

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“EFECTO DE LA ESTRATEGIA DE ALIMENTACIÓN DURANTE LOS PRIMEROS
180 DÍAS POST PARTO SOBRE EL METABOLISMO Y PARÁMETROS
REPRODUCTIVOS EN VACAS LECHERAS”**

por

Graciana RODRIGUES MENDINA

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

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2017**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de Mesa:



.....
Dra. Ana Meikle

Segundo Miembro (Tutor):



.....
Dra. María de Lourdes Adrien

Tercer Miembro:



.....
Dra. Gretel Rupprechter

Cuarto miembro (Co-tutor):



.....
Dr. Serafin Cerlani

Fecha: 21/12/17

Autor:



.....
Br. Graciana Rodrigues Mendina

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Veterinaria, por ser esa casa de estudios tan acogedora que nos brinda amistades que nos llevamos para la vida, y a la EEMAC que siempre llevaremos en el recuerdo con cariño.

A mi tutora, Lourdes Adrien, por permitir que hiciera parte de este trabajo, por su paciencia y dedicación incluso en sus momentos de descanso y a mi co-tutor Serafín Ceriani.

A Oscar Bentancur por los aportes para el análisis estadístico.

A todos los participantes del trabajo de campo y los funcionarios del tambo “La Armonía”, principalmente a Julio.

A Mariana, Julián y Mauro de FAGRO, funcionarios de ganadería y a Graciela que hicieron que el verano en la EEMAC fuera tan llevadero.

A mis amigas que fueron apoyo en los momentos difíciles y supieron multiplicar las alegrías compartiendo los logros como si fueran de todas.

A mi familia, por siempre confiar en mi potencial, y a mis padres, a quienes va dedicado todo esto, por ser la causa y motivación para llegar hasta acá, y la recompensa luego de cada meta cumplida al ver el orgullo y alegría en sus rostros. Me hubiese gustado ver esas caras una vez más en el día de hoy.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	7
RESUMEN.....	8
SUMMARY	9
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. Caracterización del sector lechero en Uruguay.....	11
2.1.1. La alimentación del ganado lechero.....	11
2.1.2. Sistema de pariciones y producción mensual.....	12
2.2. Diferentes sistemas de alimentación y producción de leche	13
2.3. El clima y la producción lechera.....	15
2.4. El estado corporal y el balance energético	15
2.5. El ciclo estral en la vaca	17
2.5.1. Fases.....	17
2.5.2. Regulación y sucesión de eventos.....	17
2.6. Reinicio de la ciclicidad post parto.....	19
2.6.1. Metabolismo y reinicio de la ciclicidad post parto	20
2.7. Otros metabolitos y sus implicancias	22
2.7.1. Proteínas totales	22
2.7.2. Urea	22
2.7.3. Colesterol	23
3. HIPÓTESIS	23
4. OBJETIVOS	23
4.1. Objetivo general	23

4.2. Objetivos específicos.....	23
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
5.1. Lugar físico de desarrollo del presente estudio	24
5.2. Diseño experimental, animales y período experimental	24
5.3. Rutina e instalaciones.....	24
5.4. Tratamientos	25
5.4.1. Tratamiento DTM+DTM (rojo)	25
5.4.2. Tratamiento DPM25+DTM (azul)	25
5.4.3. Tratamiento DPM25+DPM35 (verde)	25
5.5. Alimentación	25
5.6. Mediciones realizadas.....	26
5.6.1. Estado corporal (EC)	26
5.6.2. Producción individual de leche	26
5.6.3. Muestras de leche para progesterona (P4)	26
5.6.4. Metabolitos sanguíneos.....	26
5.7. Análisis estadístico	27
6. RESULTADOS	28
6.1. Producción de leche.....	28
6.2. Estado corporal	29
6.3. Metabolitos.....	30
6.3.1. NEFA.....	30
6.3.2. β -hidroxibutirato (BHB)	31
6.3.3. Proteínas totales.....	31
6.3.4. Globulinas	32
6.3.5. Albúmina	33
6.3.6. Urea.....	33
6.3.7. Colesterol	34

6.4. Reinicio de la ciclicidad	35
7. DISCUSIÓN	36
8. CONCLUSIONES	39
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

	Página
Tabla 1: Composición química de los alimentos en % de MS.....	26
Tabla 2: Efectos fijos incluidos en el modelo estadístico para el análisis de las diferentes variables estudiadas	28
Tabla 3: Producción de leche en litros para cada época del experimento	28
Tabla 4: Días post parto al reinicio de la ciclicidad ovárica para cada tratamiento	35
Figura 1: Producción de leche en litros según días post parto	29
Figura 2: Evolución del estado corporal (escala 1-5) según días respecto al parto.	29
Figura 3: Evolución de niveles plasmáticos de NEFA según días respecto al parto	30
Figura 4: Evolución de niveles plasmáticos de BHB según días respecto al parto..	31
Figura 5: Evolución de niveles plasmáticos de proteínas totales según días respecto al parto	32
Figura 6: Evolución de niveles plasmáticos de globulinas según días respecto al parto	32
Figura 7: Evolución de niveles plasmáticos de albúmina para todos los tratamientos según días respecto al parto	33
Figura 8: Evolución de niveles plasmáticos de urea según días respecto al parto..	34
Figura 9: Evolución de niveles plasmáticos de colesterol según los días respecto al parto	35
Figura 10: Probabilidad de reinicio de ciclicidad según días post parto	35

RESUMEN

La producción de leche tanto a nivel mundial como nacional está en ascenso, basada en una constante intensificación de los sistemas, dentro de lo cual ha hecho que productores empiecen a adoptar sistemas estabulados con alimentación en base a dietas totalmente mezcladas (DTM). Por esta razón, se hace necesario evaluar las diferentes alternativas y además buscar soluciones para enfrentar la época más cálida del año la cual representa un desafío para la producción lechera en el país debido al estrés calórico. El objetivo del presente experimento fue comparar distintas estrategias de alimentación durante el período primavera-verano sobre la producción, evolución del estado corporal (EC), parámetros metabólicos y reinicio de la ciclicidad en vacas Holando multíparas (n=90) paridas en los meses de agosto a octubre. Los animales fueron divididos en bloques al azar en tres tratamientos: DTM+DTM (rojo), el cual estuvo estabulado recibiendo DTM *ad libitum* durante todo el período experimental; DPM25+DTM (azul) el cual durante la primavera estaba en sistema de doble pastoreo y recibía una suplementación de DTM del 25% del DTM+DTM y durante el verano pasó a estabulación igual que este; y DPM25+DPM35 (verde) que durante la primavera tenía igual manejo que el DPM25+DTM y durante el verano realizaba un pastoreo diario y suplementación con 35% de lo ofrecido al DTM+DTM. El tratamiento DTM+DTM tuvo una mayor producción de leche en promedio, para todo el período experimental, respecto al tratamiento DPM25+DTM y DPM25+DPM35 ($32\pm 0,6a$, $27\pm 0,6b$ y $26\pm 0,6b$ respectivamente). Todos los tratamientos presentaron pérdidas de EC, sin embargo el grupo DTM+DTM logró mantener un EC superior a lo largo del experimento, además de una menor movilización de reservas evidenciada por los niveles de NEFA (ácidos grasos no esterificados) y BHB (β -hidroxibutirato). Los grupos que estaban en pastoreo tuvieron evidencias de cetosis subclínica en el período post parto (BHB $\geq 1,2$ mmol/l). Los valores de proteínas totales y globulinas descendieron alrededor del parto para todos los tratamientos con posterior recuperación. La albúmina presentó un comportamiento relativamente constante para todo el período experimental sin diferencias entre tratamientos. El promedio de días al reinicio de la ciclicidad por grupo fue de $46,7\pm 17,5$; $46,7\pm 21,7$ y $48,9\pm 28,8$ para los tratamientos DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35 respectivamente, sin embargo se observó que algunos animales volvieron a entrar en anestro en los distintos tratamientos. Se puede concluir que el tratamiento que estuvo estabulado durante todo el experimento (DTM+DTM) logró mayor producción de leche que el resto de los grupos. Pero el cambio de estrategia durante el verano, de pastoreo hacia la estabulación, sufrido por el tratamiento DPM25+DTM, permitió lograr niveles de producción de leche durante el verano superiores al grupo que mantuvo un pastoreo diario. Todos los animales, independientemente de la estrategia de alimentación, presentaron evidencias de balance energético negativo con movilización de reservas post parto, sin embargo el grado de movilización fue distinto entre tratamientos. El tratamiento DTM+DTM logró mantener mejor EC, presentando un menor tiempo de movilización de reservas, como se pudo constatar a través de los niveles de NEFA y BHB. Los resultados reproductivos indican que independientemente de la estrategia de alimentación, las condiciones ambientales, no permitieron amortiguar los efectos del estrés térmico y esto se vio reflejado en la ciclicidad de las vacas durante el verano.

SUMMARY

Milk production worldwide and in Uruguay has been growing, based on a constant intensification of the systems, whereby producers have begun to adopt stall systems based on total mixed ration (TMR). Therefore it is necessary to evaluate the different alternatives and also look for solutions to face the hot season which represents a challenge for the dairy production in the country due to heat stress. The aim of the present experiment was to compare different feeding strategies during the spring-summer period on the production, body condition score (BCS), metabolic parameters and restart of cyclicity in multiparous Holstein cows ($n = 90$). The cows calved from August to October. The animals were randomly divided into three treatments: TMR+TMR (red), which was confined receiving TMR *ad libitum* throughout the experimental period; PMR25+TMR (blue), which during the spring was in a double grazing system and received a TMR supplementation of 25% of TMR+TMR group, and during the summer it was confined like this one; and PMR25+PMR35 (green), which during the spring had the same management as the PMR25+TMR and during the summer were allowed to graze and received supplementation with 35% of what was offered at the TMR+TMR treatment. The TMR+TMR treatment had a higher average milk yield, for the whole experimental period, compared to the treatment PMR25+TMR and PMR25+PMR35 ($32 \pm 0,6a$ $27 \pm 0,6b$ and $26 \pm 0,6b$ respectively). All treatments presented a loss of BCS; however, the TMR+TMR group maintained a higher BCS throughout the experiment, in addition to a lower body lipid mobilization evidenced by NEFA (Non Esterified Fat Acids) and BHB (β -hydroxybutyrate) levels. The groups that were grazing had evidence of subclinical ketosis in the postpartum period ($BHB \geq 1,2$ mmol/l). Total protein and globulin concentration decreased at calving for all treatments with subsequent recovery. The albumin presented a relatively constant behaviour for the whole experimental period without differences between treatments. The mean days at the restart of cyclicity per group were 46.7 ± 17.5 ; 46.7 ± 21.7 and 48.9 ± 28.8 for the treatments DTM + DTM, DPM25 + DTM and DPM25 + DPM35 respectively. Nevertheless, it was observed that some animals re-entered in anoestrus in the different treatments. It can be concluded that the treatment that was confined throughout the whole experiment (TMR+TMR) achieved higher milk production than the rest of the groups. However, the change in strategy during the summer, from grazing to stalling, suffered by the PMR25+TMR treatment, allowing to achieve higher levels of milk production during the summer than the group that maintained a daily grazing. All animals, regardless of feeding strategy, presented evidence of negative energy balance with postpartum mobilization of reserves, but the degree of mobilization was different between treatments. The TMR+TMR treatment maintained a better BCS, presenting a shorter reserve mobilization time, as evidenced by the levels of NEFA and BHB. The reproductive results indicate that, independently of the feeding strategy, it is not possible to completely mitigate the effects of heat stress and this was reflected in the cyclicity of the cows during summer.

1. INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años, la producción lechera a nivel mundial viene en aumento, con valores (en miles de toneladas métricas) que van de 418.976 en el año 2006, a 490.363 en el año 2015 (DIEA, 2016a). En Uruguay, el comportamiento es similar, con una producción en el ejercicio 2014/15 de 2.182 millones de litros, frente a 1.619 millones del ejercicio 2004/05. Lo cual representa un aumento de un 35% en el transcurso de esos 10 años (DIEA, 2011; DIEA, 2016b).

Por otro lado, la superficie lechera en nuestro país disminuyó casi un 10% a lo largo de la última década, acompañado de una disminución en el número de establecimientos, sobre todo en aquellos que poseen una extensión menor a 500 ha; mientras el tamaño del rodeo lechero se ha mantenido estable (DIEA, 2011; DIEA, 2016b).

Estos datos demuestran un aumento tanto en la productividad individual, como por hectárea (ha) para compensar el aumento de la producción de leche total (Müller, 2003; DIEA, 2016b). Esto se viene logrando a través de una creciente intensificación, asociado a una mejora nutricional, selección genética y manejo animal (Lucy, 2001; Meikle et al., 2013).

No obstante, en los últimos años, se ha reportado una sustancial disminución en la performance reproductiva del ganado lechero, simultáneamente a un fuerte progreso genético para alta producción de leche (Chagas et al., 2007; Lucy, 2001; Meikle et al., 2005; Wiltbank et al., 2006). Según Lucy (2001), el problema es a nivel internacional, ocurriendo tanto en sistemas intensivos a base de DTM como es el caso de Estados Unidos, así como en sistemas de base pastoril tal cual ocurre en países como Nueva Zelanda, siendo el asunto tan complejo que incluso las causas no sean las mismas en los diversos sistemas. La deficiencia reproductiva podría atribuirse desde incompatibilidades de alimentación y manejo en sistemas pastoriles que utilizan genética más exigente norteamericana (Macmillan et al., 1996); hasta aumentos del flujo sanguíneo hepático debido a la alta ingestión en sistemas DTM, que metabolizaría las hormonas reproductivas anticipadamente (Sangsritavong et al., 2002).

Además, la vaca lechera debe adaptar su metabolismo para la gran demanda de producción para la cual ha sido seleccionada genéticamente, desafío que empieza siendo muy grande ya antes mismo del parto y de iniciar su lactación, cuando la entrada de nutrientes empieza a ser menor a la que requiere. Este periodo crítico, que abarca las tres semanas previas y tres semanas posteriores al mismo, se ha denominado, periodo de transición (Grummer et al. 2004). Sumado a lo anterior, en los sistemas pastoriles las vacas deben enfrentar las intemperies del clima, que determina el ambiente en el cual los animales van a producir una vez ocurrido el parto. En este sentido, vacas que paren en los meses de primavera y deben de afrontar el verano durante su lactancia temprana se encuentran condicionadas al efecto del estrés calórico del verano. En Uruguay, a pesar de que los partos se concentran mayormente en la época de otoño, también se encuentra una importante concentración de los mismos durante la primavera, de manera a coincidir con la época de mayor producción de las pasturas (Ibarra y Chilbroste, 2004), lo cual implica que parte de su lactancia transcurra durante la época más cálida del año.

En base a lo anterior, es necesaria la generación de información sobre las estrategias de alimentación disponibles con las que cuenta el productor para producir leche y lograr buenos resultados reproductivos en los meses más cálidos del año. Es por esto que este trabajo tuvo como objetivo el estudio de tres estrategias de alimentación a las cuales fueron sometidas vacas que tuvieron sus partos en los meses de primavera de manera de estudiar cómo era la adaptación metabólica de esos animales y cuáles fueron los resultados productivos y reproductivos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Caracterización del sector lechero en Uruguay:

2.1.1. La alimentación del ganado lechero

En la actualidad, la base nutricional que se suministra al ganado lechero, está apoyada en pasturas implantadas fundamentalmente para consumo directo (praderas, verdeos y mejoramientos), a las que se agregan las siembras de cultivos destinados a realizar reservas (DIEA, 2009). En un relevamiento nacional para el “Proyecto Producción Competitiva” de Conaprole, en el período 2011-2013, se observó que la alimentación de la vaca masa (VM) para los predios participantes, se basa en un 50% en la cosecha directa de forraje, 25% de concentrados y 25% de reservas (Chilibroste y Battezzare, 2015).

Según datos de DIEA (2016b) la proporción de pasturas mejoradas (incluyendo praderas permanentes, campos mejorados y forrajeras anuales) aumentó, representando en el año 2015 el 60% del área. En la encuesta lechera del 2007, se vio que en las explotaciones con productividades de 3.500 lt/ha/año o superiores, las praderas plurianuales y los cultivos forrajeros anuales cubrían más de las dos terceras partes del área lechera (DIEA, 2009). El campo natural tiene un carácter complementario a las pasturas instaladas, encontrándose un porcentaje notoriamente más alto en los establecimientos con menores niveles de productividad. Esto revela que los aumentos de productividad se están basando en una creciente intensificación del componente forrajero (DIEA, 2009).

Por otro lado, la demanda de reservas de forraje ha registrado a nivel de los tambos un crecimiento permanente. A través de su realización, se aumenta la oferta total de alimentos, a fin de compensar los períodos de menor producción de las pasturas (DIEA, 2009). Los fardos constituyen una forma tradicional de realización de reservas, que por lo general provienen de excedentes de praderas en la primavera y en segundo término de algunos cultivos (avena, raigrás y moha fundamentalmente). En algunos períodos, cuando la escasez de forraje se torna crítica, también se recurre al enfardado de la paja de rastrojos agrícolas (DIEA, 2009). En otoño se cosechan los cultivos estivales implantados, caracterizados por una alta producción de materia verde y cuyo destino fundamental es la realización de ensilaje de planta entera y/o grano húmedo y en segundo lugar la producción de grano seco para suplementación. El ensilaje es una práctica que en los últimos años ha adquirido especial relevancia y constituye el mayor aporte a la suplementación del rodeo

lechero en términos de volumen (DIEA, 2009). En el 2007, el 73% de las explotaciones lecheras relevadas sembraban cultivos de verano con destino a reservas. Debe destacarse que los tambos con escalas menores a 200 hectáreas presentaban una menor participación relativa en el área sembrada. Dentro de los cultivos utilizados predomina el sorgo, para el cual el destino principal es el ensilaje de grano húmedo; seguido por el maíz, cuyo destino principal es para silos de planta entera (DIEA, 2009).

Los principales consumidores de suplementos son los animales que componen la categoría de vacas-masa (DIEA, 2009). El crecimiento de la agricultura y la participación creciente de empresas de maquinaria, han apoyado la demanda cada vez más alta de reservas proveniente desde los tambos (DIEA, 2009). Para el manejo de la alimentación, se constata el uso del mixer en un 36% de los productores a partir de los 2000 litros/día y en un 92% de los productores de 3000 o más litros diarios (INALE, 2014).

2.1.2. Sistema de pariciones y producción mensual

La distribución de partos dentro del año constituye una decisión relevante a nivel de tambos, que depende e influye en varios aspectos del sistema, permitiendo formar una estrategia según las características de cada estación, así como también permite manejar más ajustadamente la nutrición vinculada a los requerimientos por etapa de la lactancia (Chilibroste, 2012). También involucra a las industrias procesadoras, en lo que respecta a la utilización eficiente de su capacidad instalada de recibo. Relacionado con esto, ha sido frecuente la aplicación de algún estímulo de precios tendiente a promover la remisión invernal, lo cual implica a nivel de tambos un reajuste de las épocas de servicio a fin de lograr una mayor parición otoñal (DIEA, 2009).

Para el año 2007, se destacaba la prevalencia del sistema de parición continua, el cual nucleaba al 60% de las explotaciones. Sin embargo, estas eran mayoritariamente de menos de 200 hectáreas totales, en los cuales el 66% de las vacas masa respondían al sistema de parición continua. Por encima de 200 hectáreas, se registra una participación relativa creciente de los partos de otoño referidos al total de vacas masa, variando desde un 58% en los tambos del estrato de 200-499 hectáreas, hasta un 100% en el estrato superior (DIEA, 2009).

Se vuelve pertinente vincular la importancia relativa de estas decisiones de manejo reproductivo con los respectivos niveles de producción de leche generados. En primer lugar, debe destacarse que el sistema de parición continua representaba en el 2007 solamente el 39% de la leche producida total anual, lo cual está asociado a que dicho sistema predomina a nivel de los tambos de menor escala. Por tanto, los tambos que registran partos de otoño -responsables del 61% de la producción total anual- presentan una participación relativa en la producción, concordante con el tamaño de los rodeos involucrados. Los datos brindados anualmente por las industrias, han permitido confirmar cambios en la estacionalidad de la remisión de leche durante el período invernal, atribuibles a la distribución de las pariciones de otoño (DIEA, 2009).

Según los relevamientos de Ibarra y Chilbroste (2004), en Uruguay además del otoño como época principal de partos, también existe en segundo lugar una concentración en primavera, de forma a coincidir con la época de mayor producción de las pasturas. En otro relevamiento Chilbroste (2012) presentó resultados de las curvas de producción de leche de vacas que paren en diferentes épocas del año. Las curvas de vacas paridas en febrero-marzo presentan dos picos de producción marcados, mientras que los partos de junio-julio y agosto-setiembre solo presentan una curva de producción. Además de esto, los partos de fines de la primavera (octubre-noviembre) no presentaron pico de producción.

Sin embargo, la distribución mensual de producción de leche sigue manteniendo el comportamiento característico de un sistema de producción basado en alimentación pastoril. El recibo mensual de leche en plantas para el año 2014, tuvo como de costumbre a octubre como el mes de máxima remisión (DIEA, 2016a), época que coincide con la mayor oferta de forraje. Además, se percibe un mayor stock de animales en ordeño en primavera (DIEA, 2009). Ya los meses de verano, tuvieron los registros de menor remisión, estando el volumen promedio diario más bajo situado en el mes de febrero (DIEA, 2016a).

2.2. Diferentes sistemas de alimentación y producción de leche

Buscando una mayor productividad, muchos productores empezaron a implementar sistemas intensivos de estabulación donde se suministra la dieta a las vacas en forma de dieta totalmente mezclada (DTM) (Cajarville et al., 2012). Las DTM son un tipo de alimento donde se mezcla completamente forrajes y concentrados, formuladas de manera a cubrir los requerimientos totales de todos los nutrientes por parte del animal. Así, es ofrecida a este de forma tal que tienen mínima posibilidad de selección por componentes individuales de la ración (Gill, 1979).

Dentro de las ventajas de este sistema se destaca principalmente su capacidad de permitir la expresión del potencial de producción de leche en vacas de alto mérito genético. En un resumen de una serie de investigaciones que comparaban el sistema DTM con otras estrategias de alimentación (Dieta Parcialmente Mezclada - DPM- que es la combinación de DTM con pastoreo, siendo que la pastura no es una parte física dentro de la DTM; Pastoreo suplementado con concentrado energético; o pastoreo sin suplementación energética) se pudo apreciar aumentos en la producción de leche en un rango del 5 al 55%. Esta diferencia se debería sobre todo al aumento de consumo de materia seca (CMS) por parte de los animales (Salado, 2012).

Paradójicamente, en países donde el sistema de estabulación es popular hace muchos años, como en el caso de EEUU, donde empezó a ser implementado a partir del final de los años 50, en las últimas décadas ha vuelto el interés y uso de las pasturas, principalmente movidos por razones económicas. Los precios relativamente estables de la leche y el aumento en los costos de insumos, provocaron que los productores re adoptaran los sistemas de pastoreo buscando aumentar el margen de ganancia en su actividad. De esta forma, han logrado obtener alrededor de U\$S 100 a 200 más de ganancia por vaca y por año a pasto en comparación con el sistema estabulado, a través de la reducción de los costos de producción y mano de obra (Müller, 2003). Además, habría una disminución en la

incidencia de mastitis y enfermedades podales, lo que reduciría las pérdidas por descarte de animales (Salado, 2012) y mejoraría de forma general la longevidad de los animales. Así mismo, existen diferencias comportamentales, como demuestran los resultados obtenidos por Grille et al. (2017), dónde compararon el comportamiento diario de las vacas de un grupo que se encontraba estabulado y alimentado sólo con DTM (100% DTM), con las vacas que estaban en un sistema mixto (doble pastoreo -matutino y nocturno- + 25% de DTM del grupo 100% DTM en el turno vespertino), encontrando que las vacas rumian, caminan y comen con mayor frecuencia en el sistema mixto que en el sistema 100% DTM. Además se observó que en el sistema mixto rumiaron y se echaron más durante el pastoreo que durante el período que estaban siendo suplementadas. Concluyendo de esta forma, que el sistema mixto es beneficioso para el bienestar de estos animales en relación al 100% DTM. Adicionalmente, en los últimos años ha venido creciendo el interés del mercado sobre los productos orgánicos y de beneficio sobre la salud humana. Se ha comprobado que la leche, así como también la carne de animales alimentados sobre pasturas, tienen una menor relación Ácidos Grasos (AG) saturados: AG poli-insaturados y un mayor contenido de Ácido Linoleico Conjugado (CLA), del cual algunos isómeros tienen propiedades anticancerígenas entre otros efectos positivos (Lourenço et al., 2008).

Sin embargo, la mayor limitante del sistema pastoril, que representa un desafío para productores y nutricionistas, es la dificultad para asegurar una oferta constante de alimentos en calidad y cantidad (Cajarville et al., 2012). La principal restricción es la menor capacidad de consumo que tienen los animales en el pasto, que puede ser el resultado de limitantes físicas, tales como el tiempo máximo disponible en el día para pastorear, dado que se debe dedicar un tiempo suficiente para los procesos esenciales de rumia y reposo. Así como también, la velocidad con que ese material ingerido logra ser digerido y hacer su pasaje por el tracto digestivo, al igual que la cantidad de agua asociada al forraje que no debe ser despreciada. Cabe agregar también que estos animales tendrán mayores gastos energéticos derivados de las actividades de caminatas y búsqueda y cosecha de la pastura (Kolver, 2003).

Por otro lado, el uso de DPM permitiría reducir costos a través del uso del pastoreo y reducir la incidencia de enfermedades, con buenos niveles de producción. En experimentos llevados a cabo durante 8 semanas en otoño y primavera, lograron incluir la pastura hasta en un 41% de la DTM sin perjuicios de la producción comparando con un sistema DTM (Vibart et al., 2008).

Es importante considerar que se ha constatado diferencias en la respuesta animal entre sistemas y dentro de un mismo sistema, lo que podría ser explicado por la interacción genotipo-ambiente o al mérito genético por su capacidad de derivar nutrientes por ejemplo para la producción de leche. En estudios comparando la respuesta del Holando neozelandés frente al americano, se constató una eficiencia de conversión 3,4% mayor del primero en sistemas pastoriles, mientras que en sistemas de estabulación hubo una superioridad de 2,3% del segundo (Kolver, 2003). En Uruguay, en relación al tipo de ganado y recría se cuantificó que el 83% del ganado es de raza Holando de origen americano y canadiense (INALE, 2014).

2.3. El clima y la producción lechera

A pesar de las consideraciones anteriores, en muchos lugares del mundo, las intemperies climáticas y el comportamiento de las pasturas con producción estacional, obligan a los productores a recurrir a los sistemas de estabulación para poder seguir produciendo en dichas épocas (Müller, 2003). En Uruguay, el desafío es enfrentar la época del verano, que representa amenazas a la performance productiva y reproductiva del rebaño debido al estrés calórico (Cruz y Saravia, 2008).

Durante los meses cálidos la acción combinada de alta radiación solar, temperatura y humedad del aire determina que el ambiente meteorológico se encuentre fuera de la zona de confort térmico de la vaca. Esto reduce su tiempo dedicado al pastoreo y por lo tanto su productividad (Saravia et al., 2011). Acompañando esta declinación también se ve perjudicada la performance reproductiva de las vacas (Jordan, 2003; Biffani et al., 2016).

El Índice de Temperatura y Humedad (ITH) desarrollado por Thom en 1959 (citado por Cruz y Saravia, 2008; y Dikmen y Hansen, 2009), permite determinar los valores meteorológicos que afectan la homeostasis de los animales. En una caracterización del ambiente térmico del verano en el país, realizada por Cruz y Saravia (2008), se constataron al norte del Río Negro durante el mes de enero valores por encima de 72 para el ITH, el cual es el valor crítico para el confort térmico de las vacas, teniendo repercusiones negativas para producción de leche. Además, las vacas bajo estrés térmico han reducido la duración y la intensidad del estro, alterado el desarrollo folicular y alterado el desarrollo embrionario (Jordan, 2003). Se vio que cuando el ITH era ≥ 72 , se detectaron menos vacas en celo y las tasas de concepción fueron menores (Cartmill et al., 2001). De manera similar, Ingraham et al. (1976) informaron que la tasa de concepción disminuyó de 66 a 35% cuando el ITH aumentó de 68 a 78 el segundo día antes de la inseminación.

La vaca lechera en lactación es particularmente sensible al estrés por calor debido a su elevado metabolismo (Swan y Broster, 1982) y a medida que aumenta la capacidad de producción de leche, también aumenta la producción de calor por su metabolismo (Hansen, 2007).

2.4. El estado corporal y el balance energético

Tras el parto, los requerimientos nutricionales aumentan rápidamente con la producción de leche, por otra parte, la ingesta de materia seca empieza a disminuir a partir de las 3 semanas antes del parto (Drackley, 1999; Grummer et al., 2004). Al no ingresar la energía requerida, el animal entra en un balance energético negativo (BEN) que comienza pocos días antes del parto y se extiende por 10-12 semanas, alcanzando su nivel más negativo (nadir) sobre las 2 semanas luego del parto (Butler, 2003).

Para compensar esa falta de ingreso energético, el animal recurre a sus reservas. En primer lugar del glucógeno almacenado, que dura relativamente poco, y luego comienza una movilización de sus reservas lipídicas. De esta manera, ocurre la hidrólisis de los triacilglicéridos almacenados en el tejido adiposo (Nelson et al., 2001). Al dejar las células grasas, los ácidos grasos se ionizan fuertemente en el

plasma e inmediatamente se combinan con moléculas de albúmina. El ácido graso unido de esta forma se llama ácido graso libre o ácido graso no esterificado (NEFA) para distinguirlo de los otros ácidos grasos del plasma que existen en forma de ésteres (glicerol, colesterol, etc.). Los NEFA continúan hacia el hígado para ser metabolizados con el fin de obtener energía, a través de la β -oxidación (Nelson et al., 2001). Parte del acetil-CoA procedente de la oxidación de los ácidos grasos, durante estos períodos de producción excesiva, es transformado en el hígado a acetoacetato libre y D- β -hidroxibutirato (BHB), los cuales son transportados por la sangre a los tejidos periféricos, donde pueden ser oxidados por medio del ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Estos compuestos, junto con la acetona, reciben colectivamente el nombre de cuerpos cetónicos (Nelson et al., 2001). Por lo tanto, durante el período de BEN, existe una elevación en los niveles sanguíneos de NEFA y BHB (Butler, 2003; Adrien et al., 2012).

Meikle et al. (2013), evidenciaron aumentos en los niveles de NEFA a partir de los 15 días post parto en animales en pastoreo con distintas asignaciones de forraje, con la consiguiente disminución de los niveles al mes post parto. Mientras tanto, en un grupo de animales en sistema DTM no se evidenciaron fluctuaciones en los niveles de NEFA. Por otro lado, las concentraciones de BHB presentaron aumentos al día 15 y/o 30 post parto en todos los grupos a pastoreo, pero en el grupo DTM no se constataron aumentos. Además, obtuvieron un interesante resultado entre dos grupos en pastoreo que diferían en la asignación de forraje (30 kgMS/vaca/día vs 15 kgMS/vaca/día), los cuales no difirieron en cuanto a producción de leche, sin embargo el grupo con menor asignación presentó mayores concentraciones de NEFA a los 15 días post parto, lo que podría sugerir un mayor esfuerzo metabólico para mantener la producción lechera.

Para determinar el grado de reservas corporales y evaluar de forma indirecta el balance energético, podemos medir los cambios en el estado corporal (EC) (Edmonson et al., 1989; Butler, 2003). Según Roche et al. (2009), la intensa selección genética de las vacas lecheras durante los últimos 50 años para producción de leche, resultó en cambios metabólicos que resultan en una mayor movilización de reservas energéticas tisulares. Además, habría varios otros factores reportados que afectan el EC de los animales, incluyendo el número de partos, edad dentro del número de partos, y estación de parición; así como también factores de manejo como dotación, nivel de alimentación y tipo de dieta.

La variación entre vacas en la severidad y duración del BEN es primariamente relacionada a diferencias en la ingestión de materia seca y su grado de aumento durante la lactancia temprana (Butler, 2003). Se ha demostrado que los animales en sistemas pastoriles poseen mayores disminuciones en el EC, así como también en el peso vivo, cuando fueron comparados con sistemas estabulados comiendo DTM (Kolver y Müller, 1998; Bargo et al., 2002; Meikle et al., 2013).

El EC con el cual una vaca pare, el nadir que alcanza, y cuánto pierde luego del parto, está asociado con la producción de leche, reproducción y salud (Roche et al., 2009). Según Roche et al. (2009), el EC óptimo al parto sería de 3,0 a 3,25 (escala de 5 puntos de Edmonson et al., 1989); siendo que un menor EC estaría asociado con una producción y reproducción reducidas, mientras que el estado $\geq 3,5$ se asociaría con una reducción en la ingesta de materia seca en la lactancia temprana y la producción de leche y un mayor riesgo de trastornos metabólicos.

Meikle et al. (2004), sostiene que la producción de leche está correlacionada negativamente con el EC. Además, existen afirmaciones que el BEN se haría más intenso y prolongado a medida que aumenta la producción de leche (Staufenbiel et al., 2003). Butler y Smith (1989) también afirman que el BEN durante las primeras 3-4 semanas post parto está altamente correlacionado con la producción de leche y el intervalo hasta la primera ovulación. Los mismos encontraron que vacas que pierden menos de 0,5 puntos de EC durante las 5 primeras semanas post parto tuvieron mayores tasas de concepción al primer servicio que vacas que pierden más de 0,5 de EC. Butler (2003) aseguró que vacas perdiendo 1 punto o más en la lactancia temprana tienen mayores reducciones en las tasas de concepción de 17 a 38%.

2.5. El ciclo estral en la vaca

En forma mecánica, el ciclo estral puede ser visto como una secuencia causal de eventos endócrinos, donde cada uno inicia el paso siguiente (Ungerfeld, 2011). La hembra bovina es considerada como poliéstrica no estacional, ya que sus ciclos se repiten sucesivamente en el animal no preñado durante todo el año. En esta especie, dicho ciclo dura entre 17 y 23 días (Senger, 2003).

2.5.1. Fases

Para facilitar su estudio el ciclo estral puede dividirse en una fase folicular y una fase luteal. La fase folicular es aquella que se extiende desde la regresión del cuerpo lúteo (CL) hasta la ovulación. Durante la misma se produce el desarrollo folicular final, la ovulación, y comienza la organización del folículo que ovuló en un nuevo CL (Ungerfeld, 2011). Luego de la ovulación le sigue la fase luteal donde se desarrolla el cuerpo lúteo y la concentración plasmática de progesterona aumenta. Si no hay gestación la luteólisis ocurre entre los días 16 a 20 del ciclo (Senger, 2003).

También se podría dividir en proestro (desde el comienzo de la luteólisis hasta el inicio del estro), estro (celo), metaestro (desde el final del estro hasta la formación del cuerpo lúteo) y diestro (presencia de cuerpo lúteo activo) (Ungerfeld, 2011).

Normalmente se considera el día del estro o celo como el día 0 del ciclo porque es de fácil monitoreo a través del comportamiento. El estro se define como el período durante el que la hembra acepta la monta (Ungerfeld, 2011). El mismo tiene una duración de 6 a 18 horas (Senger, 2003).

2.5.2. Regulación y sucesión de eventos

Estos acontecimientos están regulados por una serie de órganos como pueden ser el hipotálamo, hipófisis, ovarios y útero, lo que se conoce como eje hipotalámico-hipofisario-gonadal-uterino (Senger, 2003). La comunicación se realiza fundamentalmente (aunque no exclusivamente) a través de hormonas. Las principales hormonas involucradas son la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), secretada por el hipotálamo, la cual controla la secreción de la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) secretadas por la hipófisis; el estradiol, la inhibina y la progesterona (P4), de origen ovárico; y la prostaglandina F2 alpha (PGF2 α), secretada por el útero (Ungerfeld, 2011). Una hormona actúa como un mensajero químico y el tipo de respuesta va a depender de su concentración y el patrón de secreción (Bó et al., 2006).

Los folículos del ovario del bovino se desarrollan en ondas. Una onda de crecimiento folicular es estimulada por acción de la FSH y está constituida por un gran número de folículos que se desarrollan al mismo tiempo, seguido por la selección y crecimiento del folículo dominante y la regresión o atresia de los folículos subordinados. En ausencia de luteólisis, el folículo dominante dejará de crecer e iniciará la regresión, dando lugar al crecimiento de una nueva onda folicular. Se ha demostrado que existen 2 ó 3 ondas de desarrollo folicular durante el ciclo estral (Bó y Caccia, 2011).

La caída de la progesterona luego de la luteólisis determina que se produzca una retroalimentación positiva entre la GnRH y la LH por un lado y los estrógenos por otro. Es decir, que ante cada pulso de GnRH la hipófisis responde con un pulso de LH; y el folículo responde a la LH secretando estrógenos. Los estrógenos determinan que se produzca rápidamente un nuevo pulso de LH, el que inducirá un nuevo incremento de estrógenos. A su vez, el estradiol incrementa la sensibilidad de la hipófisis a la GnRH, de forma que finalmente se produce una descarga masiva de LH. Sus niveles se incrementan hasta ser 20 a 80 veces mayores que los niveles basales durante un período de 6-12 hs, lo que se conoce como el pico de LH. Inmediatamente antes de la ovulación ocasionada por el mismo, ocurren cambios en el folículo que determinan que las células de la granulosa comiencen a transformarse en tejido luteal, perdiendo su capacidad de secretar estrógenos y comenzando a producir y liberar progesterona, al mismo tiempo que se debilita la pared del folículo de forma que ésta se rompa y pueda producirse la liberación del ovocito. La ovulación en la vaca se produce unas 24 a 30 hs luego de iniciado el celo. Mientras el CL se desarrolla, las cantidades de progesterona secretadas por éste aumentan (Ungerfeld, 2011).

La progesterona ejerce varios efectos durante el ciclo estral. En primer término, es necesaria como "priming". Es decir que se necesita un efecto previo de la progesterona, un pre tratamiento sobre los centros comportamentales del cerebro para que, junto con el aumento posterior de los niveles de estrógenos se produzca el comportamiento de celo (Ungerfeld, 2011). Los niveles luteales de progesterona generan un retrocontrol negativo sobre la frecuencia de pulsos de la GnRH, inhibiendo por tanto la pulsatilidad de la LH y FSH (Senger, 2003; Ungerfeld, 2011). Por otro lado, mientras está presente durante los primeros días de la fase luteal, la progesterona inhibe la secreción uterina de PGF2 α , determinando con ello el momento del ciclo en que se produce la luteólisis. La progesterona también tiene un efecto a nivel del desarrollo folicular, no solo por vía sistémica, sino también por acción local, sobre las características bioquímicas y celulares del folículo en crecimiento. Esto determina que cuando se produzca el pico de LH se forme un CL normal (Ungerfeld, 2011). La secreción de P4 por parte del CL es uno de los mecanismos por los que este determina su propia destrucción, justamente por inhibir los pulsos de LH (Ungerfeld, 2011). Por otra parte, la progesterona inhibe la síntesis de receptores hormonales para sí misma, para los estrógenos y para la oxitocina en el útero. Por tanto, durante esos días, dada la disminución en la cantidad de sus receptores en el útero, también disminuye el efecto negativo de la progesterona sobre la síntesis de otros receptores, permitiendo de ese modo que tanto los estrógenos como la oxitocina incrementen su efecto sobre el propio útero (Ungerfeld, 2011).

La luteólisis involucra una muerte progresiva de células luteales, que se acompaña de la caída de los niveles de progesterona. La PGF2 α es la principal sustancia luteolítica en la mayor parte de las especies domésticas (Goding, 1974, Citado por Ungerfeld, 2011). Es producida en el endometrio de un útero – que haya recibido el impacto previo de la progesterona durante determinada cantidad de días – aparentemente a partir del estímulo provocado por estrógenos secretados por un folículo en desarrollo (Ungerfeld, 2011). Durante el período de la luteólisis, el CL responde a cada pulso de PGF2 α secretando oxitocina. A su vez, aproximadamente la mitad de los pulsos de oxitocina generan una respuesta del endometrio, secretando un pulso de PGF2 α (Hooper et al., 1986. Citado por Ungerfeld, 2011). Este proceso de retroalimentación positiva está inhibido durante la primera parte de la fase luteal por el hecho de que la progesterona inhibe la formación de receptores para oxitocina en el útero. Una vez pasado el período en que la progesterona es capaz de ejercer el efecto inhibitorio, el aumento de estrógenos provenientes del folículo en crecimiento induce un incremento en los receptores uterinos de oxitocina, de forma de permitir que se desencadene el mecanismo de retroalimentación positiva oxitocina luteal- PGF2 α endometrial. Dado que en el momento en que se incrementan los receptores de oxitocina, el CL aún no recibió ningún estímulo para secretarla, ya que aún no hubo secreción de PGF2 α por parte del útero, el primer estímulo desencadenante de la luteólisis es la oxitocina hipofisaria, que estimula al endometrio una vez que aumentaron sus receptores de oxitocina a secretar PGF2 α , generándose así el retrocontrol positivo que termina con la actividad del CL. Este es el segundo mecanismo por el que se puede afirmar que el CL es directamente responsable de la finalización de su propia actividad (Ungerfeld, 2011). Varios estudios demostraron que la PGF2 α que sale del útero a través de la vena uterina pasa directamente a la arteria ovárica en la anastomosis arterio-venosa existente en los rumiantes. Esto permite que las concentraciones de PGF2 α que alcanzan el ovario sean altas, ya que de ingresar ésta a la circulación sistémica, el 90% sería metabolizado en cada pasaje por los pulmones (Ungerfeld, 2011).

La caída de la progesterona permite el aumento de las pulsaciones de GnRH y LH lo que estimula la secreción de estradiol por el ovario. El aumento sostenido de estradiol estimula el comportamiento estral y los aumentos preovulatorios de GnRH y LH. El aumento de LH induce la ovulación y luteinización, con lo que disminuye la secreción de estradiol, iniciándose un nuevo ciclo (Ungerfeld, 2011).

2.6. Reinicio de la ciclicidad post parto

El anestro post parto en vacas lecheras puede ser definido como el intervalo que transcurre entre el parto y el reinicio de la actividad luteal (Rhodes et al., 2003). Un rápido reinicio de la ciclicidad post parto es importante para lograr una adecuada eficiencia reproductiva. Se ha visto que a mayor cantidad de ciclos estrales normales antes del momento del servicio, existe una mayor fertilidad asociada (Mendoza et al., 2011). Este servicio debería ser realizado con éxito entre los 40 y 90 días post parto, para poder obtener un ternero y por ende una nueva lactación por año, respetando el período de espera voluntario para el primer servicio de 40-70 días (Glauber, 2007).

El desarrollo folicular en ondas se continúa después del parto y la FSH no es una hormona limitante en este período (Bó y Caccia, 2011). Luego del parto, una onda de desarrollo folicular ocurre a los 5 días en respuesta a la elevada concentración de

FSH e independientemente del BEN. El inicio de la onda folicular y la formación de un gran folículo dominante no parece ser una limitante para el reinicio de la ciclicidad (Butler, 2003). Sin embargo, tres posibles resultados de desarrollo folicular post parto fueron descritos: (1) ovulación del primer folículo dominante (16-20 días post-parto); (2) no ovulación del primer folículo dominante seguido de su regresión y nueva onda folicular; (3) el folículo dominante falla en la ovulación y se vuelve quístico. El desarrollo de folículo dominante no ovulatorio o quiste folicular prolonga el intervalo a la primera ovulación para 40-50 días post-parto (Beam and Butler, 1997).

Para que la ovulación tenga lugar, el folículo dominante debe estar expuesto a la correcta frecuencia de pulsos de LH (Roche et al., 1992). La inadecuada frecuencia de pulsos de LH resulta en una baja producción de andrógenos por las células tecales y consecuentemente las células de la granulosa producen una baja cantidad de estrógenos. Al no alcanzar los estrógenos los niveles críticos que desencadenan el pico preovulatorio de LH, el folículo dominante comienza a regresar, dando lugar al crecimiento de una nueva onda folicular (Bó y Caccia, 2011). Por lo tanto, la primera ovulación post parto refleja la reanudación y el completo desarrollo folicular pre-ovulatorio y la recuperación de la condición hormonal de la preñez tardía (Butler, 2003).

Savio et al. (1990a) encontraron que la emergencia de la primer onda folicular fue detectada entre 2 a 7 días (media 4 días) después del parto en vacas Holstein primíparas. En este trabajo la primera ovulación ocurrió en promedio en el día 27 (rango 12 a 58), adicionalmente, en otra investigación del mismo autor, 17/18 (94%) de las vacas post parto, la primera ovulación no estuvo acompañada por comportamiento estral (Savio et al., 1990b). En Uruguay, Blanc et al. (2002), determinaron que el intervalo parto primer ovulación para vaquillonas en condiciones pastoriles fue de 12 a 48 días. Además, al relacionar dichos resultados con el EC encontraron que aquellos animales que perdieron más de un punto de EC, reiniciaron su actividad ovárica luego de los 28 días post parto, mientras que aquellos que perdieron menos de un punto lo hicieron antes. En el experimento de Adrien et al. (2012), también llevado a cabo en nuestro país, la probabilidad de reinicio de la ciclicidad para vacas multíparas tuvo diferencias según el EC de cada grupo, el cual fue inducido nutricionalmente. El grupo de menor EC tuvo una probabilidad de reinicio de 39 días, mientras el grupo con mayor EC presentó una probabilidad de 22 días; demostrando que las vacas con menor EC tuvieron un anestro más largo. Meikle et al. (2010), cita un relevamiento de aproximadamente 900 vacas de uno, dos y tres partos, en 7 tambos comerciales en diferentes regiones de nuestro país (datos aún no publicados), donde el promedio de reinicio de la actividad ovárica en algunos tambos fue de 25 a 30 días, mientras que en otros fue de 43 a 50 días, y se constató que tanto el EC al parto como la pérdida de EC del parto a los 60 días afectaron el reinicio de la ciclicidad.

2.6.1. Metabolismo y reinicio de la ciclicidad post parto

Como dicho anteriormente, la ovulación del folículo dominante en la lactancia temprana es dependiente del restablecimiento de la pulsatilidad de LH que conduce el crecimiento folicular pre-ovulatorio y la producción de estradiol (Butler, 2001). El BEN desarrollado espontáneamente en las vacas lecheras representa un estado fisiológico de subnutrición que perjudica la secreción de LH e impide la ovulación

(Jolly et al., 1995). Además también estaría reducida la respuesta ovárica al estímulo de la LH (Butler, 2001). Esto es consistente con lo observado en folículos que emergían luego del nadir del BEN, en lugar de antes, exhibiendo mayor crecimiento y diámetro, producción de estradiol aumentada, y mayor probabilidad de ovulación (Beam and Butler, 1997).

Las vías fisiológicas por las cuales el eje hipotálamo-hipófisis-ovárico es informado sobre el status energético del animal son complejas, y envuelven una serie de metabolitos y hormonas, como la hormona del crecimiento (GH), insulina, factor similar a la insulina (IGF-1), hormonas tiroideas y leptina (Meikle et al., 2004). Durante el BEN, los niveles sanguíneos de glucosa, insulina e IGF-1 están reducidos (Beam y Butler, 1999; Butler, 2001; Butler, 2003), mientras las concentraciones de NEFA y triglicéridos en el hígado están aumentadas. El BEN y todos estos otros factores tienen asociación con el desarrollo folicular post parto y la primera ovulación, variabilidad en las concentraciones de progesterona plasmática, y disminución de la fertilidad (Butler, 2003).

Vacas que ovularon dentro de los 35 días post-parto presentaron mayores niveles de IGF-1 así como también mayores concentraciones de glucosa e insulina y bajas concentraciones de NEFA y BHB (Huszenicza et al., 2001). En 1998, Beam y Butler afirmaron que las concentraciones plasmáticas de estradiol fueron altamente correlacionadas con niveles plasmáticos de IGF-1. Butler (2003) sostuvo que durante el BEN los bajos niveles en sangre de glucosa, insulina e IGF-1 limitan colectivamente la producción de estrógenos por los folículos dominantes. Tanto la insulina como la IGF-1 estimularían la esteroidogénesis *in vitro* y la proliferación de cultivos de células tecales y de la granulosa bovinas (Spicer et al., 1993; Spicer & Stewart, 1996; citados por Meikle et al., 2004). Otras evidencias recientes han demostrado la importancia de la insulina para aumentar la respuesta folicular a las gonadotrofinas a través de una regulación positiva en los receptores de LH (Frajblat, 2000). Adrien et al. (2012), encontraron que los perfiles de IGF-1 reflejaron los cambios en el EC, siendo mayores en vacas múltiparas con EC más alto inducido nutricionalmente, en contraste con los perfiles de insulina, que estaban más asociados con los efectos del aporte nutricional diario.

El rol de la insulina e IGF-1 para regular el desarrollo folicular post parto demuestra que la capacidad funcional del eje somatotrópico está entrelazado con la actividad ovárica durante el BEN. La concentración sérica de GH está elevada luego del parto, pero la producción hepática de IGF-1 en respuesta a la GH está desacoplada durante el BEN debido a la baja expresión de receptores hepáticos a la GH (GHR-1A) (Butler, 2003). Esto es debido a que la GH, hormona teleoforética por excelencia, promueve el uso de los nutrientes por la glándula mamaria para apoyar la lactancia, “apagando” el consumo de glucosa por los tejidos periféricos, lo que repercute en varios órganos y tejidos. Además, se destaca que la falta de retroalimentación negativa por parte de la IGF-1 sobre la GH, promueve una mayor concentración circulante de la misma y por tanto una mayor acción teleoforética. Asimismo, menores concentraciones de IGF-1 favorecen el catabolismo periférico que soporta la lactancia. El reestablecimiento del BEN con el aumento de la ingesta, se asoció con el fin del desacople del eje somatotrópico (Meikle et al., 2010).

2.7. Otros metabolitos y sus implicancias

2.7.1. Proteínas totales

Meikle et al (2013), encontraron que las proteínas totales en plasma disminuyeron al parto y volvieron a aumentar hasta el mes post parto, presentando diferencias en las concentraciones plasmáticas según el nivel de alimentación, habiendo menores niveles en un grupo con mayor restricción alimenticia. La albúmina acompaña la disminución al parto de las proteínas totales como demuestra el experimento de Meikle et al. (2013). Además, se conoce que las concentraciones de albúmina son más altas en el período pre parto que en el post parto (Whitaker et al., 1999). Cavestany et al. (2005), encontró que las globulinas tuvieron una disminución en su concentración alrededor del parto así como el patrón de las proteínas totales. El descenso en los niveles de proteínas totales y globulinas al parto puede ser debido a la captación de las mismas por parte de la glándula mamaria para la producción de calostro y por las grandes demandas energéticas de la lactancia y bajo consumo periparto (Cavestany et al., 2005). Los valores de albúmina y urea son buenos indicadores del nivel proteico de la alimentación. Vacas con déficit proteico en la dieta, compensan esta condición en parte, a través de la movilización de sus reservas corporales y la disminución de la eliminación renal de urea, lo que se refleja en pérdidas de peso, EC y disminución de la producción láctea (Whitaker et al., 1999).

2.7.2. Urea

Por la baja absorción intestinal, los rumiantes se consideran animales eminentemente gluconeogénicos. Esto hace que el incremento en gluconeogénesis a partir de aminoácidos, conduzca a un incremento en la síntesis de urea (Correa y Cuéllar, 2004). La producción de urea puede ser el resultado de la movilización de proteínas corporales para suplir las necesidades de glucosa y/o debido a un déficit en el aporte de carbohidratos no estructurales junto a un alto contenido de proteína degradable en rumen, lo cual conduce a una baja síntesis de proteína microbiana, alta formación de amonio ruminal y, por ende, mayor formación de urea (Butler, 2000; Correa y Cuéllar, 2004). Por otro lado, se ha observado que la acumulación de grasa en los hepatocitos resultante de la alta movilización de las reservas lipídicas reduce la ureagénesis (Reynolds et al., 1992), asociada, al parecer, con una disminución en la expresión de algunas de las enzimas que participan en el ciclo de la urea (Correa y Cuéllar, 2004).

Se ha visto que aumentos en las concentraciones de urea en plasma y leche también están altamente correlacionados con disminuciones en la fertilidad. La urea plasmática está inversamente relacionada con el pH luminal uterino (Butler, 1998). El aumento de las concentraciones plasmáticas de urea puede interferir con las acciones inductivas normales de la progesterona en el microambiente del útero y, por lo tanto, causar condiciones subóptimas para apoyar el desarrollo embrionario (Butler, 2000). Los estudios in vitro de cultivos de células endometriales bovinas han demostrado que la urea altera tanto el gradiente de pH a través de las células polarizadas como aumenta la secreción de prostaglandina F2a que puede interferir con el desarrollo y viabilidad del embrión (Butler, 1998).

2.7.3. Colesterol

Ya las concentraciones de colesterol en sangre en esta etapa tienen interpretaciones contradictorias. Algunos autores asocian un aumento del colesterol a un mejor balance energético o consumo de grasa (Wittwer et al., 1987), mientras que otros postulan que es el resultado de la deficiencia energética (Bruss, 1997).

Cavestany et al. (2005), llegaron a la conclusión que teniendo en cuenta las pérdidas más severas de EC alrededor del parto cuando los niveles de colesterol eran bajos, los resultados obtenidos sugerían que el aumento en el colesterol se asociaba con una mejora en el balance energético. De igual manera, Meikle et al. (2013), obtuvieron bajas concentraciones de colesterol al parto y aumentos subsiguientes para distintas estrategias de alimentación. Los grupos con alta y media asignación de forraje presentaron mayores concentraciones de colesterol que el grupo con baja asignación. Sin embargo, el grupo bajo sistema DTM presentó niveles de colesterol más bajos que los demás grupos y un EC más alto. Esto podría explicarse por otros factores como nutrientes específicos, los cuales tendrían un efecto directo sobre las concentraciones de colesterol (Duske et al., 2009).

Existen informaciones de que las concentraciones de colesterol están positivamente relacionadas con un corto intervalo parto-concepción, lo que también está asociado con un mejor balance energético (Reist et al., 2003).

3. HIPÓTESIS

Las vacas que reciben una DTM dentro de los primeros 180 días post parto logran mayor producción de leche con menor pérdida de EC que se refleja en los indicadores metabólicos (NEFA y BHB). Además las vacas que durante la primavera realizan un doble pastoreo, pasando durante el verano a consumir DTM logran mantener la producción de leche durante los meses de verano. En cambio, el grupo que durante el verano mantiene un pastoreo diario, no logra mantener los niveles de producción de la primavera, presentando menor estado corporal con respecto a los grupos estabulados.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general:

Comparar distintas estrategias de alimentación durante el período primavera-verano sobre parámetros productivos, metabólicos y reproductivos en vacas Holando paridas en los meses de agosto a octubre.

4.2. Objetivos específicos:

Estudiar el efecto de las diferentes estrategias de alimentación sobre:

- Producción de leche
- Evolución del estado corporal

- Perfiles metabólicos: ácidos grasos no esterificados, β -hidroxibutirato, urea, colesterol, proteínas totales, albúmina y globulinas.
- Reinicio de la ciclicidad ovárica post parto evaluada a través de la medición de la concentración de progesterona en leche.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Lugar físico de desarrollo del presente estudio

El trabajo de campo se llevó a cabo en el tambo “La Armonía” de PILI S.A., Departamento de Paysandú, ruta 3, km 407.

El procesamiento primario de las muestras de sangre (obtención de suero sanguíneo) fue realizado en la Estación experimental “Dr. Mario A. Cassinoni” (EEMAC).

Los análisis de sangre (perfiles metabólicos) y de progesterona en leche fueron realizados en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de Facultad de Veterinaria.

5.2. Diseño experimental, animales y período experimental

Se utilizaron 90 vacas multíparas de raza Holando con un número de lactancias promedio de $2,1 \pm 1,2$ y un peso vivo pre parto promedio de $660 \text{ kg} \pm 82,1 \text{ kg}$, con fecha prevista de parto entre los meses de agosto a octubre. Fueron bloqueadas según fecha prevista de parto, producción en la lactancia anterior (Leche corregida por grasa a los 305 días), peso vivo pre parto, número de lactancia (NL) y recuento de células somáticas en última lactancia. Una vez realizados los bloques, fueron distribuidos al azar en tres tratamientos, quedando 30 vacas en cada uno. Los tratamientos se realizaron durante los primeros 180 días de la lactancia.

El periodo primavera comprendió desde el 14 de setiembre hasta el 15 de noviembre de 2015 y el periodo verano desde el 16 de noviembre de 2015 hasta el 18 de febrero de 2016.

5.3. Rutina e instalaciones

Se realizaban 2 ordeñes diarios, a las 6:30 hs y 18:30 hs.

La sala de ordeño era en forma de espina de pescado compuesta por 30 órganos unilaterales. La sala de espera poseía sistema de ventilación y aspersores para resfriamiento de los animales que se utilizaba en los meses de verano.

El encierro de los animales estabulados poseía piso de cemento donde era depositado el alimento y piso de tierra en el lugar donde permanecían los animales, era completamente recubierto por techo y poseía agua *ad libitum*. El frente de comedero era lo suficientemente amplio para que las 30 vacas tuvieran acceso al alimento. Cada tratamiento tenía un corral asignado que se mantuvo durante todo el periodo experimental.

5.4. Tratamientos:

5.4.1. Tratamiento DTM+DTM (rojo):

Durante la primavera y verano las vacas estuvieron estabuladas y recibieron alimentación *ad-libitum* de dieta totalmente mezclada (DTM) durante los primeros 180 días de lactancia.

5.4.2. Tratamiento DPM25+DTM (azul):

- Primavera: doble pastoreo después de cada ordeño y alimentación con DTM equivalente al 25% de la recibida por el Tratamiento DTM+DTM a las 11:30 hs, permaneciendo en lugar con agua y sombra hasta el ordeño de la tarde. Horarios de pastoreo: 7:30 a 11:00 y de 19:00 a 6:00 hs.
- Verano: estabulación y alimentación igual al tratamiento DTM+DTM, sin pastoreo.

5.4.3. Tratamiento DPM25+DPM35 (verde):

- Primavera: doble pastoreo después de cada ordeño y alimentación con DTM equivalente al 25% de la recibida por el Tratamiento DTM+DTM a las 11:30 hs, permaneciendo en lugar con agua y sombra hasta el ordeño de la tarde. Horarios de pastoreo: 7:30 a 11:00 y de 19:00 a 6:00 hs.
- Verano: entre ordeño de la mañana y la tarde las vacas quedaron estabuladas y recibieron una oferta de DTM equivalente al 35 % de la recibida por el tratamiento DTM+DTM. Realizaban un pastoreo entre el ordeño de la tarde y la mañana (19:00 a 6:00 hs).

El cambio de manejo de estación de “primavera” a “verano” fue a los 70±14 días en lactación para todas las vacas.

5.5. Alimentación:

Los animales en pastoreo tenían acceso a pasturas de Festuca (*Festuca arundinacea*) y Dactylis (*Dactylis perseo*) en primavera y sorgo forrajero (*Sorghum bicolor x Sorghum sudanensis* Var. ACA 727) a partir del 20 de diciembre. La asignación de forraje era de 40 kgMS/vaca/día. Se realizaban franjas diarias.

La DTM para el grupo DTM+DTM se ajustó de modo que fuera *ad libitum*. En base a esto se determinaba la suplementación de DTM para los demás grupos.

Durante la primavera esta cantidad fue de 25% del total administrado al grupo DTM+DTM para cada uno de los grupos del pastoreo.

Durante el verano los tratamientos DTM+DTM y DPM25+DTM consumían DTM *ad libitum*, mientras el lote DPM25+DPM35 era suplementado con 35% de esa cantidad.

La DTM estaba compuesta por ensilaje de planta entera de sorgo (33%), grano seco de sorgo (12,5%), pulpa de citrus (10%), expeler de canola (16,5%), burlanda de sorgo (10%) y cáscara de soja (16%). Además, se agregaba un premix de minerales y vitaminas formulado a medida (1,3%) y urea (0,2%).

En la Tabla 1 se presenta la composición química de los alimentos en % de MS.

Tabla 1. Composición química de los alimentos en % de MS.

Alimento	Periodo	PC	EE	FDN	FDA	C
DTM	SETIEMBRE	16,61	2,35	45,08	23,82	7,03
DTM	OCTUBRE	16,8	3,48	40,4	22,34	6,5
DTM	NOVIEMBRE	17,35	3,75	38,41	20,99	5,44
DTM	DICIEMBRE	16,59	3,14	35,66	20,51	6,03
DTM	ENERO	16,75	2,97	38,36	22,29	6,65
DTM	FEBRERO	16,33	1,49	42,56	23,08	4,96
FESTUCA+DACTYLIS	OCTUBRE	13,56	2,29	48,94	24,01	10,05
FESTUCA+DACTYLIS	NOVIEMBRE	12,63	1,23	55,1	27,31	10,5
FESTUCA+DACTYLIS	DICIEMBRE	10,39	1,91	62,01	32,19	10,87
SORGO FORRAJERO	ENERO	15,36	1,81	52,39	25,56	10,23
SORGO FORRAJERO	FEBRERO	12,72	1,29	61,64	27,75	10,1

¹PC = Proteína Cruda; ²EE = Estrato etéreo; ³FDN = Fibra Detergente Neutra; ⁴FDA = Fibra Detergente Ácida; ⁵C = Cenizas

5.6. Mediciones realizadas:

5.6.1. Estado corporal (EC):

Se determinó de forma quincenal desde los 30 días previos al parto hasta 180 días post parto. Se determinó el EC usando la escala de 1 a 5 (Edmonson et al., 1989), las observaciones eran realizadas siempre por el mismo observador.

5.6.2. Producción individual de leche:

La producción de leche fue medida en medidores comerciales Waikato®, de forma semanal, todos los lunes en ambos ordeñes.

5.6.3. Muestras de leche para progesterona (P4):

El muestreo se realizó 2 veces por semana, los días lunes y jueves. Se colectaba una muestra de leche de un cuarto previo al inicio del ordeño en frascos destinados para tal fin con el conservante azida ácida y se remitían al Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de la Facultad de Veterinaria. En dicho laboratorio se realizaba la extracción de grasa y se analizaba en el suero la concentración de P4 por radioinmunoanálisis (RIA).

5.6.4. Metabolitos sanguíneos:

Se realizó la extracción de sangre a todos los animales cada 15 días al momento de hacer la evaluación de estado corporal luego del ordeño de la mañana, previo a recibir la suplementación. Para la extracción se utilizaron tubos con vacío (tipo Vacutainer®) sin anticoagulante, usando una aguja por animal. Se mantenían refrigerados y luego se realizaba la extracción del suero sanguíneo en el Laboratorio de Sangre y Leche de la EEMAC, centrifugando los tubos a 3500 rpm durante 10 minutos. El suero se congelaba a -20°C y se conservaba hasta posterior análisis en el

Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de la Facultad de Veterinaria.

En las muestras de suero se determinó la concentración de NEFA, BHB, proteínas totales, globulinas, albúmina, urea y colesterol.

Los perfiles metabólicos fueron determinados en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de la Facultad de Veterinaria.

La bioquímica sanguínea se analizó en el suero sanguíneo de las 90 vacas del ensayo, con determinaciones cada 15 días durante todo el periodo experimental y fue analizada acorde a las siguientes metodologías colorimétricas: proteínas totales: reacción de Biuret; albúmina: Verde de Bromocresol, BCG; urea: GIDH UV; colesterol: CHOD-PAP. Para todas éstas determinaciones se utilizaron kit comerciales del laboratorio Wiener (Rosario, Argentina), utilizando además, calibradores de Wiener Lab. El equipo utilizado fue el autoanalizador automático Vitalab Selectra 2 (Vital Scientific, Dieren, The Netherlands). La concentración de NEFA fue determinada por el método ACS-ACOD (kit NEFA-C, Wako Chemicals, USA) y BHB por el d-3-hydroxybutyrate kit (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, UK). Los controles utilizados fueron los incluidos en el kit y controles internos del Laboratorio. La concentración de globulinas se determinó por diferencia entre la concentración de proteínas totales y la albúmina. Debido a la cantidad de muestras evaluadas los análisis se realizaron en varios ensayos, siendo el CV interensayo para todas las determinaciones menor a 10%.

La determinación de P4 se realizó solamente en aquellas vacas que no habían tenido eventos clínicos de enfermedad durante el experimento. En este sentido la P4 se analizó en 5 vacas del tratamiento DTM+DTM, 16 vacas del DPM25+DTM y 14 vacas del grupo DPM25+DPM35. Las determinaciones se realizaron por el método de Radioinmunoanálisis en fase sólida, usando los Kit DPC (Diagnostic Products Co Los Angeles, CA, USA). Los análisis se realizaron en varios ensayos, y el CV interensayo para todas las determinaciones fue menor a 10%.

5.7. Análisis estadístico:

Las variables que consisten en observaciones repetidas en el tiempo (producción de leche, estado corporal, metabolitos) fueron analizados por el procedimiento mixto del SAS.

El modelo estadístico incluyó como efectos fijos los tratamientos, las observaciones (días respecto al parto), la enfermedad y las interacciones entre los mismos. La enfermedad fue definida como vacas que presentaron algún evento clínico durante el periodo experimental, 0= vacas sanas, sin eventos, 1= vacas con por lo menos un evento clínico.

Para el análisis de la progesterona en leche, se determinó la probabilidad de reinicio de la ciclicidad ovárica posparto, tomando como referencia aquellos valores que superaron los 0,8 nmol/L de progesterona como el día de reinicio.

Posteriormente se analizó la probabilidad cada 10 días posparto hasta el día 150, utilizando el procedimiento GLIMMIX del SAS.

6. RESULTADOS

En la Tabla 2 se puede apreciar un resumen de los efectos fijos sobre las diferentes variables. Se consideró como efecto significativo un $p < 0,05$ y tendencia de efecto una probabilidad de entre 0,05 y 0,1. Por encima de estos valores se consideró no significativo (ns).

Tabla 2: Efectos fijos incluidos en el modelo estadístico para el análisis de las diferentes variables estudiadas

Variable	Bloque	DesvParto	Trat	Dpp	Trat*Dpp	Enf	Trat*Enf	PerExp	Trat*PerExp
Producción de leche	<0,0001	ns	<0,0001	<0,0001	0,02	ns	ns	ns	0,02
EC	<0,0001	<0,0001	0,008	<0,0001	0,05	ns	ns	-	-
NEFA	ns	ns	ns	<0,0001	ns	ns	ns	-	-
BHB	0,006	ns	0,06	<0,0001	ns	ns	ns	-	-
PT	<0,0001	ns	0,006	<0,0001	ns	ns	ns	-	-
Globulinas	<0,0001	ns	0,0005	<0,0001	ns	0,02	0,09	-	-
Albúmina	0,03	ns	ns	0,03	ns	ns	ns	-	-
Urea	0,002	0,03	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,02	ns	-	-
Colesterol	0,0003	0,0008	ns	<0,0001	ns	0,03	ns	-	-

EC= Estado Corporal; NEFA= Ácidos Grasos No Esterificados; BHB= β -Hidroxibutirato; PT= Proteínas Totales. DesvParto= Desvío entre fechas de parto; Trat= Tratamiento; Dpp= días post parto; Trat*Dpp = Interacción Tratamiento x Días Post Parto; Enf= Enfermedad; Trat*Enf= Interacción Tratamiento x Enfermedad; PerExp= Período Experimental (Primavera/Verano); Trat*PerExp = Interacción Tratamiento x Período Experimental. ns= no significativo

6.1. Producción de leche:

La producción de leche estuvo afectada por el tratamiento ($p < 0,0001$), los días post parto ($p < 0,0001$), la interacción entre tratamiento y días post parto ($p = 0,0022$) y la interacción entre tratamiento y periodo experimental ($p = 0,02$).

El tratamiento DTM+DTM tuvo en promedio para todo el período experimental, una mayor producción de leche ($32 \pm 0,6a$ litros) respecto al tratamiento DPM25+DTM y DPM25+DPM35, los cuales no tuvieron diferencias entre sí ($27 \pm 0,6b$ y $26 \pm 0,6b$ respectivamente).

Tabla 3. Producción de leche en litros para cada época del experimento.

	Primavera	Verano
DTM+DTM	32,7 \pm 0,9a	31,3 \pm 0,7a
DPM25+DTM	26,4 \pm 0,9b	28,0 \pm 0,7b
DPM25+DPM35	25,9 \pm 0,9b	25,0 \pm 0,7c

OBS: Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada estación (Primavera o Verano).

En la Tabla 3 se presentan los promedios de producción para los tres tratamientos en primavera y verano.

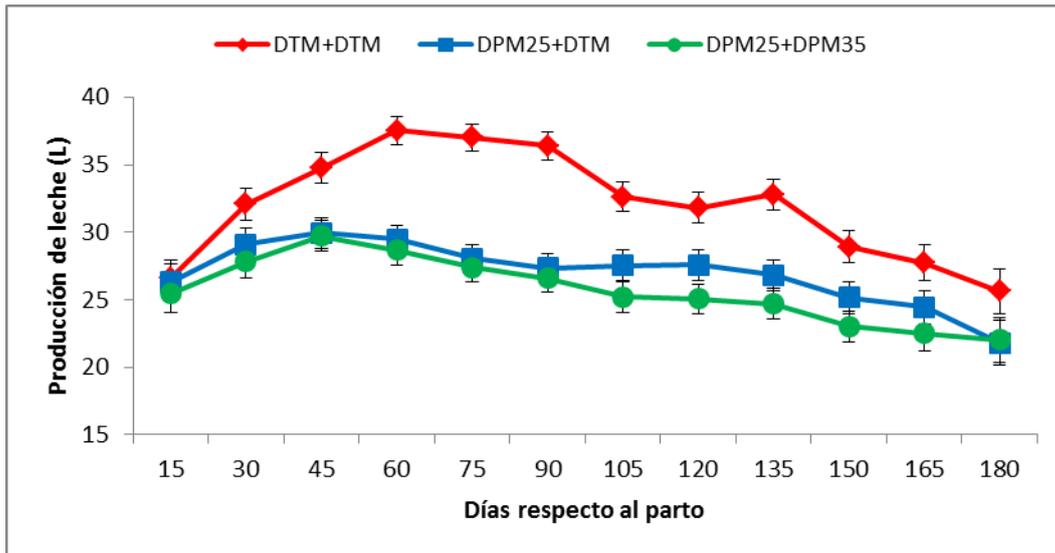


Figura : Producción de leche en litros según días post parto

Como se muestra en la Figura 1, la producción de leche comenzó a presentar diferencias entre tratamientos a partir de los 30 días post parto, donde fueron significativamente diferentes el tratamiento DTM+DTM y el DPM25+DPM35. A partir del día 45 posparto, el grupo DTM+DTM fue superior a los demás grupos, no habiendo diferencias entre los grupos DPM25+DTM y DPM25+DPM35, hasta el día 135 posparto. En los días 150 y 165 el grupo DTM+DTM superó solamente al grupo DPM25+DPM35, no habiendo diferencias con el tratamiento DPM25+DTM.

6.2. Estado corporal:

El estado corporal (EC) estuvo afectado por los tratamientos ($p=0,008$), por los días respecto al parto ($p<0,0001$) y además hubo una interacción entre tratamiento y días respecto al parto ($p=0,05$).

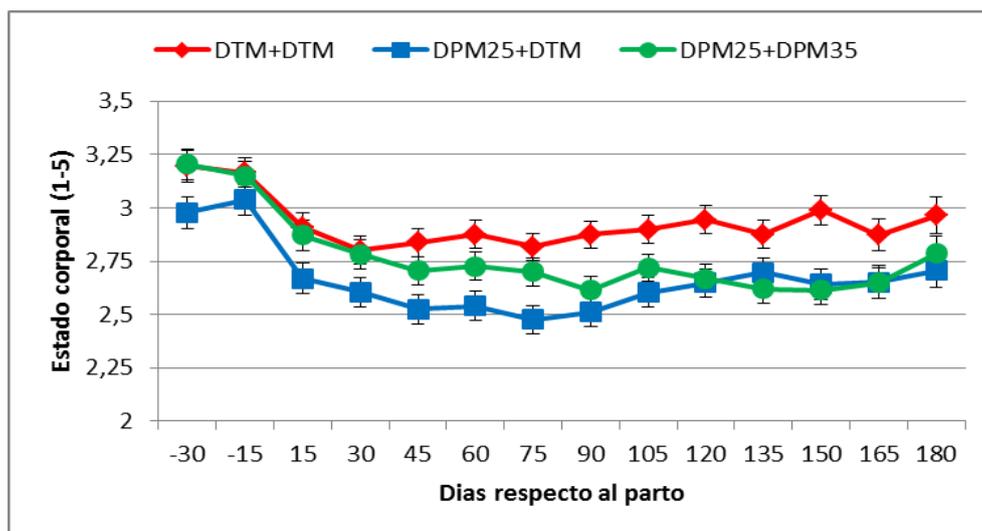


Figura : Evolución del estado corporal según días respecto al parto

El EC promedio, para todo el período experimental, del grupo DPM25+DTM fue significativamente más bajo que el del grupo DTM+DTM (rojo; $2,66\pm 0,05$ y $2,93\pm 0,05$ respectivamente). Mientras el grupo DPM25+DPM35 no presentó diferencias significativas con ninguno de los anteriores ($2,77\pm 0,05$).

Todos los animales llegaron al parto con similar EC ($3,02\pm 0,07a$; $2,95\pm 0,07a$ y $2,98\pm 0,07a$; para el tratamiento rojo, azul y verde, respectivamente) y en todos los tratamientos se observaron pérdidas de EC luego del parto (Figura 2).

Las vacas del tratamiento DTM+DTM, alcanzaron el mínimo EC al día 30, en comparación con el EC del período pre parto, manteniendo ese estado hasta el final del experimento.

En el tratamiento DPM25+DTM, el nadir de EC ocurrió el día 75 posparto y a partir de ese momento comienza a aumentar progresivamente, siendo el día 120 cuando la EC se diferenció (fue mayor) del momento de menor EC (día 75).

En los animales del tratamiento DPM25+DPM35, se observó la caída de EC post parto y el día 90 fue el momento en que se registró el menor EC. Luego de ese día el valor se mantuvo sin diferencias.

Cuando se comparó el EC entre tratamientos por período, el grupo DTM+DTM presentó mayor EC que el grupo DPM25+DTM los días 60, 105 y 135. Además el tratamiento de DTM+DTM fue superior a los restantes dos grupos los días 90, 120 y 150 posparto. Los días 165 y 180 no hubo diferencias entre tratamientos.

6.3. Metabolitos:

6.3.1. NEFA

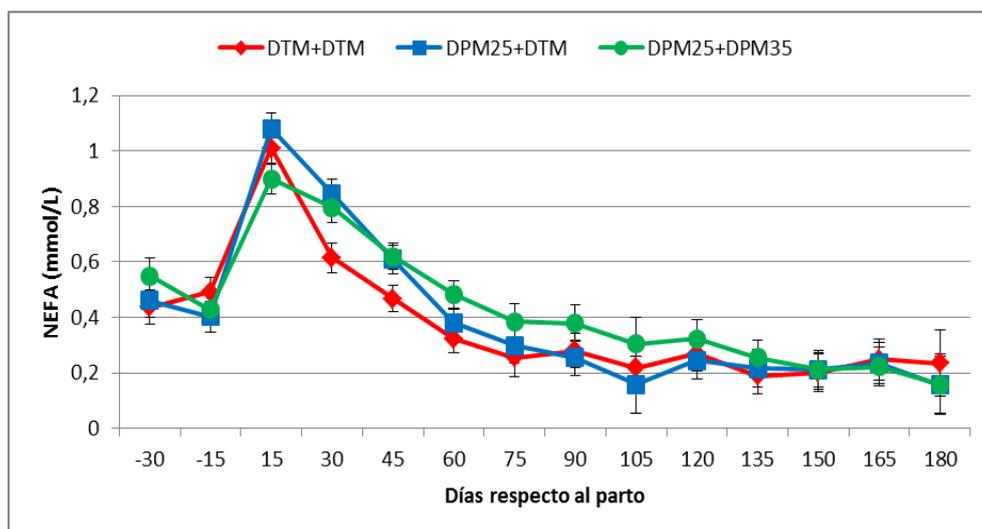


Figura : Evolución de niveles séricos de NEFA según días respecto al parto

Sobre los niveles de NEFA tuvieron efectos los días respecto al parto ($p < 0,0001$), observándose un pico a los 15 días post parto (Figura 3), disminuyendo progresivamente en todos los tratamientos. El grupo DPM25+DTM presentó mayor concentración que el tratamiento DPM25+DPM35 en los primeros 15 días posparto.

Sin embargo, el día 30 post parto, el tratamiento DTM+DTM presentó menor concentración que los grupos DPM25+DTM y DPM25+DPM35.

6.3.2. β -hidroxibutirato (BHB):

Las concentraciones de BHB fueron afectadas por los días respecto al parto ($p < 0,0001$) y hubo una tendencia de efecto por el tratamiento ($p = 0,06$).

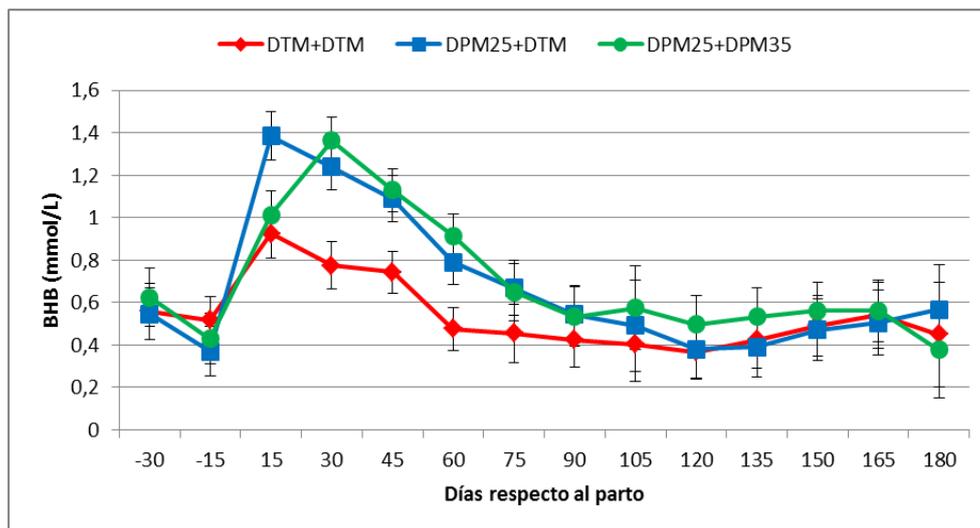


Figura : Evolución de niveles séricos de BHB según días respecto al parto

En general, se observó un aumento significativo de los niveles de BHB a partir del parto y hasta los 45 días posteriores, como demuestra la Figura 4.

El grupo DPM25+DTM tuvo valores significativamente diferentes del tratamiento DTM+DTM en los primeros 15 días posparto. El tratamiento DTM+DTM presentó menor concentración de BHB a los 30 y 45 dpp con relación a los otros dos tratamientos. El día 60 posparto el grupo DPM25+DPM35 presentó mayor concentración que el tratamiento DTM+DTM. Luego de ese periodo no hubo diferencias entre los tratamientos.

6.3.3. Proteínas totales:

Tuvieron efectos sobre las proteínas totales el tratamiento ($p = 0,006$) y días respecto al parto ($p < 0,0001$).

Si se toma el promedio de todo el período experimental, el tratamiento DPM25+DPM35 tuvo niveles significativamente menores al del DPM25+DTM (azul, $73,8 \pm 0,5$ vs $76,4 \pm 0,6$ g/L respectivamente) mientras que el tratamiento DTM+DTM no difirió significativamente de ninguno ($74,7 \pm 0,5$ g/L).

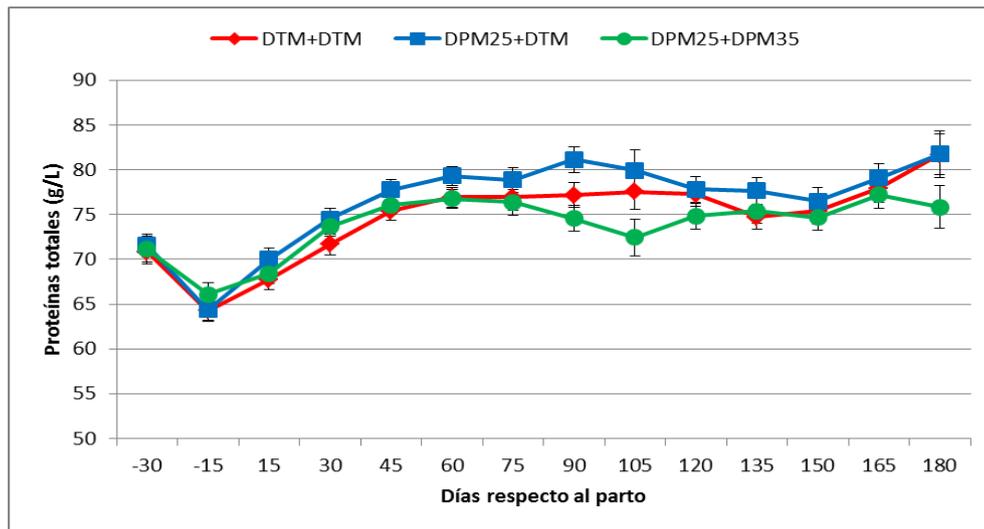


Figura : Evolución de niveles séricos de proteínas totales según días respecto al parto

La figura 5 muestra como las proteínas totales presentan los niveles más bajos alrededor del parto, sobre todo dentro de los últimos 15 días anteriores a este, luego empiezan a aumentar significativamente a partir de los 30 días post parto aproximadamente.

6.3.4. Globulinas:

Las concentraciones de globulinas estuvieron afectadas por el tratamiento ($p=0,0005$), días respecto al parto ($p<0,0001$), enfermedad ($p=0,02$) y hubo una tendencia a interacción entre tratamiento y enfermedad ($p=0,09$).

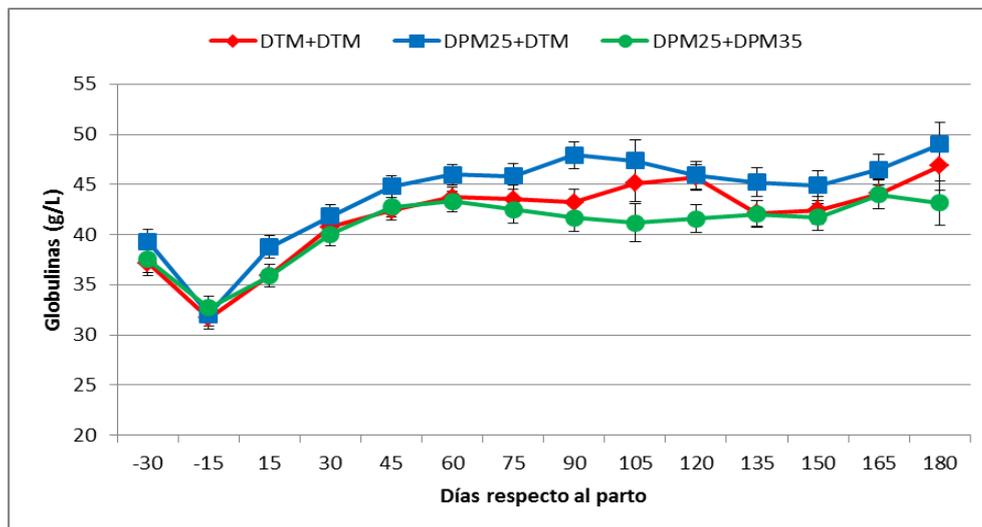


Figura : Evolución de niveles séricos de globulinas según días respecto al parto

Para todos los tratamientos, los menores niveles se encontraron en los últimos 15 días previos al parto (Figura 6).

El tratamiento DPM25+DTM presentó en promedio mayores niveles de globulinas que los otros tratamientos para todo el período experimental. A su vez en este grupo hubo una tendencia a que las vacas que enfermaron tuvieran mayor concentración que las sanas (Enfermas= $46 \pm 1,1$ vs Sanas= $42 \pm 0,6$ g/L).

Los animales enfermos presentaron mayores niveles de globulinas que los sanos ($43,1 \pm 0,6$ y $41,2 \pm 0,4$ g/L, respectivamente).

6.3.5. Albúmina:

Sobre los niveles de albúmina tuvieron efecto solamente los días respecto al parto ($p=0,03$). En la Figura 7 se presenta la evolución de la concentración de albúmina para los tres tratamientos.

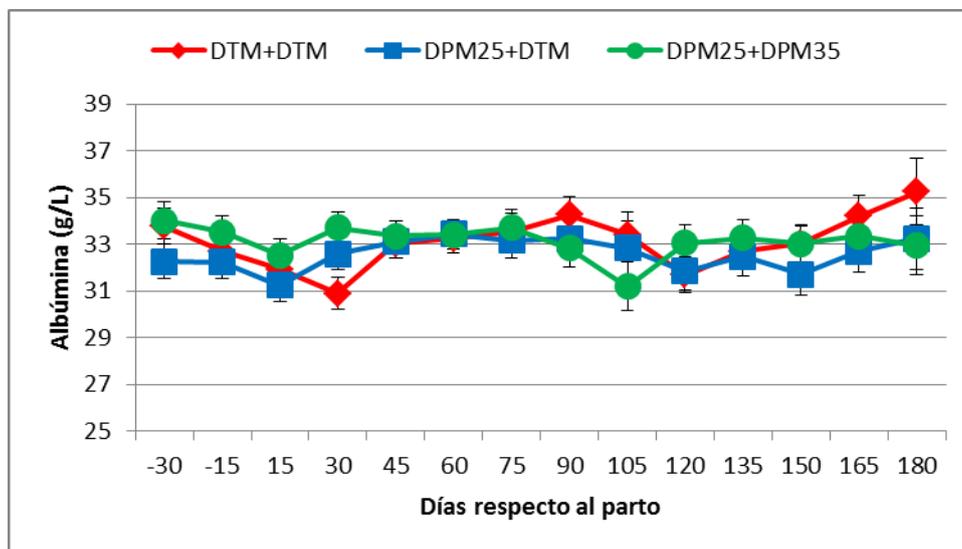


Figura : Evolución de niveles séricos de albúmina para todos los tratamientos según días respecto al parto

6.3.6. Urea:

Los niveles de urea fueron afectados por el tratamiento ($p<0,0001$), los días respecto al parto ($p<0,0001$), enfermedad ($p=0,02$) y también hubo una interacción entre tratamiento y días respecto al parto ($p<0,0001$).

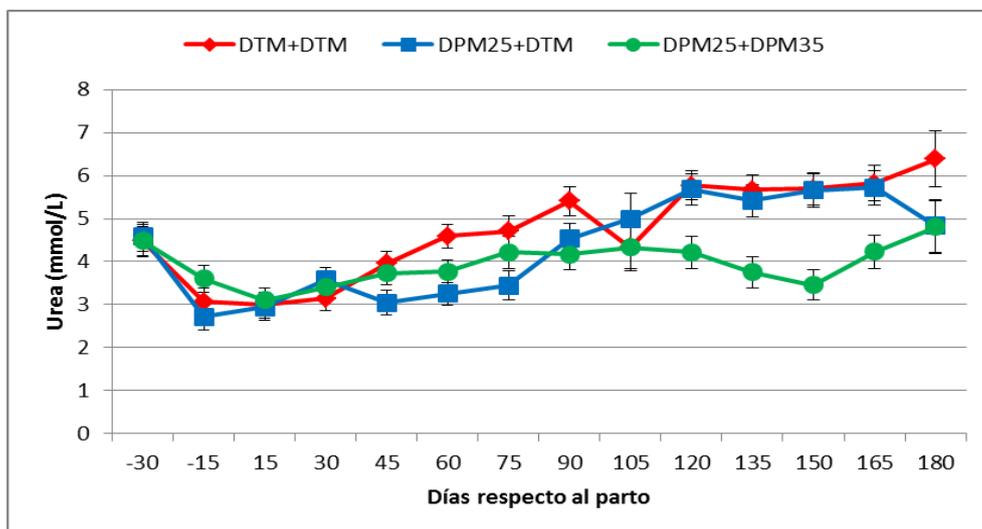


Figura : Evolución de niveles séricos de urea según días respecto al parto

El tratamiento DPM25+DPM35 tuvo menor concentración que el tratamiento DTM+DTM en promedio para todo el período experimental ($3,95 \pm 0,11$ y $4,7 \pm 0,11$ mmol/L respectivamente), mientras el tratamiento DPM25+DTM no difirió significativamente de ninguno ($4,3 \pm 0,13$ mmol/L).

Los niveles más bajos se constataron desde los 15 días pre parto hasta los 60 post parto, a partir de donde empiezan a aumentar (Figura 8).

Los grupos DTM+DTM y el DPM25+DTM presentaron una evolución similar en la urea, aumentado progresivamente con los días luego del parto, alcanzando los valores máximos a partir del día 120 posparto. Sin embargo el grupo DPM25+DPM35 tuvo pequeñas fluctuaciones pero sin ser significativas, presentando menor concentración de urea con respecto a los otros dos tratamientos entre el día 120 y 165 posparto.

Las vacas sanas presentaron mayor concentración que las vacas enfermas en promedio durante todo el periodo evaluado ($4,5 \pm 0,1$ vs $4,1 \pm 1,1$ mmol/L, respectivamente).

6.3.7. Colesterol:

El colesterol estuvo afectado por los días respecto al parto ($p < 0,0001$) y enfermedad ($p = 0,02$), donde los animales sanos tuvieron niveles más altos (Sanos = $4,0 \pm 0,1$ vs Enfermos = $3,7 \pm 0,1$ mmol/L).

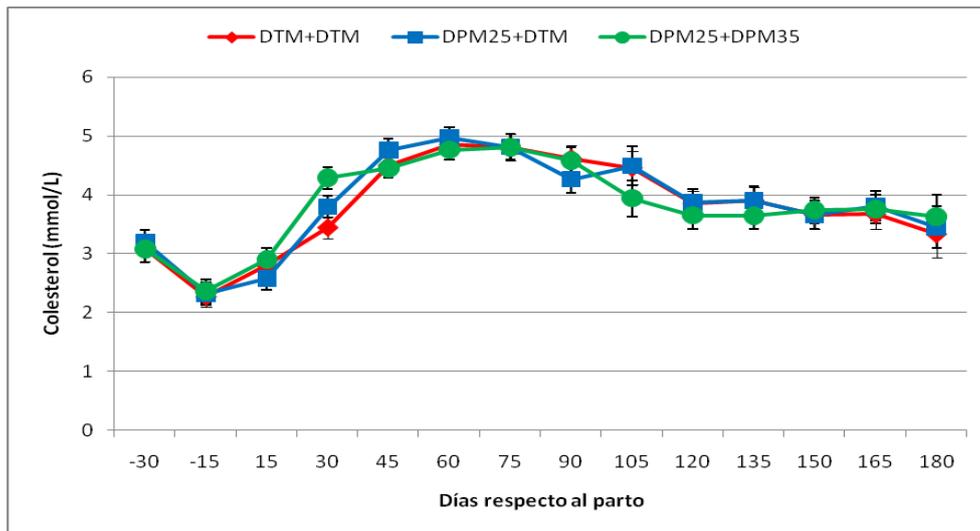


Figura : Evolución de niveles séricos de colesterol según los días respecto al parto

Los niveles más altos se encontraron entre los días 45 y 90 post parto, mientras los más bajos se agrupaban alrededor del parto y al final del período experimental.

6.4. Reinicio de la ciclicidad:

No hubo diferencias en los días al reinicio de la ciclicidad ovárica posparto entre los tratamientos. El promedio de días al reinicio se presenta en Tabla 4.

Tabla 4: Días post parto al reinicio de la ciclicidad ovárica para cada tratamiento.

Tratamiento	Días al reinicio (media ± error estándar)
DTM+DTM	46,7±17,5
DPM25+DTM	46,7±21,7
DPM25+DPM35	48,9±28,8

En la figura 10 se presenta la evolución de la probabilidad de encontrar vacas que habían reiniciado su ciclicidad. No hubo efecto de los tratamientos sobre la probabilidad evaluada cada 10 días luego del parto.

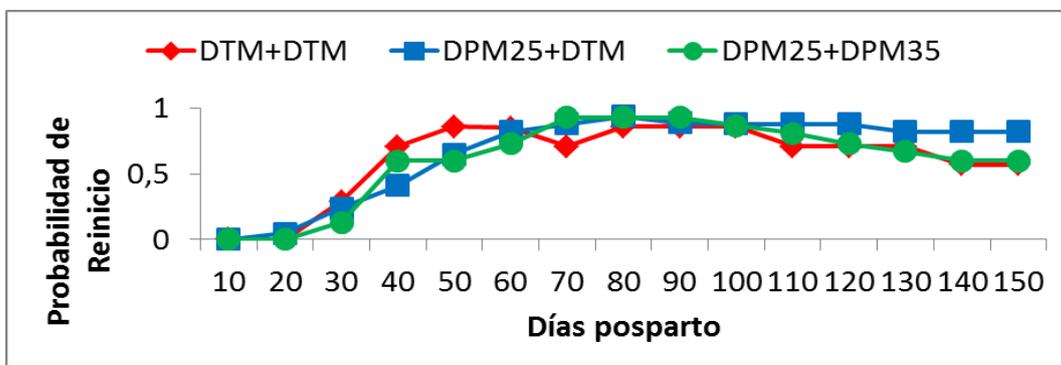


Figura : Probabilidad de reinicio de ciclicidad ovárica según días post parto

Si bien no se obtuvieron diferencias significativas, en los días 140 y 150 el grupo DPM25+DTM presentó una probabilidad de 0,80 de encontrar vacas ciclando comparadas con los dos restantes grupos que presentaron una probabilidad de 0,60.

7. DISCUSIÓN

Como era esperable, el tratamiento DTM+DTM tuvo una producción de leche diaria superior a los demás tratamientos para todo el período experimental. Esta fue 5 litros/día superior que el tratamiento DPM25+DTM y 6 litros/día más que el grupo DPM25+DPM35, lo que representa un 18,5% y 23% más respectivamente.

Además hubo una interacción entre la estación del año y los tratamientos, determinando que tanto en primavera como en verano, la producción de leche del grupo DTM+DTM siempre fue superior a los demás grupos. A su vez, el grupo que pasó del doble pastoreo en la primavera al DTM en el verano, logró superar en producción al grupo que se mantuvo con un pastoreo en el verano. Sin embargo, a pesar del cambio de estrategia el grupo DPM25+DTM no llegó a alcanzar el nivel de producción que el DTM+DTM.

Esto concuerda con los hallazgos de Bargo et al. (2002), donde encontraron que un grupo DTM produjo 19% más leche que un grupo DPM. Esto podría ser explicado por el menor ingreso energético en la alimentación del grupo que accede a pasturas y mayor gasto energético de las actividades de caminata (Bargo et al. 2002; Fontanelli et al., 2005), ya que se vio que este presentó un aumento de 2,5 Mcal/d en los requerimientos de mantenimiento (Bargo et al. 2002). Además, en el presente ensayo el consumo promedio de materia seca (MS) durante todo el experimento del tratamiento DTM+DTM fue 3,2 kg y 9,3 kg MS/día/vaca mayor que el tratamiento DPM25+DTM y DPM25+DPM35, respectivamente (Silva et al. 2017), pudiendo ser esta una de las explicaciones de las diferencias en producción de leche.

En otros trabajos también se encontró una superioridad en producción de leche para grupos estabulados comiendo DTM en comparación con DPM, sin embargo cabe destacar que gran parte de ellos son estudios de corta duración (6 semanas: Soriano et al., 2001; 8 semanas: Meikle, 2013; Vibart et al., 2008), mientras que otro de más larga duración comparaba el sistema DTM con pasturas pero no en sistema DPM (10 meses; Fontanelli et al., 2005).

Se podría afirmar que en relación a la producción de leche, el cambio de estrategia de alimentación en el grupo DPM25+DTM permitió que la producción de leche se mantuviera hasta el día 135, en cambio en el grupo DPM25+DPM35 la producción fue disminuyendo paulatinamente. Esta diferencia podría deberse a una mejor capacidad y calidad de consumo de alimento del grupo que pasó al DTM así como también una mayor mitigación del estrés calórico. Por otro lado, se conoce que las pasturas en verano van perdiendo calidad (Beretta y Simeone, 2008), lo cual representa el período más crítico desde el punto de vista nutricional, en virtud de los bajos niveles de proteína cruda (PC) y los altos tenores de fibra (Ospina, 2010). No se encontraron trabajos que hayan realizado un manejo similar de cambio de alimentación con esta duración a efectos comparativos.

Sin embargo, cabe observar que el grupo DTM+DTM también presentó una caída paulatina en la curva de producción de leche durante el período de verano. Esto se podría atribuir al efecto del estrés calórico, ya que si bien se encontraban en un sistema estabulado, no contaban con un sistema de refrigeración en la zona, el cual solo estaba presente en la sala de espera antes del ordeño, y fue igual para los tres tratamientos. El estrés calórico, produce una respuesta inmediata de disminución en la ingesta de materia seca, causando una reducción en los nutrientes disponibles para la síntesis de leche (West, 2003; Rhoads et al., 2009). Además, un leve a severo estrés calórico puede aumentar los requerimientos de mantenimiento de 7 a 25% (NRC, 2001. Citado por Polsky and von Keyserlingk, 2017).

En cuanto al EC, todos los tratamientos llegaron al parto con un estado que está dentro de lo recomendado por la bibliografía (Roche et al., 2009) de entre 3,0 a 3,25 (escala de 5 puntos de Edmonson et al., 1989). A pesar de que todos los grupos tuvieron pérdidas post parto, el grupo DTM+DTM logró mantener a lo largo del experimento niveles superiores de EC. Esto concuerda con diversos autores que afirman que animales en sistemas pastoriles tienen mayores disminuciones de EC frente a animales en sistema DTM (Kolver y Müller, 1998; Bargo et al., 2002; Meikle et al., 2013). Por otro lado, el grupo DPM25+DTM fue el único que presentó un aumento significativo en el EC luego de alcanzar el nadir. Esto se puede atribuir al efecto que tuvo el cambio de alimentación en verano, posibilitando la ganancia de estado que fue estadísticamente superior a partir del día 120.

Reflejando las pérdidas de EC, los niveles de NEFA alcanzaron un pico para todos los tratamientos alrededor del día 15 post parto, lo que coincide con el nadir del BEN citado por Butler (2003). Dicho BEN, además de estar caracterizado por un aumento en los niveles de NEFA, también fue acompañado por aumentos en los niveles de BHB, lo que coincide con lo postulado por Butler (2003) y Adrien et al. (2012). Para el grupo DTM+DTM la menor pérdida de EC se vio parcialmente reflejada en los niveles de NEFA, que si bien presentó un aumento como en los demás tratamientos, tuvo menor concentración que los otros grupos en los primeros 30 días postparto. Pero el efecto más relevante de los tratamientos fue que el grupo que estuvo alimentado con DTM *ad libitum* presentó menor concentración de BHB lo que indica un menor grado de cetogénesis. En el experimento reportado por Meikle et al. (2013) también se encontró una superioridad en el EC del grupo DTM frente a los que estaban en pastoreo, así como también menor concentración de BHB, lo cual presentó aumentos en sus niveles al día 15 y/o 30 para grupos en pastoreo, pero no para el grupo DTM. Además, en los tratamientos DPM25+DTM y DPM25+DPM35, se constataron valores superiores a 1,2 mmol/L de BHB en el período alrededor de los 30 días post parto, lo que es indicativo de cetosis subclínica. Esto además estaría asociado con disminuciones en la producción de leche, como también mayor incidencia de enfermedades como desplazamiento de abomaso, metritis, así como cetosis clínica, según lo reportado por Duffield et al. (2009).

La concentración de proteínas totales disminuyó alrededor del parto, hallazgo que era esperable de acuerdo a la bibliografía existente, aumentando progresivamente en los días sucesivos, acompañando esta evolución las concentraciones de globulinas. Esto coincide con los hallazgos de Cavestany et al. (2005). En el experimento reportado por Meikle et al. (2013) se observó comportamiento similar para las proteínas totales. Esto podría estar explicado por la disminución en la

ingesta durante el pre-parto y un aumento de pasaje de globulinas hacia el calostro, de igual manera la posterior recuperación coincidiría con la recuperación de la capacidad de consumo de los animales (Cavestany et al., 2005).

Las concentraciones de urea presentaron disminuciones alrededor del parto, que podría estar coincidiendo con el período de BEN y la menor capacidad de consumo, así como lo encontrado en el experimento de Cavestany et al. (2005). Los aumentos subsiguientes estarían explicados por la mejora en la ingesta de alimentos (Meikle et al., 2005). Por otro lado, durante el verano, luego del cambio de alimentación, el tratamiento DPM25+DPM35 presentó niveles más bajos de urea que los dos tratamientos que se encontraban totalmente estabulados, lo que podría estar reafirmando la hipótesis anterior. Esto último podría explicarse ya que los niveles de urea son dependientes de la nutrición, variando de acuerdo con el contenido proteico, la degradabilidad de la proteína, el nitrógeno no proteico y la energía de la dieta (Park et al., 2002).

El colesterol tuvo disminuciones alrededor del parto con posterior recuperación de los niveles. Así mismo, en el período del verano volvió a tener una cierta disminución en todos los tratamientos. Este comportamiento alrededor y luego del parto se corresponde con los trabajos de Cavestany et al. (2005) y Adrien et al. (2012), los cuales coinciden en que aumentos en los niveles de este metabolito acompañan el incremento en el consumo y la mejora en el balance energético. Meikle et al. (2005) afirman que durante la lipólisis que se produce alrededor del parto, ocurre una acumulación de triacilglicéridos en el hígado que provocarían una serie de disfunciones como hipocolesterolemia e hipoalbuminemia. Adrien (2006) afirma que no solo el balance energético incide en la síntesis del colesterol, sino también el tipo de dieta y que se ha vinculado los niveles de colesterol con el transporte del mismo, ya que las lipoproteínas de alta densidad aumentan en sangre a medida que aumentan los días posparto. Basados en los antecedentes bibliográficos (Meikle et al. 2013), es probable que la baja en la concentración de colesterol en el verano esté asociada a la disminución del consumo por el efecto del estrés térmico.

Los parámetros reproductivos del presente trabajo presentaron algunos resultados irregulares, con vacas que luego de reiniciar la ciclicidad volvieron a entrar en anestro en la mitad del experimento, para lo cual no se siguieron patrones obvios que se pudieran ligar a algún motivo en especial. El promedio de días al reinicio no tuvo diferencias significativas entre los tres tratamientos ($46,7 \pm 17,5$; $46,7 \pm 21,7$ y $48,9 \pm 28,8$ para los grupos rojo, azul y verde respectivamente), y están de acuerdo a los resultados encontrados en un grupo de tambos de Uruguay por el relevamiento sin publicar citado por Meikle et al. (2010), el cual era de entre 43 y 50 días.

La posterior caída en la probabilidad de reinicio o retorno al anestro como citado anteriormente, se podría atribuir al estrés calórico del período. Schüller et al. (2017), encontraron que el estrés calórico tuvo efectos significativos sobre la tasa de concepción, color de la mucosa vaginal, rastros de monta, descarga de moco durante el estro, concentración de progesterona sérica, y diámetro folicular. Se constató que la probabilidad de las vacas de dicho estudio en quedar preñadas disminuyó continuamente a medida que aumentaba el ITH, siendo que la menor tasa de concepción fue detectada cuando el ITH registrado en el día del estro fue ≥ 72 . Así mismo, estos encontraron que la probabilidad de encontrar un folículo $\geq 12\text{mm}$ al día del estro disminuyó de forma continua con el aumento del ITH, desde valores de

ITH \geq 67 hasta 74, notando que, en un modelo de regresión lineal, el tamaño folicular disminuyó 0,1mm con cada punto incremental de ITH al día del estro. Siendo así, sería coherente pensar que si el tamaño folicular se ve afectado, también lo va a ser el posterior tamaño del cuerpo lúteo, con la consecuente disminución en la producción de progesterona.

Rosenberg et al., (1982) y Wolfenson et al., (1988) indicaron que las concentraciones de progesterona plasmática son reducidas en el ganado bajo estrés calórico. Por otro lado, Wolfensen et al. (2000) concluyó que el estrés calórico crónico llevaría a una reducción en las concentraciones de progesterona, mientras las mismas pueden ser elevadas luego de un estrés calórico agudo.

Schüller et al. (2017) también concluyeron que un folículo dominante de menor tamaño ocasionado por el estrés calórico, produce menos estradiol, lo que se ve repercutido en una menor circulación sanguínea en el útero, lo cual fue demostrado en el experimento de Honig et al. (2016), donde constataron que vacas que recibían mayor frecuencia de refrigeración durante el día presentaban mayor circulación uterina que las que recibían refrigeración menos frecuente.

8. CONCLUSIONES

El tratamiento que estuvo estabulado durante todo el experimento con alimentación a base de DTM permitió obtener una mayor producción de leche en promedio.

Por otro lado, el cambio de estrategia durante el verano, de pastoreo hacia la estabulación, sufrido por el tratamiento DPM25+DTM, permitió lograr niveles de producción de leche durante el verano superiores al grupo que mantuvo un pastoreo diario.

Todos los animales, independientemente de la estrategia de alimentación, presentaron evidencias de BEN con movilización de reservas post parto, sin embargo el grado de movilización fue distinto entre tratamientos. El tratamiento DTM+DTM logró mantener mejor EC, presentando un menor tiempo de movilización de reservas, como se pudo constatar a través de los niveles de NEFA y BHB.

Los animales que estaban en pastoreo en el período post parto (DPM25+DTM y DPM25+DPM35), presentaron mayor movilización de reservas, así como evidencias de cetosis subclínica debido a los niveles de BHB.

El reinicio tardío de la ciclicidad ovárica posparto y la irregularidad del comportamiento del ciclo estral para todos los tratamientos reflejan la problemática del estrés térmico sobre la eficiencia reproductiva de vacas paridas durante la primavera.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- 1) Adrien, ML. (2006). Efecto de las cantidades crecientes de forraje sobre la performance productiva y reproductiva en vacas lecheras en condiciones pastoriles. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Montevideo. 41 p.
- 2) Adrien, ML; Mattiauda, DA; Artegoitia, V; Carriquiry, M; Motta, G; Bentancur, O; Meikle, A. (2012). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of postpartum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*, 6(2): 292–299.
- 3) Bach, A. (2014). Consecuencias de la cetosis subclínica en la vaca lechera y cómo detectarla y prevenirla. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11708/articulos-rumiantes-archivo/consecuencias-de-la-cetosis-subclinica-en-la-vaca-lechera-y-como-detectarla-y-prevenirla.html>. Fecha de consulta: 19/09/17.
- 4) Bargo, F; Muller, LD; Delahoy JE; Cassidy TW. (2002). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 85:2948–2963.
- 5) Beam, SW., Butler, WR. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 54 (Supl): 411–424.
- 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) Beam, SW; Butler, WR. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.* 56: 133–142.
- 8) Beretta, V; Simeone, A. (2008). Producción de carne a pasto: asignación de forraje, respuesta animal y utilización de forraje. 10ª Jornada Anual de la Unidad de Producción Intensiva de Carne. Estación Experimental M. A. Cassinoni. Facultad de Agronomía. Paysandú. Uruguay. pp 20-23.
- 9) Biffani, S; Bernabucci, U; Vitali, A; Lacetera, N; Nardone, A. (2016) Short communication: Effect of heat stress on nonreturn rate of Italian Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 99:5837–5843.
- 10) Blanc, JE; Meikle, A; Ferraris, A; Herrman, J; Rodríguez-Irazoqui, M; 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.

- 11)Bó, GA; Alonso A; Caccia, M; Carcedo, J; Cutaia, L; Moreno, D; Martínez, M; Baruselli, P. (2006) Fisiología de la Reproducción de la Vaca. Córdoba, IRAC, 26p.
- 12)Bó, GA; Caccia, M. (2011). Dinámica folicular ovárica en ganado bovino. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V.1. pp. 59-72.
- 13)Bruss, ML. (1997): Lipids and ketones. En: Kaneko, J; Harvey JW and Bruss, ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, New York. pp. 86–105.
- 14)Butler, WR. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest Prod Sci* 83:211–218.
- 15)Butler, WR. (2001). Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *British Anim. Sci. Occas. Publ.* 26 (1): 133–145.
- 16)Butler, WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 60–61:449–457.
- 17)Butler, WR. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81:2533–2539.
- 18)Butler, WR; Smith, RD, (1989). Interrelationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72:767–783.
- 19)Cajarville, C, Mendoza, A, Santana, A, Repetto, JL. (2012) En tiempos de intensificación productiva... ¿Cuánto avanzamos en el conocimiento de los nuevos sistemas de alimentación de la vaca lechera? *Veterinaria (Montevideo)* 48:35-39.
- 20)Cartmill, JA; El-Zarkouny, SZ; Hensley, BA; Rozell, TG; Smith, JF; Stevenson, JS. (2001). An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperature before or after calving or both. *J. Dairy Sci.* 84:799-806.
- 21)Cavestany, D; Blanc, JE; Kulcsar, M; Uriarte, G; Chilbroste, P; Meikle, A; Febel, H; Ferraris, A; Krall, E. (2005). Studies of the Transition Cow Under a Pasture-based Milk Production System: Metabolic Profiles. *J. Vet. Med. A* 52:1-7.
- 22)Chagas, LM; Bass, JJ; Blache, D; Burke, CR; Kay, JK; Lindsay, DR; Lucy, MC; Martin, GB; Meier, S; Rhodes, FM; Roche, JR; Thatcher, WW; Webb, R. (2007) Invited Review: New Perspectives on the Roles of Nutrition and Metabolic Priorities in the Subfertility of High-Producing Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:4022–4032.
- 23)Chilbroste, P. (2012) Estrategias de alimentación en sistemas de producción de leche de base pastoril. *Cangüe.* 32:2-8.

- 24) Chilibroste, P; Battezzato, G. (2015). Proyecto Producción Competitiva. Montevideo, Conaprole. 31 p.
- 25) Chilibroste, P; Ibarra, D; Zibil, S; Laborde, D. (2003). Proyecto Alimentación-Reproducción. Conaprole 2002: Informe final. 28 p.
- 26) Correa, H; Cuéllar, A. (2004). Aspectos clave del ciclo de la urea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Fecha de consulta: 26/07/17.
- 27) Cruz, G; Saravia, C. (2008). Un índice de temperatura y humedad del aire para regionalizar la producción lechera en Uruguay. Agrociencia 12(1):56-60.
- 28) DIEA. (2016a). Estadísticas del Sector Lácteo 2014. Montevideo, MGAP. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/estadisticas_del_sector_lacteo_2014_-_no_332.pdf. Fecha de consulta: 29/04/17.
- 29) DIEA. (2016b). Anuario Estadístico Agropecuario 2016. Montevideo, MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea/anuario2016>. Fecha de consulta: 01/11/16.
- 30) DIEA. (2011). Anuario Estadístico Agropecuario 2011. Montevideo, MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/diea-anuario-2011-web.pdf>. Fecha de consulta: 26/04/17.
- 31) DIEA. (2009). La Producción Lechera en el Uruguay - Año 2007. Montevideo, MGAP. Disponible en: http://www.agev.opp.gub.uy/observatorio_docs/publico/178.pdf. Fecha de consulta: 22/11/2016.
- 32) Dikmen, S; Hansen, PJ. (2009). Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment?. J. Dairy Sci. 92:109–116.
- 33) Dirección Nacional de Meteorología – Dirección de Climatología y Documentación (2014). El Verano. Disponible en: <https://inumet.gub.uy/reportes/dcd/verano.pdf>. Fecha de consulta: 22/11/2016.
- 34) Drackley, JK (1999). Biology of dairy cow during the transition period: the final frontier? J Dairy Sci. 82: 2259-2273.
- 35) Duffield, TF; Lissemore, KD; McBride, BW; Leslie, KE. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. J. Dairy Sci. 92:571–580.
- 36) Duske, K; Hammon, HM; Langhof, AK; Bellmann, O; Losand, B; Nürnberg, K; Nürnberg, G; Sauerwein, H; Seyfert, HM; Metges, CC. (2009). Metabolism and lactation performance in dairy cows fed a diet containing

- rumen-protected fat during the last twelve weeks of gestation. *J. Dairy Sci.* 92:1670–1684.
- 37) Edmonson, AJ; Lean, IJ; Weaver, LD; Farver, T; Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 72:68-78.
- 38) Fontaneli, RS; Sollenberger, LE; Littell, RC; Staples, CR. (2005). Performance of Lactating Dairy Cows Managed on Pasture-Based or in Freestall Barn-Feeding Systems. *J Dairy Sci.* 88:1264–1276.
- 39) Frajblat, M. (2000). Metabolic state and follicular development in the postpartum lactating dairy cow. PhD dissertation, Cornell University, 250 p.
- 40) Gill, M. (1979). The principles and practice of feeding ruminants on complete diets. *Grass For. Sci.* 34: 155-161.
- 41) Glauber, C. (2007). Manejo reproductivo en el rodeo bovino lechero: Propuestas y Reflexiones. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/87-bovino_lechero.pdf. Fecha de consulta: 17/09/17.
- 42) Grille, L; Olmos, M; Adrien, ML; Chilbroste, P; Damián, JP. (2017). Comportamiento de vacas lecheras en dos sistemas de manejo y alimentación: TMR vs pastoreo y TMR. *XLV Jornadas Uruguayas de Buiatría.* Paysandú, Uruguay, pp 145-197.
- 43) Grummer, RR; Mashek, DG; Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet .Clin. N.A Food Anim.Pract.* 20:447-470.
- 44) Hansen, PJ. (2007). Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology* 68:242-249.
- 45) Honig, H; Ofer, L; Kaim, M; Jacobi, S; Shinder, D; Gershon, E. (2016). The effect of cooling management on blood flow to the dominant follicle and estrous cycle length at heat stress. *Theriogenology* 86:626-634.
- 46) Huszenicza, GY; Kulcsar, M; Nikolic, JA; Schmidt, J; Korodi, P; Katai, L; Dieleman, S; Ribiczei-Szabo, P; Rudas, P. (2001). Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with Monensin or inert fat in feed. En *Fertility in the High-Producing Dairy Cow*, pp 405–409. Ed. MG Diskin. Edinburgh: British Society of Animal Science.
- 47) Ibarra, D; Chilbroste, P. (2004) Evolución de la condición corporal y variables reproductivas. Proyecto “Interacción Alimentación-Reproducción” Informe final 2003. Montevideo, Conaprole. pp 1-52.
- 48) INALE. 2014. Encuesta Lechera INALE 2014. Resultados preliminares. Información y Estudios Económicos. Programas y Proyectos. Uruguay. Disponible en: <http://www.inale.org/innovaportal/file/4086/1/encuesta->

[lechera-2014--presentacion-resultados-preliminares-foro-a.pdf](#). Fecha de consulta: 29/04/17.

- 49) Ingraham, RH; Stanley, RW; Wagner, WC. (1976). Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in Hawaii. *J. Dairy Sci.* 59:2086–2090.
- 50) Jolly, PD; McDougall, S; Fitzpatrick, LA; MacMillan, KL; Entwistle, KW. (1995). Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 49:477–492.
- 51) Jordan, ER. (2003). Effects of Heat Stress on Reproduction. *J. Dairy Sci.* 86:(E. Suppl.):104–114.
- 52) Kolver, E. (2003). Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proc Nut Soc* 62: 291–300.
- 53) Kolver, ES; Müller, LD. (1998). Performance and nutrient intake of high producing holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81:1403-1411.
- 54) Lourenço, M; Van Ranst, G; Vlaeminck, B; De Smet, S; Fievez, V. (2008). Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Anim Feed Sci Technol* 145: 418-437.
- 55) Lucy, MC. (2001) Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J. Dairy Sci.* 84:1277–1293
- 56) Macmillan, KL; Lean IJ; Westwood, CT. (1996). The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Aust. Vet. J.* 73:141-147.
- 57) Meikle, A; Adrien, ML; Mattiauda, DA; Chilibroste, P. (2013) Effect of sward condition on metabolic endocrinology during the early postpartum period in primiparous grazing dairy cows and its association with productive and reproductive performance. *Anim Feed Sci Technol* 186: 139-147.
- 58) Meikle, A; Cavestany, D; Carriquiry, M; Adrien, ML; Rupprechter, G; Rovere, G; Peñagaricano, F; Mendoza, A; Pereira, I; Mattiauda, D; Chilibroste, P. (2010). Endocrinología metabólica en la vaca lechera durante el período de transición y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica. *Agrociencia (Uruguay)*. 14:89-95.
- 59) Meikle, A; Cavestany, D; Blanc, J; Krall, E; Uriarte, G; Rodríguez-Irazoqui, M; Rupprechter, G; Ferraris, A; Chilibroste, P. (2005). Perfiles metabólicos y endócrinos, parámetros productivos y reproductivos en vacas de leche en condiciones pastoriles. *Veterinaria, (Montevideo)* 40:25-40.
- 60) Meikle, A; Kulcsar, M; Chilliard, Y; Febel, H; Delavaud, C; Cavestany, D. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127:727–737.

- 61)Mendoza, A; Cavestany, D; La Manna, A; Chilibroste, P; Meikle, A. (2011) Estrategias de alimentación energética para acortar el anestro posparto de vacas lecheras a pastoreo. Arch Latinoam Prod Anim 19:42-45.
- 62)Müller, L. (2003). Pasture-Based Systems for Dairy Cows in the United States. Disponible en: http://extension.psu.edu/animals/dairy/nutrition/forages/pasture/articles-on-pasture-and-grazing/pasture-based-systems-for-dairy-cows-in-the-united-states/pdf_factsheet. Fecha de consulta: 11/04/17.
- 63)Nelson, DL.; Lehninger, AL.; Cox, MM.; Cuchillo, M. (2001). Lehninger principios de bioquímica. 3a ed. Barcelona, Omega, 1152 p.
- 64)Ospina, H. (2010). Optimización de la suplementación proteica de ganado de carne en pasturas de baja calidad. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/suplementacion-proteica-ganado-en-pasturas-de-baja-calidad-t28586.htm>. Fecha de consulta 18/10/17.
- 65)Park, AF; Shirley, JE; Titgemeyer, EC; Meyer, MJ; VanBaale, MJ; VandeHaar, MJ. (2002). Effect of protein level in prepartum diets on metabolism and performance of dairy cows. J Dairy Sci. 85:1815-1828.
- 66)Polsky, L; von Keyserlingk, M. (2017). Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. J. Dairy Sci. 100:1–13.
- 67)Reist, M; Erdin, DK; von Euw, D; Tshumperlin, KM; Leuenberger, H; Hammon, HM; Morel, C; Philipona, C; Zbinden, Y; Kunzi, N; Blum, JW. (2003). Postpartum reproductive function: association with energy, metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. Theriogenology 59:1707–1723.
- 68)Remppis, S; Steingass, H; Gruber, L; Schenkel, H. (2011). Effects of Energy Intake on Performance, Mobilization and Retention of Body Tissue, and Metabolic Parameters in Dairy Cows with Special Regard to Effects of Pre-partum Nutrition on Lactation - A Review -. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 24(4):540-572.
- 69)Reynolds CK. (1992). Metabolism of nitrogen compounds by ruminal liver. J Nutr 122: 850 – 854.
- 70)Rhoads, ML; Rhoads, RP; VanBaale, MJ; Collier, RJ; Sanders, SR; Weber, WJ; Crooker, BA; Baumgard, LH. (2009). Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. J. Dairy Sci. 92:1986-1997.
- 71)Rhodes, F; McDougall, S; Burke, C; Verkerk, GA; Macmillan, KL. (2003). Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrus interval. J. Dairy Sci. 86: 1876–1894.
- 72)Roche, JF; Crowe, MA; Boland, MP. (1992). Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. Anim Reprod Sci 28:371-378.

- 73) Roche JR, Friggens C, Kay JK, Fisher W, Stafford KJ; Berry DP. (2009). Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci* 92: 5769–5801.
- 74) Rosenberg, M; Folman, Y; Herz, Z; Flamenbaum, I; Berman, A; Kaim, M. (1982). Effect of climatic conditions on peripheral concentrations of LH, progesterone and oestradiol-17 β in high milk yield cows. *J. Reprod. Fertil.* 66:139.
- 75) Rovere, G; Sotelo, F; Valena, J; Slavica, J. (2007). Mejoramiento Lechero y el monitoreo reproductivo de los tambos uruguayos. [Cd-Rom]. IX Congreso Holstein de las Américas – Colonia, Uruguay.
- 76) Salado, E. (2012). Estrategias de alimentación en sistemas lecheros: comparación de sistemas confinados vs. pastoriles. 12^o Congreso Panamericano de la Leche. Asunción, Paraguay. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281116569_Estrategias_de_alimentacion_en_sistemas_lecheros_comparacion_de_sistemas_confinados_vs_pastoriles12_Congreso_Panamericano_de_la_Leche_Asuncion_Paraguay. Fecha de consulta: 22/11/2016.
- 77) Sangsritavong, S; Combs, DK; Sartori, R; Armentano, LE; Wiltbank, MC (2002) High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 85:2831–2842.
- 78) Saravia, C; Astigarraga, L; Van Lier, E; Bentancur, O. (2011). Impacto de las olas de calor en vacas lecheras en Salto (Uruguay). *Agrociencia (Uruguay)* – 15(1):93-102.
- 79) Savio, JD; Boland, MP; Hynes, N; Roche, JF. (1990a). Resumption of follicular activity in the early postpartum dairy cows. *J Reprod Fert* 88:569-579.
- 80) Savio, JD; Boland, MP; Roche, JF. (1990b). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum period of dairy cows. *J Reprod Fert* 88:581-591.
- 81) Senger, LP. (2003). Regulation of Reproduction. En: Senger, LP. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2da ed. Washington, Current Conceptions. pp 111-121.
- 82) Schüller, LK; Michaelis, I; Heuwieser, W. (2017). Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows. *Theriogenology* 102:48-53.
- 83) Silva, M; Adrien, ML; Alvarez, MA; Meikle, A; Chilbroste, P. (2017). Efecto de la estrategia de alimentación durante los primeros 180 días post parto sobre performance productiva en vacas paridas en primavera. XLV Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp 164-166.

- 84) Soriano, FD; Polan, CE; Miller, CN (2001). Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 84:2460-2468.
- 85) Staufenbiel, R; Schröder, U; Gelfert, CC; Panicke, L. (2003). Körperkondition und Stoffwechselstabilität als Grundlage für eine hohe Milchleistung bei ungestörter Fruchtbarkeit und allgemeiner Gesundheit von Milchkühen. *Arch. Tierz., Dummerdorf* 46:513-526.
- 86) Swan, H. y Broster, WH. (1982). Principios para la producción ganadera. Capítulo V. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires.
- 87) Ungerfeld, R. (2011). Control endócrino del ciclo estral. En: Ungerfeld, R. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V. 1, pp. 43-57.
- 88) Vibart, RE; Vivek, F; Burns, JC; Huntington, GB; Green, JT. (2008). Performance of lactating dairy cows fed varying levels of total mixed ration and pasture. *J Dairy Res.* 75:471-480.
- 89) West, JW. (2003). Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- 90) Whitaker, DA; Goodger, WJ; Garcia, M; Perera, BMAO; Wittwer, F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Prev Vet Med* 38:119-131.
- 91) Wiltbank, M; Lopez, H; Sartori, R; Sangsritavong, S; Gümen, A. (2006) Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65:17-29.
- 92) Wittwer, F; Bohmwald, H; Contreras, P; Phil, M; Filoza, J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile. *Arch. Med. Vet. (Chile)* 19:35-45.
- 93) Wolfenson, D; Roth, Z; Merdan, R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61:535-547.
- 94) Wolfenson, D., I. Flamenbaum, and A. Berman. (1988). Hyperthermia and body energy store effects on estrous behavior, conception rate, and corpus luteum function in dairy cows. *J. Dairy Sci* 71:3497-3504.