



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**ESTRATEGIAS DE MANEJO Y ALIMENTACIÓN EN VACAS
LECHERAS PARIDAS EN PRIMAVERA:**

Efecto sobre el estatus endocrino-metabólico y la asociación con la salud

Serafín Ceriani Guerra

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

URUGUAY
2022



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**ESTRATEGIAS DE MANEJO Y ALIMENTACIÓN EN VACAS
LECHERAS PARIDAS EN PRIMAVERA:**

Efecto sobre el estatus endocrino-metabólico y la asociación con la salud

Serafín Ceriani Guerra

Dra. María de Lourdes Adrien
Director de Tesis

Ing. Agr. Pablo Chilibroste
Co-director

2022

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE

DEFENSA DE TESIS

**Alejandro Mendoza; Ing. Agr., PhD
Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
Uruguay**

**Gretel Ruprechter; DMV, PhD
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República - Uruguay**

**Diego Mattiauda; Ing. Agr.; PhD
Facultad de Agronomía
Universidad de la República - Uruguay**



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay



ACTA DE TESIS DE MAESTRÍA

ORIENTACIÓN: Salud Animal

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: PRESENCIAL Y PLATAFORMA ZOOM, 16/6/2022

TRIBUNAL: Gretel Ruprechter, Diego Mattiauda, Alejandro Mendoza

CI	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
4451511-2	CERIANI GUERRA, SERAFIN	S.S.S.	12

TRIBUNAL

FIRMA

Gretel Ruprechter

Diego Mattiauda



Alejandro Mendoza

NOTA: La calificación mínima para aprobar la defensa es B.B.B (6)

Tabla de contenido

Resumen	9
Summary	10
1. Introducción	11
2. Antecedentes específicos.....	12
2.1. Estrés calórico y producción	12
2.2. Alimentación	12
2.3. Metabolitos.....	14
3. Planteamiento del problema	15
4. Hipótesis.....	16
5. Objetivos	17
5.1. Objetivo general	17
5.2. Objetivos específicos.....	17
6. Materiales y métodos	18
6.1. Animales y diseño experimental	18
6.2. Determinaciones.....	22
6.3. Parámetros climáticos	23
6.4. Análisis estadístico.....	23
7. Resultados	24
7.1. Análisis descriptivo.....	24
7.1.1. Incidencia de eventos de salud	24
7.1.2. Índice de temperatura y humedad	26
7.2. Parámetros productivos	27
7.2.1. Leche corregida por grasa	27
7.2.2. Producción de proteína.....	29
7.2.3. Producción de grasa	29
7.2.4. Porcentaje de proteína de la leche	30
7.2.5. Porcentaje de grasa de la leche.....	32
7.2.6. Porcentaje de lactosa	32
7.2.7. Recuento de células somáticas	32
7.3. Parámetros energéticos.....	34
7.3.1. Estado corporal.....	34
7.3.2. NEFA	34
7.3.3. BHB.....	34
7.4. Parámetros sanguíneos	36

7.4.1.	Proteínas totales.....	36
7.4.2.	Albúmina.....	36
7.4.3.	Globulinas	36
7.5.	Parámetros endócrinos: Insulina e IGF-I.....	38
8.	Discusión.....	39
9.	Conclusiones	44
10.	Bibliografía	45

Resumen

El objetivo de este trabajo fue estudiar tres estrategias de alimentación y manejo para vacas que parieron en primavera e investigar los efectos de estas sobre las variables productivas, parámetros endocrinos-metabólicos y de salud de la vaca lechera. El trabajo se llevó adelante en un establecimiento comercial, desde agosto a febrero, donde se realizaron tres tratamientos: vacas estabuladas con alimentación *ad libitum* durante todo el período (DTM+DTM); vacas en pastoreo durante la primavera que pasaron a un sistema estabulado en el verano (DPM25+DTM) y vacas que permanecieron en pastoreo y suplementación durante todo el experimento (DPM25+DPM35). Los tratamientos DPM25+DTM y DPM25+DPM35 presentaron una producción 14,7 y 11,2%, respectivamente, menor respecto a DTM+DTM. DPM25+DTM luego del cambio de estrategia no logró igualar la producción de DTM+DTM. El EC de DPM25+DTM, luego del cambio de estrategia, tuvo valores similares a las del DTM+DTM, diferente de lo sucedido con DPM25+DPM35. DTM+DTM evidenció una disminución de la producción desde los 120 días posparto (dpp) asociada a incremento en el ITH a medida que avanzaba el verano y no se recuperó durante el experimento. DTM+DTM produjo más proteína que los demás tratamientos, mientras que no tuvo diferencias de grasa respecto a DPM25+DPM35, pero produjo más que DPM25+DTM. En cuanto al EC se observó una caída luego del parto en todos los tratamientos que se comienza a recuperar a medida que avanzó la lactancia. La curva de los NEFA mostró un incremento luego del parto, llegando a niveles máximos a los 15 días posparto, que luego descienden para estabilizarse hacia la lactancia media, concordante con la disminución del EC, similar al comportamiento mostrado por BHB. La concentración de PT y albúminas no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que las globulinas fueron más elevadas para DPM25+DTM. La concentración de IGF-I fue mayor en DTM+DTM y DPM25+DTM. En DTM+DTM la producción de vacas que presentaron mastitis clínica fue significativamente menor que las sanas (9,4%), no encontrando diferencias para los demás tratamientos. Del aislamiento de casos de mastitis clínica y subclínica se encontró que *Staphylococcus aureus* fue el agente más aislado en todos los tratamientos. El potencial productivo de la lactancia lo determinó el manejo y alimentación al inicio de la lactancia, mientras que las condiciones de estabulación impactan en la curva de producción, en tanto que, vacas que comienzan su lactancia en pastoreo no recuperaron niveles productivos al pasar a estabulación, y la mastitis causó pérdidas productivas.

Summary

The objective of this work was to study three feeding and management strategies for cows that calved in spring and to investigate the effects of these on the productive variables, endocrine-metabolic and health parameters of the dairy cow. The work was carried in a commercial dairy farm, from August to February, where three treatments were carried out: cows housed with *ad libitum* feeding during the all period (DTM+DTM); grazing cows during the spring that went to a stable system in the summer (DPM25+DTM) and cows that remained in grazing and supplementation during all experiment (DPM25+DPM35). The DPM25+DTM and DPM25+DPM35 treatments presented a production of 14.7 and 11.2%, respectively, lower than of DTM+DTM. DPM25+DTM after the change in the strategy failed to match the production of DTM+DTM. The BCS of DPM25+DTM, after the change in strategy, had similar values than DTM+DTM, different from what happened with DPM25+DPM35. DTM+DTM showed a decrease in production from 120 dpp associated with an increase in ITH as the summer progressed and not recovered during the experiment. DTM+DTM produced more protein than the other groups, while it had no fat differences compared to DPM25+DPM35 but produced more than DPM25+DTM. Regarding BCS, a fall was observed after calving in all treatments that began to recover as lactation progressed. The NEFA curve showed an increase after calving, reaching maximum levels at 15 days postpartum, after decreased to stabilize to mid-lactation, consistent with the decrease in BCS, like the evolution shown by BHB. The concentration of PT and albumins did not show significant differences between treatments, while globulins were higher for DPM25+DTM. IGF-I concentration was higher in DTM+DTM and DPM25+DTM. The production of cows that presented clinical mastitis was significantly lower than healthy, in DTM+DTM (9.4%), no differed in the other treatments. In the isolation of cows with clinical and subclinical mastitis, *Staphylococcus aureus* was the most isolated agent in all treatments. The productive potential of lactation was determined by the management and feeding at the start of lactation, while the housing conditions impact on the production curve, while cows that start their lactation in grazing didn't recover productive levels when they go to a stable, and mastitis caused productive losses.

1. Introducción

El sector lechero en Uruguay abarca 761 mil hectáreas con un 60% de mejoramientos, explotado por 3423 establecimientos lecheros, que producen 2168 millones de litros de leche anuales (DIEA 2020). Desde el ejercicio 2011-2012 a la fecha se ha mantenido la producción total de leche con una reducción en el área y en el número de cabezas lecheras, lo que supone una mayor exigencia para las vacas, que han visto incrementada su producción desde 4857 (ejercicio 2011-2012) hasta 5047 L/VM/año (DIEA 2020).

El período de transición, de la gestación tardía a la lactancia temprana, es un momento clave donde las estrategias de manejo y alimentación pueden interferir para mejorar los resultados productivos, ya que es un momento donde surge un desfase entre el suministro y la demanda de nutrientes, y el animal cae en balance energético negativo (BEN, Drackley 1999). La longitud de este período puede ser variable, pero Grummer (1995) lo definieron como el período de tres semanas previas y tres semanas posteriores al parto. Este período está caracterizado por la reducción de hasta un 30% del consumo de MS, siendo una de las causas del BEN (Grummer 1995; Grummer y col. 2004). Durante este período se da una gran movilización de reservas de grasa, situación que se ve reflejada en el incremento de los ácidos grasos no esterificados (NEFA) circulantes (Pedron y col. 1993; Ingvarsen & Andersen 2000; Burke y Roche 2007), frecuentemente acompañado por un aumento de la producción de β -hidroxibutirato (BHB) (Meikle y col. 2004). La movilización de reservas acompañada de la disminución de hormonas anabólicas, insulina y factor insulino-símil I (IGF-I) favorecen el catabolismo periférico que soporta la lactancia (Meikle y col. 2004; Pereira y col. 2010; Adrien y col. 2012). Estos cambios metabólicos mantienen la uniformidad del flujo de nutrientes para apoyar la lactancia durante la transición (Bauman y Currie, 1980).

En sistemas pastoriles y estabulados, la época en que ocurran los partos puede determinar que existan otras limitantes asociadas a la alimentación y al ambiente, lo que puede agravar aún más los problemas de la vaca en transición. La época de partos determina una diferencia importante de producción total por lactancia, siendo las lactancias que comienzan en invierno las más productivas respecto a las iniciadas en el otoño temprano y la primavera tardía. A su vez, las lactancias iniciadas en otoño presentan dos picos de producción similares (a los 2 y 6 meses de lactancia), mientras que partos de invierno tardío y primavera temprana presentan un pico marcado entre los 2 y 3 meses de lactancia, como la descrita por Wood (1967), mientras que aquellas vacas que paren a finales de primavera no manifiestan prácticamente pico (Chilibroste 2012).

Los sistemas que incorporan mayor cantidad de forraje en la dieta logran mejores márgenes de alimentación, sumado a que un 26% de los partos de vacas se dan en la primavera, época en la que la producción de forraje es clave (Chilibroste y Battezzore 2019). Esto llevó a investigar sobre las alternativas de manejo y alimentación que pueden mitigar las condiciones ambientales a las que se enfrentan las vacas paridas en esta época, y generar información que permita a los productores y técnicos tomar decisiones con mayor precisión. Lograr una buena descripción de los eventos fisiológicos y metabólicos que suceden a lo largo de la lactancia sería de suma importancia para de este modo poder evaluar cual estrategia de manejo y alimentación es más adecuada para las condiciones en las que se realizó el experimento.

2. Antecedentes específicos

2.1. Estrés calórico y producción

A las limitantes asociadas al período de transición, en la primavera se le suma el efecto de factores climáticos como la temperatura y humedad, que fueron asociadas por Thom (1959), a través del Índice de Temperatura y Humedad (ITH). Johnson y col. (1961) definieron un valor de ITH de 72 como el límite crítico a partir del cual los animales comienzan a manifestar pérdidas productivas. Johnson (1994) definió 4 categorías según el nivel de riesgo: menor a 70 (sin riesgo), 70 a 78 (situación de alerta), desde 78 a 82 (situación de peligro) y por encima de 82 (emergencia). Salio y Das (2016) encontraron que el estrés térmico aumenta el riesgo de enfermedades, e impacta negativamente en producción y reproducción (Valtorta 1983), situación que fue asociada por los autores al incremento del gasto energético para mantener los mecanismos compensadores. Oullet y col. (2019) reportaron pérdidas productivas en vacas que fueron expuestas a situaciones de ITH por encima de 65, tanto en producción de leche como de sólidos.

Cony y col. (2004), en un estudio del ITH para la localidad de Anguil en La Pampa, Argentina, encontraron riesgo de estrés térmico para vacas lecheras, entre los meses de noviembre y marzo. En Uruguay, al norte del Rio Negro, se encuentra una frecuencia variable de aparición de ITH mayor a 72 entre los meses de diciembre y marzo, siendo enero el mes más crítico (Cruz y Saravia 2008). Por otro lado, en el departamento de Colonia, en promedio se presentan 5 olas de calor por cada verano que superan el ITH 72 y se ubican entre el 24 de diciembre y el 22 de febrero (Román y col. 2014).

2.2. Alimentación

Otro factor que afecta la producción de leche y los indicadores de salud es la estrategia de manejo y alimentación, donde la dieta ofrecida (dieta totalmente mezclada (DTM) vs. DTM+Pastura) favorece una mayor producción total de leche por vaca. También el horario de pastoreo impacta sobre la producción, donde vacas que pastorean en la tarde consumen menos MS total y producen más leche que vacas que pastorean en la mañana durante el otoño (Soriano y col. 2001).

La oferta de forraje tiene impacto en la performance productiva de vacas de primera lactancia, donde vacas con altas asignaciones de forraje tienen una producción, en lactancia temprana, inferior a vacas que consumieron DTM, obteniendo incluso mayor producción de proteína (Bargo y col. 2002a). Si se realiza la intervención en la lactancia temprana, ya sea con altos niveles de suplementación en pastoreo o con la estabulación de los animales, se generan altas respuestas directas, y una respuesta residual de entre el 13 y 15% en producción de leche, y 7 y 11% de producción de proteína (Acosta y col. 2010).

Por otra parte, Kolver y Müller (1998) demostraron que el consumo exclusivo de pastura de alta calidad limita el consumo diario de materia seca, y que esto repercute en una menor producción de leche y proteína (19%), comparado con animales que reciben una DTM. Se observaron diferencias en cuanto a los indicadores metabólicos en sangre, encontrando una menor concentración de glucosa y mayor concentración de BHB y NEFA en vacas consumiendo pastura, explicado por la mayor movilización de reservas corporales (Kolver y Müller 1998, Bargo y col. 2002a,b). El consumo de pasturas de alta

calidad, con suplementación, por parte de vacas en producción (primíparas y/o multíparas), puede expresar potenciales de producción similares a vacas que consumen DTM. A su vez, el contenido de la leche puede ser más beneficioso para la salud humana, debido a una menor concentración de ácidos grasos saturados (Moraes-Almaráz y col. 2010, Hernández-Ortega y col. 2014).

Sin embargo, Fajardo y col. (2015) no encontraron diferencias en la producción de grasa y lactosa entre vacas comiendo TMR y vacas que tuvieron acceso a pasturas. Además, tampoco encontraron diferencias en estado corporal cuando las vacas acceden solamente por 6 horas al pastoreo. A su vez Barca y col. (2017) no encontraron un efecto residual del manejo durante la lactancia temprana cuando pasaron a un mismo manejo con acceso a pastura.

La alimentación es uno de los factores fundamentales al momento de planear la producción de leche durante épocas de ITH elevado, ya que uno de los principales inconvenientes que acompañan a una situación de estrés calórico es la disminución del consumo voluntario. Para mitigar este efecto y disminuir el calor generado por el metabolismo se sugiere el uso de dietas “frías”. Dentro de las herramientas para generar dietas de menor producción de calor se encuentran la reducción en fibra y proteína, donde a un incremento de grasa en la dieta podría mantener el componente energético de la dieta sin incremento calórico. Por otra parte, incorporar algunos micro minerales en las dietas pueden apoyar la reducción de los efectos del estrés por calor, disminuyendo las lesiones debidas a la acidosis metabólica (sodio y potasio) (Rendeau y col 2011). También es importante el uso de sustancias buffer como bicarbonatos. Es importante el aporte de vitaminas que apoyan la recuperación de tejidos afectados por el estrés calórico (Beede y Collier 1986 y Renaudeau y col 2011). Un factor fundamental que se debe tener en cuenta a la hora de enfrentar situaciones de estrés calórico es el aporte en cantidad y calidad de agua, ya que es fundamental para la termorregulación (Beede y Collier 1986 y Renaudeau y col 2011).

2.3. Metabolitos en relación a la salud

El balance energético negativo (BEN) que caracteriza al período de transición es evidenciado por un aumento en los NEFA y por BHB circulantes asociados a la movilización de reservas grasas. Algunos autores describen límites en los cuales los niveles de NEFA y BHB comenzarían a ser perjudiciales para la salud animal y, por tanto, repercutir en pérdidas productivas. En cuanto a los valores de referencia, se han descritos valores de 0,5 y 0,6 mmol/L de NEFA para vacas durante el parto (Le Blanc y col. 2005; Dubuc y col. 2010), lo que implica mayor riesgo de enfermedades en valores por encima de estos. En el postparto se describe que niveles por encima de 1,2 mmol/L de BHB incrementan el riesgo de enfermedades lo que se acompaña de pérdidas productivas (Duffield y col. 2009).

Para caracterizar la respuesta inflamatoria en bovinos se han estudiado, también las proteínas de fase aguda tales como la haptoglobina (Eckersall, 1995). Esta proteína, que inhibe la proliferación bacteriana por reducir la disponibilidad de hierro, ha sido evaluada para detectar la inflamación en bovinos debido a que en condiciones normales se encuentra en baja concentración (Eckersall y Conner, 1988). La haptoglobina puede ser utilizada como marcador temprano de metritis clínica posparto, debido a que las vacas con mayor concentración sanguínea en el posparto tienen mayor riesgo de presentar esta enfermedad (Huzzey y col. 2009). Así mismo, cojeras asociadas a desórdenes de pezuñas y capacidad de locomoción de las vacas lecheras han sido asociadas con reacciones agudas sistémicas con elevación de la haptoglobina (Tadich y col. 2013).

Los niveles de albúminas pueden ser una herramienta importante para predecir el riesgo de enfermedades en el periparto, ya que los niveles de albúmina en el parto se asocian con el estado nutricional de las vacas durante el período seco. Por otro lado, niveles altos de albúmina se asocian a un hígado saludable. La disminución de estas se puede asociar con un incremento de enfermedades debido a que son proteínas de fase aguda negativas, donde su función es apoyar al sistema inmune en el control de posibles alteraciones de salud (Payne y col. 1971, Bionaz y col. 2007 y Ruprecht y col. 2018). En situaciones de ITH elevado se observa un incremento de proteínas de fase aguda positivas, asociado a respuesta inflamatoria del organismo, lo que desencadena un descenso de las proteínas de fase aguda negativas, entre ellas la albúmina (Calamari y col. 2011).

Se reporta el descenso de las globulinas al parto asociado a los cambios generados durante el período de transición, donde se generan efectos negativos sobre el sistema inmune y los glóbulos blancos circulantes, quienes se encargan de la producción de inmunoglobulinas (Ingvarsen y col. 2003, Brscic y col. 2015 y Moretti y col. 2017).

Las globulinas y albúminas en conjunto componen lo que son las proteínas totales (PT), por lo tanto, del comportamiento de estas dependerá la evolución de las PT particularmente en torno al parto. Se describe en todas las situaciones una disminución de la concentración sérica al parto, que es asociada a la disminución del consumo y al incremento de los requerimientos de la lactancia (Vareyen y col. 2007, Meikle y col. 2010, Adrien y col. 2012 y Moretti y col. 2017). Las proteínas totales son útiles para evaluar la situación de salud de las vacas (Giulioti y col. 2004), donde las albúminas indican una función hepática deteriorada asociada a una respuesta inflamatoria (Bertoni

y col. 2008) y la concentración de globulinas se ha sugerido como indicador de la respuesta inmune (Chorfi y col. 2004). La relación entre la albúmina y la globulina es de gran importancia en la patología clínica, como indicador de disproteinemia (Eckersal y col. 2008), y ha sido propuesto por Piccinini y col. (2004) para evaluar estado inmunitario de las vacas.

Para evaluar el estatus metabólico se puede utilizar la concentración de insulina, que varía asociada a los cambios de la glucosa circulante. Es así como en animales suplementados o estabulados se describen niveles mayores de insulina respecto a animales que no reciben suplementación o que permanecen en pastoreo, tanto para vacas lecheras como de razas carniceras, que además se ha asociado a la duración del anestro posparto (Boken y col 2005 y Astessiano y col 2013). Por otro lado, en el parto se observa un descenso de insulina e IGF-I consistente con la disminución del consumo y el BEN en este momento (Meikle y col 2010).

Se ha encontrado asociación entre, los niveles plasmáticos de IGF-I y el ITH, pero los datos observados por diferentes autores no son concluyentes. Algunos autores no encontraron efecto del ITH (McGire y col 1991), mientras que Titto y col (2013) observaron menores niveles de IGF-I durante primavera y verano para vacas expuestas a estrés por calor, asociado a un balance energético negativo causado por la reducción del consumo. Situación similar que ocurre con la insulina y el estrés calórico donde algunos autores no encontraron efecto del estrés por calor (Min y col 2015), mientras que (Itoh y col 1998 y Martínez y col 2021) encontraron aumento de insulina en vacas expuestas a ambientes con estrés por calor. Este comportamiento podría estar asociado a reducción del consumo y/o cambios en la partición de nutrientes debido al estrés por calor (Palladino y Bargo 2022).

3. Planteamiento del problema

Durante la primavera y el verano se da la mayor tasa de crecimiento de las pasturas y aquellos sistemas que incluyen mayor proporción de forraje en la dieta presentan un mejor margen de alimentación (Chilibroste y Battezzato, 2019). La estrategia más adecuada sería aquella que maximice la cosecha directa de forraje en la primavera y que apunte a la mitigación del estrés calórico en el verano. Esto hace necesario la generación de información que describa e integre todos los factores que intervienen en el proceso productivo en la época de primavera y verano de forma de que se maximice la producción sin repercutir en la salud animal.

Si bien existe bibliografía respecto a distintas estrategias de alimentación, la mayoría de los trabajos se realizaron con pariciones de otoño y/o invierno donde las condiciones climáticas son distintas a las que se enfrentan las vacas que paren en la primavera. Las vacas que transitan parte de su lactancia media en el verano se enfrentan a desafíos extras asociados principalmente al ITH elevado. Se debe tener en cuenta las condiciones de infraestructura y acceso a sombra y agua, en animales de pastoreo especialmente. Se han reportado pérdidas productivas asociadas al menor consumo de agua por dificultad en el acceso, debido a una disminución del tránsito intestinal (Bargo y col 2008), por lo tanto, en épocas de altas temperaturas es aún más relevante. Por otro lado, la menor concentración energética de la dieta ofrecida a vacas en pastoreo genera un BEN mayor,

y se asocia a mayores niveles de NEFA, lo cual se acompaña de una acumulación de cuerpos cetónicos en el hígado, alterando su función y aumentando el riesgo de aparición de enfermedades en el parto (Betrics y col 1992, Kolver y Müller 1998, Duffield y col 2009, Ospina y col. 2010 y Meikle y col. 2013a). Esto sin dudas debe ser evaluado de forma de definir una estrategia que reduzca el impacto del BEN en la lactancia temprana.

En cuanto al acceso a la sombra se hace fundamental en sistemas de pastoreo para favorecer el descanso y la pérdida de temperatura de los animales en horarios en los que el ITH es más elevado, y disminuir así la incidencia de los rayos solares, disminuyendo así los efectos del estrés calórico (Brügemann y col 2010).

Por todo lo anterior, es necesario evaluar estrategias que maximicen el consumo directo de forraje en el momento del año que existe mayor disponibilidad de forraje, y a su vez, evaluar el efecto del cambio de manejo (seguir en pastoreo o pasar a un sistema estabulado) al comenzar el verano sobre la lactancia media.

4. Hipótesis

Las vacas lecheras que paren en los meses de primavera e ingresan a sistemas de estabulación con una dieta totalmente mezclada *ad libitum* durante los primeros 180 días posparto (dpp) logran mayor producción de leche, con menor pérdida de estado corporal y niveles de NEFA y BHB menores que vacas en sistemas mixtos de alimentación. A su vez vacas que ingresan a un sistema estabulado en el verano aumentan la producción de leche, indicadores endócrino-metabólicos y logran mitigar los efectos del estrés calórico respecto a vacas que permanecen en pastoreo

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Estudiar el efecto de diferentes estrategias de manejo y alimentación sobre la producción y composición de la leche, la salud mamaria (mastitis clínica y RCS), el estatus metabólico (EC, NEFA, BHB, insulina e IGF-I) e indicadores del sistema inmune (proteínas totales, albúminas y globulinas).

5.2. Objetivos específicos

- 5.2.1. Estudiar el efecto del manejo y alimentación durante los primeros 180 dpp sobre la producción y composición de la leche (grasa, proteína, lactosa, y recuento de células somáticas).
- 5.2.2. Estudiar el efecto de las diferentes estrategias sobre el estatus metabólico, evaluado a través del estado corporal y los perfiles metabólicos (BHB, NEFA, PT, albúmina, globulinas, insulina e IGF-I).
- 5.2.3. Estudiar el efecto de la mastitis sobre los parámetros productivos para cada estrategia.

6. Materiales y métodos

El trabajo se llevó a cabo en el tambo comercial “La Armonía”, propiedad de PILI S.A. El mismo contaba con 1300 vacas en ordeño de las cuales se seleccionaron 90 vacas multíparas con fecha probable de parto entre el 15 de agosto y el 15 de octubre, realizando una evaluación clínica previa para descartar patologías ya presentes o que pudieran interferir en el trabajo. Se evaluó a las vacas desde los 30 días previos, hasta los 180 días después del parto.

6.1. Animales y diseño experimental

Se trabajó con 90 vacas multíparas, de la raza Holando con partos de primavera que fueron asignadas a tres tratamientos. Previamente se bloquearon de acuerdo con la fecha probable de parto el peso vivo un mes antes del parto (662 ± 81 kg), salud de la ubre (recuento de células somáticas, RCS), número de lactancia ($3,1\pm 1,2$ lactancias) y producción de la lactancia anterior. Para definir la salud de la ubre se clasificaron las vacas sanas y enfermas utilizando los últimos tres registros de RCS de cada vaca de la lactancia previa. Las vacas que tuvieran en los dos últimos controles recuentos de células mayores de 200 mil/mL fueron consideradas enfermas (dos Reis y col 2011). Una vez definidos los bloques con tres vacas cada uno, se distribuyeron al azar en los tres tratamientos.

Los tratamientos fueron los siguientes:

1. **Tratamiento DTM+DTM:** durante la primavera y verano las vacas estaban estabuladas recibiendo alimentación *ad libitum* de una dieta total mezclada (DTM) durante los primeros 180 días de lactancia (figura 1).

2. **Tratamiento DPM25+DTM:** durante la primavera tuvieron doble pastoreo, después de cada ordeño y alimentación con 25% de DTM y durante el verano estuvieron en estabulación y alimentación 100% DTM, sin pastoreo.

3. **Tratamiento DPM25+DPM35:** durante la primavera tuvieron doble pastoreo después de cada ordeño y alimentación con 25% de DTM y durante el verano entre ordeño de la mañana y la tarde, las vacas quedaron estabuladas con una oferta de 35% de DTM. Realizaron un pastoreo entre el ordeño de la tarde y la mañana (nocturno).

Cuadro 1: Esquema de tratamientos. Primavera: 14/09/2015 al 16/11/2015 y verano: 17/11/2015 al 15/02/2016.

Tratamiento	PRIMAVERA	VERANO
DTM+DTM	DTM <i>ad libitum</i> (15% de rechazo)	DTM <i>ad libitum</i> (15% de rechazo)
DPM25+DTM	DPM 25% + Pastura (AF>40 kgMS/vaca/día)	DTM <i>ad libitum</i>
DPM25+DPM35	DPM 25% + Pastura (AF>40 kgMS/vaca/día)	DPM 35% + Pastura (AF>40 kgMS/vaca/día)

Las vacas ingresaron a los tratamientos luego del parto, no más allá de las 24 horas de paridas. En tanto que el tratamiento en el preparto fue igual para todas las vacas.



Figura 1: Instalaciones de comederos y sistema de techo utilizado para ofrecer la DTM.

La primavera fue definida desde el parto hasta el 16 de noviembre de 2015, mientras que el verano se definió desde el 17 de noviembre de 2015 al 15 de febrero de 2016. Al momento del cambio las vacas presentaron en promedio 70 dpp. La dieta totalmente mezclada fue a base de ensilaje de sorgo, pulpa de citrus y concentrados energéticos y proteicos, como se detalla en el cuadro 2. El consumo de alimento se ajustó semanalmente para lograr un 15% de rechazo con relación a lo ofrecido para establecer alimentación *ad libitum* en el tratamiento DTM+DTM. Para esto se tomó la información del mixer dosificador y se midió el rechazo, pesando el mismo previo a la administración diaria del alimento (figura 1).



Figura 2: Vacas en pastoreo de *Festuca arundinacea* y *Dactylis* con una asignación de forraje de 40 kg de MS/vaca.

A los tratamientos en pastoreo durante la primavera y verano, en el caso del Tratamiento DPM25+DPM35, se les ofreció una asignación de forraje superior a 40kg de materia seca por vaca por día (figura 2), de manera que la cantidad de pastura no fuera la limitante para el consumo. Previo a los ordeñes se les permitió el acceso a los comederos donde se les ofrecía la parte de la dieta correspondiente, de 11:00 a 15:00 h en primavera y de 8:00 a 15:00 h en verano.

El pastoreo fue en una pradera de *Festuca arundinacea* y *Dactylis* en los meses de primavera, con turnos de 7:30 a 11:00 y 18:30 a 4:30 h, y *Sorgum* spp. durante los meses de verano en un turno de 18:30 a 4:30 horas.

Cuadro 2: Ingredientes de la dieta total mezclada (DTM), en base seca.

Composición DTM	
Ingrediente	Inclusión
Ensilaje de planta entera de sorgo	33%
Grano de sorgo	12,5%
DDGS de sorgo	10%
Expeler de canola	16,5%
Pulpa de citrus fresca	10%
Cascara de soja	16,5%
Premix	1,3%
Urea	0,2%

El ordeño fue realizado con una máquina De Laval con circuito de tipo cerrado de línea media, contando la misma con 30 órganos, donde ingresaban 30 vacas por lado en un brete tipo espina de pescado con ordeño desde atrás. Los horarios de ordeño fueron a las 6:30 y a las 15:30 h. Los corrales de espera contaban con sistema de aspersión con ventilación forzada y acceso a agua fresca, como se muestra en la Figura 3, no se realizó suplementación durante el ordeño.



Figura 3: Corral de espera con sistema de aspersión y ventilación forzada para mitigar el estrés por calor.

6.2. Determinaciones

Se midió la producción individual semanalmente hasta los 180 dpp. El mismo día que se realizó la medición individual de la producción de leche, se colectaron muestras de leche, durante los dos ordeños, hasta los 180 dpp para determinar la concentración de proteína, grasa, lactosa, urea y células somáticas. Estas muestras fueron remitidas en frascos con conservante (Lactopol®) al laboratorio COLAVECO para ser analizadas mediante citómetro de flujo (RCS) y absorción de radiación infrarroja cercana (Proteína, grasa, lactosa y urea).

Para calcular leche corregida por grasa (LCG) se utilizó la siguiente fórmula que asocia la producción individual y el contenido de grasa: $LCG = (0,4 \times L + 15 \times \% \text{grasa}) / 100 \times L$.

Se determinó el EC desde los 30 días antes del parto hasta los 180 dpp cada 15 días. La observación la realizó el mismo observador utilizando la escala de 1 a 5 utilizando las cartillas de ELANCO (Elanco Animal Health, 1997, basada en Wildman y col. 1982 y Ferguson y col. 1994). Los mismos días que se realizó la evaluación de EC se extrajo sangre de la vena coccígea (figura 4). Las muestras fueron obtenidas en tubos con vacío, sin anticoagulante, utilizando una aguja descartable por animal. La sangre fue centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. Las muestras de suero se almacenaron a -20°C para realizar las determinaciones de metabolitos (NEFA, BHB, proteínas totales y albúmina) y hormonas (IGF-I e Insulina). Todas estas determinaciones se realizaron en un único ensayo en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de la Facultad de Veterinaria en Montevideo. IGF-I e insulina fueron determinadas con kit comerciales de análisis inmunoradiométrico (IRMA).



Figura 4: Bretes de trabajo donde se realizaron los muestreos y las evaluaciones.

La determinación de los NEFA se realizó a través del método ACS-ACOD (kit NEFA-C, Wako Chemicals, USA) y BHB por el d-3-hydroxybutyrate kit (Randox Laboratorie Ltd., Ardmore, UK). Las proteínas totales se determinaron a través de reacción de Biuret, albúminas por verde de Bromocresol, BCG y colesterol por CHOD-PAP. Para estas determinaciones se utilizaron kits comerciales del laboratorio Wiener Lab. Con el equipo autoanalizador automático Vitalab Selectra 2 (Vital Scientific, Dieren,

The Netherlands). Se utilizaron controles incluidos en el kit y controles internos del Laboratorio. Las globulinas fueron determinadas por diferencia entre proteínas totales y albúminas. El CV inter-ensayos fue menor a 10%.

El registro de eventos clínicos de enfermedad se realizó por parte del personal del establecimiento y fue confirmado por los técnicos participantes del proyecto. Se definió como mastitis clínica a vacas que presentaron alteraciones en la leche y/o glándula mamaria. De las mismas se remitió al laboratorio para realizar el cultivo e identificación de los agentes involucrados, procedimiento que también fue realizado a vacas que presentaron recuentos individuales mayores a 200000 cél/mL.

Se definió vacas con retención de placenta aquellas que 24 horas después del parto no habían expulsado la placenta. Vacas con metritis, aquellas con contenido uterino anormal con o sin afectación sistémica (fiebre, baja de producción o signos de toxemia) dentro de los 21 días posparto (Sheldon y col 2006). Se definió como cojeras a la claudicación como manifestación de la alteración en el aparato locomotor.

6.3. Parámetros climáticos

Para el cálculo del ITH se utilizaron los registros de temperatura y humedad de la Estación Experimental Mario A. Cassinoni de la Facultad de Agronomía, ubicada 45 km al sur del establecimiento. Se tomaron los datos de temperatura media diaria y promedio de humedad relativa, y luego se tomó el promedio de la semana para analizar estos datos estadísticamente.

La fórmula utilizada para el cálculo de ITH fue: $(1,8 \times T^{\circ} + 32) - (0,55 - 0,55 \times HR/100) \times (1,8 \times T^{\circ} - 26)$ (Thom 1959).

6.4. Análisis estadístico

Los casos de mastitis clínica y cultivos fueron analizados de manera descriptiva.

Para el análisis de variables (Litros, Grasa, Proteína, RCS, BHB, NEFA, PT, Globulinas, Albúminas, Insulina e IGF-1) se utilizó procedimiento MIXED del sistema estadístico SAS, utilizando como efectos fijos al tratamiento, enfermedad (vacas que presentaron al menos un caso clínico de mastitis), dpp, y las interacciones de tratamiento*dpp, tratamiento*enfermedad y tratamiento*dpp*enfermedad. La comparación de medias fue realizada utilizando la prueba de Tukey-Kramer al 5%.

Para el análisis en el tiempo se definió períodos de 15 días agrupando los resultados para cada tratamiento.

7. Resultados

7.1. Análisis descriptivo

7.1.1. Incidencia de eventos de salud

En este trabajo la incidencia acumulada de casos de enfermedad clínica (mastitis, metritis, retención de placenta y cojeras), durante los primeros 30 dpp fue de 52% (Figura 5). La mayor cantidad de casos se concentró al inicio de la lactancia, en el período de 0-15 dpp.

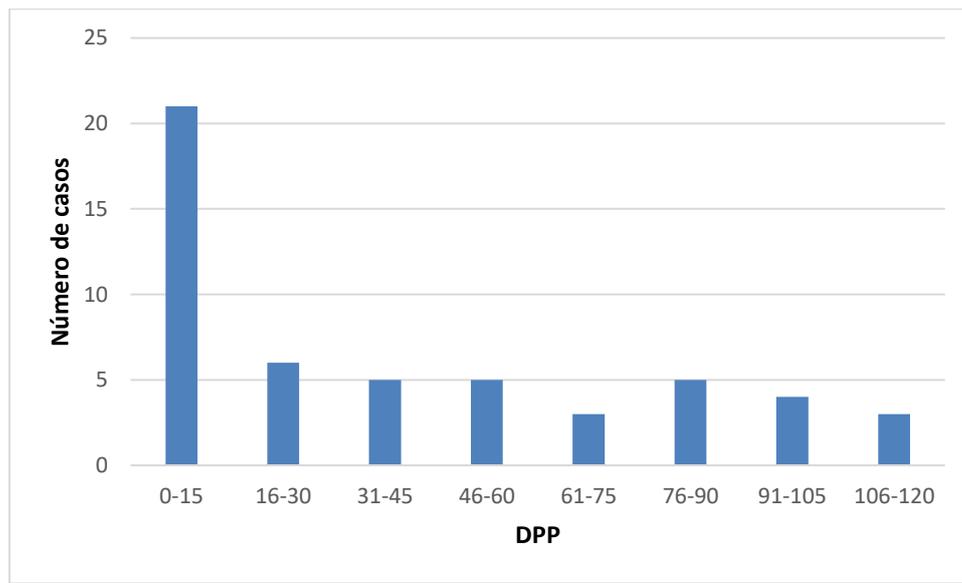


Figura 5: Eventos de enfermedad clínica (mastitis, metritis, retención de placenta y cojeras) para todas las vacas del experimento.

En relación con los casos de mastitis, la incidencia acumulada de primeros casos, para los distintos tratamientos fue de 44,4%, 14,8% y 29,6% para el tratamiento DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35, respectivamente (Figura 6).

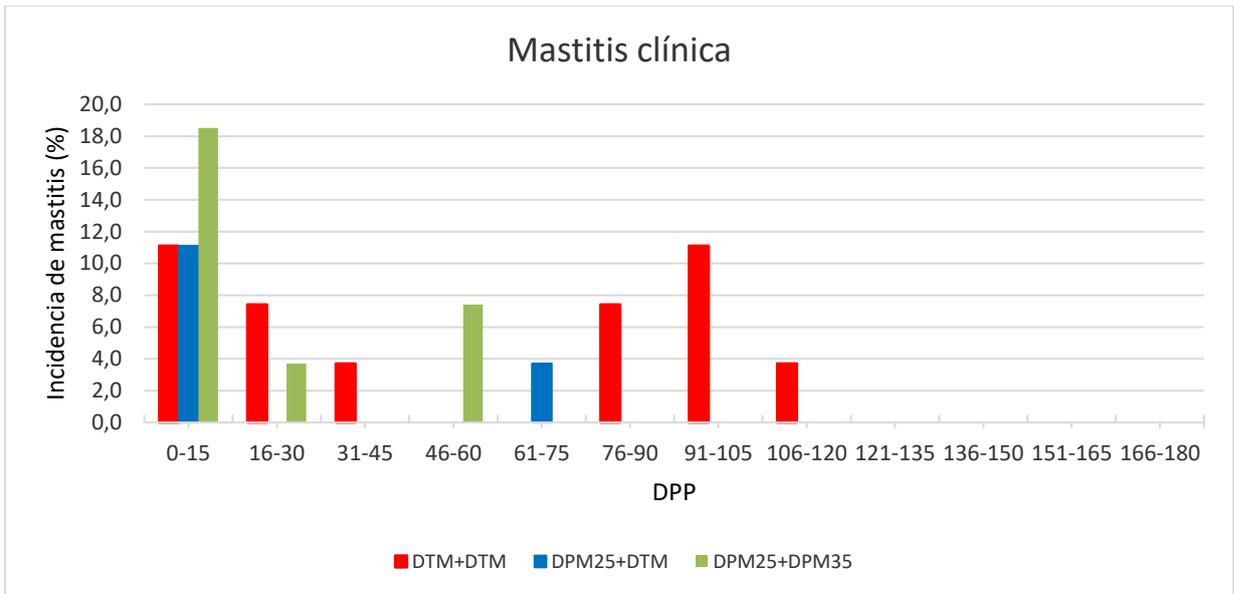


Figura 6: Eventos de mastitis clínica durante los primeros 180 días posparto para los tres tratamientos DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35.

De los aislamientos se destaca la presencia de *Staphylococcus aureus* en todos los tratamientos. Además, para DTM+DTM se encontró presencia de *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae*. Para DPM25+DTM y DPM25+DPM35 se aislaron *Micrococcus sp* y *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN). También fue importante el porcentaje de muestras contaminadas superando el 40% para DTM+DTM.

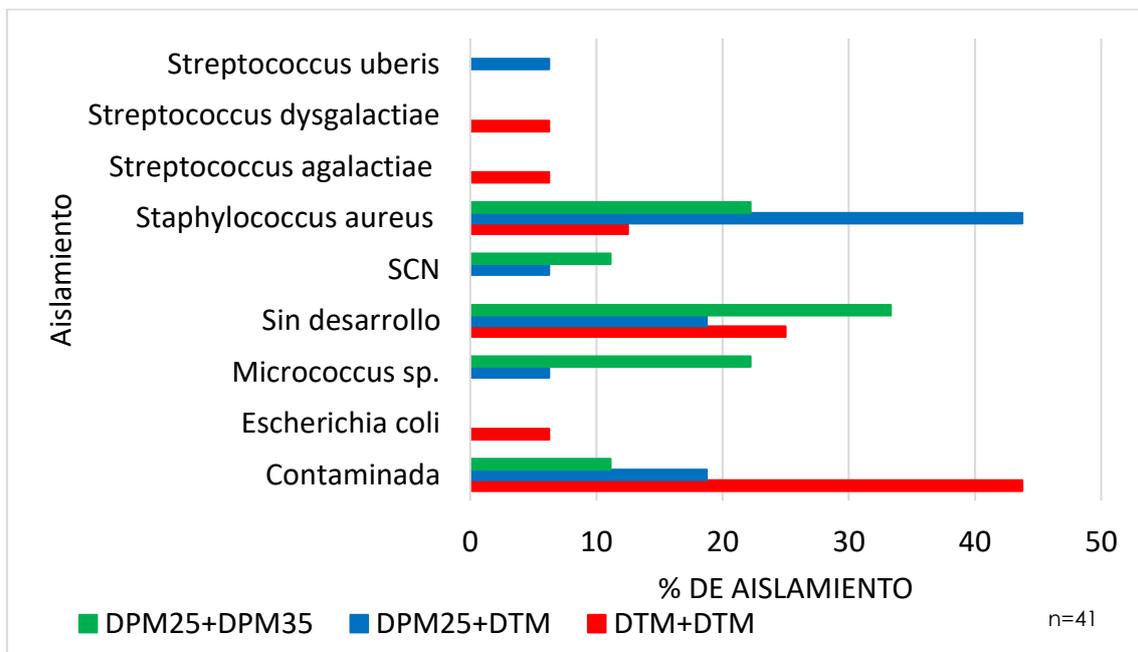


Figura 7: Aislamiento bacteriano para vacas con mastitis clínica y subclínica para las vacas de los tres tratamientos (DTM+DTM, DPM25+DTM y PM25+DPM35)

7.1.2. Índice de temperatura y humedad

El registro de ITH muestra la evolución del promedio semanal durante todo el experimento. En el mismo se observó un efecto de los días, con un incremento significativo que comienza a evidenciarse a la semana 14 del experimento, y que a la semana 16 supera un ITH de 65, siendo que el momento definido como cambio de estación coincidente con la semana 17. A la semana 23 se supera el índice de 70.

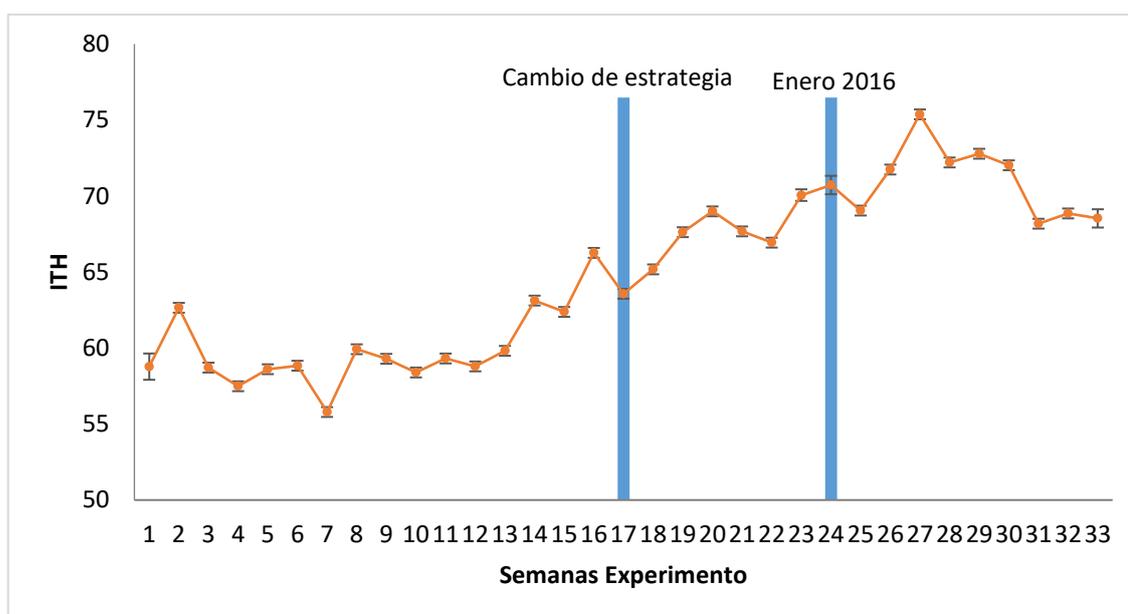


Figura 8: Registros de índice de temperatura y humedad (ITH) promedio semanal durante el período experimental.

Cuadro 3: Test F, efectos fijos incluidos en el modelo (trat=tratamiento, enf=enfermedad, dpp=días posparto y sus interacciones).

	N vacas	trat	enf	dpp	trat*dpp	trat*enf	trat*dpp*enf
LCG	72	<,0001	ns	<,0001	<,0001	0,0091	0,0215
RCS	72	ns	<,0001	<,0001	ns	ns	0,0001
KG Proteína	72	<,0001	ns	<,0001	<,0001	ns	<,0001
KG Grasa	72	<,0001	ns	<,0001	<,0001	0,0091	0,0915
%Lactosa	72	ns	ns	<,0001	<,0001	ns	0,0002
%Grasa	72	<,0001	ns	<,0001	<,0001	ns	0,0003
%Proteína	72	0,0163	ns	<,0001	<,0001	ns	0,0019
EC	76	ns	ns	<,0001	<,0001	ns	ns
BHB	81	0,0096	ns	<,0001	0,0009	ns	ns
NEFA	81	ns	ns	<,0001	ns	ns	0,0147
Albúmina	81	ns	0,0234	ns	ns	ns	0,0133
Prot. Totales	81	ns	0,0736	<,0001	ns	ns	ns
Globulinas	81	0,01	0,002	<,0001	ns	ns	ns
Insulina	65	ns	ns	<,0001	0,005	ns	-
IGF-1	65	0,0006	ns	<,0001	0,0008	ns	-

Nota: p<0,05 diferencias significativas y p<0,1 y >0,05 tendencia

7.2. Parámetros productivos

7.2.1. Leche corregida por grasa (LCG)

La producción de LCG fue afectada por los tratamientos ($p < 0,0001$, Cuadro 3). Se encontró que DTM+DTM tuvo una producción diaria superior ($28,4 \pm 0,5$ kg/día) a los demás tratamientos ($24,2 \pm 0,5$ y $25,2 \pm 0,4$ kg/día, DPM25+DTM y DPM25+DPM35 respectivamente) que no presentaron diferencias entre sí. Se observó una interacción entre tratamiento y dpp ($p < 0,0001$, Cuadro 3); las diferencias se observaron a los 45 dpp, donde DPM25+DTM presentó una producción menor a DTM+DTM y DPM25+DPM35 ($26,7 \pm 0,9$ vs. $32,0 \pm 0,9$ y $31,4 \pm 0,8$ kg/día). A los 60 dpp DPM25+DPM35 se ubicó por debajo de DTM+DTM y por encima de DPM25+DTM. Entre los 75 y 135 dpp DTM+DTM produjo por encima de DPM25+DTM y DPM25+DPM35, no habiendo diferencias entre ellas. A los 150 dpp DPM25+DTM se ubicó por debajo de DTM+DTM, mientras que DPM25+DPM35 no se diferenció de los demás, y hacia los 180 dpp desaparecen las diferencias entre tratamientos (Figura 9A). Se observa para el grupo DTM+DTM un pico a los 60 dpp que luego comienza a descender, para luego de los 75 dpp ubicarse muy cerca de los demás grupos hasta el final del experimento. Como se muestra en la Figura 10A, la producción del lote DTM+DTM, que luego del pico a los 60 dpp evidenció una caída marcada hacia los 120 dpp, no logra una recuperación dentro de los 180 dpp.

No hubo efecto de la mastitis clínica (con y sin mastitis) sobre la producción de leche ($p = 0,20$, Cuadro 3), pero sí se observa una interacción entre tratamiento y mastitis ($p = 0,0091$, Cuadro 3). Esto determinó que en el tratamiento DTM+DTM, las vacas con mastitis produjeron menos que vacas sin mastitis ($27,02 \pm 0,58$ vs. $29,82 \pm 0,69$ kg/día), mientras que en DPM25+DTM y DPM25+DPM35 no se diferenciaron en producción las vacas con y sin mastitis (DPM25+DTM, $24,20 \pm 0,75$ vs. $24,26 \pm 0,48$ kg/día, enfermas vs. sanas respectivamente, y DPM25+DPM35 $25,69 \pm 0,68$ vs. $24,78 \pm 0,48$ kg/día, enfermas vs. sanas respectivamente) (Cuadro 4).

Cuadro 4: Efectos de la mastitis clínica sobre la producción de leche corregida por grasa (LCG).

Tratamiento	Enfermedad	Producción	Letra
DTM+DTM	Sin mastitis	$29,82 \pm 0,69$	A,a
	Con mastitis	$27,03 \pm 0,58$	B,a
DPM25+DTM	Sin mastitis	$24,26 \pm 0,48$	A,b
	Con mastitis	$24,20 \pm 0,75$	A,ab
DPM25+DPM35	Sin mastitis	$24,78 \pm 0,48$	A,b
	Con mastitis	$25,69 \pm 0,68$	A,b

Nota: Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas para cada tratamiento.

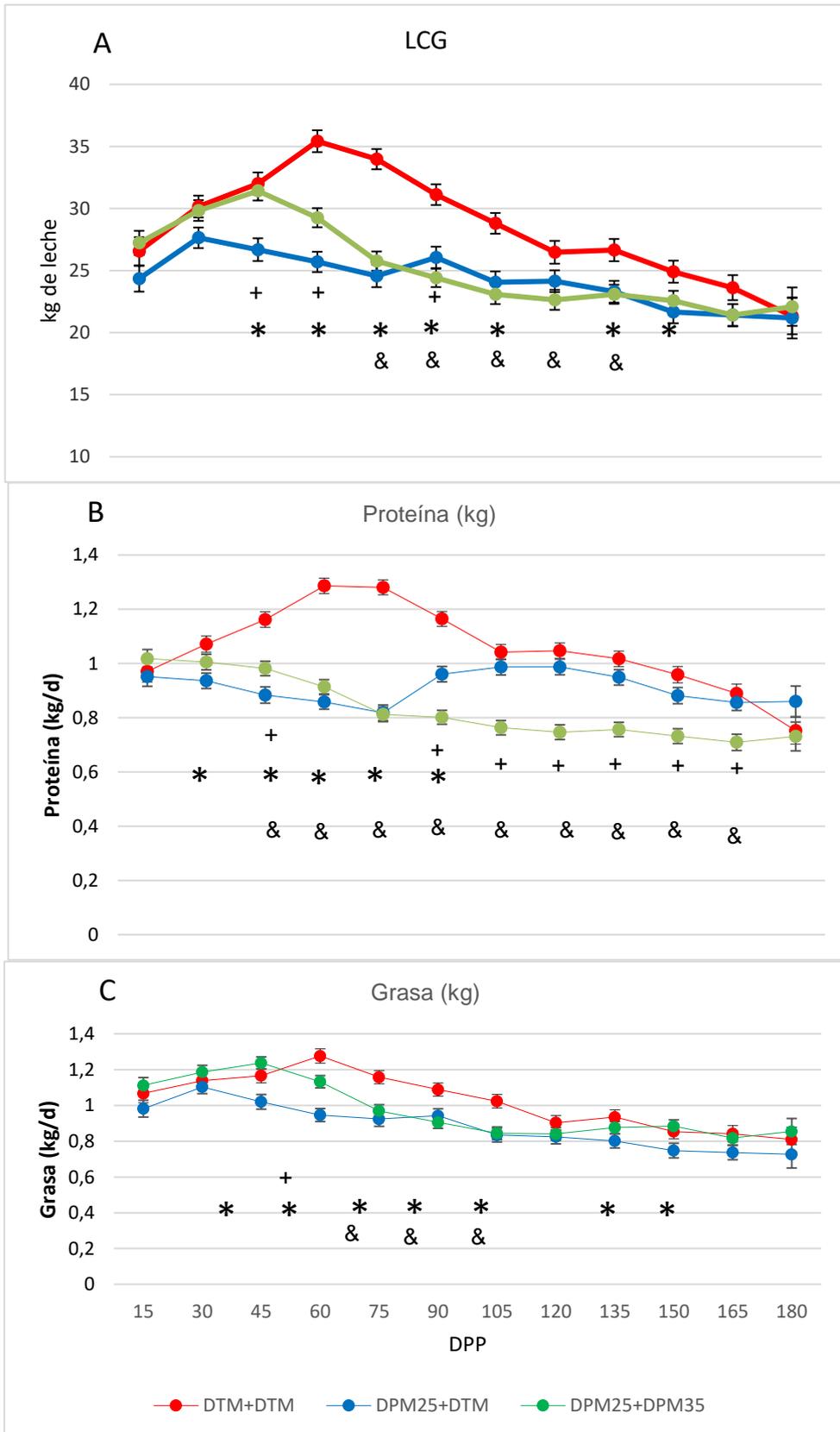


Figura 9: Producción de leche corregida por grasa (LCG), kg de proteína y kg grasa para los primeros 180 días posparto. Nota: (*) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DTM, (+) diferencias significativas entre DPM25+DTM y DPM25+DPM35 y (&) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DPM35 para cada parámetro.

7.2.2. Producción de proteína

El promedio diario de producción de proteína fue mayor para DTM+DTM ($1,05 \pm 0,02$ kg/día), mientras que DPM25+DPM35 fue el que produjo menos ($0,83 \pm 0,01$ kg/día), mientras que el grupo DPM25+DTM se ubicó entre los otros tratamientos ($0,91 \pm 0,02$ kg/día), ($p < 0,0001$, Cuadro 3). En los primeros 15 dpp no se observan diferencias significativas para producción diaria de proteína ($0,970 \pm 0,039$, $0,951 \pm 0,035$ y $1,018 \pm 0,034$ kg/día para DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35 respectivamente). A los 30 dpp el grupo DTM+DTM ($1,071 \pm 0,030$ kg/día) produjo por encima de DPM25+DTM ($0,936 \pm 0,028$ kg/día), y a partir de los 45 dpp DTM+DTM se ubicó por encima de los otros dos tratamientos hasta los 105 dpp. donde se iguala con DPM25+DTM, pero ambos se mantuvieron por encima de DPM25+DPM35, hasta los 180 dpp donde se igualan los tres tratamientos, ($p < 0,0001$, Cuadro 3) (Figura 10B).

7.2.3. Producción de grasa

El tratamiento afectó la producción de grasa ($p < 0,0001$, Cuadro 3), el grupo DPM25+DTM produjo menor cantidad diaria de grasa en comparación a los grupos DTM+DTM y DPM25+DPM35 ($0,88 \pm 0,02$ vs. $1,02 \pm 0,02$ y $0,97 \pm 0,02$ kg/día, respectivamente). Hubo, además, interacción entre tratamiento y dpp ($p < 0,0001$, Cuadro 3), sobre la producción de grasa. Las diferencias entre los tratamientos se evidencian a los 45 dpp siendo que DPM25+DTM produjo menor cantidad que DTM+DTM y DPM25+DPM35 ($1,02 \pm 0,04$ vs. $1,17 \pm 0,04$ y $1,24 \pm 0,03$ kg/día, respectivamente). A los 60 dpp la producción de DPM25+DPM35 fue superior a DPM25+DTM, pero inferior a DTM+DTM ($1,13 \pm 0,03$, $0,95 \pm 0,04$ y $1,28 \pm 0,04$ kg/día, respectivamente). Entre los 75 y 105 dpp no hubo diferencias entre DPM25+DTM y DPM25+DPM35, mientras que la producción de DTM+DTM es mayor. Hacia los 120 dpp no se evidencian diferencias significativas, pero entre los 135 y 150 dpp el grupo DPM25+DTM se ubica por debajo de DTM+DTM mientras que DPM25+DPM35 no se diferencia de ninguno, y hacia los 180 dpp desaparecen las diferencias (Figura 10C).

Cuadro 5: Producción promedio para los tres tratamientos de proteína (PR%), grasa (GR%) y lactosa (LC%) en leche.

	Tratamiento	Media	Letra
PR%	DTM+DTM	3,23±0,04	AB
	DPM25+DTM	3,31±0,04	A
	DPM25+DPM35	3,13±0,04	B
GR%	DTM+DTM	3,15±0,06	B
	DPM25+DTM	3,26±0,06	B
	DPM25+DPM35	3,65±0,06	A
LC%	DTM+DTM	4,78±0,05	A
	DPM25+DTM	4,75±0,06	A
	DPM25+DPM35	4,73±0,05	A
PR kg	DTM+DTM	1,05±0,02	A
	DPM25+DTM	0,91±0,02	B
	DPM25+DPM35	0,83±0,01	C
GR kg	DTM+DTM	1,02±0,02	A
	DPM25+DTM	0,88±0,02	B
	DPM25+DPM35	0,97±0,02	A

Nota: Letras diferentes entre filas indican diferencias significativas entre tratamientos.

7.2.4. Porcentaje de proteína de la leche

La concentración de proteína fue afectada por el tratamiento ($p=0,016$, Cuadro 3), donde DPM25+DTM ($3,31\pm 0,04\%$) fue mayor que DPM25+DPM35 ($3,13\pm 0,04\%$), mientras que DTM+DTM ($3,23\pm 0,04\%$) no mostró diferencias respecto a los demás. Se observó efecto de los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3), habiendo una reducción del porcentaje hacia los 60 dpp y estabilizarse a los 90 dpp. También se encontró una interacción entre dpp y tratamiento ($p<0,0001$), siendo que en los primeros 15 dpp DTM+DTM mostró menor porcentaje que los demás tratamientos y desde los 30 dpp se igualan los tratamientos hasta los 75 dpp donde DPM25+DPM35 se ubicó por debajo de DTM+DTM, y entre los 90 y 120 dpp. DTM+DTM y DPM25+DTM se ubicaron por encima de DPM25+DPM35, para igualarse hacia el final del experimento (Figura 10A).

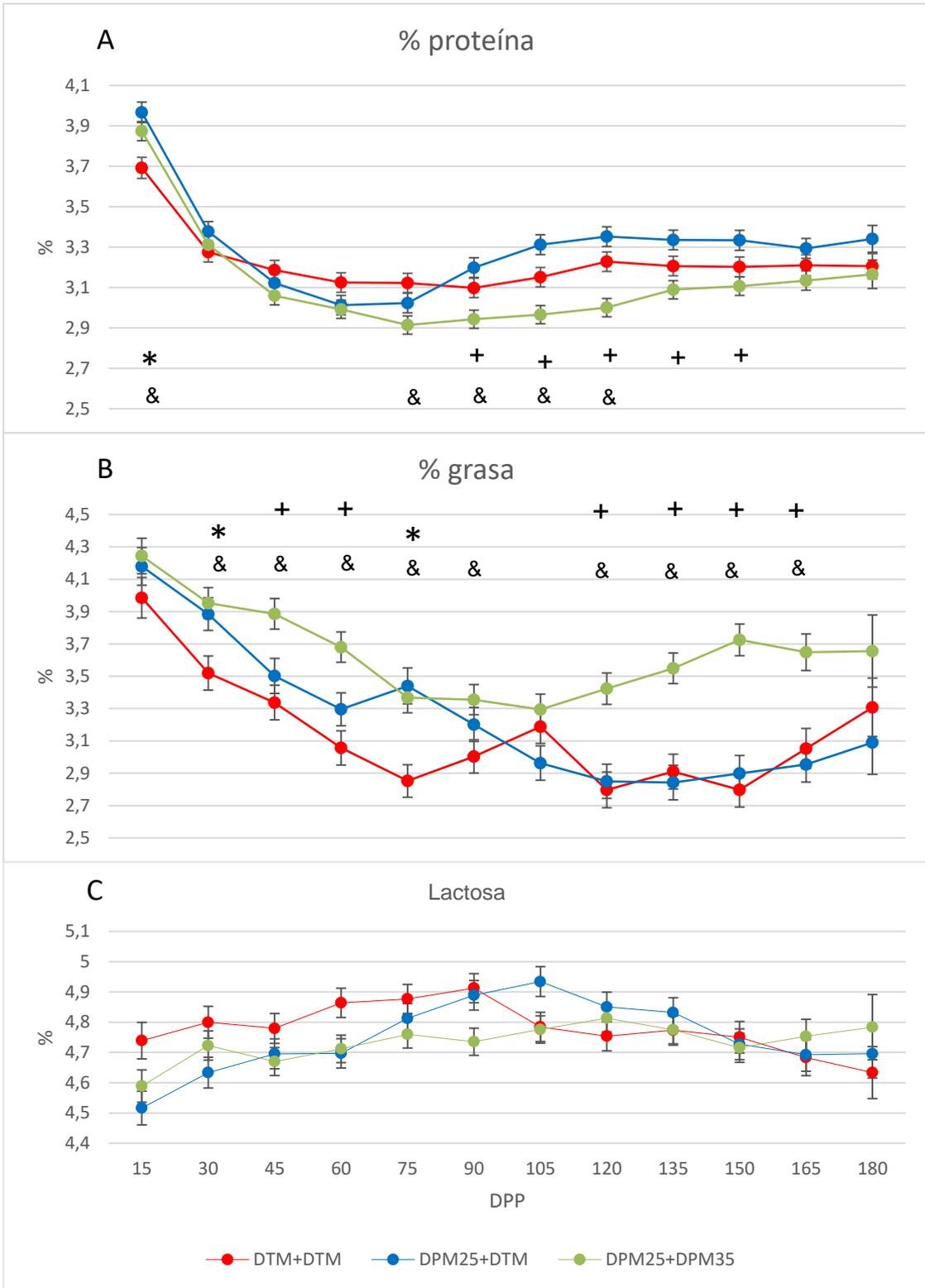


Figura 10: Porcentaje de proteína (A), grasa (B) y lactosa (C) durante los primeros 180 días posparto. Nota: (*) diferencias significativas DTM+DTM y DPM25+DTM, (+) diferencias significativas DPM25+DTM y DPM25+DPM35 y (&) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DPM35.

7.2.5. Porcentaje de grasa de la leche

La concentración de grasa fue afectada por los tratamientos ($p < 0,0001$, Cuadro 3), donde DTM+DTM y DPM25+DTM mostraron un menor porcentaje de grasa que DPM25+DPM35. Por otra parte, se observó efecto de los dpp ($p < 0,0001$, Cuadro 3), habiendo una caída hasta los 105 dpp para mantenerse estable hasta el final del experimento. También se observó una interacción entre los dpp y tratamiento ($p < 0,0001$, Cuadro 3), donde a los 30 dpp DTM+DTM se ubicó por debajo de DPM25+DTM y DPM25+DPM35, entre 45 y 60 dpp DTM+DTM y DPM25+DTM se ubicaron por debajo de DPM25+DPM35. Desde los 120 a los 165 dpp DTM+DTM y DPM25+DTM se ubican por debajo de DPM25+DPM35 y se igualan al final del período (Figura 10B).

7.2.6. Porcentaje de lactosa

No se encontró efecto de los tratamientos para la concentración de lactosa ($p = 0,4669$, Cuadro 3), pero se observó interacción entre tratamiento y dpp ($p = 0,0395$, Cuadro 3). En los primeros 15 dpp el tratamiento DTM+DTM produjo mayor cantidad que DPM25+DTM, mientras que este último no difirió de DPM25+DPM35. Estas diferencias se mantuvieron a los 60 dpp. A los 90 dpp, DTM+DTM se ubica por encima de DPM25+DPM35, mientras que no se diferencia de DPM25+DTM. A los 105 dpp DPM25+DTM presenta una mayor producción que DPM25+DPM35, mientras que no se diferencia de DTM+DTM, y las diferencias desaparecen hacia los 180 dpp (Figura 10C).

7.2.7. Recuento de células somáticas

No se observó efecto de los tratamientos sobre RCS ($p = 0,8668$, Cuadro 3). No se observó interacción entre tratamiento y enfermedad ($p = 0,3443$, Cuadro 3). Hubo efecto de los dpp ($p < 0,0001$, Cuadro 3), donde se observa un aumento a partir de los 90 dpp y hasta los 120 dpp. (Figura 11).

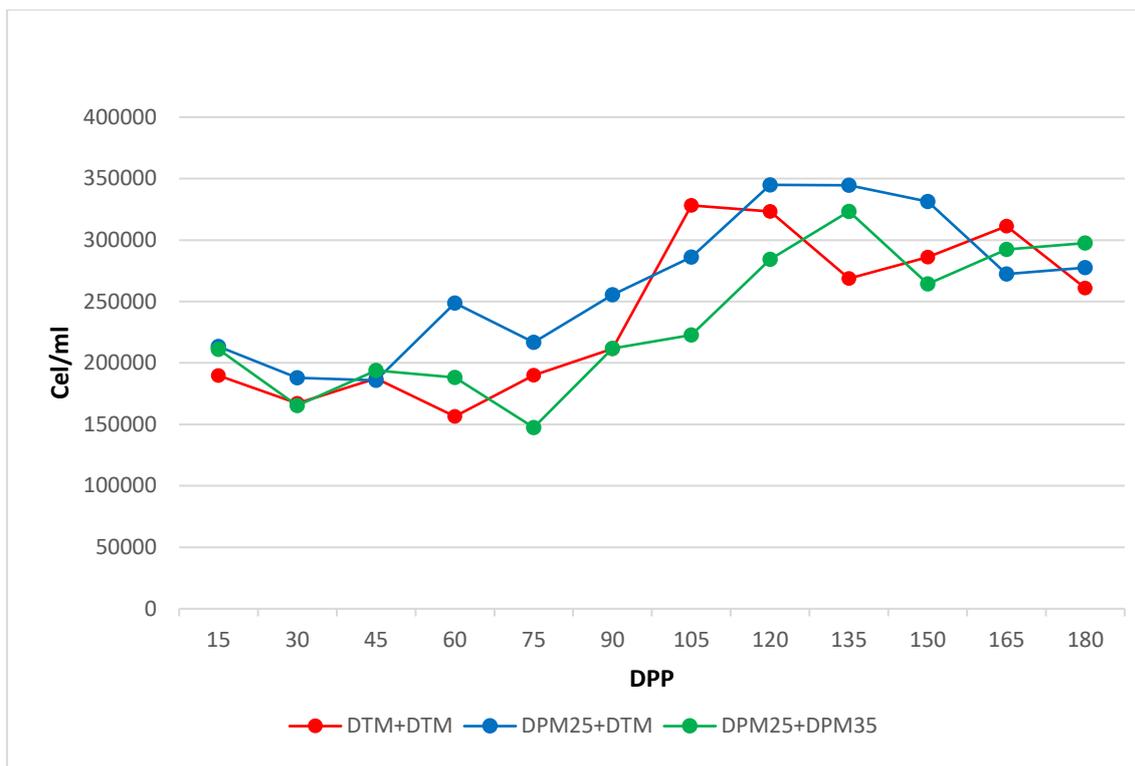


Figura 11: Recuentos de células somáticas (RCS) por mililitro a lo largo del experimento. Nota: (*) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DTM, (+) diferencias significativas entre DPM25+DTM y DPM25+DPM35 y (&) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DPM35.

Se observó efecto de la mastitis sobre RCS ($p < 0,0001$, Cuadro 3), siendo $151182 \pm 1,07$ cel/mL para vacas sin mastitis y $377398 \pm 1,09$ cel/mL para vacas con mastitis (cuadro 4).

Cuadro 6: Efecto de las mastitis clínicas sobre el recuento de células somáticas (RCS).

Enfermedad	RCS	Letra
Con mastitis	$377398 \pm 1,09$	A
Sin mastitis	$151182 \pm 1,07$	B

Nota: Letras diferentes indican diferencias significativas.

7.3. Parámetros energéticos

7.3.1. Estado corporal

El EC no fue afectado por el tratamiento ($p=0,36$, Cuadro 3), siendo la media de $2,85\pm 0,05$, $2,78\pm 0,07$ y $2,74\pm 0,05$ para DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35 respectivamente. Sí fue afectado por los días posparto ($p<0,0001$, Cuadro 3), habiendo una caída del EC al parto, que luego se mantiene relativamente estable hacia el final del período. Por otra parte, se observó interacción entre tratamientos y dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3), donde las diferencias se hacen evidentes a los 150 dpp, donde DTM+DTM y DPM25+DTM muestran una recuperación, y se observan diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DPM35, que desaparecen hacia el final del experimento, siendo el EC al final del experimento similar para los tres tratamientos (Figura 12A). No se observó efecto de la enfermedad sobre el EC ($p=0,21$, Cuadro 3).

7.3.2. NEFA

No se observa efecto de los tratamientos para NEFA ($p=0,19$, Cuadro 3), siendo la concentración promedio $0,36\pm 0,03$, $0,38\pm 0,03$ y $0,43\pm 0,03$ mmol/L, para DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35 respectivamente. Se observó efecto de los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3), aumentando desde el parto hasta los 15 dpp y descendiendo hacia los 75 dpp (Figura 12B). No se evidencia interacción entre tratamientos y dpp ($p=0,49$, Cuadro 3).

7.3.3. BHB

La concentración de BHB fue afectada por los tratamientos ($p=0,0096$, Cuadro 3), ubicándose DTM+DTM ($0,49\pm 0,06$ mmol/l) por debajo de DPM25+DPM35 ($0,74\pm 0,06$ mmol/L), mientras que DPM25+DTM ($0,64\pm 0,06$ mmol/l) no se diferenció de los demás. Se observó efecto de los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3), habiendo un aumento desde el parto hasta los 15 dpp para DTM+DTM y DPM25+DTM y hasta los 30 dpp para el caso de DPM25+DPM35. Además, la concentración de BHB descende a los 30 dpp para DTM+DTM y a los 90 dpp para DPM25+DTM y DPM25+DPM35. También se observó interacción entre tratamientos y dpp ($p=0,0009$, Cuadro 3), donde se evidenciaron diferencias entre DTM+DTM y DPM25+DTM entre los 15 y 45 dpp, y entre DTM+DTM y DPM25+DPM35 entre los 30 y 60 dpp en donde DTM+DTM se mantuvo por debajo de los demás tratamientos (Figura 12C).

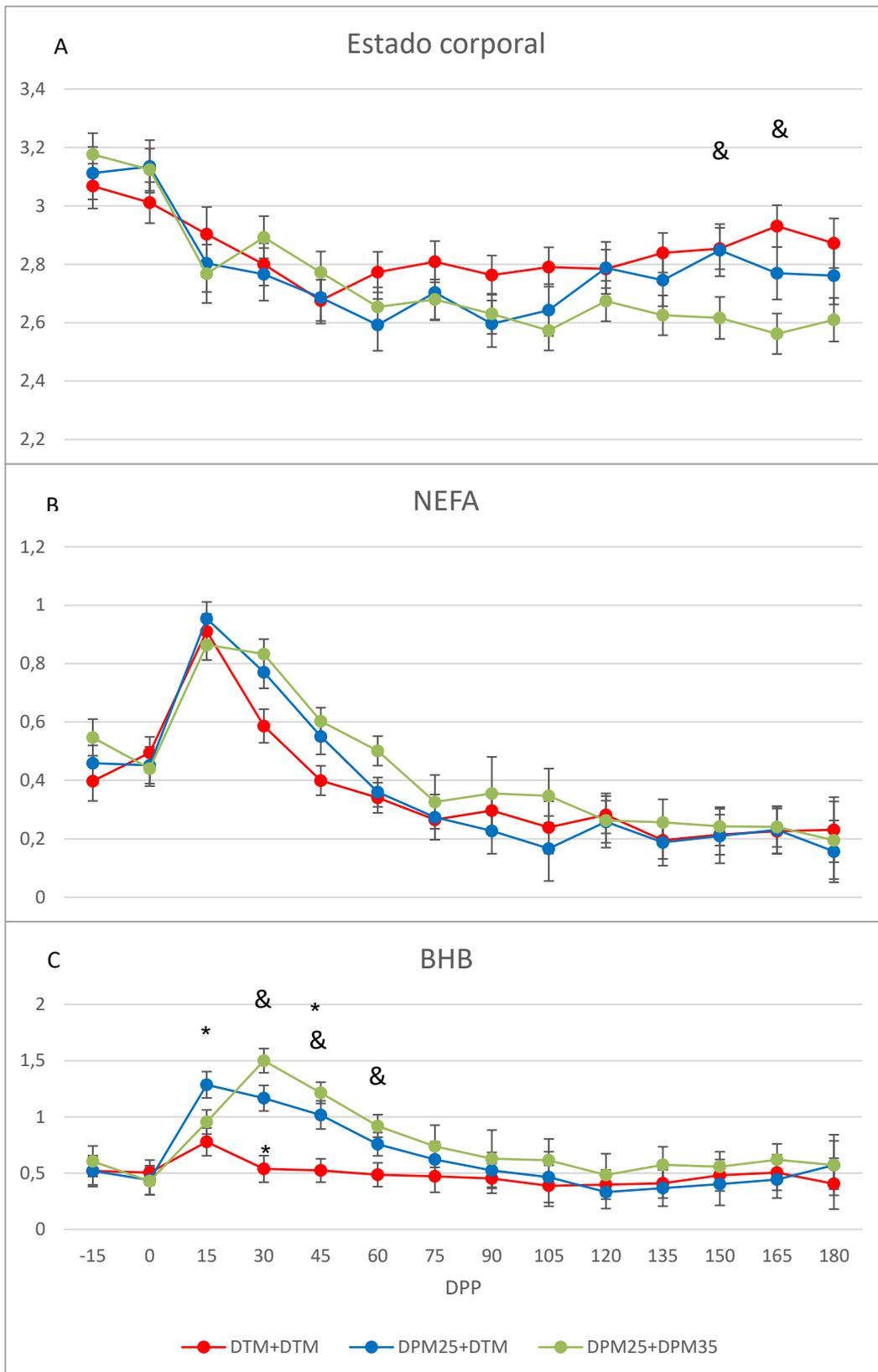


Figura 12: (A), Evolución de estado corporal (EC); (B), ácidos grasos no esterificados (NEFA); y (C) β -hidroxibutirato (BHB), durante los primeros 180 dpp. **Nota:** (*) diferencias significativas entre DTM+DM y DPM25+DTM, (+) diferencias significativas entre DPM25+DTM y DPM25+DPM35 y (&) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DPM35.

7.4. Parámetros sanguíneos

7.4.1. Proteínas totales

No hubo diferencias significativas entre los tratamientos para la concentración de PT ($p=0,1332$, Cuadro 3), siendo DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35 $74,34\pm 0,83$, $76,20\pm 0,90$ y $73,75\pm 0,86$ g/l, respectivamente. PT fueron afectadas por los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3), donde se encontró un descenso hacia el parto que luego aumenta hasta los 45 dpp y que se mantiene estable hasta el final del experimento. No se observó interacción entre tratamiento y dpp ($p=0,4657$, Cuadro 3, Figura 13A).

7.4.2. Albúmina

La concentración de albúmina no mostró diferencias entre los tratamientos ($p=0,1913$, Cuadro 3); la concentración media de albúmina fue de $33,64\pm 0,40$, $32,65\pm 0,41$ y $32,95\pm 0,40$ g/l, para DTM+DTM, DPM25+DTM y DPM25+DPM35, respectivamente. Tampoco fue afectada por los dpp ($p=0,2451$) (Figura 13B).

7.4.3. Globulinas

Hubo efecto de los tratamientos sobre la concentración de globulina sérica ($p=0,01$, Cuadro 3). El grupo DPM25+DTM tuvo mayor concentración de globulinas, respecto a DTM+DTM y DPM25+DPM35 ($44,18\pm 0,62$ vs. $41,87\pm 0,61$ y $40,86\pm 0,60$ g/l, respectivamente). Por otro lado, las globulinas fueron afectadas por los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3); se observó una disminución hacia el parto que comienza a recuperarse a los 15 dpp hasta los 45 dpp para luego estabilizarse (Figura 13C).

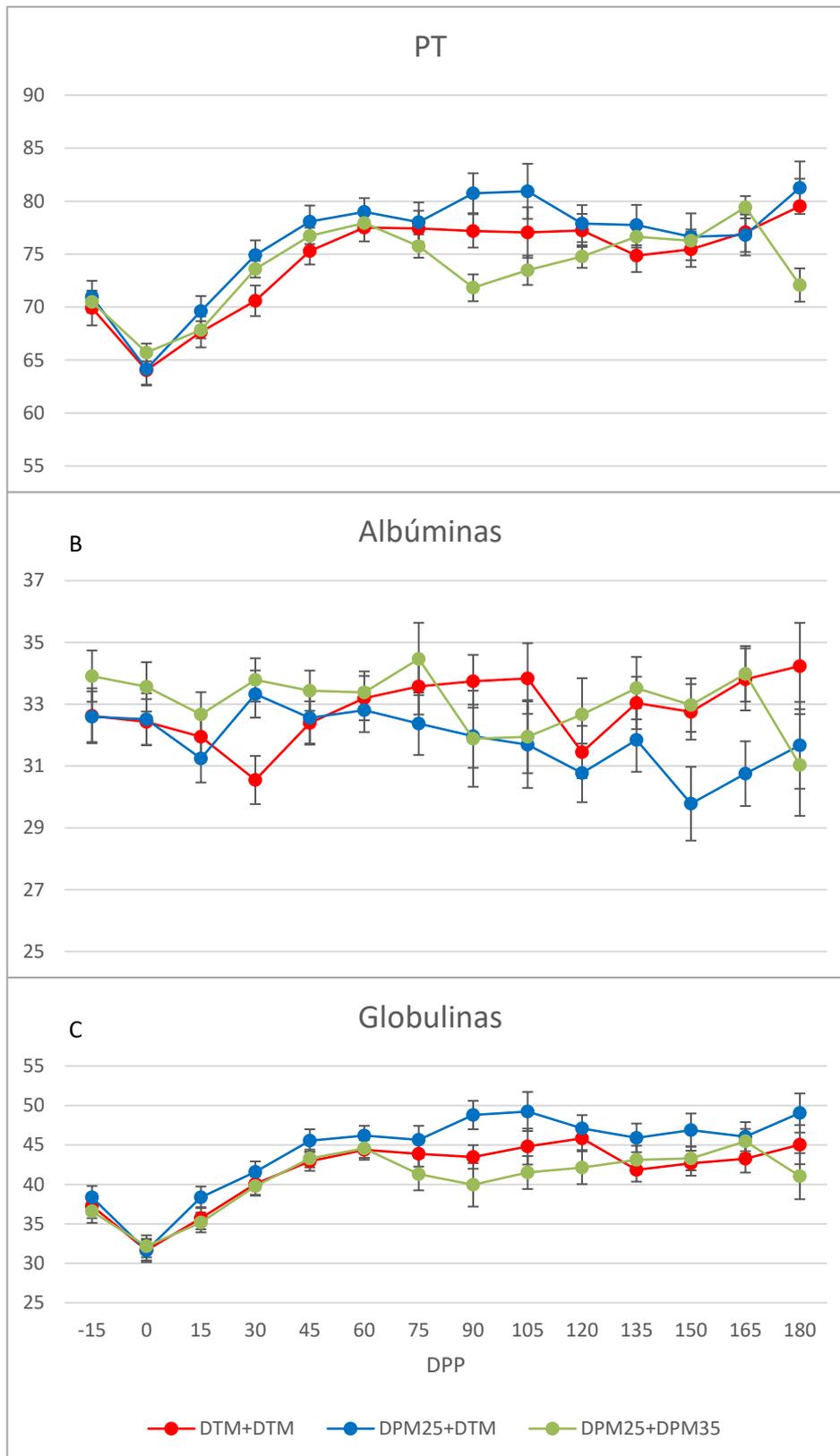


Figura 13: Niveles séricos de proteínas totales (PT) (A), albúmina (B) y globulinas (C) desde los 30 días previos y hasta los 180 días posparto.

7.5. Parámetros endócrinos: Insulina e IGF-I

No se observó efecto de los tratamientos sobre la insulina ($p=0,11$, Cuadro 3), pero se encontró efecto de los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3) e interacción de los tratamientos con dpp ($p=0,005$, Cuadro 3), donde a los 30 dpp DTM+DTM ($10,53\pm 1,09$ UI/L) se ubicó por encima de DPM25+DTM y DPM25+DPM35 ($4,87\pm 1,10$ y $5,66\pm 0,97$ UI/L, respectivamente), a los 45 y 75 dpp DTM+DTM ($10,17\pm 1,07$ y $15,08\pm 2,13$ UI/L, respectivamente) mostró una mayor concentración que DPM25+DPM35 ($5,91\pm 0,96$ y $8,37\pm 1,54$ UI/L, respectivamente), mientras que DPM25+DTM ($6,95\pm 1,12$ y $10,20\pm 1,46$ UI/L, respectivamente) no se diferenció de los demás. A los 150 dpp DPM25+DTM ($21,40\pm 1,60$ UI/L) se ubicó por encima de DPM25+DPM35 ($11,53\pm 1,83$ UI/L), mientras que DTM+DTM ($18,10\pm 2,72$ UI/L) no difirió de los demás (figura 14A).

La concentración de IGF-I fue afectada por los tratamientos ($p=0,0006$, Cuadro 3), siendo menor la concentración en DPM25+DPM35 ($60,47\pm 4,35$ ng/mL) respecto a DTM+DTM y DPM25+DTM ($85,65\pm 4,94$ y $76,85\pm 4,66$ ng/mL, respectivamente). Se encontró efecto de los dpp ($p<0,0001$, Cuadro 3), y también se observó interacción entre tratamiento y dpp ($p=0,0008$, Cuadro 3), siendo en torno al parto DTM+DTM ($73,85\pm 6,38$ ng/mL) menor que DPM25+DPM35 ($89,29\pm 6,20$ ng/mL) y DPM25+DTM ($94,96\pm 6,21$ ng/mL) no difirió de los demás. A los 45 y 60 dpp DTM+DTM ($77,17\pm 6,34$ y $82,93\pm 6,37$ ng/mL) fue mayor a DPM25+DTM ($48,30\pm 6,73$ y $50,29\pm 6,07$ ng/mL) y DPM25+DPM35 ($40,81\pm 5,74$ y $46,88\pm 5,73$ ng/mL). A los 120 dpp encontramos que DPM25+DTM ($113,73\pm 10,30$ ng/mL) fue superior a DPM25+DPM35 ($67,23\pm 9,97$ ng/mL) y DTM+DTM ($102,86\pm 15,25$ ng/mL) no difirió de los demás. A los 135 y 150 dpp se encontró que DTM+DTM ($116,88\pm 13,94$ y $122,26\pm 15,52$ ng/mL) y DPM25+DTM ($100,67\pm 9,92$ y $96,91\pm 9,42$ ng/mL) fueron superiores a DPM25+DPM35 ($60,47\pm 10,06$ y $57,33\pm 10,58$ ng/mL), no observando diferencias entre sí (figura 14B).

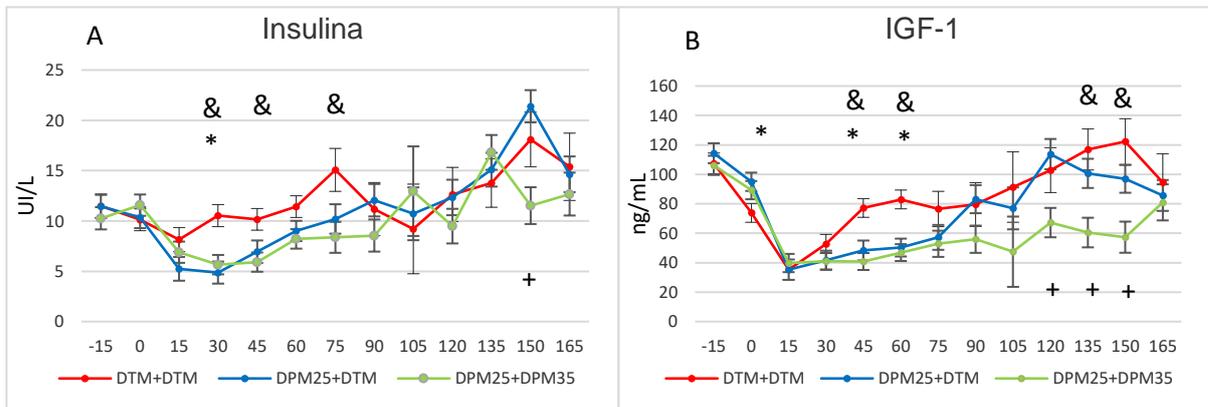


Figura 14: Concentración sérica de insulina (A) e IGF-1 (B), comportamiento desde los 30 días previos hasta los 180 días posteriores al parto. Nota: (*) diferencias significativas DTM+DM y DPM25+DTM, (+) diferencias significativas DPM25+DTM y DPM25+DPM35 y (&) diferencias significativas entre DTM+DTM y DPM25+DPM35.

8. Discusión

El estatus metabólico de las vacas se vio afectado por la estrategia de manejo y alimentación, lo que se tradujo en cambios en los niveles productivos. Además, la presencia de mastitis clínica evidenció pérdidas productivas relevantes para vacas estabuladas. Las estrategias que se probaron para mitigar los efectos del estrés determinaron diferencias entre los tratamientos.

Los tratamientos DPM25+DTM y DPM25+DPM35 presentaron una producción 14,7 y 11,2% menor, respectivamente, respecto a DTM+DTM; esto coincide con lo reportado por otros autores, lo que estaría asociado al tipo de alimentación y sistema de manejo, ya que DTM+DTM recibió una dieta balanceada, con mayor concentración energética y un menor consumo de MS de vacas en pastoreo (Kolver y Müller 1998), posiblemente debido a un mayor contenido de FDN (36,0 y 55,3% para DTM y pasturas respectivamente). También se puede asociar a limitación física, la tasa de pasaje y consumo de agua asociado al pastoreo (Bargo y col. 2008), especialmente durante la primavera y verano, siendo que el agua se ofreció únicamente en las cercanías de la sala de ordeño y durante el período de encierro.

La curva de lactancia del grupo DTM+DTM muestra un comportamiento similar al descrito por Wood y col. (1967), logrando el pico a los 60 dpp, situación que se dio antes y con una magnitud menor para DPM25+DTM y DPM25+DPM35. Además, se mantuvo por encima durante casi todo el experimento luego de los 45 dpp, similar a lo que encontraron Meikle y col. (2013b), lo que sería esperable debido a una menor magnitud del BEN que se reflejó en una disminución de los niveles de BHB y en una menor pérdida de EC de DTM+DTM.

Por otro lado, DPM25+DTM luego del cambio de estrategia no logra igualar la producción de DTM+DTM, lo que estaría evidenciando un efecto residual de la alimentación en los primeros 75 dpp tal como lo describen otros autores (Acosta y col. 2010, Bjerre-Harpeth y col. 2012 y Chilbroste 2012), quienes encontraron que vacas con mejores planos de alimentación en lactancia temprana mostraron, luego, una producción mayor con un mismo plano nutricional. Por lo tanto, la estrategia de alimentación y de manejo que se utilizó en los meses de verano no fue suficiente para que las vacas alcanzaran el potencial que habían alcanzado las vacas del DTM+DTM. Sin embargo, hubo un efecto de la estrategia en la ganancia de EC del grupo DPM25+DTM ya que alcanza valores similares a DTM+DTM, a diferencia de lo que sucedió con las vacas del DPM25+DPM35, posiblemente asociado a un balance energético más favorable, que estaría evidenciado por un aumento de los niveles de IGF-I para DTM+DTM y DPM25+DTM respecto a DPM25+DPM35, lo cual habría evidenciado una correlación positiva con el balance energético (van Hoesj y col. 2017).

Un aspecto relevante fue el comportamiento de la producción del lote DTM+DTM, que luego del pico evidenció una caída marcada hacia los 120 dpp que no se logró recuperar hasta el final del experimento. Esta situación se puede asociar con el incremento del ITH que se evidencia desde la semana 14 del experimento, y que luego de la semana 23 superó el valor de 70. Este resultado es coincidente con los reportes de otros autores que encontraron que vacas expuestas a situaciones de ITH mayor a 65 mostraron pérdidas en producción de leche, grasa, proteína y concentración de grasa y proteína (Oullet y col

2019), pérdidas productivas, reproductivas y problemas de salud (Valtorta 1983, Salio y Das 2016), ya que las condiciones con las que contaron las vacas de DTM+DTM fueron solamente acceso a agua y sombra, no contando con mecanismos adicionales para mitigar los efectos del estrés calórico.

DTM+DTM produjo más proteína con una concentración similar a los demás tratamientos, lo que coincide con lo reportado por otros autores, asociado a consumos mayores de energía total en la dieta a base de almidón (Kolver y Muller 1998 y Bargo y col. 2002a) y a mayor producción de leche (litros). La concentración de proteína mostró un descenso para todos los tratamientos hasta los 45 dpp posiblemente asociado a un efecto dilución por un incremento del volumen, pero no se modificó la producción diaria para DPM25+DTM y DPM25+DPM35, mientras que para DTM+DTM aumentó posiblemente asociado al mayor aporte de almidón en la dieta (Bargo y col. 2008).

En cuanto a la producción de grasa se encontró que DPM25+DTM produjo 13,7% menos que DTM+DTM, lo que podría ser explicado por una mayor producción de leche de DTM+DTM asociado a una concentración similar, mientras que DPM25+DPM35 no se diferenció de DTM+DTM, lo que se puede asociar a una concentración mayor de DPM25+DPM35, pero con una menor producción de leche. La mayor concentración de grasa en tratamiento de pastoreo es coincidente con lo reportado por otros autores (Bargo y col. 2002a, Bargo y col. 2008), asociado a un mayor consumo de fibra.

En cuanto al EC se encontró que se comportó en concordancia con lo descrito por otros autores, con una caída del EC luego del parto y que se comienza a recuperar a medida que avanza la lactancia, coincidente con los requerimientos para producción de leche elevados al inicio de la lactancia asociado a una disminución del consumo (Gong y col. 2002, Janovick y Drackley 2010, Meikle y col. 2010, Ruprechter y col. 2018). El EC de DPM25+DPM35 fue significativamente menor que DTM+DTM a partir de los 135 dpp, esto podría estar explicado por recuperación mayor de DTM+DTM y DPM25+DTM asociado a un mejor balance energético debido a un mayor consumo de MS y una mayor concentración energética en la dieta (Bargo y col. 2008, Fajardo y col. 2015).

El comportamiento de los NEFA concuerda con lo reportado en la bibliografía, con un incremento luego del parto, llegando a niveles máximos a los 15 dpp, lo que sugiere una alta movilización de reservas asociada al incremento de los requerimientos y una disminución del consumo, que luego descienden para estabilizarse hacia la lactancia media, concordante con la disminución del EC (Bargo y col. 2002b, Meikle y col. 2010 y Ruprechter y col. 2018). Dentro de los 15 días previos al parto la concentración de NEFA no difiere entre los tratamientos ubicándose por debajo de 0,5 mmol/L para DTM+DTM y DPM25+DPM35. En el caso de DPM25+DTM la concentración de NEFA se ubicó en $0,5 \pm 0,09$ mmol/L, concentración a la que Le Blanc y col (2005) encontraron un mayor riesgo de desplazamiento de abomaso y metritis, mientras que Dubuc y col (2010) describen 0,6 mmol/L como el umbral donde aumenta el riesgo de enfermar.

Cuando se evaluó BHB, se encontró que no hubo diferencias entre los tratamientos en los valores promedios, encontrando a los 15 dpp un valor por encima de 1,2mmol/L para DPM25+DTM y DPM25+DPM35, concentración a la que según Duffield y col. (2009) se incrementa el riesgo de problemas de salud y Ospina y col. (2010) describe 1 mmol/L como nivel crítico para el incremento de enfermedades (DA, cetosis clínica y metritis).

En cambio, hubo diferencia a los 30 dpp donde DTM+DTM se ubicó por debajo de DPM25+DPM35. Esto se podría explicar por la mayor concentración energética de la dieta de DTM+DTM, por lo que la magnitud del BEN sería menor y por lo tanto se vería una menor producción o mayor eliminación de cuerpos cetónicos como lo reportan otros autores (Bertics y col 1992, Kolver y Müller 1998 y Meikle y col. 2010). Observando el comportamiento de NEFA y BHB en conjunto queda de manifiesto que si bien la movilización de reservas, medida a través de los NEFA, fue similar para los tres tratamientos no fue así el nivel de producción de cuerpos cetónicos, lo que podría significar una disminución de la capacidad hepática para eliminar los mismos, que se traduce en mayor riesgo de problemas de salud según lo descrito por Bionaz y col (2007).

La concentración de PT no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, situación diferente a lo encontrado por Meikle y col. (2013), posiblemente asociado a que estos autores trabajaron con vacas primíparas, ubicándose dentro del rango de referencia (Cozzi y col. 2011 y Moretti y col. 2017). Se observó un comportamiento similar al descrito por otros autores en vacas lecheras (Meikle y col. 2013), con un descenso al parto para un aumento en el posparto, asociado a la reducción del consumo y el BEN (Adrien y col. 2012). Además, los valores se ubican dentro del rango de referencia de 48,3 a 83,4 g/L al parto y 59,8 a 95,7 g/L a los 30 dpp (Moretti y col. 2017).

Las albúminas no fueron afectadas por los tratamientos ni por los dpp, lo que difiere de lo reportado por Meikle y col. (2010), quienes reportan un descenso al parto que acompaña al descenso de PT, hecho que puede indicar que el riesgo de enfermedades no sería similar al reportado por estos autores, ya que las albúminas son proteínas de fase aguda negativas (Martinez-Subiela y col. 2001), que se encuentran disminuidas en caso de respuesta de fase aguda. La concentración de globulinas fue mayor para DPM25+DTM, lo que se podría asociar a problemas de adaptación, ya que luego del cambio de manejo los niveles de globulinas se incrementan por encima de los demás tratamientos, ya que se podría observar un aumento de inmunoglobulinas asociado a una respuesta inflamatoria (Ingvarsen y col. 2003). Si bien no se encontraron referencias que lo vinculen, no se descarta que este incremento en la concentración de globulinas pueda deberse a problemas de adaptación ruminal por el cambio brusco de la dieta en este grupo, situación que fue reportada por Grille y col (2019) en un trabajo realizado sobre el mismo experimento, quienes reportaron alteraciones en el comportamiento luego del cambio de dieta. La disminución de los niveles de globulinas al parto coincide con lo reportado por otros autores (Brscic y col. 2015), que lo asocian al desbalance durante el período de transición, asociado a la disminución de los leucocitos circulantes y del sistema inmune en general, responsables de la producción de inmunoglobulinas (Ingvarsen y col. 2003).

No se observó efecto de la estrategia de manejo y alimentación para la concentración de insulina, coincidente con lo reportado por otros autores (Astessiano y col. 2017). En cuanto a la concentración sanguínea de insulina a lo largo del experimento se observó un descenso luego del parto que luego comienza una lenta recuperación, similar a lo reportado por otros autores (Gong y col. 2002 y Meikle y col. 2004), quienes describen un descenso de la insulina en torno al parto que luego se recupera lentamente en los 50 días de lactancia. Este comportamiento se ha asociado a la disminución del consumo y el BEN al inicio de la lactancia (Meikle y col 2010). Por otro lado, se observó que la

recuperación de DTM+DTM fue anterior que los demás tratamientos (30 dpp), esto concuerda con lo reportado por Meikle y col. (2013), que encontraron una recuperación más rápida en vacas con DTM *ad libitum* y se podría asociar a la recuperación del balance energético más rápidamente. A los 150 dpp las vacas del lote DPM25+DPM35 mostraron una menor concentración de insulina que DPM25+DTM, situación que podría evidenciar un mayor efecto del estrés calórico para las vacas en pastoreo que no logran recuperar al consumo de alimento a pesar de que la oferta no fue una limitante, como lo reportan De Rensis y Scaramuzzi (2003), quienes asocian efectos del estrés calórico a un BEN, asociado a reducción de consumo de MS.

La concentración de IGF-I fue mayor en DTM+DTM y DPM25+DTM, esto podría estar asociado a la alimentación, como lo reportaron Astessiano y col. (2013), quienes encontraron mayor concentración en animales suplementados. Se observó efecto de los días posparto observando una disminución marcada luego del parto. Esto podría estar asociado a los efectos de la GH en la regulación del sistema endócrino en este momento fisiológico, lo que favorece el catabolismo periférico que soporta la lactancia en este período de BEN (Meikle y col. 2004, Meikle y col. 2010 y Adrien y col. 2010). Se observó además que el grupo DTM+DTM recuperó antes los niveles de IGF-1 respecto a los otros tratamientos, lo que coincide con lo reportado por otros autores asociado a la menor duración del BEN en vacas estabuladas (Meikle y col. 2013). Además, DPM25+DTM luego del cambio de estrategia muestra un aumento respecto a DPM25+DPM35, situación que Meikle y col. (2013) asocian a una mayor concentración energética de la dieta ofrecida, pero que también se ha encontrado evidencia que la exposición a una situación de mayor estrés por calor tendió a tener una menor concentración de IGF-I que vacas que no fueron expuestas a estrés, incluso cuando se le generó una restricción en la dieta (McGuire y col 1991).

En DTM+DTM la producción de vacas que presentaron mastitis clínica fue significativamente menor que las sanas (9,4%), no encontrando diferencias para los demás tratamientos. La producción de vacas sanas fue significativamente mayor en DTM+DTM respecto a DPM25+DTM y DPM25+DPM35 (11,9 y 16,9% respectivamente), y para vacas enfermas DTM+DTM y DPM25+DPM35 no muestran diferencias significativas, mientras que DPM25+DTM presentó una producción significativamente menor que DTM+DTM (10,5%). Estos resultados evidencian las pérdidas de producción en aquellas vacas con eventos de mastitis, coincidentemente con los reportado Gonzalves y col. (2018), quienes encontraron una disminución en la producción debida a mastitis. Situación similar que fue reportada, donde se asociaron a pérdidas productivas en vacas con RCS por encima de 100 mil/mL (Sharma y col 2011). Los efectos de la mastitis no se evidenciaron en los tratamientos con acceso al pastoreo, posiblemente asociado a que el potencial productivo fue restringido por causas nutricionales como se ha descrito (Acosta y col. 2010, Bjerre-Harpeth y col. 2012 y Chilibroste 2012), que no permitieron expresar el potencial productivo en vacas sanas.

Del aislamiento a vacas con mastitis clínica y subclínica se encontró que *Staphylococcus aureus* fue el agente más aislado en todos los tratamientos, esto coincide con lo descrito por Giannechini y col. (2002), quienes encontraron una mayor prevalencia de este. Sin embargo, otros autores destacan un cambio en la prevalencia asociado a de este agente luego de la implementación del plan de control de 5 puntos

(Ruegg 2012). En este trabajo se podría asociar a que se trató de un establecimiento comercial con un plan de control inadecuado de la enfermedad, que se puede reflejar en el comportamiento del RCS, que mostró un aumento hacia el final del experimento independientemente de los tratamientos. Esto puede estar explicado por el mayor riesgo a desarrollar mastitis crónicas a medida que avanza la lactancia, como ha sido reportado por Cardozo y col. (2015). Estos autores reportaron una tasa de riesgo (OR) de 2,6 (IC95%: 1,84-3,68) para vacas entre 101 y 200 días de lactancia. El comportamiento del RCS fue consistente con los agentes bacterianos aislados, de naturaleza contagiosa y crónica, quienes muestran un incremento mayor de RCS respecto a los patógenos ambientales (Sharma y col 2011). Además de los agentes contagiosos, en las vacas de DTM+DTM se aislaron *E. coli* y *Streptococcus disgalactiae*, ambos agentes de origen ambiental, que se asocian a sistemas de encierro permanente debido a que permanecen en camas con mayor carga de patógenos y asociados a la acumulación de estiércol (Schukken y col. 1991 y Ruegg 2012).

9. Conclusiones

Vacas que ingresan a un sistema estabulado con DTM luego del parto lograron una mayor producción de leche y mejor estatus metabólico respecto a vacas en pastoreo con suplementación sin restricciones de asignación de forraje. A su vez, en condiciones de encierro a cielo abierto no se logra mitigar el efecto del estrés por calor. En tanto que vacas que comienzan su lactancia en pastoreo, cuando ingresan a sistemas estabulados durante el verano no logran recuperar niveles productivos similares a vacas que se mantienen en estabulación, pero sí logran una recuperación de EC respecto a vacas que se mantienen en pastoreo.

Las estrategias de manejo y alimentación que se lleven adelante luego del parto en primavera pueden determinar las posibilidades de las vacas de lograr mayores potenciales productivos, asociados a menor BEN que se puede observar en el perfil de BHB, comportamiento de insulina e IGF-1 y pérdida de EC postparto controlada.

Vacas que presentaron casos clínicos de mastitis mostraron una pérdida de producción de un 9,4% respecto a las vacas sin mastitis en el sistema 100% estabulado.

10. Bibliografía

- Acosta Y. M., Karlen H., Villanueva N., Mieres J. M. y La Manna A. (2010). Intensificación: el rol de la alimentación. Jornada técnica de lechería. Agosto, San José. P55-62.
- Adrien L., Mattiauda D., 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(2):292-299.
- ADRIEN, M. L. 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. Facultad de Veterinaria.
- Astessiano A. L., Carriquiry M., Mattiauda D. A. Adrien M. L. Chilibroste P. y Meikle A. (2017). Endometrial gene expression in primiparous dairy cows at the end of the voluntary waiting period is affected by nutrition: Total mixed ration vs increasing levels of herbage allowance. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(5):798-805.
- Astessiano A. L., Pérez-Clariget R, Espasandín A. C., López-Mazz C., Soca P. y Carriquiry M. (2013). Metabolic, productive, and reproductive responses to postpartum short-term supplementation in primiparous beef cows. *R. Bras. Zootec.* 42:246-253
- Barca, J., Carriquiry, M., Olazabal, L., Fajardo, M., Chilibroste, P., & Meikle, A. (2017). Milk fatty acid profile from cows fed with mixed rations and different access time to pastureland during early lactation. *J Animal Physiol Anim Nutr*, 2017:1–10.
- Bargo F., Muller L. D., Kolver E. S. y Delahoy J. E. (2008). Invited Review: Production and Digestion of Supplemented Dairy Cows on Pasture. *J. Dairy Sci.* 86:1-42.
- Bargo F., Muller L., Delahoy J., Cassidy T. (2002a). Milk Response to Concentrate Supplementation of High Producing Dairy Cows Grazing at Two Pasture Allowances. *J. Dairy Sci.*; 85:1777-1792.
- Bargo F., Muller L., Delahoy J., Cassidy T. (2002b). Performance of High Producing Dairy Cows with Three Different Feeding Systems Combining Pasture and Total Mixed Rations. *J. Dairy Sci.*; 85:2948-2963.
- Bauman D., Currie W. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci.* 63:1514-1529.
- Beede D.K. y Collier R.J. (1986). Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci.* 62:543-554.
- Bertics, S. J., Grummer, R. R., Cadorniga-Valino, C., & Stoddard, E. E. (1992). Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *Journal of dairy science*, 75(7), 1914-1922.
- Bertoni G., Trevisi E., Han X., y Bionaz M. (2008). Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:3300-3310.
- Bionaz M., Trevisi E., Calamari L., Librandi F., Ferrari A. y Bertoni G. (2007). Plasma Paraoxonase, Health, Inflammatory Conditions, and Liver Function in Transition Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 90:1740-1750.
- Bjerre-Harpøth V., Friggens N. C., Thorup V. M., Larsen T., Damgaard B. M., Ingvarsen K. L., y Moyes K. M. (2012). Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *J. Dairy Sci.* 95 :2362–2380.

- Boken SL, Staples CR, Sollenberger LE, Jenkins TC y Thatcher WW (2005). Effect of grazing and fat supplementation on production and reproduction of Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 88, 4258–4272.
- Brsic M., Cozzi G., Lora I., Stefani A. L., Contiero B., Ravarotto L. y Gottardo F. (2015). Short communication: Reference limits for blood analytes in Holstein late-pregnant heifers and dry cows: Effects of parity, days relative to calving, and season. *J. Dairy Sci.* 98:7886-7892.
- Brügemann K., Gernand E., von Borstel U. K. y König S. (2012). Defining and evaluating heat stress thresholds in different dairy cow production systems. *Archiv. Tierzucht.* 55:13-24.
- Burke, C; Roche, R. (2007). Effects of pasture feeding during the periparturient period on postpartum anovulation in grazed dairy cows. *J Dairy Sci.* 90:4304-4312.
- Calamari L., Petrera F., Abeni F. y Bertin G. (2011). Metabolic and hematological profiles in heat stressed lactating dairy cows fed diets supplemented with different selenium sources and doses. *Livestock Science* 142:128-137.
- Cardozo L. L., Thaler Neto A., Souza G. N., Picinin L. C. A., Felipus N. C., Reche N. L. M., Schmidt F. A., Werncke D. y Simon E. E. (2015). Risk factors for the occurrence of new and chronic cases of subclinical mastitis in dairy herds in southern Brazil. *J. Dairy Sci.* 98:7675–7685.
- Chilibroste P. (2012). Estrategias de alimentación en sistemas de producción de leche de base pastoril. *Cangüe*; 32:2-8.
- Chilibroste P. y Battezzato G. (2019). Proyecto Producción Competitiva 2013-2018.
- Chorfi Y., Lanevski-Pietersma A., Girard V y Tremblay A. (2004). Evaluation of variation in serum globulin concentrations in dairy cattle. *Veterinary Clinical Pathology* 33, 122–127.
- Cony P., Casagrande G., Vergara G. (2004). Cuantificación de un índice de estrés calórico para vacas lecheras en Anguil, provincia de La Pampa (Argentina). *Rev.Fac. Agronomía*; 15:9-15.
- Cozzi, G., Ravarotto, L., Gottardo, F., Stefani, A. L., Contiero, B., Moro, L. y Dalvit, P. (2011). Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and season of production. *Journal of Dairy Science*, 94(8), 3895-3901.
- Cruz G., Saravia C. (2008). Un índice de temperatura y humedad del aire para regionalizar la producción lechera del Uruguay. *Agrociencia*; 12(1):56-60.
- DIEA. Anuario estadístico 2020 en <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/datos-y-estadisticas/estadisticas/anuario-estadistico-agropecuario-2020>
- dos Reis, C. M., Barreiro, J. R., Moreno, J. F. G., Porcionato, M. A. D. F., & Santos, M. V. D. (2011). Evaluation of somatic cell count thresholds to detect subclinical mastitis in Gyr cows. *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4406-4412.
- Drackley J. (1999). Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier?. *J Dairy Sci*; 82:2259-2273.
- Dubuc J., Duffield T. F., Leslie K. E., Walton J. S., y LeBlanc S. J. (2010). *J. Dairy Sci.* 93:5764-5771.
- Duffield T. F., Lissemore K. D., McBride B. W. y Leslie K. E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.* 92:571-580.
- Duffield T. F., Lissemore K. D., McBride B. W., y Leslie K. E. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.* 92:571-580.
- Eckersall P. (1995). Acute Phase Proteins as Markers of Inflammatory Lesions. *Comp Hematol Int*; 5:93-97.

- Eckersall P. y Conner J. 1988. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun* 12:169-178.
- Eckersall PD (2008). Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th edition (ed. JJ Kaneko, JW Harvey and ML Bruss), 117–155. Elsevier Academic Press, London.
- Fajardo M., Mattiauda D.A., Motta G., Genro T.C., Meikle A., Carriquiry M. y Chilbroste P. (2015). Use of mixed rations with different access time to pastureland on productive responses of early lactation Holstein cows. *Livestock Science* 181:51-57.
- Ferguson JD, Galligan DT, and Thorsen N. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. DAiry Sci.* 77: 2695-2703.
- Giannechini R., Concha C., Rivero R., Delucci I. y Moreno López J. (2002). Occurrence of Clinical and Sub-Clinical Mastitis in Dairy Herds in the West Littoral Region in Uruguay. *Acta vet. scand.* 2002, 43, 221-230.
- Giulioti L, Goracci J, Benvenuti MN, Facdouelle I y Profumo A (2004). Blood parameters: potential welfare indicators in dairy cows. *Annali della Facolta di Medicina Veterinaria di Pisa* 57:281–289.
- Gonçalves J. L., Kamphuis C., Martins C.M.M.R., Barreiro J. R., Tomazi T., Gameiroa A.H., Hogeveen H. y dos Santos M.V. (2018). Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science* 210:25–32.
- Gong J. G, Lee W. J., Garnsworthy P. C. y Webb R. (2002). Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction* 123:419-427.
- Gong J. G., Lee W. J., Garnsworthy P. C. y Webb R. (2002). Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction.* 123:419–427.
- Grille, L., Adrien, M. L., Olmos, M., Chilbroste, P., & Damián, J. P. (2019). Diet change from a system combining total mixed ration and pasture to confinement system (total mixed ration) on milk production and composition, blood biochemistry and behavior of dairy cows. *Animal Science Journal*, 90(11):1484-1494.
- Grummer R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Science*; 73:2820-2833.
- Grummer R., Mashek D., Hayirli A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin N Am. Food Anim*; 20:447-470.
- Hernandez-Ortega M., Martínez-Fernández A., Soldado A., González A., Arriaga-Jordán C., Argamentería A., de la Roza-Delgado B., Vicente F. (2014). Effect of total mixed ration composition and daily grazing pattern on milk production, composition, and fatty acids profile of dairy cows. *Journal of Dairy Research*; 81:471:478.
- Huzzey J., Duffield T., LeBlanc S., Veira D., Weary D., y von Keyserlingk M. (2009). Short Communication: Haptoglobin as an early indicator of metritis. *J. Dairy Sci.*; 92:621-625.
- Ingvarsten K., Dewhurst R., Friggens N. (2003). On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. *Livestock Production Science*; 83:277-308.
- Ingvarsten K., Andersen J. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci*; 83:1573-1597.

- Itoh F., Obara Y., Rose M. T., Fuse H. y Hashimoto H. (1998). Insulin and Glucagon Secretion in Lactating Cows During Heat Exposure. *J. Anim. Sci.* 76:2182-2189.
- Janovick, N. A., & Drackley, J. K. (2010). Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(7), 3086-3102.
- Johnson, H. D.; Kibler, H. H.; Ragsdale, A.C.; Berry, I. L. and Shanklin, M.D. 1961. Role of heat tolerance and production level in response of lactating Holstein to various temperature-humidity conditions. *J. Dairy Sci.*44:1191.
- Johnson, H.D. 1994. Animal physiology. In *Handbook of Agricultural Meteorology*. Ed. John Griffiths, New York.
- Kolver E. y Muller L. (1998). Performance and Nutrient Intake of High Producing Holstein Cows Consuming Pasture or a Total Mixed Ration. *J Dairy Sci*; 81:1403-1411.
- LeBlanc S., Lissemore K., Kelton D., Duffield T., Leslie K. (2006). Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*; 89:1267:1279.
- LeBlanc, S. J., Leslie, K. E., & Duffield, T. F. (2005). Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 88(1):159-170.
- Martinez-Subiela, S., Tecles, F., Parra, M. D., & Cerón, J. J. (2001). Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. In *Anales de Veterinaria de Murcia* (Vol. 17, pp. 97-113).
- Martínez, R. S., Palladino, R. A., Banchemo, G., Fernández-Martín, R., Nanni, M., Juliano, N., ... & La Manna, A. (2021). Providing heat-stress abatement to late-lactation Holstein cows affects hormones, metabolite blood profiles, and hepatic gene expression but not productive responses. *Applied Animal Science*, 37(4), 490-503.
- McGuire M. A., Beede D. K., Collier R. J., Buonomo F. C., DeLorenzo M. A., Wilcox C. J., Huntington G. B. y Reynolds C. K. (1991). Effects of acute thermal stress and amount of feed intake on concentrations of somatotropin, insulin-like growth factor (igf)-i and igf-ii, and thyroid hormones in plasma of lactating holstein cows. *J. Anim. Sci.* 69:2050-2056.
- Meikle A., Adrien M. L., Mattiauda D. A. y Chilibroste P. (2013). Effect of sward condition on metabolic endocrinology during the early postpartum period in primiparous grazing dairy cows and its association with productive and reproductive performance. *Animal Feed Science and Technology*. 186:139-147
- Meikle A., Cavestany D., Carriquiry M., Adrien M. L., Artegoitia V., Pereira I., Ruprecht G., Pessina P., Rama G., Fernández A., Breijo M., Laborde D., Pritsch O., Ramos J. M., de Torres E., Nicolini P., Mendoza A., Dutour J., Fajardo M., Astessiano A. L., Olazábal L., Mattiauda D. y Chilibroste P. (2010). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia Uruguay*. V17 1:141-152.
- Meikle A., Klucsar M., Chilliard Y., Febel H., Delavaud C., Cavestany D., Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*; 127:727-737.
- Min L., Cheng J., Shi B., Yang H., Zheng N. y Wang J. (2015). Effects of heat stress on serum insulin, adipokines, AMP-activated protein kinase, and heat shock signal molecules in dairy cows. *J Zhejiang Univ-Sci B* 16:541-548.
- Morales-Almaráz E., Soldado A., González A., Martínez-Fernández A., Domínguez-Vara I., de la Roza-Delgado B., Vicente F. (2010). Improving the fatty acid of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration. *Journal of Dairy Research*; 77:225-230.

- Moretti P., Paltrinieri S., Trevisi E., Probo M., Ferrari A., Minuti A. y Giordano A. (2017). Reference intervals for hematological and biochemical parameters, acute phase proteins and markers of oxidation in Holstein dairy cows around 3 and 30 days after calving. *Research in Veterinary Science* 114:322-331.
- Ospina P. A., Nydam D. V., Stokol T. y Overton T. R. (2010). Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93:546-554.
- Ouellet V., Cabrera V. E., Fadul-Pacheco L., y Charbonneau É. (2019). The relationship between the number of consecutive days with heat stress and milk production of Holstein dairy cows raised in a humid continental climate. *J Dairy Sci.* 102:8537-8545.
- Palladino A., Bargo F. (2022). Estrés calórico en vacas lecheras: principios básicos y aplicación práctica. *XLIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú-Uruguay.* 49:45-50.
- Payne J. M. (1971). The Future of Presymptomatic Diagnosis. *Vet. Rec.* 65:181-183.
- 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;* 76:2528-2535.
- 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. *Proceedings New Zealand Society of Animal Production*, 70: 311-315.
- Piccinini R., Binda E., Belotti M., Casirani G. y Zecconi A. (2004) Evaluation of non-specific immune status of heifers in field conditions during the periparturient. *Veterinary Research* 35:539–550.
- Renaudeau D., Collin D., Yahav S., de Basilio V., Gourdine J. L. y Collier R. J. (2011). Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal* 6:707-728.
- De Rensis, F., & Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. *Theriogenology*, 60(6), 1139-1151.
- Roman L., Saravia C., Astigarraga L., La Manna A. (2014). Régimen Agroclimático de Olas de Calor para La Estanzuela, Colonia, Uruguay. *INIA;* 728:13-16.
- Ruegg P. (2012). New perspectives in udder health management. *Vet Clin Food Anim* 28:149-163.
- Ruprechter G., Adrien M. L., Larriestra A., Meotti O., Batista C., Meikle A. y Noro M. (2018). Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with parity in dairy cows. *Research in Veterinary Science* 118:191-198.
- Sailo L., Das R. (2016). Heat Stress in Livestock: Impacts and Ameliorative Strategies-a Review. *International Journal of Bio-resource and Stress Management;* 7(1):172-183.
- Schukken Y. H., Grommers F. J., van de Geer D., Erb HN. y Brand A. (1991). Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci.;*74(3):826-832.
- Sharma N., Singh N. K. y Bhadwal M. S. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24(3):429-438.
- Soriano F., Polan C., Miller C. (2001). Supplementing Pasture to Lactating Holsteins Fed a Total Mixed Ration Diet. *J. Dairy Sci.;* 84:2460-2468.
- Tadich N., Tejada C., Bastias S., Rosenfeld C., Green L. (2013). Nociceptive threshold, blood constituents and physiological values in 213 cows with locomotion scores ranging from normal to severely lame. *Vet J.* 197(2):401-405.

- Thom EC (1959) The discomfort index. *Weatherwise* 12, 57-60
- Titto C. G., Negrão J. A., Lencioni E. A., de Souza T., Martins R. y Franco A. M. (2013). Effects of an evaporative cooling system on plasma cortisol, IGF-I, and milk production in dairy cows in a tropical environment. *Int. J. Biometeorol.* 57:299-306.
- Valtorta, S.E. (1983). Productividad Animal: uso del índice de temperatura y humedad (ITH) para su evaluación en América del Sur. *Meteorología XIV*: 89-100.
- Van Hoesel, R. J., Dijkstra, J., Bruckmaier, R. M., Gross, J. J., Lam, T. J., Remmelink, G. J. y van Knegsel, A. T. M. (2017). Consequences of dietary energy source and energy level on energy balance, lactogenic hormones, and lactation curve characteristics of cows after a short or omitted dry period. *Journal of dairy science*, 100(10), 8544-8564.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. I. Bowman, H. F. Trout, and T. N. Lesch, 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production variables in high-producing Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 65: 495.
- Wood P. (1967). Algebraic model of the lactation curve in cattle. *Nature* 216:164 – 165.