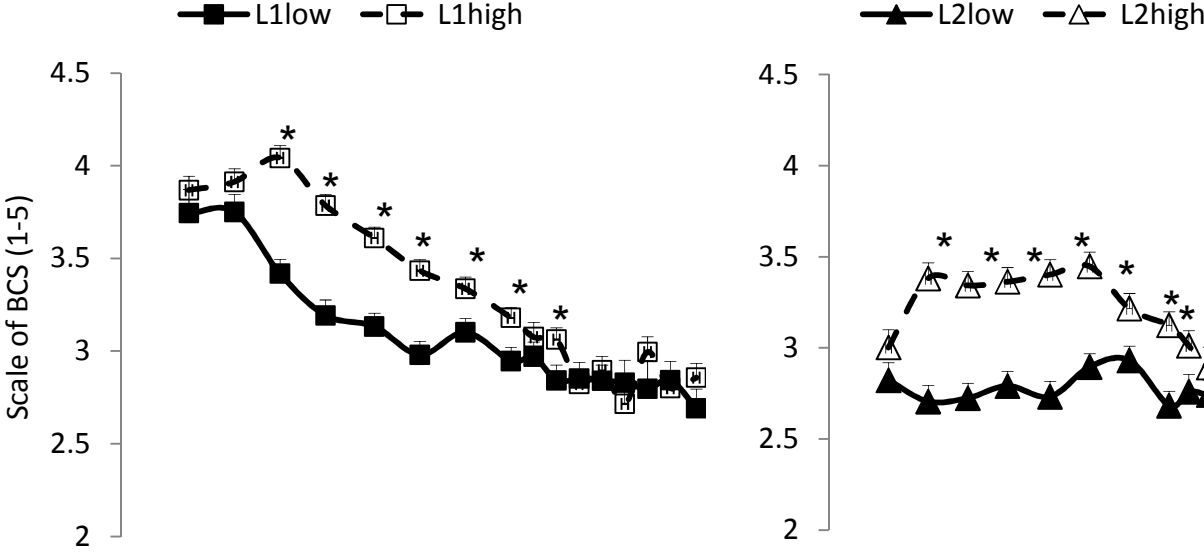
690 Table II. Milk composition: % of fat, protein and lactose and accumulated milk production (L). L1 low= Primiparous cows in low body condition
 691 score, L1 high= Primiparous cows in high body condition score, L2 low= multiparous cows in low body condition score, L2 high= multiparous cows in
 692 high body condition score. Values with different letters within the same line differ $P < 0.05$.

Groups	L1 low (n=9)	L1 high (n=13)	L2 low (n=8)	L2 high (n=9)
% Fat	3.38±0.06 ^b	3.72±0.05 ^a	3.41±0.07 ^b	3.49±0.06 ^{ab}
% Protein	3.03±0.04 ^a	2.98±0.03 ^a	3.04±0.04 ^a	2.97±0.04 ^a
% Lactose	4.84±0.03 ^a	4.81±0.03 ^a	4.83±0.03 ^a	4.72±0.03 ^a
Accumulated milk production (L)	1079±44 ^b	1105±32 ^b	1359±45 ^a	1437±45 ^a

693

694

A



B

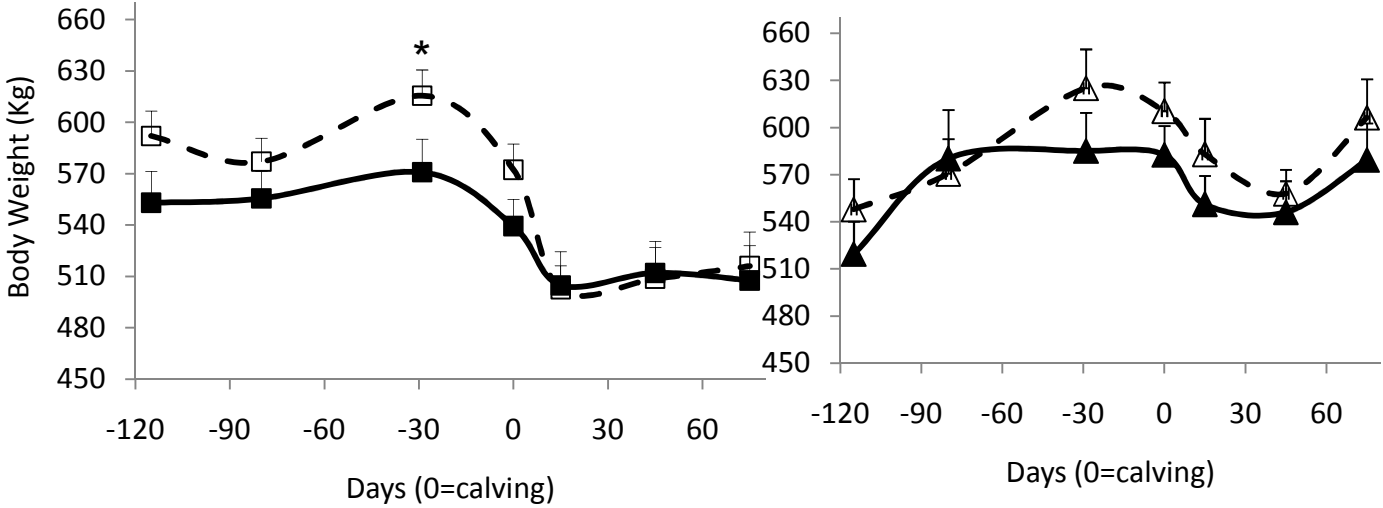


Figure 1

* Indicate significant differences between high and low for each parity

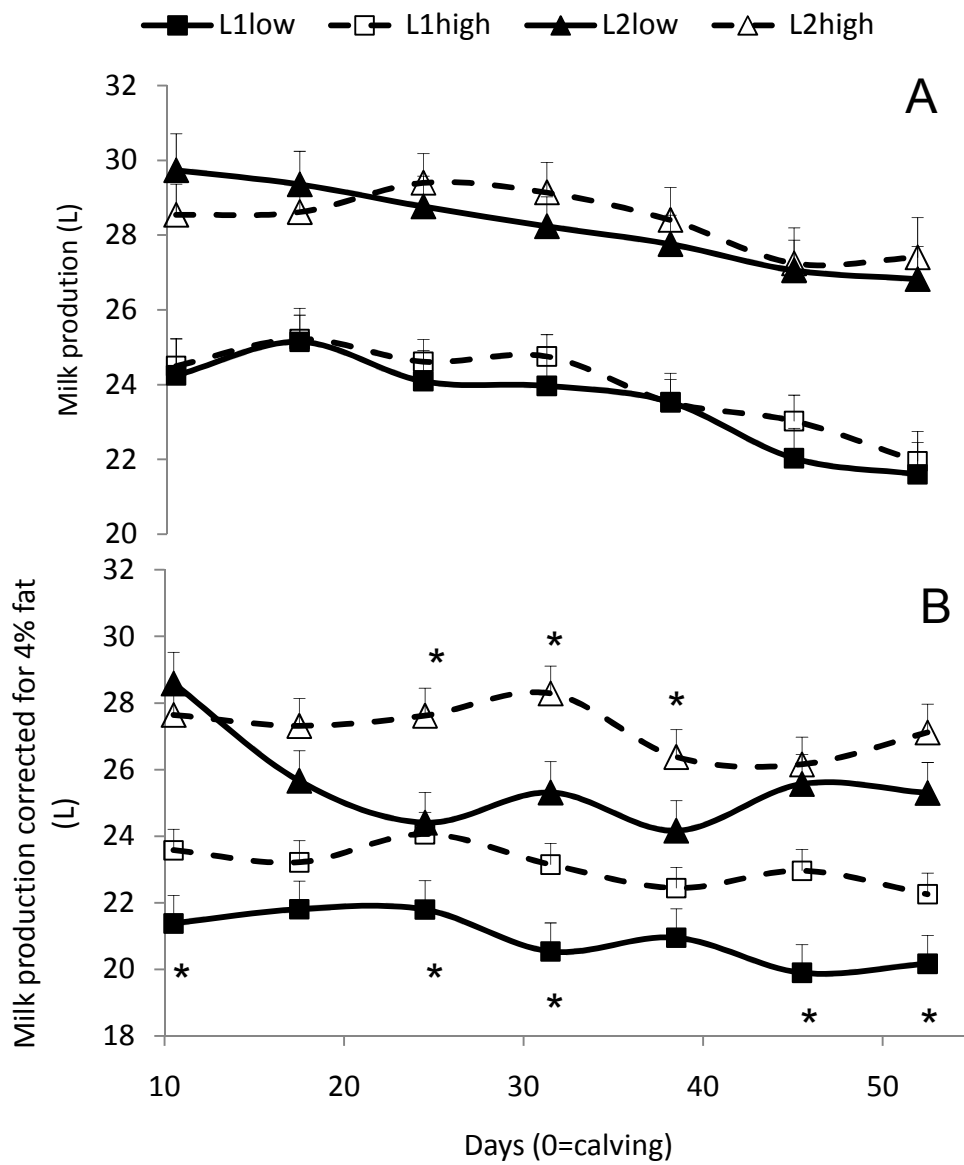


Figure 2

* Indicate significant differences between high and low for each parity

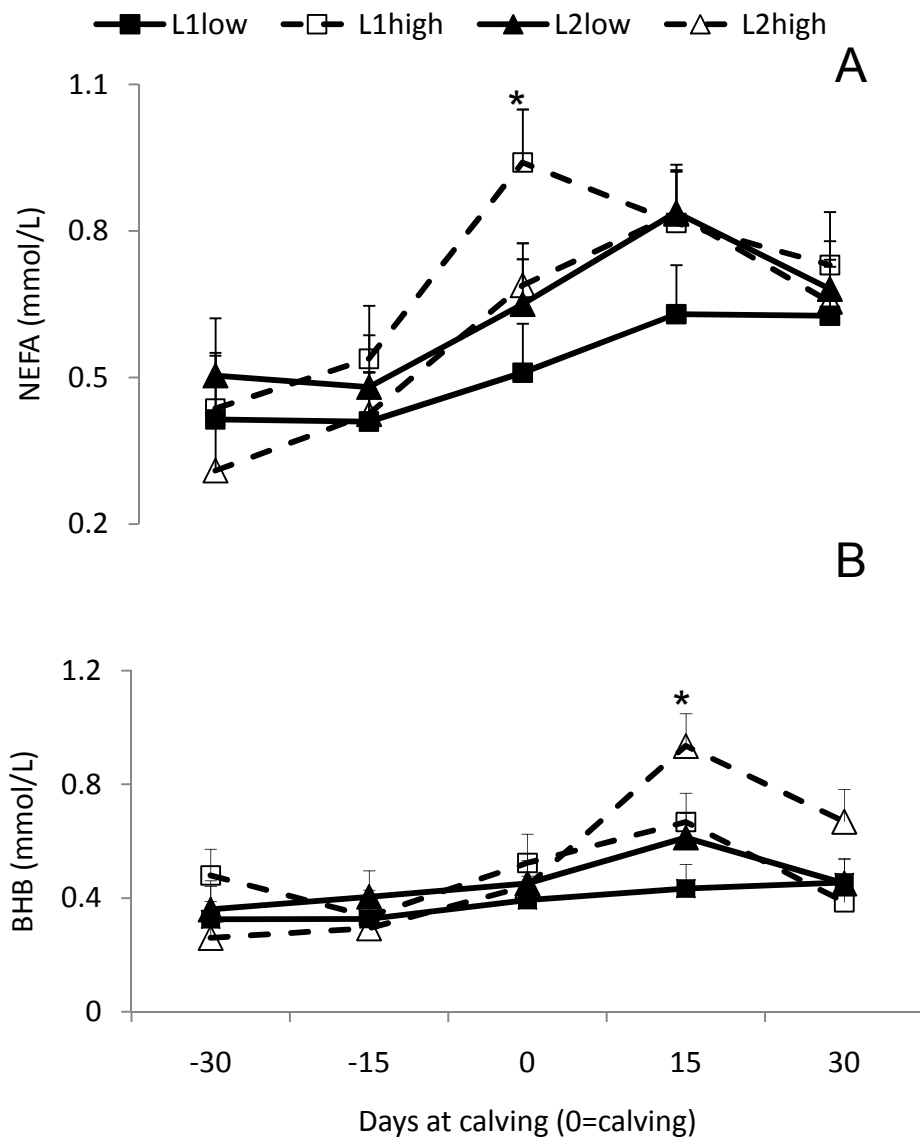


Figure 3

* Indicate significant differences between high and low for each parity

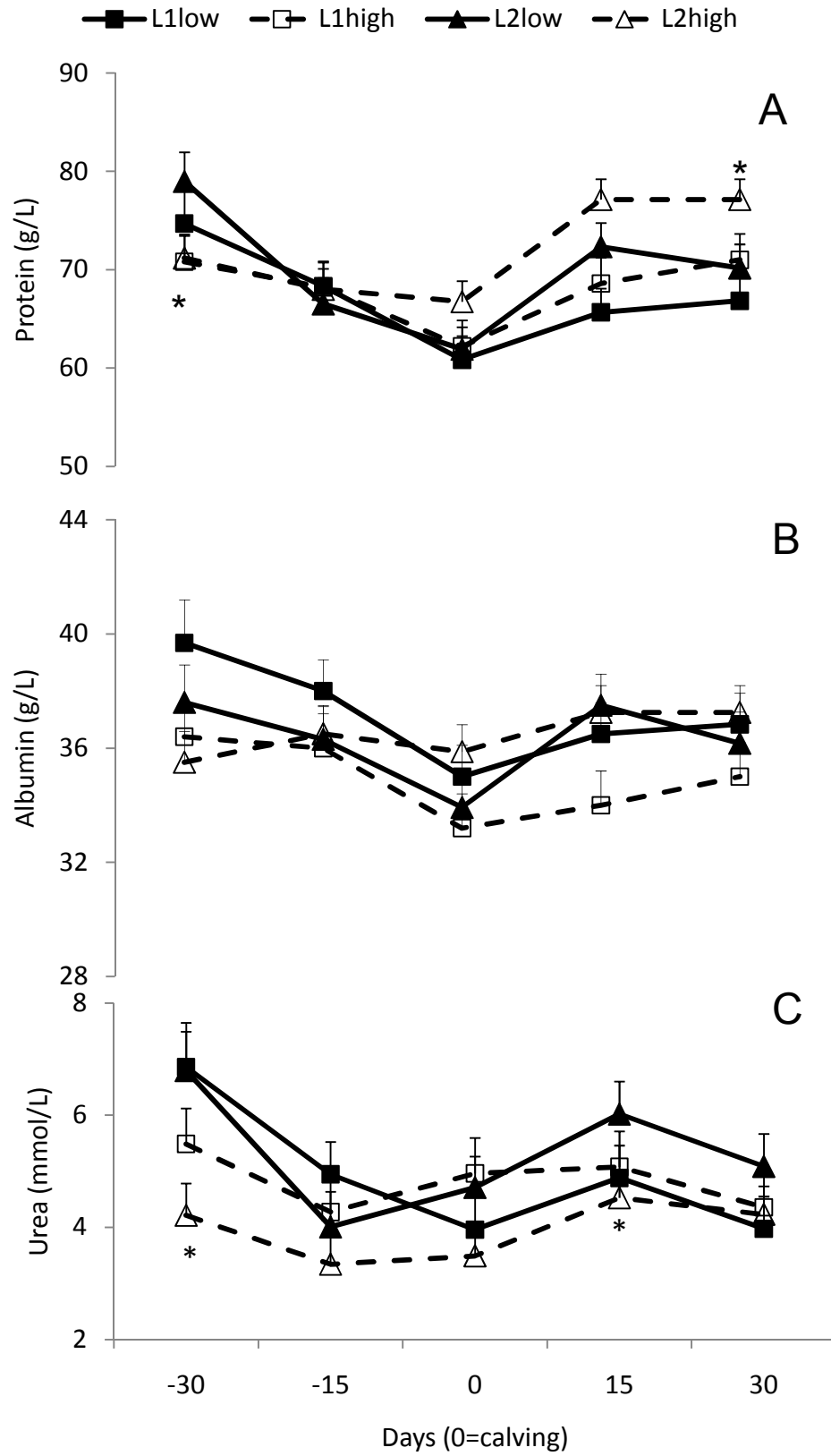


Figure 4

* Indicate significant differences between high and low for each parity

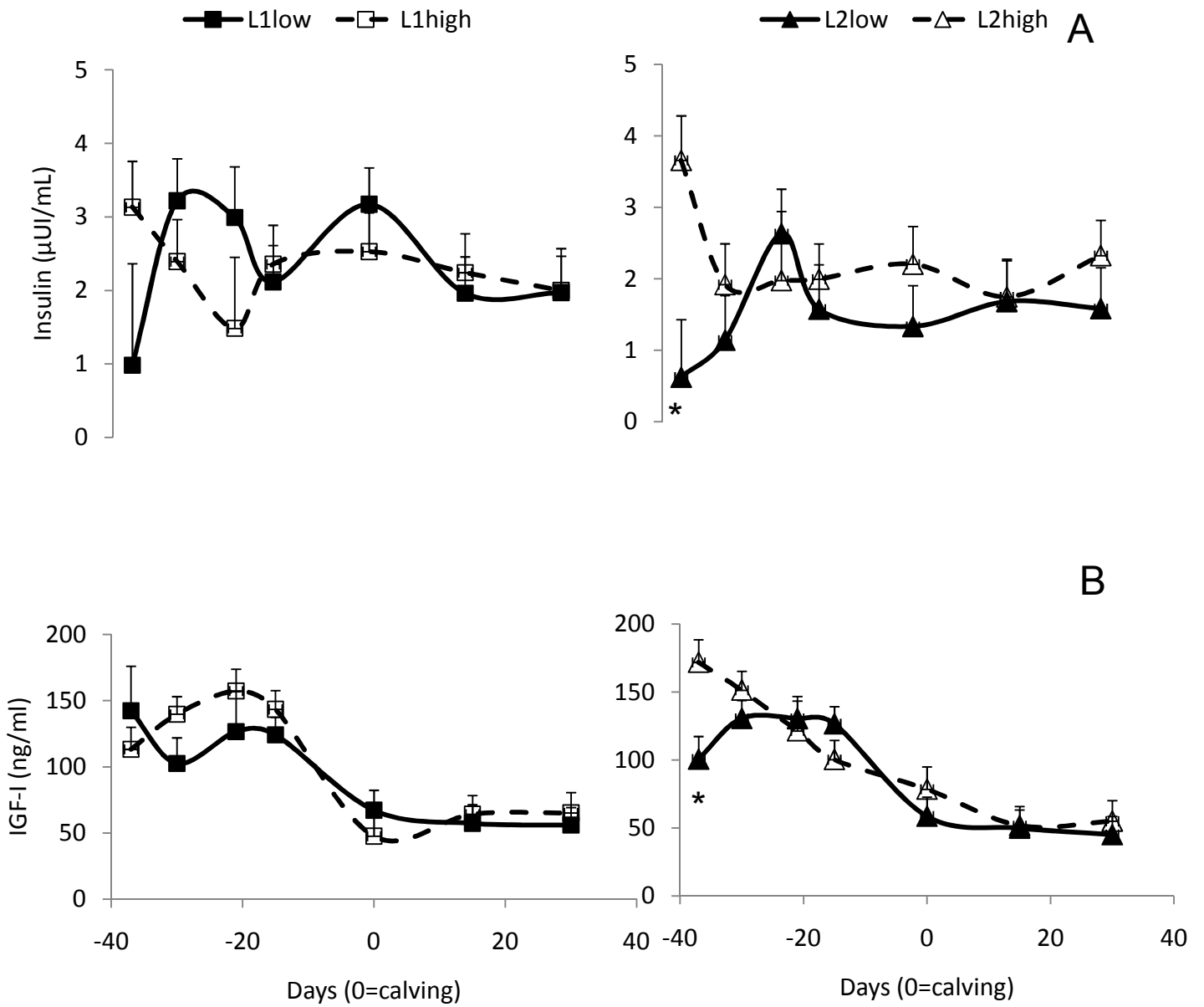


Figure 5

* Indicate significant differences between high and low for each parity

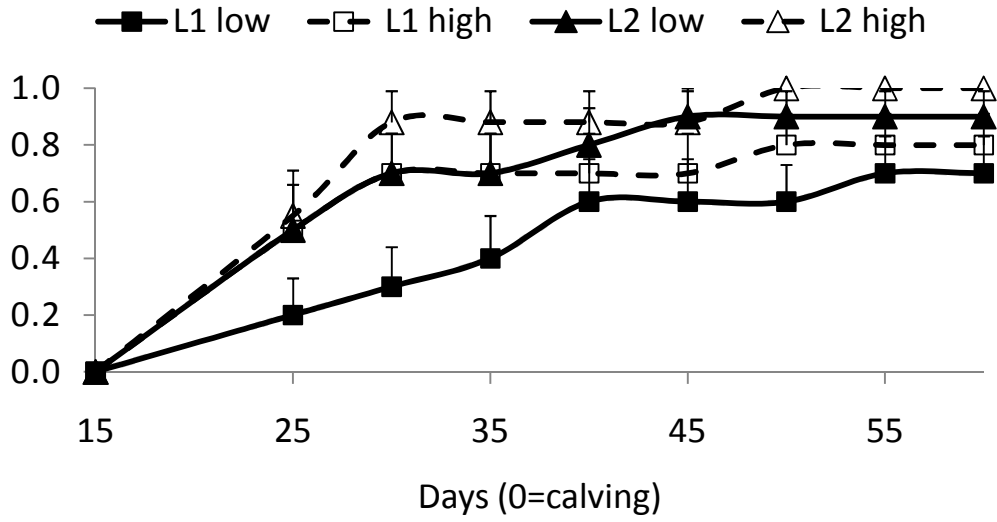


Figure 6