

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA**

**FACULTAD DE VETERINARIA**

**PERFIL METABÓLICO-HORMONAL Y ACTIVIDAD OVÁRICA POSPARTO DE  
VACAS HOLANDO PRIMÍPARAS Y MULTÍPARAS BAJO UN SISTEMA DE  
ALIMENTACIÓN CON MIXTO DE RACION TOTALMENTE MEZCLADA Y  
PASTURA**

**Por**

**Andrea Luciana FERREIRA SILVERA**

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

**MODALIDAD Ensayo Experimental**

**MONTEVIDEO**

**URUGUAY**

**2019**

## **PÁGINA DE APROBACION**

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Segundo miembro:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Tercer miembro:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

Fecha: \_\_\_\_\_

Autores:

\_\_\_\_\_  
Nombre completo y firma

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo agradezco a Dios por ser mi guía y acompañarme en el transcurso de mi vida, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad, brindándome paciencia y sabiduría para culminar con éxito mis metas propuestas, obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres, Emilio Ferreira y Dora Silvera por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años; por confiar y creer en mis expectativas, por los valores y principios que me han inculcado; gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que hoy soy.

A mi tutora, Tatiana Morales, quien con su experiencia, conocimiento y motivación me oriento en la investigación.

Al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria y al Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria, por brindarme sus instalaciones, y por el apoyo del personal técnico y funcionarios.

A los funcionarios de la Biblioteca, por su colaboración y simpatía.

Agradezco a los todos docentes que, con su sabiduría, conocimiento y apoyo, motivaron a desarrollarme como persona y profesional en la la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad.

A mi abuelo Martín Silvera, por haberme apoyado siempre, por su cariño y confianza desde siempre.

A mi familia, padrinos y amigos, por su apoyo incondicional y soporte emocional.

A aquellos que contribuyeron directa e indirectamente en la realización de esta tesis, y que por una traición de mi memoria no fueron citados.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>PÁGINA DE APROBACION .....</b>	<b>2</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>3</b>
<b>LISTA DE FIGURAS Y CUADROS.....</b>	<b>6</b>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>7</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
<b>REVISION BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>11</b>
1.1.    EL PERÍODO DE TRANSICIÓN EN LA VACA LECHERA .....	11
1.1.1. <i>Balance Energético Negativo.....</i>	11
1.1.2. <i>Cambios metabólicos y hormonales durante el periodo de transición .....</i>	12
1.1.3. <i>Condición corporal durante el período de transición.....</i>	13
1.2.    ANESTRO POSPARTO .....	14
1.2.1. <i>Involución uterina.....</i>	15
1.2.2. <i>Reanudación de la función ovárica.....</i>	15
1.3.    PROGESTERONA EN LECHE Y PERFIL LUTEAL POSPARTO .....	17
1.4.    PARIDAD, METABOLITOS, HORMONAS Y ANESTRO POSPARTO.....	18
<b>HIPOTESIS .....</b>	<b>20</b>
<b>LAS VACAS PRIMÍPARAS TENDRÁN UN INTERVALO PARTO-PRIMERA OVULACIÓN MÁS LARGO QUE LAS VACAS MULTÍPARAS. ....</b>	<b>20</b>
<b>EL ESTADO METABÓLICO DE VACAS PRIMÍPARAS Y MULTÍPARAS SERÁN DIFERENTES DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN. ....</b>	<b>20</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>21</b>
1.5.    OBJETIVO GENERAL:.....	21
1.6.    OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	21
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
1.7.    ANIMALES Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	22
1.8.    MEDICIONES CORPORALES.....	23
1.9.    DETERMINACIÓN DE LA CICLICIDAD OVÁRICA Y DE LOS PERFILES DE PROGESTERONA .....	24
1.10.    BIOQUÍMICA SANGUÍNEA .....	24
1.11.    ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	25
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
1.12.    PARÁMETROS CORPORALES.....	26
1.13.    METABOLITOS SANGUÍNEOS Y HORMONAS .....	28
1.13.1. <i>Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 .....</i>	28
1.13.2. <i>Ácidos grasos no esterificados, <math>\beta</math>-hidroxibutirato .....</i>	28
1.14.    ACTIVIDAD OVÁRICA .....	30
1.14.1. <i>Primera ovulación posparto.....</i>	30
1.14.2. <i>Perfiles de progesterona.....</i>	31

**DISCUSION..... 32**  
**CONCLUSIONES..... 35**  
**BIBLIOGRAFIA..... 36**

## LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

FIGURA 1: MODELO QUE RESUME LOS EFECTOS DEL BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO EN PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DURANTE EL PP 15

CUADRO 1: TABLA DE INGREDIENTES Y COMPOSICIÓN DE LA DIETA POSPARTO, RACIÓN TOTALMENTE MEZCLADA (RTM) Y PASTURA<sup>19</sup>

FIGURA 2: EVOLUCIÓN DE: (A) PUNTUACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y (B) GRASA DORSAL (MEDIA  $\pm$  EE) PARA LAS VACAS PRIMÍPARAS PRIM (LÍNEA CONTINUA) Y MULTÍPARAS MULT (LÍNEA PUNTEADA) DURANTE 3 SEMANAS ANTES Y 10 SEMANAS DESPUÉS DEL PARTO. 27

FIGURA 3: LAS CONCENTRACIONES DE IGF-I (MEDIA  $\pm$  EE) EN PRIMÍPARAS (PRIM) (LÍNEA CONTINUA) Y DE VACAS MULTÍPARAS (MULT) (LÍNEA PUNTEADA) DURANTE 2 SEMANAS ANTES Y 6 SEMANAS DESPUÉS DEL PARTO. 28

FIGURA 4: CONCENTRACIONES DE: (A) ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS (NEFA), (B), B-HIDROXIBUTIRATO (BHB) (MEDIA  $\pm$  EE) EN PRIMÍPARAS (PRIM) (LÍNEA CONTINUA) Y VACAS MULTÍPARAS (MULT) (LÍNEA PUNTEADA) DURANTE 1 SEMANA ANTES Y 9 SEMANAS DESPUÉS DEL PARTO. 29

FIGURA 5: PROBABILIDAD DE OVULACIÓN Y DÍA PARTO-OVULACIÓN PARA: VACAS MULTÍPARAS (MULT) (TRIÁNGULO), VACAS PRIMÍPARAS (PRIM) (CÍRCULO). 30

## RESUMEN

Las hipótesis establecidas para este trabajo fueron: 1) las vacas primíparas tienen un intervalo parto-primera ovulación más largo que las vacas multíparas, 2) el estado metabólico durante el período de transición de vacas primíparas y multíparas es diferente. Para comprobar dichas hipótesis se planteó el objetivo de determinar la relación entre el número de partos y el perfil metabólico-hormonal y la actividad ovárica posparto de vacas Holando alimentadas con un sistema nutricional mixto (ración totalmente mezclada y pastura). El trabajo se realizó en la Unidad de lechería del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Uruguay. Para el mismo fueron seleccionadas 22 vacas Holando primíparas (PRIM) y 21 multíparas (MULT), en un diseño completamente al azar. El período de evaluación fue desde los 30 días preparto hasta los 70 días posparto. Semanalmente, se registraron la condición corporal (CC) y la grasa dorsal (GD) de todos los animales. Muestras de sangre fueron obtenidas una vez por semana para la determinación del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-I), ácidos grasos no esterificados (AGNE) y  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB). El reinicio de la actividad ovárica y los perfiles de progesterona (P4) se determinaron a través de las concentraciones de P4 en leche, obtenidas tres veces por semana, desde los 7 días posparto. La CC (3,3 vs 3,2; EE= 0,01) fue mayor en vacas PRIM que en MULT, y la GD (2,4 cm vs 2,1 cm, EE= 0,1 cm) tendió a ser mayor en PRIM comparado con MULT. Vacas PRIM presentaron mayores niveles sanguíneos de IGF-I (172,3 ng/ml vs 83,5 ng/ml, EE= 9,8 ng/ml), y menores concentraciones de AGNE (0,52 nmol/l vs 0,76 nmol/l, EE= 0,03 nmol/l) y BHB (0,40 nmol/l vs 0,60 nmol/l, EE= 0,03 nmol/l) que vacas MULT. El intervalo parto-1<sup>a</sup> ovulación no fue afectado por el número de partos (PRIM= 24,5  $\pm$  17 días, MULT= 25,0  $\pm$  9 días), sin embargo, una mayor proporción de vacas MULT presentaron perfiles de P4 anormales (50,0%) que las vacas PRIM (27,2%). En conclusión, bajo un sistema de alimentación basado en RTM y pastura, el número de partos de vacas Holando no afectó el tiempo a la primera ovulación posparto. Sin embargo, vacas MULT demostraron un mayor desbalance metabólico-hormonal que vacas PRIM, resultando en perfiles de P4 posparto anormales.

## **SUMMARY**

The hypothesis of this study were: 1) primiparous cows have a first ovulation postpartum longer than multiparous cows, 2) the metabolic status during transition period of primiparous cows is different compared with multiparous cows. The objective of this study was to determine the relationship between parity and metabolic status and first postpartum ovulation of Holstein cows managed in a production system based on total mixed ration and pasture. Primiparous (n=22) and multiparous (n=21) cows from a dairy farm research station in Uruguay were used in a completely randomized design. Body condition score and backfat thickness (BFT) were recorded weekly from -30 to 70 days postpartum. Resumption of postpartum ovarian activity and progesterone profiles were measured three times a week based on milk progesterone. Blood was collected to determine the levels of insulin-like growth factor I (IGF-I), non-esterified fatty acids (NEFA) and  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB). Body condition score were greater in primiparous cows than in multiparous cows (3.3 vs 3.2; SE= 0.01), and BFT tended to be greater in the primiparous than in the multiparous cows (2.4 cm vs 2.1 cm, SE= 0.1 cm). Primiparous cows had greater levels of IGF-I (172.3 ng/ml vs 83.5 ng/ml, SE= 9.8 ng/ml), and lower concentrations of NEFA (0.52 nmol/l vs 0.76 nmol/l, SE= 0.03 nmol/l) and BHB (0.40 nmol/l vs 0.60 nmol/l, SE= 0.03 nmol/l) than multiparous cows. The intervals from calving to first ovulation were not affected by parity (PRIM= 24.5  $\pm$  17 days, MULT= 25.0  $\pm$  9 days); however, multiparous cows showed more abnormal cycles (50.0%) than primiparous cows (27.2%). The present study found that under a feeding system based on TMR and pasture the parity of Holstein cow did not affect calving to first ovulation interval. However, multiparous cows showed a greater imbalance in metabolic and hormonal profiles than primiparous cows, causing abnormal ovarian activity.

## INTRODUCCIÓN

En los últimos 15 años la producción de leche en el Uruguay ha tenido un fuerte incremento, evidenciado en el aumento del ingreso de leche a plantas industriales de 1146 a 2041 millones de litros (78%) entre los ejercicios 2000/2001 y 2013/2014 (DIEA, 2005; 2015). Este crecimiento se vio sustentado por una mayor productividad por hectárea, ya que, según la misma fuente, la superficie total de tambos cayó en un 21%. Además del aumento de la carga animal en los sistemas (28%), el crecimiento en la producción de leche se basó en una mayor productividad por vaca masa (VM), que pasó de 3220 a 5270 L/VM/año en el mismo período de tiempo (DIEA, 2005; 2015).

Este aumento en la producción de leche de las últimas décadas ha provocado una disminución de los indicadores reproductivos (Roche *y col.*, 2000; Lucy, 2001; Royal *y col.*, 2002), por lo tanto, una baja performance reproductiva en los rodeos lecheros. Sin embargo, no sería la producción de leche *per se* la principal causante de dicha reducción, sino los factores relacionados con la obtención y mantenimiento de las altas producciones (Lucy, 2001). La alimentación, la genética, el manejo, el capital humano que interviene, el clima, el sistema de producción, la sanidad, el bienestar animal, entre otros son factores que afectan la reproducción (Cavestany *y col.*, 2005a). La reducción de la fertilidad del rodeo se observa a través de menores tasas de concepción e intervalos parto-concepción prolongados (García Bouissou, 2008). La duración del anestro posparto (PP) podría determinar la eficiencia reproductiva de un tambo ya que afecta directamente los índices reproductivos antes mencionados (Lucy, 2008; Peter *y col.*, 2009).

El período donde se observan los principales problemas de salud y/o metabólicos-hormonales que afectarán el futuro desempeño reproductivo de la vaca es el llamado período de transición (PT). Dicho período se define como la etapa comprendida entre 3 semanas antes a 3 semanas después del parto. Durante este período, las vacas lecheras sufren cambios metabólicos que son necesarios para apoyar la gestación tardía y el inicio de la lactancia. Luego del parto la vaca experimenta una rápida y elevada demanda energética con el fin de sostener las altas producciones de leche de la lactancia temprana (Overton y Waldron, 2004). Esto se encuentra asociado a un insuficiente consumo de materia seca (MS) (Beever *y col.*, 2001) lo que lleva a un balance energético negativo (BEN) de magnitud variable y con una duración aproximada de 5 semanas (Grummer y Rastani, 2003). El BEN se refleja en pérdidas de condición corporal (CC) (Pryce *y col.*, 2001), y posible aparición de enfermedades metabólicas e infertilidad (Vanholder *y col.*, 2006; McArty *col.*, 2013). Se estima que hasta el 75% de la incidencia de las enfermedades y las pérdidas económicas en la industria lechera ocurren durante el PT (LeBlanc *y col.*, 2006).

Los efectos directos del BEN sobre la fertilidad y el estado de salud se producen a través de: 1) la disminución de las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina y del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) (Beam y Butler, 1999; Butler, 2000;

Taylor y *col.*, 2003; Grummer y *col.*, 2004), hormonas anabólicas importantes para el desarrollo folicular (Beam y Butler, 1999; Kadivar y *col.*, 2010) y para la producción de estradiol por los mismos (Beam y Butler, 1998); 2) el incremento de los niveles sanguíneos de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) (Bauman y Currie, 1980) los cuales pueden afectar directamente la calidad del ovocito (Van Hoeck y *col.*, 2014; Wathes y *col.*, 2007a;) o deprimir el sistema inmune, dejando al animal más susceptible a enfermedades (Hoeben y *col.*, 1997).

Un factor que influye en cómo se presenta el BEN y en la magnitud de sus efectos es el número de parto de las vacas. Se ha reportado que vacas de primer parto recorren el PT de manera diferente a vacas multíparas (MULT) (Meikle y *col.*, 2004; Wathes y *col.*, 2007a). Las principales diferencias entre primíparas (PRIM) y MULT se da en la magnitud de la pérdida de CC luego del parto, y en el desequilibrio en los perfiles metabólicos y endócrinos (Meikle y *col.*, 2004, 2006; Cavestany y *col.*, 2005b; Adrien, 2010, Adrien y *col.*, 2012). Esto podría deberse a las mayores necesidades que presentan los animales jóvenes, ya que simultáneamente requieren nutrientes para el crecimiento y para la primera lactación; sumado a esto, dichos animales podrían tener una menor capacidad de ingesta de MS (Rémond y *col.*, 1991). Esas diferencias entre PRIM y MULT podrían hacer que el intervalo parto-primera ovulación (IPPO) también sea distinto entre las categorías. Al ser mayor la severidad del BEN en las vacas PRIM, la longitud del anestro PP podría ser también mayor comparado con vacas MULT; lo cual se ha reportado en animales mantenidos bajo pastoreo (Meikle y *col.*, 2004).

## REVISION BIBLIOGRÁFICA

### 1.1. El período de transición en la vaca lechera

Durante el PT el animal se enfrenta a altas exigencias energéticas, demandadas tanto por el feto como por la producción de leche, que producen determinados cambios fisiológicos (Drackley, 1999). Por ejemplo, al día 4 de la lactancia, la vaca requiere dos veces más aminoácidos, tres veces más glucosa y cinco veces más ácidos grasos que al día 250 de la gestación (Overton y Waldron, 2004). El BEN producido durante este período puede causar una menor producción de leche, la aparición de enfermedades metabólicas y el fracaso en la siguiente gestación (Grummer, 1995). La mayoría de las disfunciones metabólicas (cetosis, hígado graso, edema de ubre), nutricionales (hipocalcemia, hipomagnesemia), alimenticias (acidosis ruminal, laminitis, desplazamiento de abomaso), y productivas (baja producción de leche, relación grasa: proteína invertida) ocurren dentro de este período (Sepúlveda Varas y col., 2017).

Para enfrentar el desafío durante el PT, la vaca realiza distintas adaptaciones, que pueden resumirse de la siguiente forma (Cavestany y col., 2006):

- Conversión de los depósitos de nutrientes a formas aprovechables por el animal,
- Síntesis de nutrientes por el propio organismo a una mayor velocidad que lo habitual,
- Aumento de la capacidad de absorción de nutrientes desde el tracto digestivo,
- Desarrollo de estrategias para ahorrar nutrientes clave, como la glucosa.

#### 1.1.1. Balance Energético Negativo

El balance energético es el resultado de la diferencia entre los requerimientos del animal y los aportes alimentarios. Durante las 2-4 últimas semanas de gestación se produce un aumento sustancial del requerimiento energético debido al desarrollo fetal y a la de síntesis de calostro. Esta situación se acompaña de una disminución en la ingesta de MS. Esta disminución del consumo está dada, por un lado, por factores anatómicos (tamaño del ternero y del rumen) y, por otro lado, por dinámicas metabólicas-hormonales. Con respecto a esto último, las concentraciones de estrógenos (aumentadas), leptina (disminuida) y ácidos grasos no esterificados (AGNE) (aumentada) son las responsables de la reducción del consumo de MS en este período (Sepúlveda Varas y col., 2017). Estas circunstancias son, con frecuencia, responsables del desarrollo de un BEN (Butler, 2000). De la profundidad del BEN, dependerá la gravedad de la depresión del sistema inmunitario de la vaca en transición (hecho clave en el desencadenamiento de las enfermedades PP), y el reinicio de la ciclicidad ovárica (fundamental para la obtención de buenos resultados reproductivos) (Valle Rueda, 2013).

Para compensar la falta de nutrientes y disminuir el BEN, la vaca experimenta una serie de cambios homeorréticos que le permiten mantener la homeostasis y hacer el

déficit energético compatible con la vida (Bell, 1995). Estos cambios comprenden: un aumento de la neoglucogénesis hepática a partir de nutrientes orgánicos (propionato y aminoácidos), una disminución en la utilización de la glucosa por los tejidos periféricos (resistencia a la insulina) y una mayor movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo. El único objetivo es proporcionar suficiente glucosa para el feto (durante la gestación) y para la síntesis de la lactosa destinada a la producción de leche. Los cambios se dan a causa de las modificaciones en los niveles orgánicos de las principales hormonas metabólicas y a la variación en la sensibilidad de los diferentes tejidos a las mismas (Herdt, 2000).

### **1.1.2. Cambios metabólicos y hormonales durante el periodo de transición**

#### **1.1.2.1. Hormonas y metabolitos relacionados con la reproducción**

En el período PP temprano las vacas movilizan reservas de sus tejidos incrementando los niveles sanguíneos de AGNE y BHB, pero reduciendo las concentraciones de glucosa, insulina e IGF-I (Grummer y *col.*, 2004). La relación de los niveles de glucosa en sangre con la reproducción, está dada, por el hecho de que ésta es la principal fuente de energía para el ovario bovino (Rabiee y Lean, 1999), y por que la glucosa afectaría directamente la amplitud de los pulsos de LH (Rutter y Manns, 1987). La insulina es la reguladora del reparto de nutrientes desde los tejidos periféricos al útero gestante y a la glándula mamaria, durante el PT. Es una hormona anabolizante y su función es el ahorro de nutrientes y posterior almacenamiento bajo diferentes formas. Para ello estimula la glucogénesis, la lipogénesis y la síntesis de glicerol. Inhibiendo la gluconeogénesis, la glucogenolisis y la lipolisis en hígado y tejido muscular. Es, así mismo, un potente regulador de la ingesta de alimentos (Valle Rueda, 2013). La hipoinsulinemia está relacionada a su vez, con los receptores hepáticos que regulan la producción de IGF-I (Butler y *col.*, 2003).

El IGF-I juega un importante papel en los procesos fisiológicos básicos como son el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos, la función inmune, reproducción y el metabolismo (Jones y Clemmons, 1995; Valle Rueda, 2013). Este péptido se produce en órganos de significación reproductiva como hipotálamo, ovarios, oviductos y útero (Spicer y Echterkamp, 1995), sin embargo, la mayor parte del IGF-I detectado en sangre es producido por el hígado. Las concentraciones de IGF-I en sangre empiezan a declinar en los últimos días de preñez, alcanzan el nadir en las primeras semanas PP, y empiezan a elevarse después (Meikle y *col.*, 2004; Roche y *col.*, 2005; Whates y *col.*, 2007b). Los niveles periféricos de IGF-I en el postparto son afectados por la raza, el genotipo y la producción de leche (Roberts y *col.*, 2005; Spicer y *col.*, 1993; Taylor, 2001). Durante el posparto temprano el eje somatotrófico en la vaca lechera, formado por la hormona del crecimiento (GH), el receptor de la hormona de crecimiento específico del hígado y el IGF-I, se encuentra desacoplado. Lo que se refleja en las altas concentraciones sanguíneas de GH y bajas de IGF-I en el posparto temprano. Se demostró que la disminución en la síntesis de IGF-I se asoció con la reducción de los receptores de GH, y del ARNm de la isoforma 1A del receptor de GH y de IGF-I (Kobayashi et al., 1999), estimulando así el catabolismo de los tejidos periféricos.

Bajos niveles de IGF-I lleva a un retraso en el reinicio de la ciclicidad, debido al retraso del crecimiento folicular y a la falta de ovulación del primer folículo dominante (Beam y Butler, 1999; Pushpakumara y col., 2003). También sus concentraciones están relacionadas con las concentraciones de estradiol sanguíneo (Beam y Butler, 1998). Las bajas concentraciones sanguíneas de LH e IGF-I actuarían sinérgicamente para promover el fallo en el desarrollo folicular (Leroy y col., 2012). Otro cambio metabólico importante durante el BEN es la alta movilización de reservas. Durante el PT se produce una pronunciada elevación de AGNE (Meikle y col., 2004; Cavestany y col., 2005a, 2009a; Rupprechter y col., 2011; Adrien y col., 2012;) por un corto período (5 semanas), los que son utilizados como fuente de energía por el hígado y los músculos, como forma de ahorrar glucosa y aminoácidos para la síntesis de leche (Cavestany y col., 2006). Al aumento de AGNE le sigue frecuentemente un aumento de BHB el cual refleja la importante lipólisis y el déficit energético (Meikle y col., 2013). La concentración de AGNE refleja la magnitud de movilización de lípidos de las reservas y el consumo de MS (Roche y col., 2000), siendo sus niveles óptimos en vacas en lactación por debajo de 0,7 mmol/L, y para vacas secas dentro de las últimas 4 semanas de preñez por debajo de 0,4 mmol/L (Cavestany y col., 2006). El BHB es un buen marcador de respuesta rápida del grado de síntesis de cuerpos cetónicos asociado a la movilización de lípidos producto del BEN; es un metabolito de alta sensibilidad, especialmente en vacas en lactancia, pero con limitada especificidad por la absorción de butirato ruminal (Roche y col., 2000). En vacas en lactación el nivel óptimo de BHB en sangre es por debajo de 1,0 mmol/L, en vacas con cetosis los valores son cercanos a 2,0 mmol/L (Cavestany y col., 2006). Los altos niveles de AGNE y BHB en sangre tienen efectos negativos directos sobre el ovario y el útero, afectando el reinicio de la actividad luteal (RAL) tanto en vacas primíparas como en multíparas (Canfield y Butler, 1990; Whates y col. 2007a), dando lugar posteriormente a una pobre fertilidad (Farman y col., 2016). Las concentraciones de AGNE también se han relacionado con el tamaño del cuerpo lúteo (CL) y su producción de progesterona (P4) (Yung y col., 1996).

La excesiva lipomovilización está ligada a las mayores incidencias de las enfermedades periparto. La acumulación de grasa hepática es observada en las vacas normales durante la lactación temprana. Los AGNE son utilizados como fuente de energía (oxidación), pero al ser dicha movilización excesiva, se saturan las vías de metabolización y exportación de lípidos. Hay una generación de vías hepáticas alternativas, siendo la formación y exportación de cuerpos cetónicos, junto a la formación y almacenamiento hepático de triglicéridos las más importantes (Grummer, 1995). Si la infiltración lipídica hepática llega a ser severa, se desarrolla el síndrome de lipodosis hepática o hígado graso (Radostits y col., 2006; Rovers, 2014).

### **1.1.3. Condición corporal durante el período de transición**

La CC es una herramienta sencilla, rápida y económica, basada en la observación o palpación de diferentes partes de la anatomía del animal que tiene como objetivo

cuantificar el estado de engrasamiento. La técnica más utilizada en el ganado vacuno lechero es la de Edmonson y *col.* (1989), la cual evalúa CC a través de la observación del animal sin necesidad de recurrir a la palpación.

Los cambios en los perfiles metabólicos y endocrinos durante el PT se evidencian en variaciones de la CC durante este período. La CC preparto afecta los niveles de AGNE y BHB posparto, vacas con una CC >3 en el preparto o al parto movilizaron más AGNE que vacas con menor CC; ya sea CC inducida nutricionalmente (Adrien, 2010) o animales clasificados acorde a sus reservas corporales (Meikle y *col.*, 2004; Cavestany y *col.*, 2005b; 2009a, Pereira y *col.*, 2010).

La CC de las vacas durante el PT tiene efectos sobre diferentes aspectos de la reproducción, producción y salud. Tanto la CC al parto como la evolución de ésta durante el posparto están altamente correlacionadas con la duración del anestro PP, los porcentajes de preñez al siguiente servicio, el desarrollo folicular temprano, la pulsatilidad de LH y con las concentraciones circulantes de IGF-I (Yavas y Walton, 2000; Meikle y *col.*, 2010; Meikle y *col.*, 2013). Las vacas con baja CC al parto, o que sufren en el parto una excesiva pérdida de CC, tienen menos probabilidades de ovular, menor tasa de detección de celos, baja tasa de concepción al primer servicio, mayor probabilidad de pérdida de preñez y mayor intervalo parto concepción (Roche y *col.*, 2009). Butler y Smith (1989) determinaron que cuando la pérdida de CC en el período PP era severa (pérdida de más de 1 punto de condición), aumentaban los días a la primera ovulación, los días al primer estro, el número de servicio por concepción y, por lo tanto, los días abiertos. Sin embargo, pérdidas moderadas (inferiores a 1 punto de condición) no parecen afectar significativamente los parámetros reproductivos. Britt (2008) indicó que no es la CC de un momento puntual, sino la magnitud de su pérdida lo que afecta a la función reproductiva, y en consecuencia se recomienda que el animal no pierda más de un punto de condición en el PP.

## **1.2. Anestro posparto**

La infertilidad de una vaca puede estar dada por fallas en diferentes momentos de la vida reproductiva del animal (RAL, expresión de celo, ovulación, función del CL y/o desarrollo del embrión) siendo la causa de infertilidad multifactorial (Roche, 2006; Walsh y *col.*, 2011). El BEN, una pobre CC, el número de partos/edad, la estación del año, la alta producción de leche, el estrés y diferentes enfermedades son factores que afectan la fertilidad (Markusfeld, 1987; Beam y Butler, 1997; Opsomer y *col.*, 2000; Lucy, 2001; Rensis y Scaramuzzi, 2003; Rhodes y *col.*, 2003, Roche, 2006; Morton y *col.*, 2007; Wathes y *col.*, 2007a).

La primera ovulación PP refleja el reinicio de la actividad ovárica, siendo; el retraso en este y la manifestación externa de celo, factores asociados a la ineficiencia reproductiva (Lucy, 2008; Peter y *col.*, 2009). El IPPO en vaca lechera es informado entre 17 – 42 días (Stapler y *col.*, 1990; Opsomer y *col.*, 1998; Tanaka y *col.*, 2008). Cuantos más ciclos estrales ocurran antes de la inseminación, la fertilidad

aumentará (Butler y Smith, 1989). El IPPO dependerá de varios factores, algunos individuales como el número de partos/edad, la raza, factores genéticos, producción de leche, involución uterina, distocias y estado de salud general y, otros ambientales como época de parto, y presencia de toros (Lucy, 2001; Morales y Cavestany, 2012; Peter y col., 2009; Roche y col., 2000). En las vacas lecheras, durante el PT el eje hipotálamo-hipófisis-ovario-utero se encuentra recuperándose de la preñez previa; para que la vaca ovule luego del parto deben darse 2 condiciones fundamentales: la involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica.

### **1.2.1. Involución uterina**

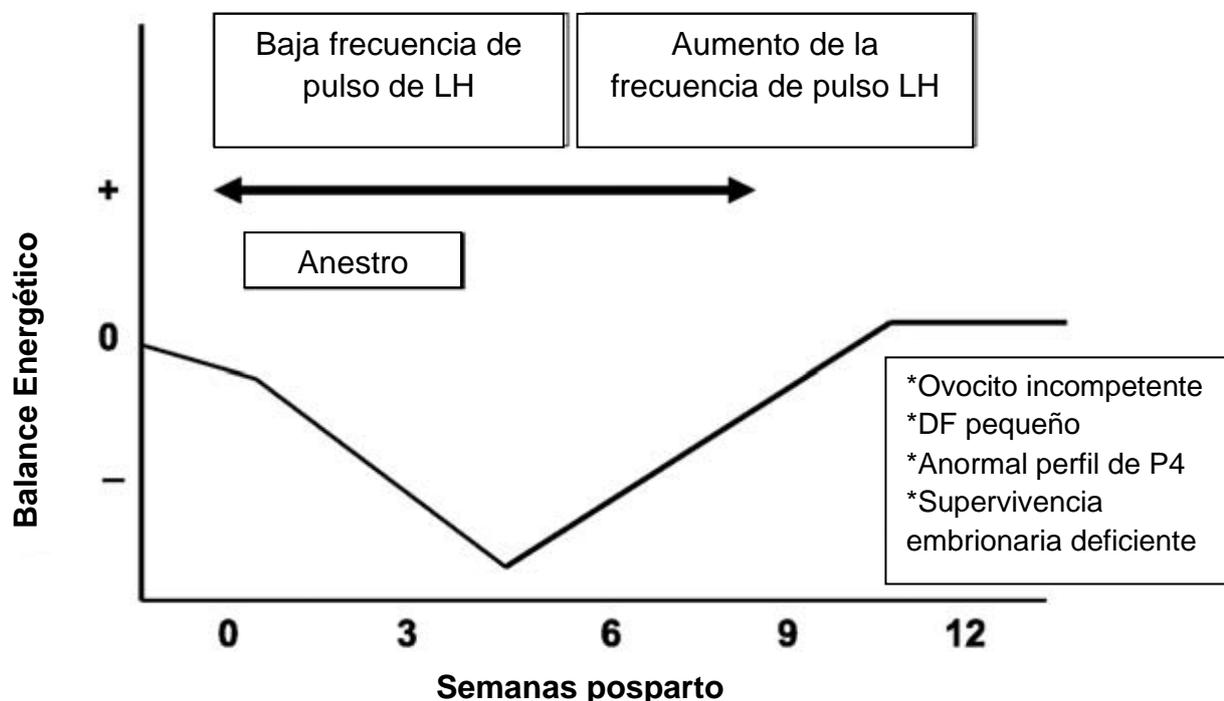
La involución uterina es la reducción del tamaño del tracto genital, especialmente el útero, de manera que se revierte la hipertrofia ocurrida como estímulo de la gestación. Las contracciones miométriales, que continúan durante varios días después del parto, ayudan a este proceso y facilitan la evacuación de los líquidos y detritos tisulares, proceso denominado como involución (Arthur y col., 1991). La involución uterina ocurre más rápidamente en vacas PRIM que MULT y, normalmente se completa a las 4-5 semanas PP. Problemas como la distocia, retención de placenta e infecciones uterinas pueden retardar dicha involución. Tanto la oxitocina como la prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) juegan un rol preponderante en la involución uterina, las que incluyen la pérdida y reparación de tejidos, y las contracciones miométriales. La involución uterina depende tanto de la magnitud como de la duración de la liberación de PGF2 $\alpha$  (Ungerfeld, 2002).

### **1.2.2. Reanudación de la función ovárica**

Luego del parto, como resultado de la ausencia o baja producción de gonadotrofinas el ovario está relativamente inactivo. El crecimiento folicular se realiza en ondas (2-3) las cuales se caracterizan por el crecimiento de un grupo de folículos pequeños (generalmente de 2 a 6) de aproximadamente 2 a 5 mm de diámetro. El inicio de cada onda de crecimiento folicular es precedido por un aumento transitorio de la circulación de la hormona FSH. Normalmente la emergencia de la primera onda folicular es detectada entre 2 a 7 días después del parto en vacas Holando (Savio y col., 1990). Los folículos reclutados continúan su crecimiento de aproximadamente 7 a 8 mm de diámetro, en ese tiempo, un folículo se selecciona (selección) para continuar el crecimiento hacia el tamaño ovulatorio (14-18 mm de diámetro; folículo dominante) (Lucy, 2003). Para esto, debe incrementarse paulatinamente la síntesis y liberación de LH en forma de pulsos. La falta de ovulación del primer folículo dominante se atribuye a una insuficiente frecuencia de los pulsos de LH. La inadecuada frecuencia de la secreción pulsátil de LH en el PP temprano (10 a 20 días) se debe principalmente a la depleción de las reservas de LH de la hipófisis anterior durante la gestación, y a que los pulsos de GnRH están también ausentes durante este período (Yavas y Walton, 2000). Sin embargo, la habilidad de un animal para sostener una liberación de LH en forma de pulsos de alta frecuencia está relacionada con su estado metabólico (Schillo, 1992).

El reinicio de la actividad ovárica luego del parto está vinculado a la magnitud y a la dinámica del BEN (Fig. 1). Esta reportado que la primera ovulación PP ocurre luego del momento en que se alcanza el valor más bajo de BEN (nadir). Es decir, que mientras este momento ocurra más alejado del parto, más tiempo tomará el retorno a la ciclicidad ovárica (Cavestany y col., 2006). Los efectos del BEN pueden ser directos: 1) una disminución en las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina e IGF-I (Butler, 2000; Grummer y col., 2004), los cuales son promotores del crecimiento folicular (Kadivar y col., 2012); 2) un aumento en las concentraciones sanguíneas de AGNE y BHB que pueden tener efectos perjudiciales sobre la calidad de los ovocitos (Roche y col., 2000).

Como se mencionó anteriormente, las vacas en BEN tienen menor concentración de IGF-I. El IGF-I influye la secreción de GnRH y LH, por lo tanto, estimulan el desarrollo folicular y el reinicio a la ciclicidad ovárica luego del parto. Vacas que ovulan la primera onda folicular tienen un crecimiento folicular mayor asociado a niveles más elevados de IGF-I (Cavestany y col., 2009a). En trabajos realizados en Uruguay se reportó que animales con mejor CC al parto (vacas clasificadas en  $\geq 3$ ) presentaron concentraciones de IGF-I más altas y un IPPO más corto (Meikle y col., 2004). Esto coincide con los resultados de Roberts y col. (1997) que indican que las concentraciones de IGF-I en el periparto fueron buenos indicadores del largo del anestro PP.



**Fig.1: Modelo que resume los efectos del balance energético negativo en parámetros reproductivos durante el posparto (DF, folículo dominante; P4= Progesterona) (Peter y col., 2009).**

### 1.3. Progesterona en leche y perfil luteal posparto

La P4 es una hormona esteroidea de bajo peso molecular (314,5 Daltons) producida en el CL por acción de la LH. Es una hormona derivada del colesterol, el cual es extraído de la sangre (lipoproteínas) y se transforma en pregnenolona por la acción de la LH en las células de la teca interna del CL, convirtiéndose por último en P4. La P4 es responsable de la preparación del útero para permitir la implantación del embrión y de mantener la gestación, que provoca un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo. Incrementa el número y la secreción de las glándulas secretoras endometriales e inhibe la motilidad del miometrio; actúa de forma sinérgica con los estrógenos para inducir el estro (es necesario una exposición previa de progesterona para la manifestación del comportamiento de celo) y provoca el desarrollo del tejido secretorio (alvéolos) de las glándulas mamarias (Karg, 1981). En el anestro posparto, la ausencia de ovulación es acompañada por concentraciones séricas de P4 menores de 0,5 ng/ml; por lo tanto, es posible identificarlo a partir de las concentraciones de P4 en leche (Bulman y Lamming, 1978).

Dado estos cambios en las concentraciones de P4 en la leche según el estado ovárico del animal, el análisis de P4 en leche ha permitido determinar el RAL de manera no invasiva. La P4 producida es secretada a la sangre y posteriormente filtrada por la glándula mamaria y excretada en la leche, donde se encuentra en mayor concentración (Rhodes y col., 2003). Al ser una hormona lipofílica, alrededor del 80 % se encuentra en la porción grasa de la leche, por lo tanto, las concentraciones de P4 en leche entera son mayores que en leche descremada. En leche descremada se han reportado los más bajos valores en la concentración de progesterona tanto durante la fase luteal del ciclo ( $0,84 \pm 1$  ng/ml), el día del celo ( $0,17 \pm 0,4$  ng/ml) o al inicio de la gestación ( $1,1 \pm 0,1$  ng/ml). Se ha comunicado que los niveles de la hormona son menores al inicio del ordeño y que el almacenamiento de leche preservada y congelada por más de un año no altera la concentración del esteroide (Ramírez, 2009). La concentración de P4 puede llegar a ser hasta 4 veces mayor en la leche que en el plasma (Ginther y col., 1976).

A partir de los perfiles de P4 posparto podemos clasificar las fases luteales en normales o anormales (Lamming y Darwash, 1998). Estos perfiles varían según la producción, el estado metabólico y/o pérdidas de CC de las vacas (Kafi y col., 2012), siendo el número de partos otro factor que podría estar afectándolos (Bruinjé y col., 2017). Los niveles sanguíneos de P4 posparto están asociados con la fertilidad, debido a su efecto sobre la dinámica folicular (Wiltbank y col., 2006; Cerri y col., 2011) y sobrevivencia embrionaria (Mann y col., 2006; Kendall *et al.*; 2009). Se ha reportado que las vacas lecheras de alta producción presentan entre 25-50% menos de concentración de P4 durante las fases luteales que vacas de menores producción (Lucy y Crooker, 2001) y también tendrían una mayor proporción de fases lúteas anormales (Opsomer y col., 1998). Estas características estarían asociadas a un alto

metabolismo de las vacas de alta producción (Wiltbank y col., 2006) y/o al BEN (Opsomer y col., 2000).

#### **1.4. Paridad, metabolitos, hormonas y anestro posparto.**

El crecimiento del tamaño de los rodeos lecheros se da principalmente por el ingreso de vacas de primera lactancia (Stahl y col., 1999). En Uruguay, las vacas PRIM comprenden un poco menos del 34% del rodeo lechero (DIEA 2016). La información disponible sugiere que, al menos parcialmente, la baja fertilidad de los rodeos lecheros podría deberse a la diferencia entre categorías de animales (PRIM y MULT), que no permite una adecuada adaptación de las vacas de primera cría al marcado aumento de las exigencias metabólicas que supone el inicio de la lactancia (Meikle y col., 2013). Al ser una categoría que está en crecimiento, presenta requerimientos adicionales lo que podría exacerbar el BEN, dejando menor cantidad de nutrientes para la producción de leche (Wathesy col., 2007a; Adrien y col., 2012) y/o la reproducción (Meikle y col., 2004, Tanaka y col., 2008).

Se ha reportado que las vacas PRIM presentan un atraso en la ciclicidad ovárica, con IPPO, parto -1º servicio y parto - concepción más largo que las vacas MULT (Kanuya y Greve, 2000; Meikle y col., 2004; Tanaka y col., 2008; Zhang y col., 2010); esto podría deberse a las diferencias metabólicas y/o a una CC al parto inferior en las PRIM con respecto a las MULT (Meikle y col., 2004; Wathesy col., 2006). Meikle y col., (2004), trabajando en sistema pastoril, demostraron un mayor período de anestro posparto en vacas PRIM (45 vs 21 días) junto con un perfil metabólico que refleja un BEN más acentuado en éstas que en vacas MULT. También, Tanaka y col. (2008) demostraron una relación negativa entre número de partos y días desde el parto a la 1º ovulación en vacas lecheras en CC similar. Sin embargo, Whates y col. (2007a) observaron en sistema de producción confinado, que las vacas PRIM presentaban mayores niveles de IGF-I y menores concentraciones de BHB en las primeras 7 semanas PP respecto a las vacas MULT; indicando que las primeras estarían en un BEN de menor severidad. En adicción, estos autores no encontraron diferencias en el IPPO entre categoría animal. Las diferencias encontradas en los resultados entre autores pueden ser debidas al sistema de alimentación y manejo utilizado.

Se ha reportado que el anestro PP es mayor en sistemas pastoriles respecto a estabulados, asociado al mayor grado de BEN en vacas a pastoreo, dado por el menor nivel de consumo de los animales en estos sistemas y al costo energético que supone la cosecha de forraje (Macmillan y col., 1996). El RAL en vacas lecheras en tambos comerciales de Uruguay varía entre 25 y 50 días según el predio, lo que estaría vinculado al nivel de alimentación ofrecido (Meikle y col., 2010). El RAL fue más tardío en vacas PRIM que MULT en algunos tambos, lo que podría deberse, entre otros factores, a los requerimientos extra de crecimiento de las PRIM, un

mayor estrés al parto y efectos de dominancia, sugiriendo que dicha categoría tendría un mayor riesgo de sufrir un RAL prolongado en sistemas pastoriles.

A modo de resumen, el trabajo de Meikle *y col.*, (2004) en un sistema pastoril, demostró que las PRIM presentaron menores concentraciones de IGF-I, y un BEN más acentuado que las MULT, siendo el IPPO más largo para las primeras. Por otro lado, Wathes *y col.*, (2007a), en un sistema de producción confinado, obtuvieron mayores niveles de IGF-I y BEN menos acentuados en PRIM que en MULT, y el IPPO (promedio 21 días), no fue diferente entre paridades. El tipo de sistemas de alimentación podría haber afectado las variables estudiadas de manera distinta, ya que en los sistemas pastoriles existe una dificultad de asegurar una oferta constante de alimento en cantidad y calidad a lo largo del año (Chilibroste *y col.*, 2011; Cajarville *y col.* 2012). A su vez, bajo condiciones de pastoreo el consumo total de MS y la ingesta de nutrientes es menor que cuando los animales son alimentados en sistemas confinados con ración totalmente mezcladas (RTM), con lo cual el potencial de producción de leche no se explota totalmente (Kolver y Muller, 1998; Cajarville *y col.*, 2012). Esto ha llevado a que en los últimos años el uso de estrategias de alimentación que combinan el uso de pasturas con el aporte de RTM sea cada vez más frecuente en nuestro país.

Dada las limitaciones de los sistemas pastoriles en Uruguay, en los últimos años se ha optado por el uso de estrategias de alimentación que combinan el uso de pasturas con el aporte de RTM. Según Cajarville *y col.* (2012) la implementación de sistemas mixtos de alimentación en base al uso de RTM y pastoreo podrían contribuir a mejorar algunas limitantes de nuestros sistemas de producción, manteniendo la base pastoril característica del Uruguay. Durante los últimos años se constató un aumento en los niveles de suplementación (reservas de forraje y concentrados) en la base de los sistemas de producción de leche en Uruguay, siendo el pasto de cosecha directa un 48 y 54% de la dieta total de los animales en el año (Chilibroste y Battezzore, 2014; Chilibroste, 2015). Por lo tanto, entender como es el BEN, la CC, el estatus energético y el reinicio de la actividad ovárica PP en estos tipos de sistemas es importante, no existiendo trabajos que evalúen el efecto de la paridad en estas variables en sistemas de producción de leche de este tipo.

## **HIPOTESIS**

**Las vacas primíparas tendrán un intervalo parto-primera ovulación más largo que las vacas multíparas.**

**El estado metabólico de vacas primíparas y multíparas serán diferentes durante el período de transición.**

## **OBJETIVOS**

### **1.5. Objetivo general:**

Determinar la relación entre la paridad de vacas Holando, alimentadas con un sistema nutricional mixto (ración totalmente mezclada y pastura), y el perfil metabólico-hormonal y la actividad ovárica posparto.

### **1.6. Objetivos específicos:**

En vacas Holando bajo un sistema nutricional mixto:

- caracterizar los perfiles metabólicos y hormonales sanguíneos durante el período de transición,
- determinar el efecto de la paridad (primíparas y multíparas) sobre los perfiles metabólicos y hormonales sanguíneos durante el período de transición,
- evaluar el efecto del número de partos sobre el largo de anestro posparto y los perfiles de progesterona en leche durante el período de transición.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1.7. Animales y diseño experimental**

Para el presente trabajo fueron seleccionadas 22 vacas Holando PRIM [ $27 \pm 3,5$  meses de edad, con peso corporal (PC) de  $557,5 \pm 34,0$  Kg y una CC de  $3,6 \pm 0,2$  (Edmonson y *col.*, 1989)] y 21 vacas MULT ( $3,3 \pm 1,0$  lactancias; PC de  $655,2 \pm 57,6$  kg y CC de  $3,4 \pm 0,3$ ) de parición de otoño. Los animales pertenecían al tambo experimental del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA la Estanzuela, Colonia, Uruguay,  $34^{\circ} 35' S$ ,  $57^{\circ} 70' W$ ). El trabajo fue aceptado por el Comité de ética para el uso de animales de experimentación de INIA.

El período de evaluación fue entre 30 días previos al parto esperado y 70 días después del parto. Durante el parto, las vacas PRIM y MULT fueron mantenidas por separado y fueron alimentadas diariamente con 9,6 kg de MS de una RTM (Cuadro 1). Después del parto, todas las vacas se mantuvieron juntas hasta el final del período de evaluación. La dieta posparto consistió en el acceso diario a una franja de pasturas (mezcla de Medicago sativa, Trifolium repens y Festuca arundinacea) que contenía  $2936 \pm 834$  kg MS/ha (cuadro 1). Se ofreció 10 kg de MS por vaca por día, y el tamaño diario de la franja de pastoreo se ajustó semanalmente para alcanzar esta asignación. Las vacas tenían acceso a la franja de pastoreo entre el ordeño matutino y vespertino, también se les ofreció 17 kg de MS/vaca de RTM (cuadro 1) después del ordeño de la tarde.

**Cuadro 1: Tabla de ingredientes y composición de la dieta preparto y posparto, ración totalmente mezclada (RTM) y pastura (expresado en % de MS, al menos que se indique lo contrario).**

	RTM		Pastura
	Preparto	Posparto	
<b>Ingredientes</b>			
Maíz ensilado	84	46,9	-
Paja de trigo	4,6	-	-
Grano de maíz húmedo	4,6	27,3	-
Expeller de soja	6,2	12	-
Concentrado comercial	-	12	-
Urea	0,2	0,5	-
Preparto ( mix de vitaminas y minerales)	0,4	-	-
Posparto (mix de vitamina y minerales)	-	0,8	-
<b>Composición Nutrientes</b>			
MS	34,1	51,5	16
Proteína Cruda	10,6	14,6	21,9
FDN	44,7	30,8	37,2
FDA	22,4	17,9	24,7
Extrato etéreo	4,4	2,5	2,7
Cenizas	6,5	6,2	11,1

Proporcionado (por kg de MS de la mezcla): 230 g de Ca, 20 g de P, 100 g de Mg, 130 g de Cl, 30 g de S, 0,8 g de Cu, 2,4 g de Zn, 12 mg de Se, 1,4 g de Mn, 5 mg de Co, 89.000 IU de vitamina A, 17.000 IU de vitamina D, y 3.500 IU de vitamina E.

### **1.8. Mediciones corporales**

Desde los 21 días antes del parto hasta 70 días PP, fueron evaluados semanalmente la CC y la grasa dorsal (GD) de los animales. La CC fue medida de acuerdo a la escala de 1 a 5 de Edmonson y *col.* (1989), siendo la medición realizada siempre por el mismo observador. La GD fue evaluada con un ultrasonido del modo B (Aloka 500, Tokio, Japón) con un transductor lineal de 5,0 MHz; el transductor era colocado verticalmente a una línea imaginaria desde la punta de la

cadena hacia la región caudal. La GD se mide en el punto de unión de los músculos bíceps femoral y glúteo medio más cercano al plano dorsal (Schröder y Staufenbiel, 2006).

### **1.9. Determinación de la ciclicidad ovárica y de los perfiles de progesterona**

El reinicio de la actividad ovárica se determinó a través de las concentraciones de P4 en leche. Desde el día 7 hasta el 70 PP, se recolectaron muestras de leche (20 ml), tres veces por semana durante el ordeño de la mañana en viales que contenían NaN<sub>3</sub> como conservante. Las muestras se refrigeraron a -4 ° C durante una semana hasta su desnatado a través de una centrifugación a 3000 rpm a -4 ° C durante 15 minutos. Las muestras de leche descremadas se almacenaron a -20 ° C hasta su análisis. La determinación de la concentración del P4 fue realizada con un radioinmunoensayo directo de fase sólida en el Laboratorio de Técnicas nucleares (Facultad de Veterinaria, Uruguay). La prueba tuvo una sensibilidad de 0,09 nmol/L. El coeficiente de variación (CV) intra-ensayo para controles 1 y 2 fue de 10,4% y 6,2%, respectivamente. El CV Inter-ensayo para control 1 y 2 fue 16% y 18%, respectivamente. El día de la ovulación fue estimado 3 días antes (Carriquiry y col., 2009) del aumento de P4 mayor a 1,0 nmol/L en dos muestras consecutivas. Las vacas se clasificaron en los siguientes grupos, basándose en las características de sus perfiles P4 (modificados de Opsomer y col., 1998):

Perfil normal (NOR): el primer aumento de P4 en leche (1,0 nmol/L) ocurre antes del día 50 posparto y los niveles se mantienen altos durante aproximadamente dos semanas alternando con niveles bajos durante aproximadamente una semana.

Perfil anormal (ANOR): retraso de la ciclicidad (las concentraciones de P4 se mantienen bajas durante 50 días posparto); cese de la actividad ovárica (empieza a ciclar normal y se interrumpe con 14 días de niveles bajos de P4); fase luteal prolongada (los niveles de P4 siguen altos por más de 20 días); o fase luteal corta (al menos una fase luteal cuya longitud no excede de 10 días, excluyendo la primera fase luteal).

### **1.10. Bioquímica sanguínea**

Desde los 21 días preparto a 70 días posparto, semanalmente, se sangraron a todos los animales luego del ordeño de la mañana. Las muestras fueron obtenidas por punción de la vena coccígea en tubos secos usando una aguja por animal. Las muestras se centrifugaron inmediatamente y el suero resultante se almacenó a -20 ° C hasta que se analizó para determinar AGNE, BHB e IGF-I en el Laboratorio de Técnicas Nucleares de la Facultad de Veterinaria. Las concentraciones de AGNE fueron determinadas por el método ACS-ACOD con NEFA-HR2 de WakoChemicals (Richmond, VA, USA) y BHB por D-3-hidroxiacetato kit (RANDOX LabLtd, Ardmore,

UK). La sensibilidad de los ensayos fue de 0,01 mmol/l y 0,1 mmol/l, y el CV Inter-ensayo fue de 3,4% y 3,1%, respectivamente. Las concentraciones de IGF-I se determinaron con un IGF-I RIACT kit (CisBio International, GIF-sur-Yvette, Francia). La sensibilidad del ensayo fue de 0,38 ng/ml y el CV intra-ensayo fue 9,9% para el control 1 y 21,6% para el control 2, y el Inter-ensayo fue 4,4% y 12,4% para el control 1 y 2, respectivamente.

### 1.11. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el Programas SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC). La CC, GD y las concentraciones de los metabolitos y hormonas se analizaron como medidas repetidas utilizando un modelo lineal mixto que incluyó la paridad (PRIM o MULT), la semana y su interacción como efectos fijos, y la vaca dentro del número de partos como efecto aleatorio. Las medidas tomadas al inicio del experimento se utilizaron como covariables.

Un modelo lineal general se usó para analizar la pérdida de GD al nadir y los días al nadir. Un modelo lineal generalizado con una distribución gamma fue utilizado para analizar la CC al nadir, y la pérdida de CC hasta el nadir. Los datos se presentan como medias  $\pm$  EE.

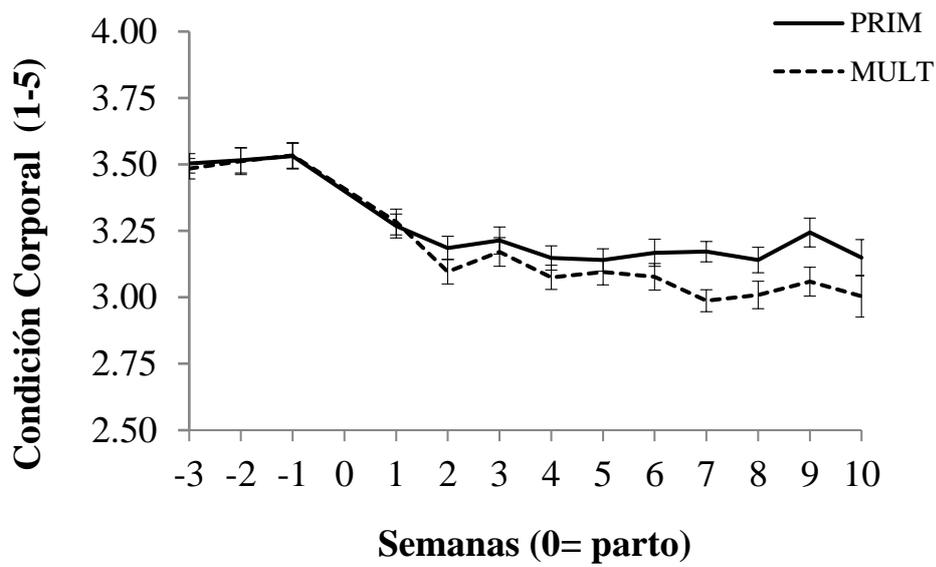
La probabilidad de ovulación al día 30 y 70 PP para PRIM y MULT se analizó con modelo lineal generalizado con distribución binomial. El modelo incluyó las siguientes variables: la paridad, pérdida de **CC** al nadir, pérdida de **GD** al nadir y **CC** en la semana 1 preparto. Los días del parto a la ovulación fueron obtenidos por el análisis de la supervivencia con el modelo de Kaplan-Meier. Las curvas de supervivencia fueron desarrolladas para cada grupo de vacas. Los días se presentan como medianas  $\pm$  rasgos intercuartiles. La incidencia de perfiles anormales y normales de P4 fueron analizaron con un modelo lineal generalizado con distribución binomial. El nivel de significancia fue  $P \leq 0,05$ , y las tendencias  $P \leq 0,10$ .

## RESULTADOS

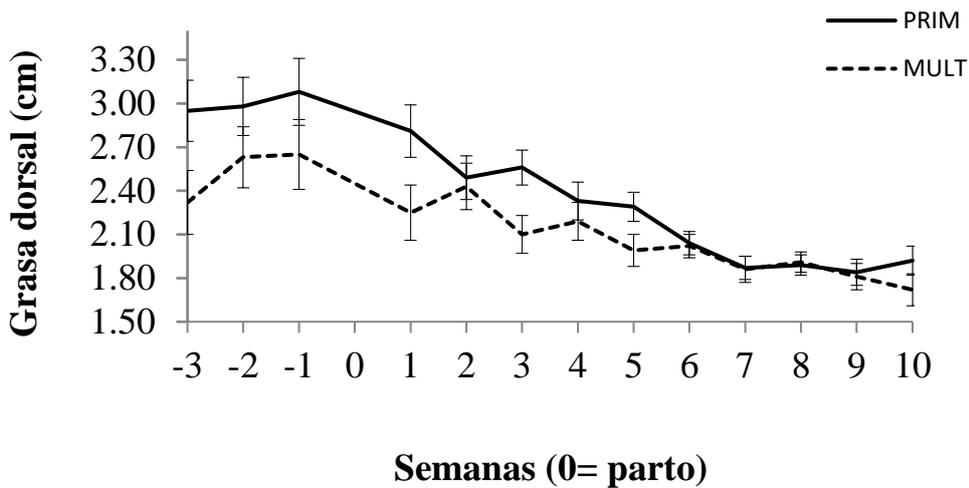
### 1.12. Parámetros corporales

No hubo interacción entre número de partos y semanas para las variables CC ni GD. La CC promedio de todo el período evaluado fue mayor en vacas PRIM que en vacas MULT (3,3 vs 3,2 EE = 0,01;  $p < 0,01$ ). Hubo un efecto de semana en las dos variables ( $p < 0,01$ ). La CC disminuyó desde el parto hasta la semana 1 y 2 PP en vacas PRIM y MULT, respectivamente, y luego permaneció sin cambios hasta el final de la evaluación (Fig. 2, A). Las vacas PRIM tendieron a perder menos CC al nadir (0,7 vs 0,8, EE = 0,06;  $p \leq 0,10$ ) y llegaron al nadir de CC antes que las vacas MULT (30,8 días vs 43,0 días, EE = 4,6 días;  $p \leq 0,10$ ). También la CC del nadir fue diferente entre paridad, las vacas PRIM llegaron al nadir con una CC mayor que las vacas del MULT (2,9 vs 2,7, EE = 0,04;  $p < 0,01$ ). El valor promedio de la GD tendió a ser mayor en vacas PRIM comparado con las vacas MULT (2,4 cm vs 2,1 cm, EE = 0,1 cm;  $p \leq 0,10$ ). Para la GD, el valor más alto se produjo en la 1<sup>o</sup> semana parto, y luego disminuyó durante el período experimental para ambas categorías (Fig. 2, B). La pérdida GD al nadir (PRIM = 1,8 cm, MULT=1,4 cm, EE = 0,2 cm;  $p = 0,17$ ) y el número de días para llegar a nadir para GD (PRIM= 45,2 días, MUL= 35,3 días, EE = 4,9 días;  $p = 0,17$ ) no fueron diferentes entre las categorías, aunque, la GD en nadir fue mayor en vacas PRIM que en vacas MULT (1,6 cm vs 1,4 cm, EE = 0,06 cm;  $p \leq 0,05$ ).

Gráfica A



Gráfica B

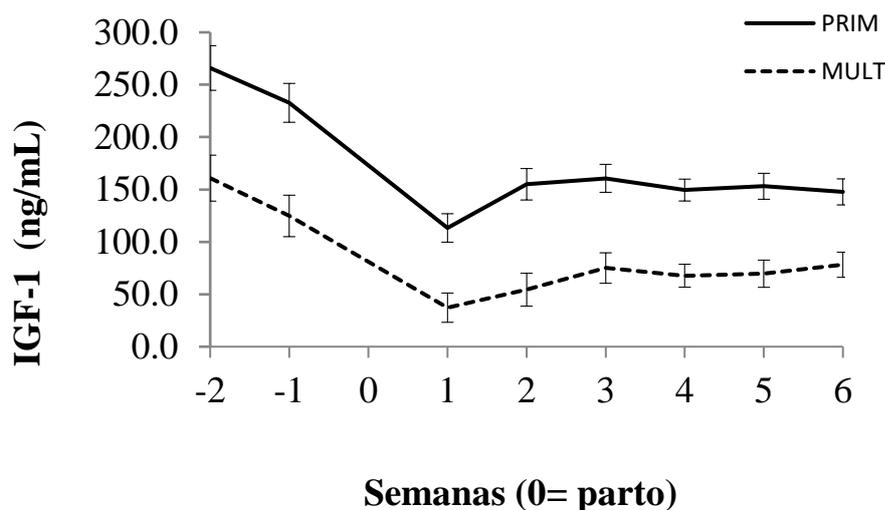


**Fig.2: Evolución de: (A) puntuación de la condición corporal y (B) grasa dorsal (media  $\pm$  EE) para las vacas primíparas (PRIM) (línea continua) y multíparas (MULT) (línea punteada) durante 3 semanas antes y 10 semanas después del parto.**

### 1.13. Metabolitos sanguíneos y hormonas

#### 1.13.1. Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1

La paridad afectó los valores de IGF-I, las vacas PRIM tuvieron mayores concentraciones de IGF-I que las vacas MULT (172,3 ng/ml vs 83,5 ng/ml, EE = 9,8 ng/ml;  $p < 0,01$ ). También hubo un efecto de la semana de medición ( $p < 0,01$ ), las concentraciones de IGF-I disminuyeron desde el parto hasta la semana 1 posparto y luego permanecieron constantes hasta el final del período evaluado (Fig. 3).

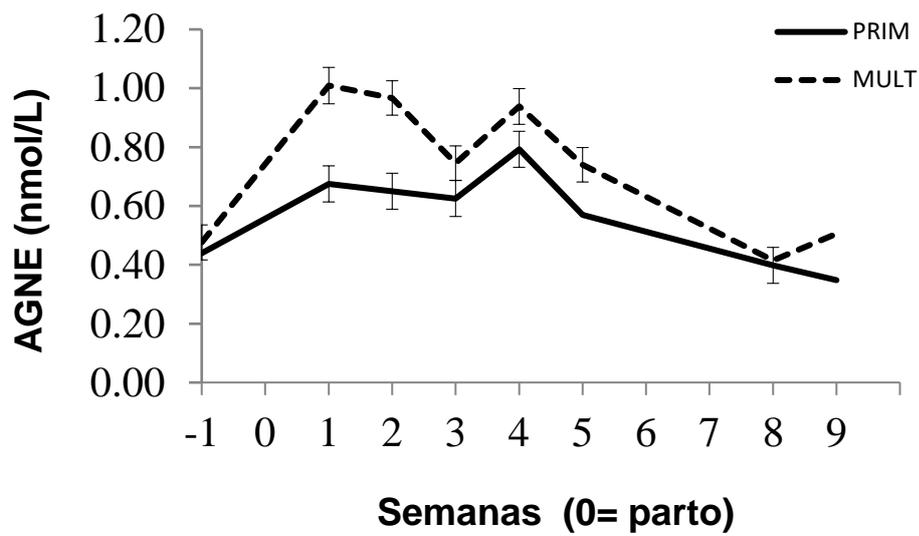


**Fig.3: Concentraciones de IGF-I (media  $\pm$  EE) en vacas primíparas (PRIM) (línea continua) y multíparas (MULT) (línea punteada) durante 2 semanas antes y 6 semanas después del parto.**

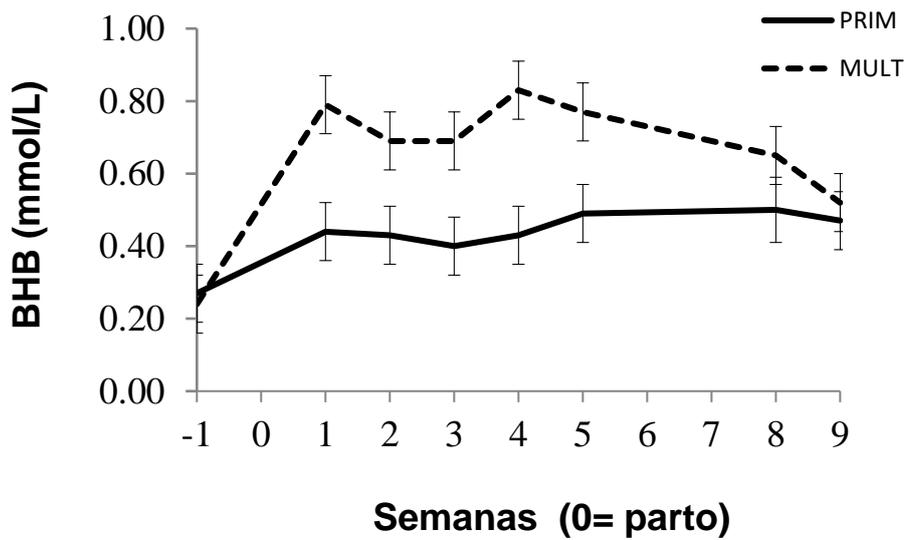
#### 1.13.2. Ácidos grasos no esterificados, $\beta$ -hidroxibutirato

Vacas PRIM tuvieron valores más bajos de AGNE (0,52 nmol/l vs 0,76 nmol/l, EE = 0,03 nmol/l;  $p < 0,01$ ) y de BHB (0,40 nmol/l vs 0,60 nmol/l, EE = 0,03 nmol/l;  $p < 0,01$ ) que vacas MULT. Para ambos metabolitos se detectó un efecto significativo de la semana ( $p < 0,01$ ) y de la interacción número de partos por semana (AGNE  $p \leq 0,05$  y BHB  $p < 0,01$ ) (Fig. 4): a la semana 4 posparto se observó un pico en las concentraciones de AGNE para las vacas PRIM, disminuyendo luego los valores hasta el final del experimento. Por el contrario, las vacas MULT presentaron dos picos de AGNE: el primero ocurrió en la primera semana posparto y el segundo en la cuarta semana (Fig. 4). Para ambas categorías, las concentraciones de BHB aumentaron significativamente después del parto estadísticamente, pero mientras que las vacas PRIM mantuvieron sus valores constantes durante el período PP, las vacas MULT tuvieron dos aumentos, el primero en la semana uno y el otro en la semana cuatro (Fig. 4). La proporción de vacas con cetosis subclínicas (valores BHB  $\geq 1,2$  mmol/L;) (Duffield, 2000) fue menor en el grupo de las PRIM que en el grupo de las MULT estadísticamente (2/22 = 9% vs 8/20 = 40%;  $p < 0,01$ ).

Grafica A



Grafica B



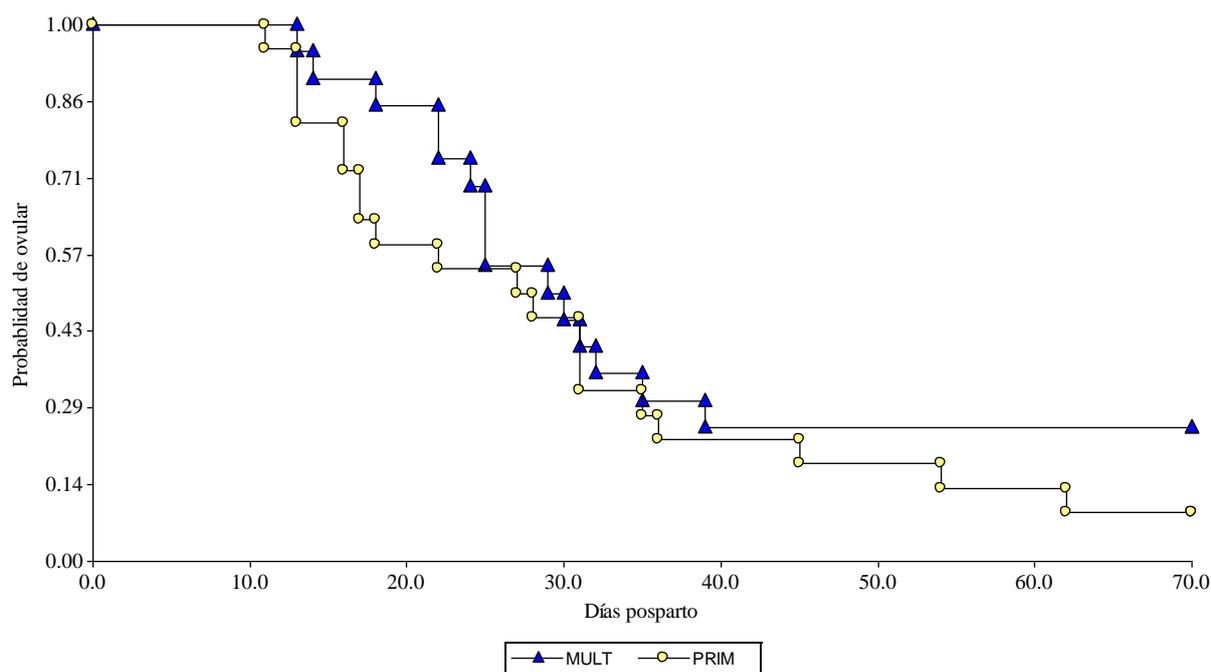
**Fig.4: Concentraciones de: (A) ácidos grasos no esterificados (AGNE), (B),  $\beta$ -hidroxibutirato (BHB) (media  $\pm$  EE) en primíparas (PRIM) (línea continua) y vacas múltiparas (MULT) (línea punteada) durante 1 semana antes y 9 semanas después del parto.**

## 1.14. Actividad Ovárica

### 1.14.1. Primera ovulación posparto

El IPPO no fue afectado por la paridad. Las vacas PRIM ovularon  $24,5 \pm 17$  días luego del parto y las MULT a los  $25,0 \pm 9$  días ( $p = 0,27$ ). La probabilidad de que una vaca ovulara antes de la semana 8 posparto fue afectada por la pérdida de GD y de CC al nadir, las vacas que perdieron más GD y CC presentaron una probabilidad más baja de ovular que vacas con menos pérdida (pérdida de GD  $\geq 1,5$  cm = 0,72, pérdida de GD  $< 1,5$  = 0,95;  $p \leq 0,05$ ; pérdida de CC  $\geq 0,75$  = 0,78, pérdida de CC  $< 0,75$  = 0,90;  $p \leq 0,05$ ). Por otro lado, la probabilidad de ovular antes de la semana 8 posparto no se vio afectada por el número de partos (PRIM = 0,90, MULT = 0,75;  $p = 0,12$ ) (Fig. 5) o CC en el día 7 preparto (CC  $\geq 3,75$  = 0,71, CC  $< 3,75$  = 0,88;  $p = 0,50$ ). La probabilidad de que las vacas ovularan antes de las 4 semanas después del parto no fue afectada por ninguno de las variables estudiadas.

**Fig.5: Probabilidad de ovulación y día parto-ovulación para: vacas multíparas (MULT) (Triángulo), vacas primíparas (PRIM) (círculo).**



### 1.14.2. Perfiles de progesterona

Un 38% del total de las vacas tuvieron perfiles de progesterona ANOR, de los cuales 62% de estos fueron categorizados como ciclos retrasados. El número de partos ( $p < 0,01$ ), y la pérdida de GD al nadir ( $p \leq 0,05$ ) afectaron la probabilidad de presentar perfiles ANOR. Las vacas MULT mostraron un mayor porcentaje de perfiles ANOR (ANOR:  $10/20 = 50,0\%$ , NOR=  $50,0\%$ ) que las vacas PRIM (ANOR:  $6/22 = 27,2\%$ , NOR:  $16/22 = 72,8\%$ ). Las vacas que perdieron más GD al nadir presentaron más perfiles ANOR que NOR (pérdidas  $\geq 1,5$  cm: ANOR:  $11/22 = 50,0\%$ , NOR:  $11/22 = 50,0\%$ ; pérdidas  $< 1,5$  = ANOR:  $5/20 = 25,0\%$ , NOR:  $15/20 = 75,0\%$ ).

## DISCUSION

La paridad de las vacas Holando, alimentadas con una RTM y pastura, afectó el perfil metabólico-hormonal sanguíneo y el perfil de P4 en leche, en cambio no tuvo consecuencias sobre el IPPO, el cual sí fue afectado por las reservas corporales de los animales, tanto por la CC como por la GD. Los perfiles metabólicos y hormonales, y las reservas corporales obtenidos en este estudio reflejaron un mejor estatus energético durante el período de transición en vacas PRIM que en vacas MULT.

Vacas PRIM demostraron mayores valores de IGF-I y menores valores de AGNE y BHB que vacas MULT; siendo estos resultados similares a los reportados por Taylor *y col.* (2004) y Wathes *y col.* (2007a) quienes trabajaron con vacas Holando PRIM y MULT bajo sistemas de alimentación basados en RTM. En cambio, trabajos realizados con vacas bajo sistemas de alimentación pastoriles (Cavestany *y col.*, 2005b; Meikle *y col.*, 2004) observaron que vacas PRIM presentan un mayor desequilibrio metabólico que las vacas MULT, lo que se refleja en los valores más bajos de IGF-I (Meikle *y col.*, 2004), y mayores concentraciones de AGNE y BHB (Cavestany *y col.*, 2005b; Meikle *y col.*, 2004) en las primeras.

Con respecto a la CC, algunos estudios han reportado que vacas PRIM presentaron menor CC (o mayor pérdida de CC) (Cavestany *y col.*, 2005b; Meikle *y col.*, 2004; Meikle *y col.*, 2003; sistema pastoril) o igual CC (Wathes *y col.*, 2007a, sistema estabulado) que vacas MULT. En este trabajo las PRIM alcanzaron CC superiores durante el PP que las MULT. Estas diferencias pueden estar relacionadas con los diferentes niveles de consumo de alimento alcanzados por las vacas PRIM o MULT en los distintos sistemas de alimentación de los diferentes trabajos anteriores. Vacas PRIM en pastoreo podrían tener un menor acceso a la comida (por competencia con vacas adultas), por lo tanto, menores ingesta de MS. Además, vacas alimentadas solo con pasturas durante el período de transición, podrían sufrir deficiencias de energía y proteína, a diferencia vacas alimentadas exclusivamente con RTM. Por lo tanto, menores consumos de MS, con menores valores de energía y proteína, sumado al mayor gasto energético para el desarrollo corporal (aún están creciendo), hacen que las vacas PRIM transiten el PP con un mayor desbalance energético que vacas MULT, si se encuentran en sistemas de alimentación exclusivamente pastoriles. En nuestro estudio, el sistema de alimentación permitió una alta ingesta de MS (PRIM= 12.5 kg; MULT=15.5 kg, EE=0.9 kg; Morales-Piñeyrúa *y col.*, 2018), por lo que, podría parecerse más a un sistema confinado con solo RTM. En estos tipos de sistemas, las PRIM llegarían a cubrir sus necesidades energéticas, no transitando el PP de peor manera que las MULT. Sumado a esto, la producción de leche es inferior en PRIM comparadas con MULT (24.8 vs 34.9 kg/d) (Adrien *y col.*, 2012; Morales-Piñeyrúa *y col.*, 2018), por lo tanto, podría ser que las necesidades energéticas para producir leche de las PRIM sean menores a las de las vacas MULT haciendo que el consumo de MS en este trabajo fuera suficiente para producir y seguir creciendo, obteniendo menores pérdidas de CC y GD. Por otro lado, las concentraciones de IGF-I han sido asociadas al crecimiento del animal (Etherton, 1982; Oksbjerg *y col.*, 2004) y a una CC buena (Roche *y col.*, 2009), lo que podría explicar que en nuestro estudio las vacas PRIM tuvieron mayores concentraciones de IGF-I que las vacas MULT. Era probable que las vacas PRIM estuvieran aún en

crecimiento, sumado a sus mayores valores de CC, lo que resultaría en mayores concentraciones de IGF-I.

Con respecto a los AGNE y BHB, estos aumentaron luego del parto tanto en PRIM como en MULT, siendo en estas últimas en mayor proporción. Este aumento a la semana PP es el resultado de la disminución de la ingesta de MS en este período y de los cambios hormonales que estimulan la movilización del tejido adiposo para proveer energía para el parto y la lactogénesis (Vazquez-Anon y *col.*, 1994; Grum y *col.*, 1996). La diferencia entre las curvas de evolución de los metabolitos en los dos grupos estaría relacionada con una mayor pérdida de CC y mayor producción de leche de las MULT en comparación con la PRIM (24.8 vs 34.9 kg/d). Las vacas MULT estuvieron movilizando reservas por más tiempo (dos picos en la curva) que las PRIM. Domecq y *col.* (1997) y Pedron y *col.* (1993) observaron que un aumento de los niveles de AGNE ha sido asociado con una pérdida excesiva de CC que, a su vez, se relaciona con una reducción en la fertilidad y producción de leche (Goff y Horst, 1997). Mayor cantidad de vacas MULT que PRIM presentaron valores de BHB por encima de 1 mmol/L, lo cual concuerda con otros estudios que han reportado una alta prevalencia de cetosis subclínica a medida que el número de partos aumenta (Duffield y *col.*, 1997; Wathes y *col.*, 2007a). Esto es debido a la mayor movilización de reservas corporales por parte de las vacas MULT para satisfacer la necesidad de energía para la mayor producción de la leche (Grum y *col.*, 1996).

A pesar de que las vacas PRIM demostraron estar en mejor estado metabólico que las vacas MULT, no hubo diferencias en el IPPO entre grupos. El resultado de IPPO coincide con lo reportado en otros estudios (Boldt y *col.*, 2015; Cavestany y *col.*, 2009b; Wathes y *col.*, 2007b), no obstante, otros autores han reportado un mayor IPPO en vacas PRIM que en vacas MULT (Adrien y *col.*, 2012; Meikle y *col.*, 2004; Tanaka y *col.*, 2008), mientras que en otro experimento se observó lo contrario (Kawashima y *col.*, 2006). Estas contradicciones sobre el efecto del número de partos en el IPPO podrían deberse a las diferencias metabólicas y/o de CC entre los animales de los distintos estudios. Podemos especular que nuestros resultados pudieron deberse a que la relación entre el balance de energía y la probabilidad de ovulación dependa de un nivel mínimo de BEN, y/o el número de animales utilizado en el estudio no fue suficiente para encontrar diferencias significativas. En este trabajo, se observó diferencias en IPPO según las pérdidas de grasa corporal (CC y GD); vacas con mayores pérdidas ovularon más tarde que vacas que perdieron menos. Similar a nuestros resultados, Boldt y *col.* (2015) también encontraron un anestro PP más prolongado en vacas que perdieron más GD en el PP que vacas que perdieron menos. Otros autores observaron que las vacas con una mayor pérdida de CC posparto tienen mayor probabilidad de un IPPO más prolongado (Van Straten y *col.*, 2009; Wathes y *col.*, 2003). Tal vez las pérdidas de CC y GD son más importantes en afectar la IPPO que el número de partos, por eso, no obtuvimos resultados significativos entre vacas de diferente número de partos, pero si entre vacas con diferentes pérdidas de grasa corporal.

El perfil de P4 fue afectado por el número de partos y por la pérdida de GD al nadir. Las vacas PRIM mostraron una mayor proporción de ciclos estrales NOR que las vacas MULT. El porcentaje de perfiles de P4 ANOR fue mayor que el reportado en otros estudios (Kawashima y *col.*, 2006; Taylor y *col.*, 2003) pero la diferencia entre número de partos concuerda con lo reportado por Kawashima y *col.* (2006) y Bruinjé

y col. (2017). La alta producción de leche es un factor de riesgo que puede afectar la ocurrencia de fases luteales prolongadas luego del parto (una de las anormalidades evaluadas) (Kafi y col., 2012). Sumado a esto, una mayor movilización de reserva produciría un retraso en la ovulación (otra de las anormalidades evaluadas) (Taylor y col., 2003). Por lo tanto, si MULT producen más leche que PRIM (Adrien y col., 2012; Morales Piñeyrúa y col., 2018), y obtuvimos una mayor movilización de reserva en las vacas MULT que PRIM, es de esperar que las primeras presentarán mayores perfiles de P4 anormales.

## **CONCLUSIONES**

Bajo un sistema de alimentación basado en RTM y pastura, la paridad de vacas Holando no afectó el tiempo a la primera ovulación posparto. Sin embargo, vacas multíparas demuestran un mayor desbalance metabólico-hormonal que vacas primíparas, resultando en perfiles de P4 posparto anormales

## BIBLIOGRAFIA

- 1 . Adrien ML (2010). Regulación nutricional del estado corporal al inicio del periodo de transición en vacas lecheras en condiciones de pastoreo: Efectos Sobre Producción De Leche, Reinicio De La Ciclicidad Ovárica Posparto y Parámetros Metabólicos. Tesis de Maestría en Producción Animal. Facultad de Veterinaria. 36 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 post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*. 6: 292-299.
- 3 . Arthur GH, Noakes DE, Pearson H (1991). Reproducción y Obstetricia en Veterinaria En: Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. Puerperio y cuidado del recién nacido. 6º ed. Madrid, Interamericana, p. 175-181.
- 4 . Bauman DE, Currie WB (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63: 1514-529.
- 5 . 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.
- 6 . Beam SW, Butler WR (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid *Journal of Dairy Science*. 81: 121-131.
- 7 . Beam SW, Butler WR (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fertil. Supplement*.54: 411-424.
- 8 . Beever DE, Hattan A, Reynolds CK, Cammell SB (2001). Nutrient supply to high-yielding dairy cows. *Fertility in the High-Producing Dairy Cow. Occasional Publication No 26. Br. Soc. Anim. Sci., Edinburgh, UK.* p. 119–131
- 9 . Bell AW (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*. 73: 2804-2819.
- 10 . Boldt A, Becker F, Martin G, Nürnberg G, Römer A, Kanitz W (2015). A phenotypical approach to the effects of production traits, parturition, puerperium and body condition on commencement of luteal activity in high yielding dairy cows. *Anim. Reprod.* 157: 39–43.

11. Britt JH (2008). Oocyte development in cattle: physiological and genetic aspects. *Rev. Bras. Zoot.* 37 (SE): 110-115.
12. Bruinje TC, Colazo MG, Gobikrushanth M, Ambrose DJ (2017). Relationships among early postpartum luteal activity, parity, and insemination outcomes based on in-line milk progesterone profiles in Canadian Holstein cows. *Theriogenology.* 100: 32–41.
13. Bulman DC, Lamming GE (1978). Milk progesterone levels in relation to conception, repeatbreeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fert.* 54: 447-458.
14. Butler WR (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60–61: 449–457.
15. Butler ST, Marr AL, Pelton SH, Radcliff RP, Lucy MC and Butler WR (2003). Insulin restores GH responsiveness during lactation induced NEBAL in dairy cattle: Effects on expression of IGF-I and GH receptor-1a. *Journal of Endocrinology.* 176: 205-217.
16. Butler WR, Smith RD (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle *Journal of Dairy Science.* 72: 767-783.
17. 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.* 48, Supl. 1: 35-39.
18. Canfield RW, Butler WR (1990). Energy balance and pulsatile luteinizing hormone secretion early postpartum dairy cows *Domestic Animal Endocrinology.* 7: 323-330.
19. Carriquiry M, Dahlen CR, Weber WJ, Lamb GC, Crooker BA (2009). Postpartum ovarian activity in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *J. Dairy Sci.* 92: 4889–4900.
20. 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 and pasture-based milk production system: metabolic profiles. *J Vet Med A.* 52:1-7.
21. Cavestany D. (2005). Manejo reproductivo en vacas de leche: ¿Producir o no? *Revista INIA Uruguay*, 2005, no. 4, p. 2-5. Disponible en: <http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/revista/2005/119.pdf>  
Fecha de consulta: 13/04/2018.

- 22 . Cavestany D, La Manna A y Mendoza AF, Albanelli F, Belassi S, Olariaga F, Pérez MN, Silva A (2006). Efecto de diferentes dietas durante el periodo de transición (PT) sobre la producción y calidad de leche y el inicio de la actividad ovárica de vacas lecheras en pastoreo. Jornada técnica de lechería, Florida, Junio 2006, Serie Actividades de Difusión N°455: p. 9-16.
- 23 . Cavestany D, Kulcsár M, Crespi D, Chilliard Y, La Manna A, Balogh O, Keresztes M, Delavaud C, Huszenicza G, Meikle A, (2009a). *Reprod Dom Anim.* 44: 663–671.
- 24 . Cavestany D, Viñoles C, Crowe MA, La Manna A, Mendoza A (2009b). Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasturebased system. *Animal Reproduction Science.* 114: 1-9.
- 25 . Chilibroste P, Soca P, Mattiauda D (2011). Balance entre oferta y demanda de nutrientes en sistemas pastoriles de producción de leche: potencial de intervención al inicio de la lactancia. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Disponible en: <http://centromedicoveterinariopaysandu.com/wp-content/uploads/2014/08/Lecheria-Chilibroste-2011.pdf> Fecha de consulta: 20/12/18.
- 26 . Chilibroste P (2015). Los sistemas lecheros en escenarios de precios volátiles. 2do Foro de Producción Lechera. Sistemas sostenibles en distintos escenarios. CONAPROLE. Disponible en: <http://www.eleche.com.uy/principal/materiales-tecnicos-foprole-2015?es> Fecha de consulta: 18/02/18.
- 27 . Chilibroste P, Battegazzore G (2014). Proyecto Producción Competitiva. CONAPROLE, p. 31.
- 28 . Cerri RLA, Chebel RC, Rivera F, Narciso CD, Oliveira RA, Amstalden M, Baez-Sandoval GM, Oliveira LJ, Thatcher WW, and Santos JEP. (2011). Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. *J. Dairy Sci.* 94:3352–3365. doi:10.3168/jds.2010-3735.
- 29 . MGAP. DIEA. (2005). Anuario Estadístico Agropecuario 2005. [En línea]. Montevideo: MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/> Fecha de consulta: 10/12/2018.
- 30 . MGAP. DIEA. (2015). Anuario Estadístico Agropecuario 2015. [En línea]. Montevideo: MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/> Fecha de consulta: 10/12/2018.
- 31 . MGAP. DIEA. (2016). Anuario Estadístico Agropecuario 2016. [En línea]. Montevideo: MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/> Fecha de consulta: 10/12/2018.

- 32 . Domecq JJ, Skidmore AL, Lloyd JW, Kaneene JB (1997). Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J. Dairy. Sci.* 80:113-120.
- 33 . Drackley JK (1999). ADSA foundation scholar award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J Dairy. Sci.* 82:2259e73.
- 34 . Duffield TF, Kelton DF, Leslie KE, Lissemore KD, Lumsden JH (1997). Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario. *Can. Vet. J.* 38: 713–718.
- 35 . Duffield TF (2000). Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 16: 231–253.
- 36 . Edmonson AJ, Lean J, Weaver LD, Farver T, Webster G(1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72: 68–78.
- 37 . Etherton TD (1982). The role of insulin-receptor interactions in regulation of nutrient utilization by skeletal muscle and adipose tissue; a review. *J. Anim. Sci.* 54: 58–67.
- 38 . Farman M, Nandi S, Girish Kumar V, Tripathi SK, Gupta PSP (2016). Effect of Metabolic Stress on Ovarian Activity and Reproductive Performance of Dairy Cattle: A Review. *Iranian Journal of Applied Animal Science* 6(1): 1-7
- 39 . García Bouissou R (2008). Factores que afectan la eficiencia reproductiva de los rodeos lecheros. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatria. Paysandú. p. 128-132.
- 40 . Ginther OJ, Nuti. LC, Garcia MC, Wentworth BC, Tyler WJ (1976). Factors Affecting progesterone concentration in cow's milk and dairy products. *J Anim Sci.* 42: 155-159.
- 41 . Goff JP, Horst RL (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science.* 80: 1260-1268.
- 42 . Grum DE, Drackley JK, Younker RS, LaCount DW, Veenhuizen JJ (1996). Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of peripartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 1850–1864.
- 43 . Grummer RR (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science.*73: 2820-2833.

- 44 . Grummer RR, Rastani RR (2003). Review: When Should Lactating Dairy Cows Reach Positive Energy Balance? *The Professional Animal Scientist*, 19:197-203.
- 45 . Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20: 447–470.
- 46 . Herdt TH (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Veterinary Clinics of North America-Food Animal Practice* 16: 215–230.
- 47 . Hoeben D, Heyneman R, Burvenich C (1997). Elevated levels of  $\beta$  hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils. *Vet Immunol Immunop* 58:165-170.
- 48 . Jones JI, Clemmons DR. (1995). Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 16(1): 3-34.
- 49 . Kadivar A, Ahmadi MR, Gheisari HR, Nazifi S (2010). Assessment of IGF-I as a factor influencing postpartum reproductive performance and ovarian condition in dairy cattle. *Comp. Clin. Path.* 3: 1139-1146.
- 50 . Kadivar A, Ahmadi MR, Gheisari HR, Nazifi, S (2012). Assessment of IGF-I as a factor influencing postpartum reproductive performance and ovarian condition in dairy cattle. *Comp. Clin. Pathol.* 21: 589-596.
- 51 . Kafi M, Mirzaei A, Tamadon A, Saeb M (2012). Factors affecting the occurrence of postpartum prolonged luteal activity in clinically healthy high-producing dairy cows. *Theriogenology* 77: 421–429.
- 52 . Kanuya NL, Greve T (2000). Effect of parity, season and FSH treatment on the calving interval of Ayrshire cows in the tropics. *Trop. Anim. Health and Prod.* 32: 197-204.
- 53 . Karg H (1981). Physiological impacts on fertility in cattle, with special emphasis on assessment of the reproductive function by progesterone assay. *Livest. Prod. Sci.* 8: 233-246.
- 54 . Kawashima C, Kaneko E, Amaya Montoya C, Matsui M, Yamagishi N, Matsunaga N, Ishii M, Kida K, Miyake YI, Miyamoto, A(2006). Relationship between the first ovulation within three weeks postpartum and subsequent ovarian cycles and fertility in high producing dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 52: 479–486.
- 55 . Kendall NR, Campbell BK, Baird DT (2009). Effect of direct ovarian infusion of bone morphogenetic protein 6 (BMP6) on ovarian function in sheep. *Biology of Reproduction*, 81: 1016-1023.

- 56 . Kobayashi Y, Boyd CK, Bracken CJ, Lamberson WR, Keisler DH, Lucy MC(1999). Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic Acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor 1. *Endocrinology* 140: 3947-3954.
- 57 . Kolver ES, Muller LD (1998). Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *J. Dairy Sci.* 81: 1403–1411.
- 58 . Lamming GE, Darwash AO (1998). The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows. *Anim.Reprod. Sci.* 52:175-190.
- 59 . LeBlanc SJ, Lissemore KD, Kelton DF, Duffield TF, Leslie KE(2006). Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89: 1267–1279.
- 60 . Leroy JL, Gadsden P, Guijarro M (2012). The impact of daycare programmes on child health, nutrition and development in developing countries: a systematic review. *Journal of Development Effectiveness*, 4:3, 472-496.
- 61 . Lucy MC (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science*, 84: 1277-1285.
- 62 . Lucy MC (2003). Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction (Suppl. 61):* 415–427.
- 63 . Lucy MC (2008). Fuentes de infertilidad y soluciones para corregir la infertilidad en las vacas de tambo al posparto. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, p. 70-75.
- 64 . Lucy MC, Crooker BA. (2001). Physiological and genetic differences between low and high index dairy cows. *Fertility in the High Producing Dairy Cow. British Society of Animal Science Occas. Publ. No. 26. Galway, Ireland.V1. p. 223–236.*
- 65 . Mann GE, Fray MD, Lamming GE (2006). Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- $\gamma$  production in the cow. *The Veterinary Journal* 171:500–503.
- 66 . Markusfeld, O (1987) Inactive ovaries in high-yielding dairy cows before service: etiology and effect on conception. *Vet. Rec.* 121: 149–153.
- 67 . McArt JAA, Nydam, DV, Oetzel GR, Overton TR, Ospina, PA(2013). Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. *Vet. J.* 198: 560–570.

- 68 . Macmillan KL, Lean IJ, Westwood CT (1996). The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Aust. Vet. J.* 73: 141–147.
- 69 . Meikle A, Cavestany D, Blanc J, Krall E, Uriarte G, Rodríguez-Irazoqui M, Ruprechter G, Ferraris A, Chilbroste P (2003). Perfiles metabólicos y endócrinos, parámetros productivos y reproductivos en vacas de leche en condiciones pastoriles. *Revista Veterinaria.* 40(159): 25-40.
- 70 . Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilbroste P (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction,* 127: 727-737.
- 71 . Meikle A, Kulcsar M, Crespi D, Chilliard Y, La Manna A, Balogh O, Keresztes M, Delavaud C, Huszenicza G, Cavestany D Chilbroste P (2006). Suplementación energética posparto, perfiles endócrinos y longitud del anestro posparto en vacas lecheras. En: XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría 2006. Paysandú: Santa Elena. pp. 179-181.
- 72 . Meikle A, Cavestany D, Carriquiry M, Adrien ML, Ruprechter G, Rovere G, Peñagaricano F, Mendoza A, Pereira I, Mattiauda D, Chilbroste P (2010). Endocrinología metabólica en la vaca lechera durante el período de transición y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica. Disponible en: <http://www.fagro.edu.uy/agrociencia/index.php/directorio/article/view/407/324> Fecha de consulta: 20/11/2018.
- 73 . Meikle A, Cavestany D, Carriquiry M, Adrien ML, Artegoitia V, Pereira I, Ruprechter G, Pessina P, Rama G, Fernández A, Breijo M, Laborde D, Pritsch O, Ramos JM, de Torres E, Nicolini P, Mendoza A, Dutour J, Fajardo M, Astessiano AL, Olazábal L, Mattiauda D, Chilbroste P (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia Uruguay.* 17 (1):141-152.
- 74 . Morales Piñeyrúa JT, Fariña SR, Mendoza A (2018). Effects of parity on productive, reproductive, metabolic and hormonal responses of Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.* 191: 9–21.
- 75 . Morales JT, Cavestany D (2012). Anestro PP en vacas lecheras: tratamientos hormonales. *Veterinaria (Montevideo)* 48: 19-27.
- 76 . Morton JM, Tranter WP, Mayer DG, Jonsson NN (2007). Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: Critical periods of exposure. *J. Dairy Sci.* 90:2271-227.
- 77 . Oksbjerg N., Gondret F., Vestergaard M., (2004). Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected

- by the insulin-like growth factor (IGF) system. *Domest. Anim. Endocrinol.* 27: 219–240.
- 78 . Opsomer G., Coryn M., Deluyker H., de Kruif A., (1998). An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod. Domest. Anim.* 33: 193–204.
  - 79 . Opsomer G., Grohn YT, Hertl J, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. (2000). Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology* 53:841–857.
  - 80 . Overton TR, Waldron MR (2004) Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *Journal of Dairy Science*; 87 (E. Suppl.): E105-E119.
  - 81 . Pedron O, Cheli F, Senatore E, Baroli D, Rizzi R (1993). Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2528.
  - 82 . Pereira I, Laborde D, Carriquiry M, López-villalobos N, Meikle A. (2010). Blood metabolic profiles in Uruguayan Holstein and Uruguayan Holstein x New Zealand Holstein-Friesian dairy cows. *Proc New Zeal Soc Anim Prod.* 70: 311-315
  - 83 . Pryce JE, Coffey MP, Simm G. (2001). The relationship between body condition score and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 84:1508.
  - 84 . Peter AT, Vos PLAM, Ambrose DJ (2009). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Review. Theriogenology.* 71: 1333-1342.
  - 85 . Pushpakumara PGA, Gardner NH, Reynolds CK, Beever DE, Wathes DC (2003). Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 60: 1165–85.
  - 86 . Rabiee AR, Lean IJ (1999). Uptake of glucose and cholesterol by the ovary of sheep and cattle and the influence of arterial LH concentrations. *Anim. Reprod. Sci.* 64: 199-209.
  - 87 . Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. (2006). Metabolic diseases. En: Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses.* 10<sup>a</sup> ed. Edimburgo, Saunders, p. 1613-1678
  - 88 . Ramírez NL (2009). El uso del radioinmunoanálisis (RIA) para el mejoramiento de la eficiencia reproductiva. *Mundo Pecuari.* 5:01-13.
  - 89 . Rémond B, Cisse M, Ollier A, Chilliard Y (1991). Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. *J Dairy Sci.* 74:1370-1381.

- 90 . Rensis FD, Scaramuzzi RJ (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology*. 60:1139-51.
- 91 . Rhodes FM, McDougall S, Burke CR, Verkerk GA, Macmillan KL (2003). Invited review: treatment of cows with an extended postpartum anestrus interval. *J. Dairy Sci.* 86: 1876–1918.
- 92 . Roberts AJ, Klindt J, Jenkins TG (2005). Effects of varying energy intake and sire breed on duration of postpartum anestrus, insulin like growth factor-1, and growth hormone in mature crossbred cows. *J. Anim. Sci.* 83:1705–14.
- 93 . Roberts AJ, Nugent RA, Klindt J, Jenkins TG (1997). Circulating insulin-like growth factor 1, insulinlike growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* 75: 1909-1917.
- 94 . Roche JF, Mackey D, Diskin MD (2000). Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 703-712.
- 95 . Roche JF, Kolver ES, Kay JK (2005). Influence of precalving feed allowance on periparturient metabolic and hormonal responses and milk production in grazing dairy cows. *J Dairy Sci.* 88:677–89.
- 96 . Roche JF (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.* 96: 282–96.
- 97 . Roche JR, Friggens NC, Kay JK, Fisher MW, Stafford KJ, Berry DP (2009). Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.* 9: 5769–5801.
- 98 . Rovers M, (2014). ORFFA; La Cetosis en vacas lecheras y el rol de la Colina; Disponible en: <https://www.orffa.com/wp-content/uploads/2016/01/2014-may-agrnews-es-cetosis-vacas-lecheras-rol-colina-orffa.pdf> Fecha de consulta: 12/15/2018.
- 99 . Royal MD, Flint APF, Woolliams JA (2002). Genetic and phenotypic relationships among endocrine and traditional fertility traits and production traits in Holstein-Friesian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 958-967.
- 100 . Rupprechter G, Carriquiry M, Ramos J, Pereira I, Meikle A (2011). Metabolic and endocrine profiles and reproductive parameters in dairy cows under grazing conditions: effect of polymorphisms in somatotrophic axis genes. *Acta Veterinaria Scandinavica*.53: 35-40.
- 101 . Rutter LM, Manns JG. (1987). Hypoglycemia alters pulsatile luteinizing hormone secretion in the postpartum beef cow. *J. Anim. Sci.* 64:479.

- 102 . Savio D, Boland MP, Roche JF (1990). Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 88:581–91
- 103 . Schillo KK (1992) Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.* 70: 1271-1282
- 104 . Schröder UJ, Staufienbiel R (2006). Invited review: methods to determine body fat reserves in the dairy cow with special regard to ultrasonographic measurement of backfat thickness. *J. Dairy Sci.* 89: 1–14
- 105 . Sepúlveda Varas P, Wittwer Menge F, Meléndez P (2017). Período de transición: Importancia en la salud y bienestar de vacas lecheras; Valdivia, Chile. Disponible en: <https://www.consorcirolechero.cl/industria-lactea/wpcontent/uploads/2017/11/periodo-de-transicion.pdf> Fecha de consulta: 25/04/2018.
- 106 . Spicer LJ, Echternkamp SE (1995). The ovarian insulin and insulinlike growth factor system with emphasis on domestic animals. *Domest. Anim. Endocrinol.* 12:223–45.
- 107 . Spicer LJ, Tinker ED, Wettemann RP, Buchanan DS (1993). Relationship between genotype of sire and dam, and plasma insulin-like growth factor-1 concentrations in crossbred cows post partum. *Livest Prod Sci.* 33:355–60.
- 108 . Stahl TJ, Conlin BJ, Seykora AJ, Steuernagel GR (1999). Characteristics of Minnesota Dairy Farms that Significantly Increased Milk Production from 1989–1993. *J. Dairy Sci.* 82(1):45-51. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75207-0
- 109 . Staples CR, Thatcher WW, Clark JH.(1990). Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci.* 73: 938e47.
- 110 . Tanaka T, Arai M, Ohtani S, Uemura S, Kuroiwa T, Kim S, Kamomae H (2008). Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 108: 134–143.
- 111 . Taylor VJ, Beever DE, Bryant MJ, Wathes DC (2003). Metabolic profiles and progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology.* 59: 1661–1677.
- 112 . Taylor VJ (2001). The growth hormone (GH) and insulin like growth factor (IGF) axis in relation to fertility in high yielding dairy cows. PhD thesis. UK: University of London.

- 113 . Taylor VJ, Beever DE, Bryant MJ, Claire Wathes D (2004). First lactation ovarian function in dairy heifers in relation to prepubertal metabolic profiles. *Journal of Endocrinology* 180 (1):63-75.
- 114 . Ungerfeld R. (2002) Reproducción en los animales domésticos. Montevideo, Melibea, V 1
- 115 . Valle Rueda JM (2013). Balance energético negativo en la vaca de alta producción. SERIVET S.L. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/balance-energetico-negativo-vaca-t30341.htm> Fecha de consulta: 26/04/2018.
- 116 . Van Straten M, Shpigel NY, Friger M (2009). Associations among patterns in daily body weight, body condition scoring, and reproductive performance in high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 4375–4385.
- 117 . Veerle Van Hoeck, Peter EJ Bols, Mario Binelli, JoL. MR Leroy (2014). Reduced oocyte and embryo quality in response to elevated non-esterified fatty acid concentrations: A possible pathway to subfertility? *Anim. Reprod. Sci.* 149(1-2): 19-29.
- 118 . Vanholder T, Leroy JLMR, Van Soom A, Maes D, Coryn M, Fiers T, de Kruif A, Opsomer G (2006). Effect of non-esterified fatty acids on bovine theca cell steroidogenesis and proliferation in vitro. *Anim. Reprod. Sci.* 92: 51–63.
- 119 . Vazquez-Anon M, Bertics S, Luck M and Grummer RR (1994). Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J. of Dairy Sci.* 77: 1521-1528.
- 120 . Walsh SW, Williams EJ, Evans AC (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 123:127–38.
- 121 . Wathes DC, Taylor VJ, Cheng Z, Mann GE (2003). Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reproduction. Suppl.* 61: 219–237.
- 122 . Wathes DC, Cheng Z, Bourne N, Taylor VJ, Coffey MP, Brotherstone S(2006). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33(2): 203-225.
- 123 . Wathes DC, Bourne N, Cheng Z, Mann GEV, Taylor J, Coffey M.P, (2007a). Multiple correlation analyses of metabolic and endocrine profiles with fertility in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 90: 1310–1325.

- 124 . Wathes D, Cheng Z, Bourne N, Taylor V, Coffey M, Brotherstone S, (2007b). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the interrelationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33: 203–225.
- 125 . Wiltbank M, Lopez H, Sartori R (2006). Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology.* 65: 17-29.
- 126 . Yavas Y, Walton JS (2000). Postpartum acyclicity in suckled beefcows: a review. *Theriogenology.* 54: 25–55.
- 127 . Yung MC, VandeHaar MJ, Fogwell RL, Sharma BK (1996). Effect of energy balance and somatotropin on insulin-like growth factor I in serum and on weight and progesterone of corpus luteum in heifers. *J. Anim. Sci.* 74: 2239–2244.
- 128 . Zhang J, Deng LX, Zhang HL, Hua GH, Han L, Zhu Y, Meng XJ, Yang LG (2010). Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum Chinese Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:1979–1986 doi: 10.3168/jds.2009-2626.