

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**USO DE UN ADITIVO A BASE DE FITOQUÍMICOS EN LA ALIMENTACIÓN DE
LA VACA LECHERA DURANTE EL PERÍODO DE TRANSICIÓN: EFECTOS
SOBRE PARÁMETROS REPRODUCTIVOS, DE SALUD Y PRODUCCIÓN**

Por

Juan Enrique LONG VICO

Jünger Erickson MOORE LAZO

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

Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Ensayo Experimental

MONTEVIDEO

URUGUAY

2024

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:


Dra. Victoria Pons

PAC
Segundo miembro (Tutor):


Dra. Lourdes Adrien

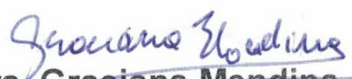
Tercer miembro:


Dr. Álvaro Santana

Cuarto miembro (Co-Tutor):


Dra. Manuela Comesaña

PAC
Quinto miembro Co-Tutor):

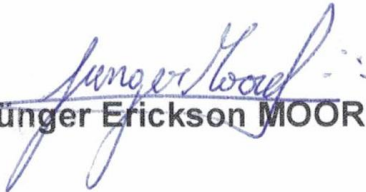

Dra. Graciana Mendina

Tec
Fecha: 22 de agosto de 2024

Qua
Co-Tutor


Juan Enrique LONG VICO

PAC
Qua


Jünger Erickson MOORE LAZO

Tec

Fecha

AGRADECIMIENTOS:

Nos gustaría iniciar esta página citando a San Francisco de Asís, santo patrono de los veterinarios: “Dios creó a todas las criaturas con amor y bondad, grandes, pequeñas, con forma humana o animal todos son hijos del mismo Padre. Dios quiere que ayudemos a nuestros hermanos menores, ya que toda criatura en desgracia tiene el mismo derecho a ser protegida”.

A nuestras familias por el apoyo incondicional brindado a lo largo de toda esta maravillosa carrera.

A nuestras tutora y cotutora Lourdes Adrien y Manuela Comesaña, al equipo de operarios del tambo y a todo el grupo humano del área de producción lechera de la EEMAC que nos brindó ayuda técnica y orientación durante la elaboración de esta Tesis de Grado.

A todos aquellos docentes, compañeros o amigos que de alguna forma u otra contribuyeron a nuestra formación como profesionales.

TABLA DE CONTENIDOS

PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS:	3
TABLA DE CONTENIDOS	4
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	6
RESUMEN	7
SUMMARY	8
1. INTRODUCCIÓN	9
2. REVISION BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. Caracterización de los sistemas lecheros en Uruguay	11
2.2. Vaca lechera durante el período de transición	11
2.2.1. Transición: Un período crucial	11
2.2.2 Balance energético negativo (BEN)	12
2.3. Puerperio	13
2.4. Monensina como aditivo en dieta de los rumiantes	14
2.5. Fitoquímicos	15
2.5.1 Polifenoles, transcinamaldehídos, curcuminoides y piperina	17
3. HIPÓTESIS	19
4. OBJETIVO GENERAL	19
5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
6. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1 Diseño experimental y tratamientos	20
6.2 Mediciones	24
6.2.1 Involución uterina y reinicio de ciclicidad ovárica	24
6.2.2 Determinación de estado corporal y peso vivo	25
6.2.3 Determinación de calcio y fósforo	25
6.2.4 Determinación de la producción láctea	25
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	26
8. RESULTADOS	27
9. DISCUSIÓN	34

10. CONCLUSIONES.....	40
11. BIBLIOGRAFÍA	41
12. ANEXOS	50

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Duración de la involución uterina en vacas.....	14
Tabla 2. Ingredientes de la ración total y parcialmente mezclada.....	21
Tabla 3. Composición química de la ración totalmente mezclada y parcialmente mezclada (base seca) ofrecida a los grupos Monensina, Fitoquímicos y Control en el parto y los primeros 60 días de lactación.....	23
Tabla 4. Composición química de las pasturas ofrecidas durante el postparto.....	23
Tabla 5. Posición de los cuernos uterinos a los 5 a 10 días postparto para las vacas de los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.....	27
Tabla 6. Posición del cérvix a los 5 a 10 días postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.....	27
Tabla 7. Diámetro y largo de cérvix a los 5 a 10 días postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.....	27
Tabla 8. Posición de útero a los 21 días postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.....	28
Tabla 9. Diámetro y largo de cérvix y diámetro de cuerno uterino grávido a los 21 días postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control....	28
Figura 1. Esquema de los tratamientos realizados en el pre y postparto.....	20
Figura 2. Porcentaje de animales ciclando a los 21 y 40 días postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.....	29
Figura 3. Evolución del estado corporal durante el parto y postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control (media±error de la media)...	30
Figura 4. Evolución de la producción láctea corregida por grasa al 4% (LCG) según tratamiento Monensina, Fitoquímicos y Control (media±error de la media) y semana de lactancia.....	31
Figura 5. Evolución de la concentración de calcio sérico según tratamiento (Monensina, Fitoquímicos y Control, media±error de la media).....	32
Figura 6. Evolución de la concentración de fósforo sérico según tratamiento (Monensina, Fitoquímicos y Control, media±error de la media).....	32
Figura 7. Evolución de la relación calcio/fosforo sérico según tratamiento (Monensina, Fitoquímicos y Control, media±error de la media).....	33

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue estudiar los efectos de un aditivo a base de fitoquímicos (con polifenoles, curcuminoides, piperina y transcinamaldehídos) suministrado desde 30 días preparto hasta 60 días posparto, sobre la involución uterina, reinicio de ciclicidad ovárica, producción de leche, estado corporal y parámetros de salud. Para ello se emplearon 60 vacas de la raza Holstein, de las cuales 24 fueron primíparas y 36 multíparas. Treinta días previo a la fecha probable de parto fueron asignadas al azar a uno de tres tratamientos: Monensina (n=20), Fitoquímicos (n=20) y Control (n=20). El preparto se llevó a cabo en un galpón, con un sistema de cama caliente o *compost barn*, siendo los animales alimentados con TMR. Luego del parto, pasaron a un régimen de alimentación mixta, con acceso al pastoreo y alimentación dentro del galpón antes mencionado. Los tratamientos fueron suministrados desde los 30 días antes de la fecha probable de parto hasta los 60 días posparto. Según la fecha de parto se evaluó la evolución del puerperio examinando a los animales entre los 5 a 10 días postparto (dpp) y entorno a los 21 dpp y 40 dpp. Semanalmente se evaluó el estado corporal. Muestras de sangre fueron obtenidas dos veces por semana, para determinar concentraciones de calcio y fósforo sanguíneo. Diariamente se midió la producción de leche individual y semanalmente se obtuvieron muestras de leche para determinar su composición. En este trabajo no se pudo demostrar un efecto benéfico de los aditivos utilizados en los parámetros evaluados. El único parámetro que mostró una tendencia fue el de la involución uterina, dado que el grupo con Fitoquímicos tendió a presentar una involución uterina más lenta ($p=0,06$) con relación a los demás tratamientos. Considerando que no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros reproductivos, productivos y de salud estudiados, no se puede descartar la mezcla de Fitoquímicos como un posible sustituto de la Monensina.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effects of an additive with phytochemicals (containing polyphenols, curcuminoids, piperine, and trans-cinnamaldehydes) administered from 30 days prepartum to 60 days postpartum on uterine involution, resumption of ovarian activity, milk yield, body condition, and health parameters. Sixty Holstein cows were used, of which 24 were primiparous and 36 multiparous. Thirty days before the expected calving date, they were randomly assigned to one of three treatments: Monensin (n=20), Phytochemicals (n=20), and Control (n=20). The prepartum period was conducted in a compost barn and the animals were fed with TMR. After calving they transitioned to a mixed feeding regime, with access to grazing and feeding within the same barn. Treatments were provided from 30 days before the expected calving date until 60 days postpartum. According to the calving date, the puerperium evolution was evaluated by examining the animals between 5 and 10 days postpartum (dpp), around 21 dpp and 40 dpp. The body condition was assessed weekly. Blood samples were taken twice a week to determine blood calcium and phosphorus concentrations. Individual milk yield was measured daily and weekly milk samples were taken to determine its composition. This study could not demonstrate a beneficial effect of the additives used on the evaluated parameters. The only parameter that showed a trend was uterine involution, as the Phytochemicals group tended to have slower uterine involution ($p=0.06$) compared to the other treatments. Considering that no significant differences were found in any of the reproductive, productive, and health parameters evaluated, the Phytochemicals mix cannot be discarded as a possible substitute for Monensin.

1. INTRODUCCIÓN

El período de transición definido como el período entre las tres semanas previas al parto y las tres semanas posteriores (Drackley, 1999), es un momento crítico para la vaca lechera. Durante el mismo la vaca disminuye el consumo de materia seca (CMS) y sufre un notable aumento en los requerimientos energéticos fundamentalmente debido al acelerado crecimiento fetal en el último tercio de gestación y al aumento de la producción de leche postparto. Como resultado de esta combinación el animal inexorablemente experimenta un balance energético negativo (BEN) (Arévalos, Duchens, Meléndez y Pinedo, 2019).

Como respuesta adaptativa al BEN ocurre lipomovilización de las reservas corporales y un aumento en la concentración sanguínea de ácidos grasos no esterificados (NEFA, por sus siglas en inglés), los cuales serán en gran medida metabolizados a nivel hepático dando lugar a la formación de cuerpos cetónicos (betahidroxibutirato, acetoacetato, acetona). A través de este mecanismo la vaca obtiene los sustratos energéticos necesarios para sostener la alta producción lechera posparto (Arévalos et al., 2019).

Cuando la vaca no es capaz de adaptarse, el BEN se profundiza y prolonga. Esto se manifiesta en el organismo con un aumento en las concentraciones de cuerpos cetónicos en sangre por sobre los valores normales para el período. Esto repercute reproductiva, productiva y sanitariamente en el animal (Baeck, 2012).

Un moderado a severo BEN, con pérdida de estado corporal en el postparto temprano, prolonga el puerperio. Además, el aumento de cuerpos cetónicos en sangre está asociado a una disminución de la inmunidad y consecuentemente una mayor susceptibilidad a presentar enfermedades infecciosas posparto (Bretschneider, 2009).

Las enfermedades reproductivas más comunes que pueden presentarse durante el puerperio son retención de membranas fetales (RMF) e infecciones uterinas como metritis puerperal, endometritis subclínica y clínica (Moreira y Patiño, 2008). Estas enfermedades uterinas están asociadas con un menor porcentaje de concepción (%C), con un mayor intervalo parto primer servicio (IP1°S) e intervalo parto concepción (IPC) y con aumento en el porcentaje de vacas de descarte producto de una deficiente performance reproductiva (Sheldon et al., 2006). Además, en este período las enfermedades metabólicas son de suma importancia, siendo las más frecuentes la hipocalcemia y la cetosis tanto en sus formas clínicas como subclínicas (Mulligan y Doherty, 2008). Es así como los trastornos del puerperio tomados en conjunto, alcanzan una gran importancia económica ya que cursan con una disminución de la producción e inciden desfavorablemente sobre la fertilidad (Moreira y Patiño, 2008).

En consideración de lo señalado anteriormente, lograr una adecuada adaptación de la vaca durante el período de transición tanto desde el punto de vista metabólico como digestivo, es de suma importancia para el futuro productivo y reproductivo del animal, siendo la nutrición una de las bases fundamentales para lograrlo con éxito.

En este contexto el uso de aditivos en las raciones de vacas en transición surge como una herramienta nutricional que permite una mejor adaptación del animal a este período (Sepúlveda y Wittwer, 2017). Dentro de ellos se encuentra la monensina, antibiótico ionóforo que en términos generales es capaz de mejorar el funcionamiento del rumen, haciendo que los procesos sean energéticamente más eficientes y permitiendo un mejor aprovechamiento de los nutrientes. Esto se traduce en mejoras en la ganancia de peso y producción de leche, parámetros reproductivos y en el estado sanitario de los animales (Bonifacino, 2012).

A pesar de los efectos benéficos de la monensina la creciente preocupación por el surgimiento de resistencia antimicrobiana (RAMs) y la mayor conciencia de los consumidores al respecto, ha generado una presión social para eliminar el uso de antibióticos en la alimentación de animales para consumo humano (Bonifacino, 2012) a un punto tal que en el año 2006 su uso ha sido prohibido como aditivo en la Unión Europea (Calsamiglia et al., 2007). Es por ello que la industria pecuaria está constantemente en búsqueda de alternativas viables, surgiendo los fitoquímicos como una opción muy prometedora (Martínez, Ortega, Herrera, Ramsy y Garza, 2015).

Los fitoquímicos son una amplia variedad de compuestos, que como su nombre indica, tienen origen vegetal. Son metabolitos secundarios de las plantas pudiendo cumplir la función de protección contra agentes estresantes abióticos y bióticos (Polin, Muro y Díaz, 2014). Como aditivos en alimentación de animales de producción, los fitoquímicos han mostrado tener diversas propiedades tales como: antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas. También se ha descrito que mejoran la conversión alimenticia, estimulan enzimas digestivas y dan mejor sabor a los alimentos (Martínez et al., 2015). Dichos efectos se deben a las propiedades químicas que tienen sus componentes: fenoles, terpenoides, aceites esenciales, alcaloides, leptinas y polipéptidos (Pereira et al., 2017). Los tipos de componentes activos presentes en los distintos fitoquímicos y sus mecanismos de acción son muy variados. A ello se agrega el hecho de que sus efectos son pH y dieta dependientes y por lo tanto su utilización puede resultar beneficiosa solo bajo condiciones específicas en determinado tipo de sistema de producción (Calsamiglia et al., 2007).

El objetivo de esta tesis fue estudiar los efectos de un aditivo a base de fitoquímicos (con polifenoles, curcuminoides, piperina y transcinamaldehídos) suministrado desde el parto hasta los 60 días posparto, sobre la involución uterina, reinicio de ciclicidad ovárica, producción de leche, estado corporal y parámetros de salud.

2. REVISION BIBLIOGRÁFICA

2.1. Caracterización de los sistemas lecheros en Uruguay

En nuestro país existen actualmente 3094 establecimientos lecheros, los cuales presentan en su mayoría una extensión de entre 50-500 hectáreas (67,7 %) ocupando una superficie total de 649 mil hectáreas (Anuario estadístico agropecuario 2023).

La mayoría de los tambos en Uruguay son sistemas de producción mixtos de base pastoril. La raza más utilizada es el Holando americano y canadiense, que representa el 79% del total del rodeo lechero (INALE, 2019).

El total de animales lecheros es de 682 mil cabezas, correspondiendo un 57% de las mismas a la VM (vaca masa) dentro de las cuales un 76% se encuentran en ordeño. La producción anual promedio de VM en el período 2021/2022 fue de 5614 litros (Anuario estadístico agropecuario 2023).

Del total de la producción láctea (2201 millones de litros) un 78,7% se remite a planta (Anuario estadístico agropecuario 2023).

2.2. Vaca lechera durante el período de transición

2.2.1. Transición: Un período crucial

El período de transición comprende la etapa que transcurre entre las 3 semanas previas al parto hasta las 3 semanas posteriores a este (Drackley, 1999). Durante este período la vaca debe pasar de una condición gestante y no lactante a una lactante y no gestante (Baeck, 2012), esto significa para el animal sufrir drásticos cambios fisiológicos y metabólicos en un período muy acotado de tiempo (Sepúlveda y Wittwer, 2017).

Este período en la vida productiva de la vaca lechera es también un momento de fuerte estrés, donde a los ya mencionados cambios metabólicos se le deben sumar el parto y los cambios de manejo, ambiente y alimentación, predisponiendo a la aparición de enfermedades (Sepúlveda y Wittwer, 2017) tales como retención de placenta, metritis y endometritis, hipocalcemia, cetosis, mastitis y desplazamiento de abomaso (Mulligan y Doherty, 2008) las cuales afectan la performance productiva y reproductiva del animal. Es así que las infecciones uterinas están asociadas con menores tasas de concepción, incrementos en el intervalo parto primer servicio y parto concepción y a un mayor descarte de animales (McNally, Crowe, Roche y Beltman, 2014). La hipocalcemia se asocia con una mayor incidencia de las enfermedades antes mencionadas, como también con una disminución de la producción láctea (1,1 a 2,9 kg/día (Houe et al., 2001), con involuciones uterinas más lentas y retraso en la primera ovulación postparto (McNally et al., 2014; Radostits et al., 2007).

Por otro lado, la presentación de cetosis clínica o subclínica en el posparto también se vincula con un retraso en el reinicio de la actividad ovárica, debido a una reducción en el consumo de materia seca y al consecuente incremento en el balance energético negativo (BEN) con pérdida de CC (Opsomer et al., 2000 ; Radostits et al., 2007) como también con disminución de la producción láctea y un mayor riesgo a otras enfermedades (Morales, Dotti, Fernández, Cartaya y Rupprechter, 2021; Radostits et al., 2007).

Por lo tanto, de la capacidad que tenga la vaca para realizar, coordinar y regular los cambios adaptativos que le exige el período de transición, dependerá su futuro sanitario, productivo y reproductivo (Sepúlveda y Wittwer, 2017).

2.2.2 Balance energético negativo (BEN)

El período de transición se caracteriza por un aumento significativo de los requerimientos de nutrientes, especialmente energía, aminoácidos, ácidos grasos y calcio. Esto es debido a que el animal en un período corto de tiempo pasa de una fase metabólicamente tranquila y con relativas pocas necesidades nutricionales a una fase postparto, donde la glándula mamaria exige una explosiva e intensa demanda de nutrientes (González, 2007).

Se describe que durante el postparto la demanda de glucosa se triplica, la de aminoácidos se duplica y la de ácidos grasos y calcio puede ser hasta cinco veces más alta (Baeck, 2012). Este aumento de los requerimientos no es acompañado por un aumento en el consumo de materia seca, al contrario, durante los últimos días de la gestación se produce una gradual y marcada disminución en el consumo, llegando a ser en el periparto la mitad de lo que consume una vaca en producción (Baeck, 2012).

Luego del parto, el consumo se recupera lenta y gradualmente, no siendo posible satisfacer la gran demanda de nutrientes, especialmente energía, que impone la alta producción de leche al inicio de la lactancia. Como consecuencia la vaca lechera entra naturalmente en un balance energético negativo, el cual es máximo (NADIR) entorno a las 2 semanas postparto (Baeck, 2012).

Es importante mencionar que, en los sistemas de producción de leche pastoriles, como son la mayoría en el Uruguay, las vacas deben contar además con energía para cubrir las cuatro caminatas diarias, desde el potrero a la sala de ordeño y viceversa (Meikle et al., 2010).

Para hacer frente al balance energético negativo el animal deberá echar mano a sus reservas corporales, principalmente tejido adiposo e incluso, si es necesario tejido muscular (Sepúlveda y Wittwer, 2017). Para esto cuenta con un complejo mecanismo endocrino que involucra a varias hormonas y metabolitos como la somatotropina (GH), sus receptores, los factores de crecimiento tipo insulina (IGF-1), insulina, leptina y hormonas tiroideas (Meikle et al., 2004). Estas hormonas se encargan de favorecer y regular cambios metabólicos, tales como un aumento en la tasa de gluconeogénesis hepática y la movilización de tejido adiposo y de proteínas corporales en menor medida (Bell, 1995).

Se ha demostrado que un BEN prolongado en el tiempo genera demoras en el reinicio normal de la actividad ovárica, ya que inhibe completamente la frecuencia de pulsos de LH, demorando la primera ovulación y consecuentemente el período de puerperio (Butler, 2000).

Para atenuar el BEN y por tanto sus efectos negativos, se recomienda que el animal llegue al momento del parto con un EC de 3-3,25 según la escala de estado corporal de Edmonson et al., (1989) y que durante la lactancia este no disminuya a menos de 2,5 puntos de EC, es decir que se encuentre dentro de lo que Chagas et al., (2007) considera “un perfil de estado corporal ideal”.

2.3. Puerperio

El puerperio se define como el período de tiempo comprendido entre el parto hasta la completa involución uterina y la restauración de la capacidad reproductiva. Durante el mismo tiene lugar la expulsión de las membranas fetales (período de secundinización), el retorno de los órganos reproductivos al estado no grávido (período de involución uterina) y la reanudación del ciclo ovárico (Elli,2005; Grunert,1990).

La involución uterina implica cambios del tracto reproductivo que consisten en una reducción del tamaño y peso del útero, el cual debe volver a sus dimensiones y posición pre gestacional, como también la reconstitución de su mucosa endometrial. Esta descrito que el útero y el cérvix se encogen rápida e inmediatamente después del parto (Sheldon,2004). Una reducción del 50% ocurre para el diámetro y el peso uterino en 5 días, y para la longitud entorno a los 10-15 días postparto (útero totalmente abarcable a la palpación transrectal) (Ostrowski et al., 1987; Grunert, 1990). En cuanto al proceso de regeneración del endometrio, este es completado superficialmente a los 25 días postparto sin embargo las capas profundas no estarán reparadas por completo hasta las 6 a 8 semanas postparto (Sheldon, 2004). Se considera una involución uterina completa cuando por medio de la palpación rectal se encuentra el útero posicionado en la cavidad pélvica, con ambos cuernos de un diámetro similar (simétricos) (Kamimura, Oui, Takahashi y Sukamoto ,1993), con dimensiones cercanas a las de pre gestación y que además presentan un tono y consistencia normal (Elmetwally, 2018). En cuanto al tiempo en que se logra esta involución, según Dai et al., (2023), quienes evaluaron un total de 10000 animales (primíparas y multíparas) de la raza Holstein por medio de ultrasonografía, esta culminaría entorno a los 25 días postparto tanto para primíparas como para multíparas. Mientras que para otros autores como Morrow et al., (1966), Miettinen (1990) y Risco, Drost, Thatcher, Savio, y Thatcher (1994), quienes emplearon en sus estudios la técnica de palpación rectal, hay mayores diferencias en los días en los que ocurre una completa involución uterina, tal como se observa en la tabla 1. Para Okano y Tomizuka (1987), esto se debe al carácter subjetivo propio de la palpación rectal y las diferentes valoraciones que puede tener cada examinador.

La involución uterina y el reinicio de la actividad ovárica postparto son procesos que se sobreponen en el ganado bovino (Grunert,1990). A medida que el útero involuciona, el eje hipotálamo-hipófisis-ovario reanuda la secreción cíclica de hormonas gonadotróficas/gonadales, conduciendo a la primera ovulación postparto y a ciclos estrales regulares. En el puerperio normal estos eventos ocurren dentro de las 42-63 días postparto en vacas lecheras de alta producción (Peter, Vos y Ambrose., 2009), sin embargo, puede verse retrasado cuando hay patologías que afectan los órganos genitales o hay un déficit energético (Grunert,1990).

Tabla 1. Duración de la involución uterina en vacas.

Autores	Duración de la involución uterina (días)
Morrow et al., 1966	18-25
Miettinen, 1990	21-29
Risco et al., 1994	40

2.4. Monensina como aditivo en dieta de los rumiantes

El uso de aditivos en la ración de vacas lecheras en transición, es una herramienta nutricional que tiene el técnico veterinario a su disposición para complementar un buen manejo alimenticio durante este período y de esta forma mejorar la performance del animal (Sepúlveda y Wittwer, 2017).

Entre los aditivos comúnmente utilizados se puede nombrar a las sustancias neoglucogénicas como son las sales de propionato (propionato de calcio o de sodio) y el propilenglicol. También están disponibles las sales aniónicas, sustancias buffer, aminoácidos protegidos como lisina y metionina, y sustancias que actúan como moduladores de la fermentación ruminal como son los prebióticos, probióticos y antibióticos (Sepúlveda y Wittwer, 2017). Dentro de los antibióticos, los más empleados son los ionóforos, principalmente la monensina. Su mecanismo de acción consiste en alterar el pasaje de sodio a través de la membrana celular, a favor de su gradiente eléctrico y en contra de su gradiente homeostático normal (Bonifacino, 2012). Esto provoca que la célula reasigne sus recursos energéticos, priorizando mantener el equilibrio iónico en vez de utilizarla para el crecimiento y reproducción (Red de Seguridad Alimentaria, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, RSA-CONICET, 2018).

La monensina posee actividad anti-protozoaria fundamentalmente contra *Eimeria* spp. y antibacteriana frente a Gram positivas abarcando los géneros *Micrococcus*, *Bacillus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Por otra parte, su acción antibacteriana frente a Gram negativas es escasa, probablemente debido a la conformación de su pared bacteriana que impide el paso de moléculas de gran tamaño (RSA-CONICET, 2018). A nivel ruminal se describe que tiene un efecto modulador de la fermentación (Bonifacino, 2012), ya que al actuar sobre la población de bacterias Gram positivas provoca un desplazamiento del equilibrio hacia la población Gram negativa (RSA-CONICET, 2018). Esto se traduce en una disminución de la producción de acetato, butirato, hidrógeno y ácido láctico, y un aumento de propionato, principal precursor neoglucogénico de los rumiantes (Bonifacino, 2012).

A modo de síntesis se puede decir que la monensina utilizada como aditivo es capaz de mejorar el funcionamiento del rumen, haciendo que los procesos sean energéticamente más eficientes y permitiendo además un mejor aprovechamiento de los nutrientes (Bonifacino, 2012). En la vaca en transición esto se traduce en un mejor balance energético, la disminución de indicadores de movilización de reservas corporales (ácidos grasos no esterificados, β -

hidroxibutirato, acetoacetato), un incremento de la producción de leche junto a una reducción del CMS, lo que significa una mejor eficiencia de conversión alimenticia y una menor presentación de casos de cetosis, desplazamiento de abomaso y mastitis (Bretschneider, 2009).

Como antecedentes en los cuales se han podido apreciar las ventajas productivas del empleo de la monensina como aditivo, se puede citar a Gallardo et al., (2002) quienes en un estudio llevado a cabo en Argentina al utilizar bolos ruminales de liberación lenta de monensina a los 30 días preparto y a los 60 días postparto en ganado Holando con partos de otoño y bajo un sistema pastoril con dieta PMR, obtuvo diferencias productivas ($p < 0,001$) respecto a animales sin aditivo del orden de 1,05 L/vaca/día. En esa misma línea McGuffey, Richardson y Wilkinson (2001), en un artículo de revisión sobre el empleo de monensina en pre mezcla como aditivo para la dieta de vacas lecheras promediando los resultados obtenidos en diversos estudios, mencionan una mejoría en la producción del orden de los 1,3 kg/vaca/día.

Además, se han descrito efectos positivos en el adelanto de la pubertad en vaquillonas, ya que a nivel hipotalámico el propionato estimula la liberación de Factores Liberadores de Gonadotrofinas, hormonas que a su vez estimulan a nivel hipofisario la liberación de la hormona luteinizante (LH por sus siglas en inglés), lo que lleva a la aparición de ciclos sexuales (Bonifacino, 2012).

A pesar de los ya descritos múltiples efectos benéficos de la monensina, la creciente preocupación por el surgimiento de resistencia antimicrobiana (RAMs) y la mayor conciencia de los consumidores al respecto, ha generado presión social para eliminar el uso de antibióticos en la alimentación de animales para consumo humano (Bonifacino, 2012), siendo la tendencia mundial que año a año aparezcan nuevas regulaciones que limiten su uso. Como antecedente se puede citar que en enero del 2006 la Unión Europea hizo efectivo el Artículo N° 11 del Reglamento 1831/2003 sobre aditivos en alimentación animal, con el que se prohíbe el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en nutrición animal (Unión Europea, 2003). En esa misma línea, a nivel nacional, el Decreto N° 98/011 del 2 de marzo de 2011 establece la prohibición de la importación, fabricación, comercialización y uso de alimentos para animales de las especies bovina y ovina, que contengan antibióticos con la finalidad de promover el crecimiento (MGAP, 2015).

Es en este contexto que surge la necesidad de evaluar sustitutos a la monensina, siendo los fitoquímicos una alternativa muy prometedora.

2.5. Fitoquímicos

Los fitoquímicos son mezclas complejas de metabolitos secundarios que como su nombre indica, tienen un origen vegetal y cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos mostrando diversas propiedades biológicas (García et al., 2010).

Habiendo sido descritas hasta el momento más de 250000 especies, las plantas en sí mismas representan una gigantesca biodiversidad, a lo cual se suma la gran variedad de metabolitos presentes en cada una de ellas de los cuales solo una pequeña fracción ha sido caracterizada. Se estima que en torno a 100000 metabolitos secundarios de plantas o productos naturales han sido identificados (Terry et al., 2006). Por lo que existe un sinnúmero de

fitoquímicos, sin embargo, por el momento solo han sido evaluados en promedio 70 de estos con sus principios activos correspondientes, a los que se les atribuye la potencialidad de modificar la fermentación ruminal y/o mitigar la producción de metano (Polin et al., 2014).

Como aditivos en alimentación de animales de producción los fitoquímicos han mostrado tener diversas propiedades tales como: antimicrobianas, antioxidantes, antiparasitarias, antiinflamatorias, antidiarreicas y antimicóticas. También se ha descrito que incrementan la palatabilidad de los alimentos, estimulan la actividad de enzimas digestivas y presentan propiedades moduladoras de la fermentación ruminal haciendo en algunas situaciones más aprovechables los nutrientes de los alimentos, con lo que mejora la eficiencia de producción de leche y de carne en bovinos (Martínez et al., 2015). Dichos efectos se deben a las propiedades químicas que tienen sus componentes: fenoles, terpenoides, alcaloides, leptinas y polipéptidos (Pereira et al., 2017).

Dentro de los fitoquímicos se pueden encontrar distintos principios activos, los cuales pueden ser clasificados dentro de dos grandes grupos químicos; terpenoides (principalmente monoterpenoides (C10) y sesquiterpenoides (C15)) y fenilpropanoides (C20). Estos dos grupos se originan de diferentes precursores del metabolismo primario y son sintetizados por vías metabólicas diferentes en las plantas (Polin et al., 2014). Los terpenoides representan el grupo más cuantioso y diverso, habiendo sido descritos en torno a 15000 compuestos diferentes. Por otro lado, los fenilpropanoides derivan principalmente de la fenilalanina, un aminoácido aromático sintetizado por la vía metabólica del ácido shikímico, vía que es funcional únicamente en microorganismos y plantas (Barrientos, 2013).

Las funciones de estos metabolitos secundarios para la planta son variadas siendo la principal la de brindarle protección tanto contra agentes estresantes bióticos y abióticos, y a su vez favorecer en muchos casos la atracción de otros organismos y de esa manera estimular la polinización y dispersión de sus semillas (Polin et al., 2014).

En su amplia mayoría los fitoquímicos se componen de un principio activo dominante y en menor cantidad de otros de características similares (Polin et al., 2014). Se ha constatado que sus mecanismos de acción son más eficaces en bacterias Gram+, en las cuales actúan directamente con los componentes hidrofóbicos de la membrana celular, aunque esto puede variar en función del principio activo presente y del tamaño del mismo (Polin et al., 2014). Ello conlleva a inestabilidad de membrana dando como resultado fuga de iones, ocasionando una disminución del gradiente iónico transmembrana y la muerte de los microorganismos. En muchos casos las bacterias son capaces de contrarrestar estos efectos mediante el empleo de bombas iónicas, pero dicho mecanismo requiere de mucha energía con lo cual el crecimiento bacteriano se enlentece. Por lo que, en el contexto de un flujo continuo a nivel ruminal, un cambio en las tasas de crecimiento de las poblaciones bacterianas da como resultado cambios en el perfil de fermentación (Barrientos, 2013; Polin et al., 2014; Chávez et al., 2021). Otros efectos antimicrobianos son mediante la coagulación de componentes de membrana, según se cree fundamentalmente mediante desnaturalización de proteínas y enzimas (Polin et al., 2014; Chávez et al., 2021).

En síntesis, como Macheboeuf et al. indicaron en el año 2007, los fitoquímicos pueden ser utilizadas como herramientas para manipular la fermentación ruminal y reducir la degradación de las proteínas a dicho nivel sin efectos adversos en el metabolismo energético. Sin embargo, el rango de dosis entre concentraciones que resulten beneficiosas o contraproducentes, es estrecho.

A su vez hay que tener presente que el efecto que pueden llegar a ejercer los fitoquímicos sobre la concentración total de AGV está íntimamente relacionado con el tipo de dieta (Polin et al., 2014). Además, se ha observado que cuando el pH es bajo algunos AE tienen mayor impacto en la producción de AGV, producto de que en un ambiente con un pH levemente ácido los AE se encuentran en su forma no disociada y por ende en forma hidrofóbica, lo cual posibilita una mejor interacción con las distintas membranas microbianas y consecuentemente un mayor impacto de su acción sobre las mismas con lo que se modifica la población ruminal y con ello la proporción y producción de AGV (Polin et al., 2014). Además, la cantidad y proporción de AGV producidos van a estar influidos por el perfil de principios activos contenidos en el o los fitoquímicos empleados (Polin et al., 2014).

En síntesis, la meticulosa selección y combinación de los fitoquímicos a emplear puede proveer una herramienta de un incalculable valor para la manipulación de la microbiota ruminal y con ello sus productos de fermentación, puesto que pueden actuar a diferentes niveles tanto en las vías de degradación de carbohidratos, como de proteínas. Sin embargo, un largo camino queda por recorrer puesto que investigaciones adicionales son indispensables para establecer las dosis óptimas *in vivo* en unidades del componente activo teniendo en consideración que pueden los efectos ser beneficiosos solo bajo condiciones y sistemas de producción específicos (Calsamiglia et al., 2007).

2.5.1 Polifenoles, transcinamaldehídos, curcuminoides y piperina

Los polifenoles comprenden un amplio rango de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. Dentro de los polifenoles los flavonoides constituyen el subgrupo más abundante. Se caracterizan por tener uno o varios anillos fenólicos y grupos carboxilos y oxidrilos libres. Esta estructura química les permite capturar radicales libres y generar el radical flavínico, mucho menos reactivo, otorgándole a estas sustancias propiedades biológicas antioxidantes y antiinflamatorias (Quiñones et al., 2012). Se atribuye además a la mayoría de compuestos fenólicos, propiedades antimicrobianas, actuando como desacopladores de la membrana celular externa y provocando como consecuencia un gasto de ATP intracelular hasta el punto de provocar la muerte celular (Cardozo, 2005).

North et al., (2019), realizaron una revisión bibliográfica sobre trabajos que abordaran el uso de flavonoides como suplementos en la dieta de ganado de carne y sus efectos sobre la ganancia de peso y conversión de alimento. La conclusión de este trabajo fue que los compuestos flavonoides tienen un efecto beneficioso sobre esos parámetros en animales sometidos a condiciones de estrés, como por ejemplo estrés calórico o que cursan con enfermedades inflamatorias como acidosis. A su vez, al igual que Calsamiglia et al., (2007), los autores señalan que en términos generales el efecto de estas sustancias

varía mucho dependiendo de la dosis y si el suplemento incluye uno o varios compuestos fenólicos, los que podrían interactuar negativamente entre sí.

Respecto a los transcinamaldehídos, principal compuesto bioactivo de la canela, esta descrito que reducen la peptidólisis y desaminación de los aminoácidos en el rumen, por lo que son útiles para modular la degradación proteica ruminal. También se los asocia con una mayor ingestión de alimento y consecuente mayor producción láctea (Carro et al., 2014). Chaves et al., (2008) han indicado que el cinnamaldehído ha producido alteraciones en el metabolismo ruminal de nitrógeno, incrementado los niveles de propionato y disminuyendo la producción de metano y acetato. Estos mismos autores encontraron que mayores ganancias diarias de peso pueden ser obtenidas cuando se añade como aditivo cinnamaldehído a una dieta a base de cebada en una concentración de 200 mg/kg de MS. A dicho incremento se lo asocia con un aumento de la proporción de propionato a nivel ruminal.

En cuanto a los curcuminoides, estos son compuestos fenólicos presentes en altas cantidades en los rizomas de distintas especies del género *Cúrcuma*. Los principales curcuminoides son curcumina, dimetoxicurcumina y bisdimetoxicurcumina (Akter et al., 2017). Se sabe que la curcumina posee varias propiedades farmacológicas tales como actividad antifúngica dosis dependiente, actividad antiinflamatoria, antibacteriana, antioxidante, antidiabética, propiedades en la curación de heridas y anticancerígenas (Akter et al., 2017; Talib et al., 2020). A su vez, se ha demostrado su influencia en la modulación de funciones linfocitomediadas, puesto que en animales tratados con curcumina se han registrado aumentos en el número de linfocitos T CD4(+) y B (Ali et al., 2006). Además, resulta de gran interés el hecho de que su biodisponibilidad puede ser mejorada con la administración conjunta de piperina. El mecanismo por el cual esto sucede aún no ha sido dilucidado en detalle (Ali et al., 2006; Talib et al., 2020), pero su accionar ocasiona un aumento de la absorción y reducción de la metabolización de la curcumina, pudiendo lograr aumentar su biodisponibilidad en un 200% (Alves, 2021).

La piperina (1-piperoil piperidine) es una amida presente en diversas especies de pimienta (*Piper* sp.). Se ha comprobado que esta amida aumenta la biodisponibilidad de algunos fármacos inhibiendo su biotransformación a nivel hepático e intestinal (Cardoso et al., 2009). Además, posee propiedades antipiréticas, analgésicas, antiparasitarias, antiinflamatorias, antioxidantes, anticarcinogénicas, inmunomoduladoras, entre otras (Cardoso et al., 2009). Se ha registrado que la administración de piperina en pollos ha contribuido en un aumento del número de leucocitos totales promoviendo una elevación del título de anticuerpos circulantes y con ello de la respuesta inmune humoral (da Silva et al., 2009).

3. HIPÓTESIS

El uso de fitoquímicos en reemplazo a la monensina tendrá efectos benéficos sobre la producción de leche, salud y reproducción de las vacas lecheras cuando son utilizados desde el parto y en lactancia temprana.

4. OBJETIVO GENERAL

El objetivo de esta tesis fue estudiar los efectos de un aditivo a base de fitoquímicos (con polifenoles, curcuminoides, piperina y transcinamaldehídos) suministrado desde 30 días preparto hasta 60 días posparto, sobre la involución uterina, reinicio de ciclicidad ovárica, producción de leche, estado corporal y parámetros de salud.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudiar la involución uterina posparto a los 5-10, 21 y 40 días posparto.
- Estudiar la incidencia de metritis y endometritis.
- Evaluar el reinicio de ciclicidad ovárica postparto a los 21 y 40 días postparto.
- Evaluar la producción de la leche hasta los 60 días posparto.
- Evaluar la evolución del estado corporal hasta los 60 días posparto.
- Evaluar la incidencia de hipocalcemia y cetosis (clínicas y subclínicas).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Plataforma Experimental de Lechería de la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC), ubicada en el departamento de Paysandú, km 363 de la Ruta 3. El proyecto fue aprobado por la Comisión de ética en el uso de animales de la Facultad de Agronomía (ID. 1330, Exp. 020300-000055-22).

6.1 Diseño experimental y tratamientos

Se utilizaron en el experimento 60 vacas de la raza Holstein, de las cuales 24 fueron primíparas y 36 multíparas. Las vacas fueron bloqueadas antes del inicio del experimento de acuerdo con el número de lactancia, fecha probable de parto, peso vivo y estado corporal utilizando la escala de 1-5 (Edmonson et al., 1989).

Treinta días previo a la fecha probable de parto fueron asignadas al azar a uno de tres tratamientos (Fig.1). Los tratamientos fueron: Monensina (Rojo): suplementado con monensina a razón de 300 mg/vaca/día ($n=20$), Fitoquímicos (Azul): suplementado con complejos bioactivos de plantas (CBP) a base de transcinamaldehídos (hasta 1000 ppm), polifenoles (hasta 450 ppm), curcuminoides totales (hasta 280 ppm) y piperina (hasta 15 ppm) a razón de 50×10^3 mg/vaca/día (producto en desarrollo, no comercializado aún, empresa CCPA, Francia), ($n=20$) y Control (Verde): sin aditivos ($n=20$). Tanto la monensina como el derivado vegetal fue incorporado en la formulación del concentrado, por lo tanto, el ajuste de la dosis se realizaba teniendo en cuenta la cantidad de kilos de concentrado que se les ofrecía a los animales. La dosis final consumida por los animales durante todo el experimento fue de $45,7 \times 10^3$ mg/vaca/día de Fitoquímicos y de 270 mg/vaca/día de Monensina.

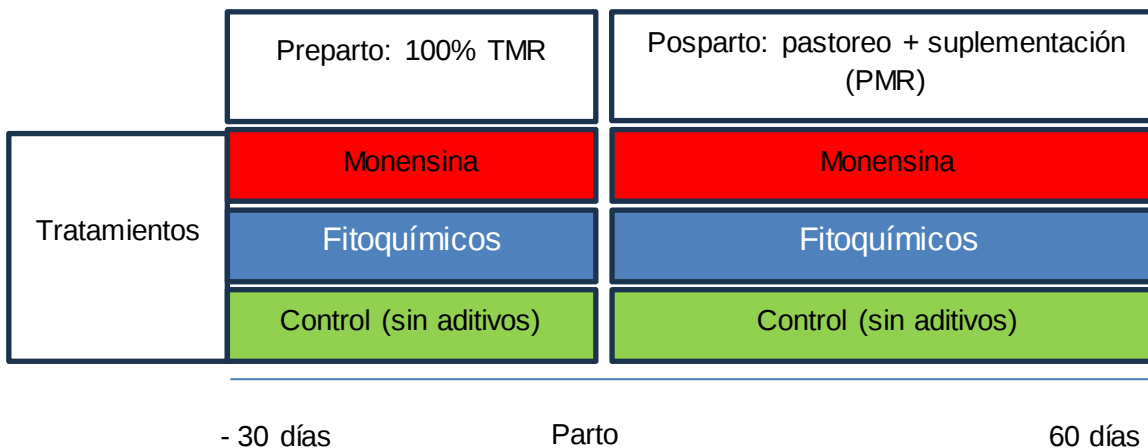


Figura 1. Esquema de los tratamientos realizados en el pre y posparto. Monensina (300 mg/vaca/día), Fitoquímicos (complejos bioactivos de plantas (CBP) a base de transcinamaldehídos (hasta 1000 ppm), polifenoles (hasta 450 ppm), curcuminoides totales (hasta 280 ppm) y piperina (hasta 15 ppm) a razón de 50×10^3 mg/vaca/día, Control: sin aditivos.

Para identificar a los animales de cada tratamiento se colocó en la oreja izquierda una caravana con el color correspondiente al tratamiento junto con la de trazabilidad nacional y en la oreja derecha una caravana de color blanco con el número de contralor interno del tambo.

El parto se realizó en un galpón que cuenta con un sistema de cama caliente a base de aserrín de eucaliptus, chips de madera y cáscara de arroz. Dicha cama fue removida 2 veces al día con un cincel (a las 5:00 y 17:00 horas). Además, el galpón contaba con ventilación (natural y con ventiladores) y aspersores sobre la línea de comederos para el enfriamiento de los animales. Las vacas fueron alojadas en corrales con capacidad para 4 individuos, con un área por animal de 13,5 m² de cama. El área de alimentación adyacente fue de 6,2 m² con un piso de concreto y un comedero de hormigón de 3 metros de largo compartido por los 4 animales. Cada corral dispuso de agua fresca *ad libitum*.

En el parto, estos animales fueron alimentados exclusivamente con una ración totalmente mezclada, con una relación concentrado/forraje de 30:70 (Tabla 2). Se trabajó con dietas aniónicas en el parto (DCAD: -140 meq/kg MS) y su efecto se monitoreó midiendo el pH de orina, siendo ajustada hasta lograr valores de pH entre 6,2 y 6,8 en el lote de vacas. En base al peso vivo de vacas primíparas y multíparas, se ofreció un total de 12,6 kg MS/día y 15,4 kg MS/día, respectivamente.

Tabla 2. Ingredientes de la ración total y parcialmente mezclada utilizada en el pre y posparto.

Componente	Ración totalmente mezclada (parto)	Ración parcialmente mezclada (posparto)
Ensilaje de maíz (Kg MS*)	5,41	4,5
Paja de cebada (Kg MS)	4,39	--
Heno de alfalfa (Kg MS)	--	2,0
Concentrado (Kg MS)	4,17	8,08
Total ofrecido (Kg Ms)	13,96	14,58

*Kilos de Materia Seca (MS).

En el parto el suministro de la ración totalmente mezclada se realizó en el horario de la mañana (8:00-9:00 horas). A su vez, diariamente, se cuantificó el consumo de materia seca mediante la medición de la oferta de comida y el desperdicio de la misma, siendo el consumo de las vacas primíparas 11,5 kg MS/día y 14,0 kg MS/día el de las multíparas.

Durante la parición se hicieron guardias de partos durante las 24 horas del día. Posterior a cada parto se manejó la vaca y el ternero según el siguiente criterio: si la vaca paría entre las 10:00 h hasta las 22:00 h, ingresaba en el ordeño de la mañana y si ocurría entre las 22:00 h y las 10:00 h, ingresaba al ordeño de la tarde, iniciando los ordeños a las 4:00 h y a las 16:00 h, respectivamente. Las vacas fueron pesadas al momento del aparte de su cría y luego ingresaban al ordeño con sus compañeras ya paridas y pasaban a recibir la dieta posparto de acuerdo al tratamiento asignado.

La rutina de alimentación de las vacas durante los primeros 60 días postparto fue la siguiente: una vez finalizado el ordeño de la mañana ingresaban a parcelas para un turno de pastoreo diario de 7:00 h a 14:00 h en praderas de Alfalfa (*Medicago sativa*, 45% del tiempo de pastoreo), Festuca (*Festuca arundinacea*, 24% del tiempo de pastoreo), Achicoria (*Cichorium intybus*, 15% del tiempo de pastoreo) y verdeos de Avena (*Avena sativa*, 15% del tiempo de pastoreo). Posterior al ordeño de la tarde y hasta el ordeño de la mañana siguiente fueron alimentadas con ración parcialmente mezclada (PMR) con el aditivo correspondiente en los corrales. Dicha ración tenía una relación de concentrado/forraje de 45:55 como lo muestra la Tabla 2, ofreciéndoles 13,2 kg MS/vaca/día y 15,3 kg MS/vaca/día a primíparas y multíparas respectivamente. En el período posparto, se midió diariamente para cada tratamiento y categoría el consumo de materia seca mediante la diferencia entre la oferta de PMR en el comedero y el desperdicio de la misma. En lo que respecta al consumo de materia seca de pastura (kg de MS/vaca), el mismo se estimó a los 30 y 60 días posparto como los kilogramos de pasto necesarios para proporcionar la energía restante para satisfacer los requerimientos de energía neta de lactación (ENL) de las vacas que no provenían de la PMR. Las estimaciones individuales del consumo de ENL se calcularon con base en los requerimientos de las vacas, utilizando las ecuaciones de la Academia Nacional de Ciencia, Ingeniería y Medicina (NASEM, 2021; Committee on Nutrient Requirements of Dairy Cattle et al., 2021) para el ganado lechero.

El método de pastoreo utilizado fue un sistema rotativo en franjas mediante el uso de cerco eléctrico. Se pastorearon franjas semanales y la asignación de la pastura fue regulada semanalmente en función de la disponibilidad de forraje, siendo la asignación objetivo de 30 kg de materia seca de pastura por animal, para permitir que las vacas maximicen su consumo de pastura. La masa de forraje disponible para determinar el tamaño apropiado de las parcelas fue calculada semanalmente utilizando una técnica de doble muestreo adaptada de Haydock and Shaw (1975). La misma consistió en clasificar regiones de la parcela en estudio, en función de la altura y densidad del forraje, en grados 1, 2 y 3, representando el grado 1 los lugares con menor densidad y altura de forraje. Una vez identificadas dichas regiones, se proseguía a tomar medidas de altura cada 10 pasos (caminando en zig-zag por toda la extensión de la parcela) y colocar en ese lugar un cuadrado de 30x30 cm. El forraje que quedaba contenido dentro del mismo se cortaba y almacenaba en bolsas plásticas para ser pesadas en el laboratorio en base fresca con una balanza electrónica. Posteriormente las muestras eran secadas a 60°C durante 72 h para determinar el contenido de materia seca. En función de los datos obtenidos de los diferentes puntos de medición de la parcela y peso del forraje en base seca se realizaba un gráfico de regresión lineal con el cual se estimaba el forraje de la parcela en su conjunto. El mismo método fue utilizado para determinar el forraje remanente post pastoreo. Por otra parte, semanalmente, en tres oportunidades, se tomaron muestras de la pastura representativas del forraje ingerido por las vacas (3 vacas/tratamiento) mediante una técnica manual adaptada de Coates y Penning (2000). Estas muestras eran posteriormente secadas a 60°C por 72 h y analizadas para determinar su composición química.

La composición química de la ración totalmente mezclada, parcialmente mezclada y de la pastura se presentan en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Composición química de la ración totalmente mezclada y parcialmente mezclada (en base seca) ofrecida a los grupos Control, Monensina y Fitoquímicos en el parto y los primeros 60 días de lactación.

	Tratamientos parto			Tratamientos postparto		
	Monensina	Fitoquímicos	Control	Monensina	Fitoquímicos	Control
Materia Seca (%)	42,3	43,8	44,2	44,1	45,2	44,1
Materia Orgánica (%)	91,6	90,1	91,5	90,8	90,9	90,4
Proteína cruda (%)	13,5	13,3	13,1	14,7	14,4	14,4
Fibra detergente neutro (%)	43,3	40,7	42,8	30,1	28,5	28,2
Fibra detergente ácido (%)	27,8	26,4	28,3	15,3	15,0	14,9

Tabla 4. Composición química de las pasturas ofrecidas durante el postparto.

Componente	Festuca	Alfalfa 1	Achicoria	Alfalfa 2	Avena
Materia seca (%)	27±3,8	27,4±2,5	13,8±1,9	26,2±1,7	22,6± 2,2
Materia orgánica (%MS)	88,3±0,8	90 ± 0,2	84,6±0,7	89,7±0,7	88,1± 0,2
Proteína cruda (%MS)	17,3±0,2	17,4±1,3	18,3±0,9	17,3±2,6	16,5±0,4
Fibra neutro detergente (%)	45,4±1,1	41,6±3,9	27,4±3,1	34,1±4,2	35,5±1,0
Fibra ácido detergente (%)	25,4±0,2	24,3±1,3	18,6±01,7	22,0±2,3	21,7±0,8

Festuca: *Festuca arundinacea*; Alfalfa: *Medicago sativa*; Achicoria: *Cichorium intybus*; Avena: *Avena sativa*.

6.2 Mediciones

6.2.1 Involución uterina y reinicio de ciclicidad ovárica

Según la fecha de parto se evaluó la evolución del puerperio examinando a los animales entre los 5 y 10 días postparto (dpp), a los 21 dpp y a los 40 dpp, empleando las planillas que se muestran en Anexo (1 y 2). Esta revisión se realizó los días miércoles de cada semana en función de los días posparto de cada animal.

A los animales de 5 a 10 dpp se evaluó por palpación rectal la posición, diámetro y largo de cérvix, posición uterina, consistencia y presencia de contenido en cuernos uterinos. A los 21 dpp se valoraron visualmente las secreciones vaginales a través de vaginoscopía en base el score de mucus vaginal de Williams et al. (2005) previa higienización de la zona perivulvar. Además, entre vaca y vaca se procedió a la limpieza del vaginoscopio con una solución antiséptica. También se evaluó la posición, diámetro y largo de cérvix, posición uterina, simetría/asimetría de cuernos uterinos, consistencia y presencia de contenido en cuernos uterinos y diámetro de cuerno uterino grávido por medio de la técnica de palpación rectal. A los 21 y 40 dpp se evaluaron las estructuras ováricas utilizando un ecógrafo Aloka 500 con una sonda lineal Aloka UST-5820-5. Aquellas vacas que tenían cuerpo lúteo fueron consideradas ciclando.

En caso de animales enfermos, se definieron los siguientes criterios para determinar el diagnóstico:

- Retención de membranas fetales (RMF): se definió como un estado patológico en el cual no ocurre la expulsión de las membranas fetales o parte de ellas dentro de las 12-24 horas postparto (Moreira y Patiño, 2008).
- Metritis puerperal: se define como un animal que dentro de los 21 días postparto presenta un útero anormalmente agrandado, con menor consistencia y descarga acuosa, fétida, de color marrón-rojizo asociada con signos de enfermedad sistémica y fiebre mayor a 39.5 °C (Sheldon et al., 2006).
- Metritis clínica: se define como un animal que dentro de los 21 días postparto presenta un agrandamiento anormal del útero y descarga uterina purulenta, fétida, detectable en la vagina, sin presencia de sintomatología clínica sistémica (Sheldon et al., 2006).
- Endometritis clínica: se define como un animal que a partir de los 21 días postparto presenta una descarga uterina purulenta (>50% pus) detectable en vagina o descargas mucopurulentas (50% pus, 50% moco) (Sheldon et al., 2006).
- Hipocalcemia subclínica: se considera como aquel animal cuyas concentraciones de calcio sérico son $\leq 2,14\text{mmol/l}$ y no presenta sintomatología clínica (Rodríguez, Aris y Bach., 2017).
- Hipocalcemia clínica: se considera como aquel animal cuyas concentraciones de calcio sérico son inferiores a 1,5 mmol/l y presenta sintomatología clínica típica (Rodríguez et al., 2017).

- Cetosis subclínica: se considera como aquel animal cuyas concentraciones de BHB en sangre son $\geq 1,4$ mmol/l, sin la presencia de signos clínicos (Suthar, Canelas-Raposo, Deniz y Heuwieser, 2013; Radostits et al., 2007).
- Cetosis clínica: se considera como aquel animal cuyas concentraciones de BHB en sangre son $> 2,5$ mmol/l con presencia de signos clínicos (Radostits et al., 2007).
- Involución uterina aceptable: se definió en este trabajo como aquel animal que en la revisión realizada a los 21 días posparto presenta un útero en posición pélvica o pélvico-abdominal (con gran proporción en la cavidad pélvica), sin contenido líquido y simetría o asimetría leve de cuernos uterinos.

6.2.2 Determinación de estado corporal y peso vivo

Semanalmente se evaluó con un único observador el estado corporal utilizando la escala de 1-5 de Edmonson et al. (1989). El peso vivo fue registrado mensualmente mediante balanza electrónica, luego del ordeño de la mañana (ayuno).

6.2.3 Determinación de calcio y fósforo

Muestras de sangre fueran obtenidas dos veces por semana, posterior al ordeño de la mañana, desde la vena coccígea, usando una aguja por animal, con tubos al vacío sin anticoagulante (VACUTTE® con gel acelerador, de 8 mL). A las muestras de sangre se las centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos, para luego proseguir con la extracción de suero, el cual se almacenó en tubos eppendorf debidamente identificados con el número de la vaca y fecha de obtención de la muestra. Luego se congelaron a -20°C para su posterior procesamiento.

La concentración de calcio y fósforo sanguíneo fue determinada en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal de la Facultad de Veterinaria, utilizando un analizador automático por espectrofotometría; BA200 (© Biosystems S.A. Barcelona, Spain) según lo descrito por Rupprechter et al. (2020). Los coeficientes de variación inter-ensayos para ambas variables fueron menores a 10 %, siendo para el calcio de 3% en el grupo control alto y 4% para el grupo control bajo. Mientras que para el fósforo de 8% en el grupo control alto y 5% para el grupo control bajo.

6.2.4 Determinación de la producción láctea

Diariamente se midió la producción de leche individual empleando un software asociado a la máquina de ordeño (Dairyplan; GEA, Düsseldorf, Alemania). Además, una vez por semana se obtuvieron muestras de leche las cuales fueron remitidas al laboratorio COLAVECO para determinar el porcentaje de grasa y proteínas mediante infrarrojo medio. Con esta información se calculó la leche corregida por grasa al 4% (LCG) según la siguiente fórmula: $\text{LCG} = \text{litros de leche} * (0,4 + 0,15 * \% \text{ de grasa})$.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables vinculadas a la evaluación de la involución uterina fueron la posición del cérvix (pélvico, pélvico-abdominal, abdominal), la posición de los cuernos uterinos (pélvico, pélvico-abdominal, abdominal), el largo y diámetro del cérvix y el diámetro del cuerno uterino grávido. Las variables referidas a la posición del cérvix y útero se analizaron utilizando el test exacto de Fisher (SAS University Edition®, versión on-line, On demand), mientras que, para las referidas a la medición del cérvix y útero, se utilizó el modelo lineal generalizado, procedimiento Glimmix de SAS, utilizando como efecto fijo el tratamiento, el número de lactancia, y su interacción.

Para el análisis de las variables reproductivas se excluyeron a los animales con metritis, como también se excluyeron dos vacas que parieron mellizos de todo el estudio.

La proporción de vacas con cuerpo lúteo a los 21 y 40 dpp (vacas ciclando), así como la incidencia de enfermedades en el posparto, se analizó por la prueba de Fischer utilizando el programa mencionado anteriormente. La concentración de calcio y fósforo, la relación Ca/P, el estado corporal y la producción de leche corregida por grasa al 4%, se analizó con un modelo lineal generalizado Glimmix del SAS. En el modelo se incluyó como efecto fijo el tratamiento, el período del experimento y el número de lactancia y la interacción de estos factores. Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0,05$ y tendencia cuando $p > 0,05$ y $< 0,1$. Las medias se ajustaron por Tukey-Kramer.

8. RESULTADOS

Respecto a los resultados de la involución uterina posparto, en la Tabla 5 se presentan los resultados de la ubicación de los cuernos uterinos en la evaluación reproductiva realizada entre los días 5 a 10 posparto. No se encontraron diferencias entre los tratamientos en la frecuencia de las posiciones uterinas ($p=0,73$).

Tabla 5. Frecuencia de la posición de los cuernos uterinos a los 5 a 10 días posparto para las vacas de los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.

Posición (%)	Tratamientos		
	Monensina	Fitoquímicos	Control
Pélvico	5	5	0
Pélvico abdominal	40	50	61
Abdominal	55	45	39

En la Tabla 6 se presentan los resultados de la ubicación del cérvix en la evaluación reproductiva realizada entre los días 5 a 10 posparto. No se encontraron diferencias entre los tratamientos en la frecuencia de las posiciones de cérvix ($p=0,91$).

Tabla 6. Frecuencia de la posición del cérvix a los 5 a 10 días posparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.

Posición (%)	Tratamientos		
	Monensina	Fitoquímicos	Control
Pélvico	75	70	66,7
Pélvico abdominal	25	30	27,8
Abdominal	0	0	5,6

En la Tabla 7 se presentan los resultados de diámetro y largo de cérvix de la evaluación reproductiva realizada entre los días 5 a 10 posparto.

Tabla 7. Diámetro y largo de cérvix a los 5 a 10 días posparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.

Variables	Tratamientos		
	Monensina	Fitoquímicos	Control
Diámetro de cérvix (cm)	5,42±0,23	5,46±0,23	5,41±0,24
Largo de cérvix (cm)	9,3±0,41	9,56±0,4	9,44±0,42

No se encontraron diferencias entre los tratamientos en cuanto el diámetro ($p=0,99$) y largo de cérvix ($p=0,90$) a las 5-10 dpp.

En la Tabla 8 se presentan los resultados de la ubicación del útero en la evaluación reproductiva realizada a los 21 días posparto. Hubo una tendencia ($p=0,06$) a que las vacas del tratamiento de fitoquímicos tuvieran a los 21 dpp úteros más grandes que los otros tratamientos, evidenciado por la posición en que se encontró en la revisión clínica.

Tabla 8. Frecuencia de la posición del útero a los 21 días posparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.

Posición (%)	Tratamientos		
	Monensina	Fitoquímicos	Control
Pélvico	72	35	59
Pélvico abdominal	28	65	41

En cuanto a la ubicación del cérvix en la evaluación reproductiva realizada a los 21 días posparto, el cien por ciento de los animales presentaron el cérvix en cavidad pélvica.

En cuanto a la simetría de los cuernos uterinos en la evaluación reproductiva realizada a los 21 días posparto se encontró que $33\pm 11\%$ de las vacas que recibieron la Monensina presentaron cuernos uterinos simétricos mientras que para el tratamiento suplementado con Fitoquímicos este valor fue de $29\pm 11\%$ al igual que el grupo Control, no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos en la frecuencia de simetría ($P=0,97$).

En la Tabla 9 se presentan los resultados de diámetro y largo de cérvix, y diámetro del cuerno uterino grávido de la evaluación reproductiva realizada a los 21 días posparto. No se encontraron diferencias entre los tratamientos en cuanto al diámetro ($p=0,3$) y largo de cérvix ($p=0,2$) y a diámetro del cuerno uterino grávido ($p=0,48$).

Tabla 9. Diámetro y largo de cérvix y diámetro de cuerno uterino grávido a los 21 días posparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.

Variables	Tratamientos		
	Monensina	Fitoquímicos	Control
Diámetro de cérvix (cm)	$3,69\pm 0,13$	$3,92\pm 0,12$	$3,65\pm 0,3$
Largo de cérvix (cm)	$6,1\pm 0,24$	$6,8\pm 0,24$	$6,4\pm 0,25$
Diámetro cuerno uterino grávido (cm)	$3,5\pm 0,2$	$3,7\pm 0,2$	$3,3\pm 0,2$

En cuanto a la incidencia de patologías reproductivas, en la evaluación realizada a los 5 a 10 días posparto, se encontró una incidencia de metritis clínica del 5%. Analizándose por tratamiento, la misma fue de 9,5% en las vacas suministradas con el aditivo Monensina, 0% en las vacas suplementadas con Fitoquímicos y de 5,3% para el grupo Control, no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,64$). Un 75% de estos animales desarrolló endometritis clínica.

En la evaluación reproductiva realizada a los 21 días posparto se encontró una incidencia de endometritis clínica del 11,9%, incluyendo a los animales que tuvieron metritis. Analizándose por tratamiento, la misma fue de 0% para el grupo con el aditivo Monensina, 10% en las vacas suplementadas con Fitoquímicos y 25% para el grupo Control, no encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,058$).

En la Fig. 2 se muestra el porcentaje de animales ciclando a los 21 y 40 días posparto según tratamiento, no observándose diferencias significativas entre ellos en ambos períodos ($p=0,38$).

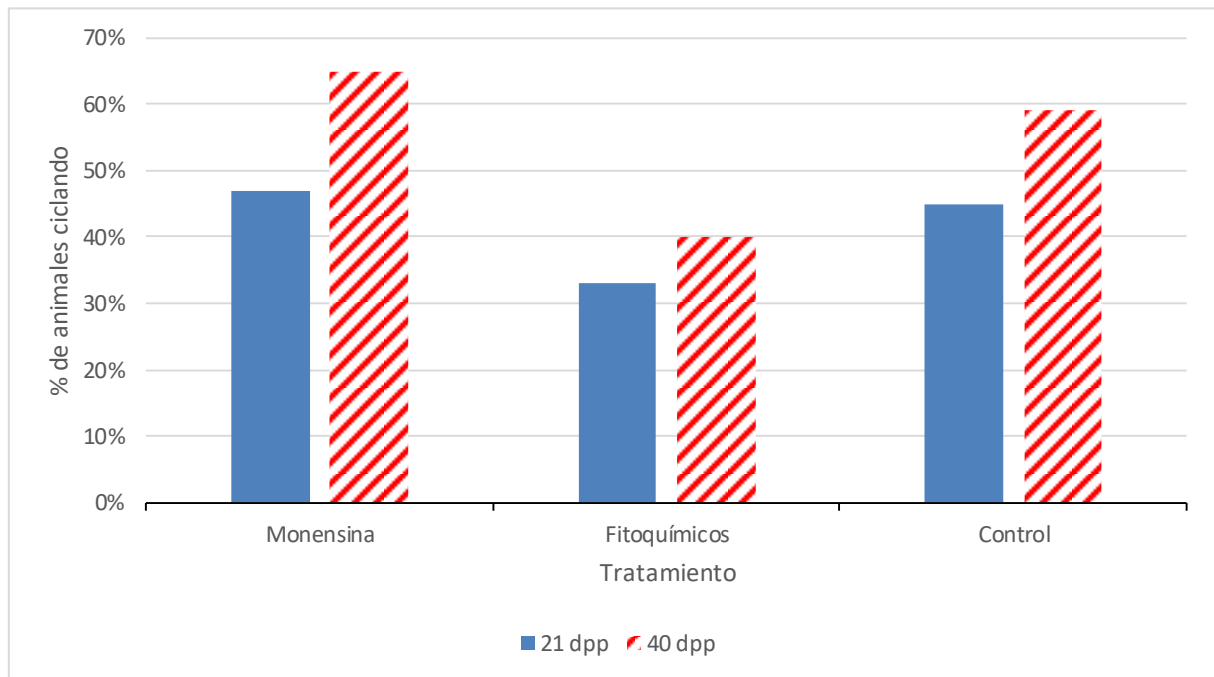


Figura 2. Porcentaje de animales ciclando a los 21 y 40 días posparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control.

En la Fig. 3 se ilustra el estado corporal durante el preparto y posparto según tratamiento.

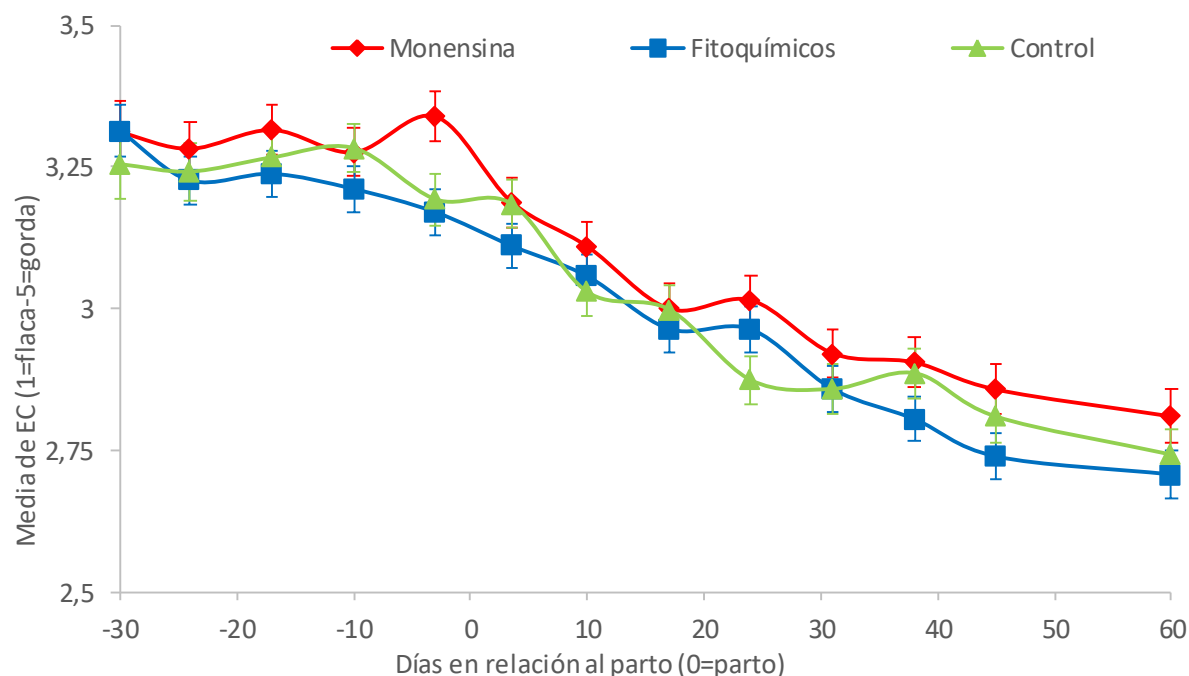


Figura 3. Evolución del estado corporal durante el preparto y postparto para los tratamientos Monensina, Fitoquímicos y Control (media±error de la media).

Al analizar el estado corporal a lo largo del experimento se observó una tendencia del tratamiento ($p=0,09$), donde el grupo Monensina presentó mayor puntaje que el grupo tratado con Fitoquímicos, siendo el EC para el grupo con Monensina de $3,08 \pm 0,03$, para el grupo con Fitoquímicos de $3,01 \pm 0,02$, sin diferencias con el grupo control de $3,02 \pm 0,02$ puntos. A su vez, se encontró una tendencia al efecto de la interacción entre tratamiento y período sobre el estado corporal ($p=0,07$). Esto determinó diferencias a los 6 días previo al parto donde el grupo Monensina tendió a presentar mayor EC que el grupo con Fitoquímicos y el grupo Control (EC de $3,34 \pm 0,05$ vs $3,17 \pm 0,04$ y $3,19 \pm 0,05$, respectivamente). El número de lactancia, tendió a afectar el EC ($p=0,06$), siendo que las vacas primíparas presentaron un EC de $3,06 \pm 0,02$ y las multíparas $3,01 \pm 0,02$. Por otra parte, el día 21 posparto, las vacas del grupo monensina tuvieron mayor EC que las vacas del grupo control ($3,01 \pm 0,044$ vs $2,87 \pm 0,043$), sin diferencias con el restante grupo ($2,96 \pm 0,04$).

En la Figura 4 se presenta la producción láctea presentada como leche corregida por grasa al 4% (LCG) de los distintos tratamientos durante el experimento. No hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0,21$). En promedio, a lo largo del experimento, la producción láctea para el tratamiento con Monensina fue de $30,15 \pm 0,95$ L, para el tratamiento con Fitoquímicos de $30,66 \pm 0,88$ L y para el grupo Control de $28,3 \pm 0,99$ L. No se encontró interacción entre tratamientos y semana de lactancia sobre la producción láctea ($p=0,77$). La producción de leche estuvo afectada por la semana posparto ($p<0,0001$), siendo las semanas 4, 5 y 7 las de máxima producción en comparación con las semanas 1 y 8.

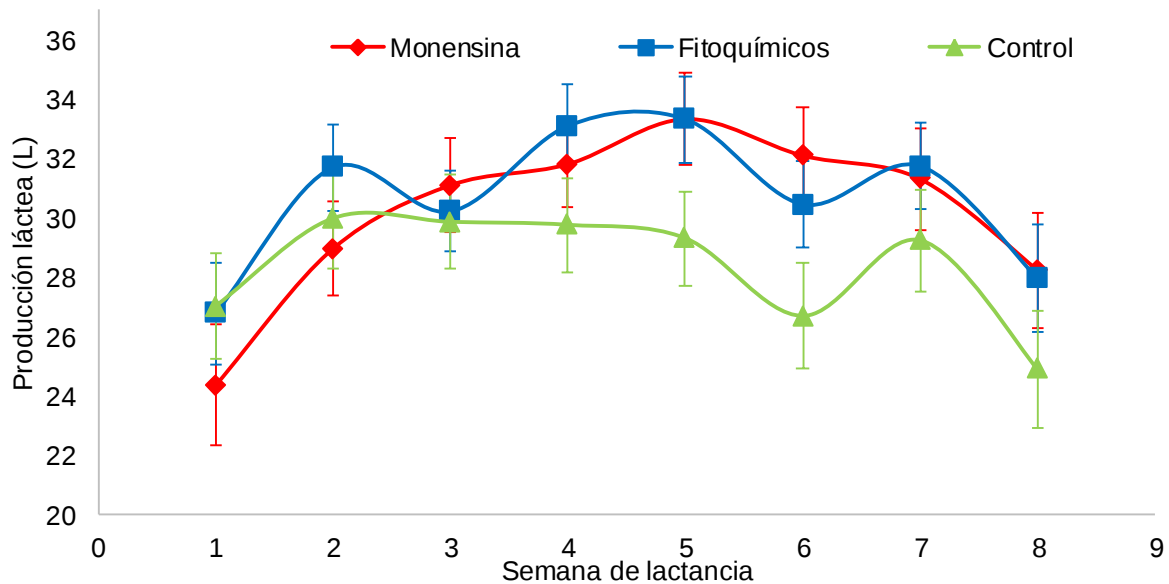


Figura 4. Evolución de la producción láctea corregida por grasa al 4% (LCG) según tratamiento Monensina, Fitoquímicos y Control (media±error de la media) y semana de lactancia.

En la Fig. 5 se muestra la evolución del calcio sérico a lo largo del experimento. No se encontraron diferencias entre tratamientos ($p=0,48$). La concentración de Ca para el grupo con Monensina fue $2,0\pm0,017$ mmol/L, para el grupo con Fitoquímicos de $2,03 \pm 0,016$ mmol/L y para el grupo control de $2,02\pm0,016$ mmol/L. No se encontró una interacción entre tratamiento y período sobre la concentración de calcio sérico ($p=0,89$). Hubo efecto del número de lactancia sobre la concentración de Ca, teniendo las vacas multíparas $1,99\pm0,01$ mmol/L y las primíparas $2,04\pm0,01$ mmol/L. A su vez, el Ca estuvo afectado por el período, ocurriendo diferencias en la concentración entre el período -14 a -20 días respecto al parto donde fue mayor ($2,09\pm0,02$ mmol/L) con relación a la concentración registrada entre los días 15 a 27 días posparto ($1,95\pm0,02$ mmol/L).

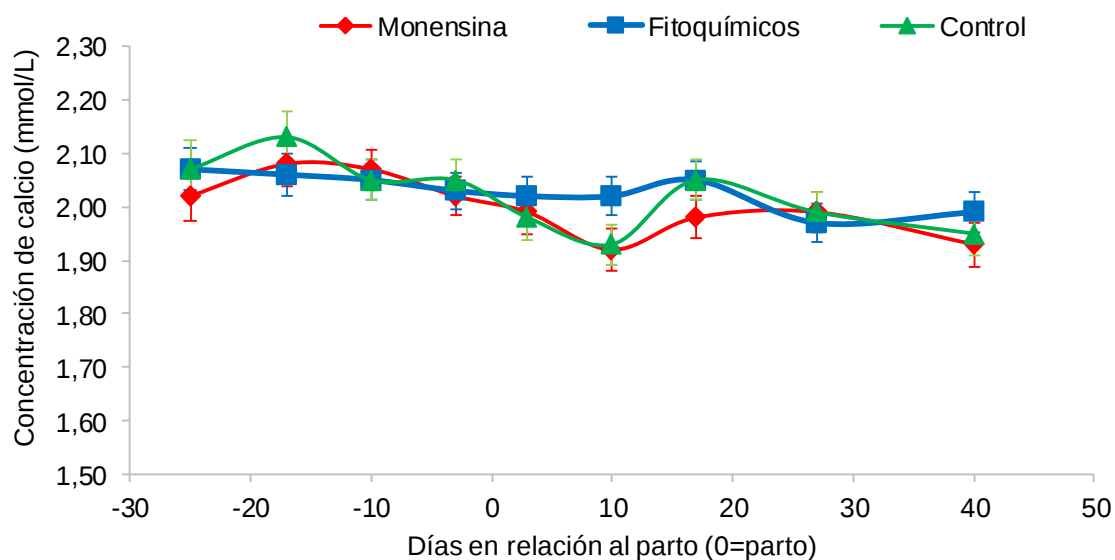


Figura 5. Evolución de la concentración de calcio sérico según tratamiento (Monensina, Fitoquímicos y Control, media $\pm$ error de la media).

En la Fig. 6 se muestra la evolución del fósforo sérico a lo largo del experimento. No se encontraron diferencias entre tratamientos ($p=0,37$), siendo los valores para el grupo con Monensina de $2,21\pm0,12$ mmol/L, para el grupo con Fitoquímicos de $2,16\pm0,11$ mmol/L y para grupo Control de $2,25\pm0,12$ mmol/L. No se encontró una interacción entre tratamiento y período sobre la concentración de fósforo sérico ($p=0,79$). También para el fósforo hubo una tendencia del efecto del número de lactancia ($p=0,055$), siendo las vacas primíparas las que tuvieron mayor concentración de fósforo ($2,35\pm0,07$ vs $2,07\pm0,16$ mmol/L).

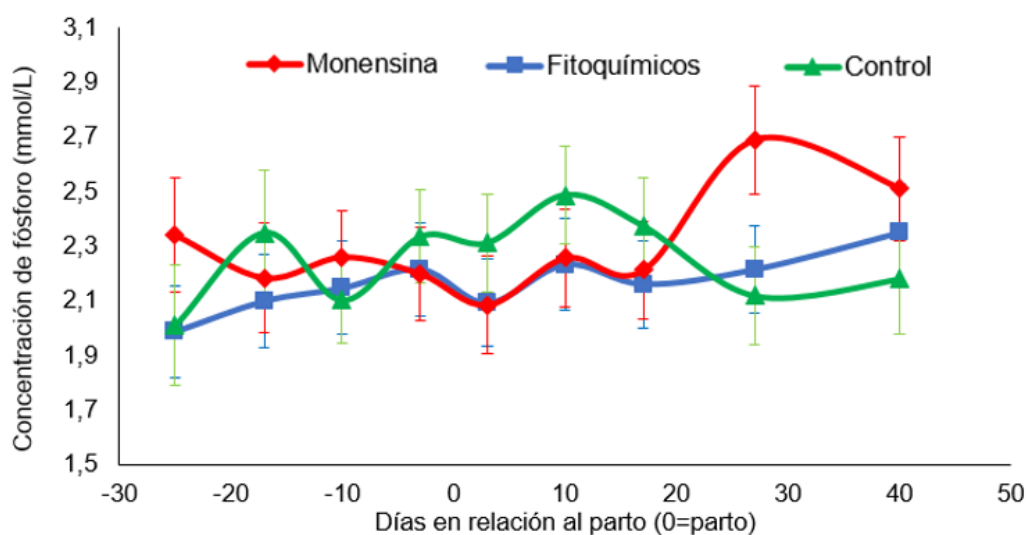


Figura 6. Evolución de la concentración de fósforo sérico según tratamiento (Monensina, Fitoquímicos y Control, media $\pm$ error de la media).

En la Fig. 7 se muestra la evolución de la relación calcio/fosforo sérico a lo largo del experimento. No se encontraron diferencias entre tratamientos ($p=0,95$), siendo los valores para el grupo con Monensina de $0,91 \pm 0,09$, para el grupo con Fitoquímicos de $0,94 \pm 0,087$ y para grupo Control de $0,9 \pm 0,09$ mmol/L. No se encontró una interacción entre tratamiento y período sobre la relación calcio/fosforo sérico ($p=0,99$). Tampoco hubo efecto del número de lactancia, ni del período de tiempo.

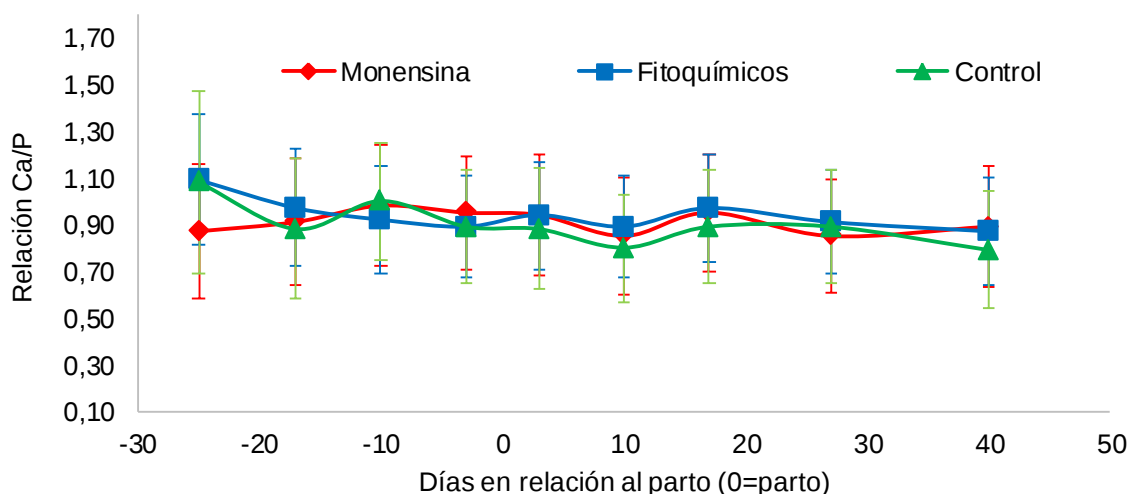


Figura 7. Evolución de la relación calcio/fosforo sérico según tratamiento (Monensina, Fitoquímicos y Control, media $\pm$ error de la media).

En cuanto a la incidencia de hipocalcemia subclínica, el cien por ciento de los animales en estudio la presentaron.

Respecto a la incidencia de cetosis subclínica, los valores obtenidos para el tratamiento con Monensina fueron de 22,2%, para el tratamiento con Fitoquímicos de 19,1% y para el grupo Control de 17,8%, no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos ($p=0,92$).

9. DISCUSIÓN

En este trabajo no se pudo demostrar un efecto benéfico de los aditivos utilizados, tanto de la monensina, como de los fitoquímicos dado que en los parámetros evaluados no se encontraron diferencias entre los tratamientos, con excepción de algún efecto en la involución uterina a desarrollar más adelante en la discusión. De todos modos, los parámetros estudiados permiten realizar una evaluación de la salud durante el período de transición y sirven para ser considerados en protocolos sanitarios para el monitoreo.

Con relación a la evaluación reproductiva realizada entre los 5-10 dpp y a los 21 dpp se puede mencionar que el método de trabajo utilizado, basado principalmente en la evaluación manual (palpación rectal) y vaginoscopia, permitió identificar las diferentes etapas del puerperio, así como aquellos animales que presentaron enfermedad reproductiva. La frecuencia de animales con cérvix en posición pélvica o pélvica-abdominal a los 5-10 dpp y en posición pélvica a los 21 dpp, fue de 98 % y 100 % respectivamente (excluyendo del análisis a las vacas que presentaron metritis postparto). Estos valores se encuentran dentro de lo reportado por Ostrowski et al., (1987) quien describió que a los 14 dpp el cérvix debe encontrarse en cavidad pélvica. El diámetro del cérvix también es utilizado como criterio para evaluar el grado de involución uterina y en este trabajo el valor promedio a los 5-10 dpp fue de $5,43 \pm 0,23$ cm lo cual es similar a lo hallado por Morrow, Roberts, McEntee (1969), Okano y Tamizuka (1986) y Lin et al., (2021). A los 21 dpp el diámetro del cuerno uterino grávido y del cérvix fueron similares, coincidiendo con lo descrito por Cavestany, Geymonat y Sienra (1985) y Morrow et al., (1969). Además, los valores obtenidos en este estudio para ambas variables son semejantes a los mencionados por Sheldon (2004) y Lin et al., (2021) quienes emplearon animales Holando en sus estudios, y Miettinen (1990) quien además de animales Holando incluyó Finnish Ayrshire y Finncattle.

Otra variable utilizada para evaluar el progreso de la involución uterina es la posición en que se encuentra el útero a los 21 dpp. En este trabajo, el grupo de vacas que consumió como aditivo la mezcla de fitoquímicos, presentó mayor proporción de vacas con útero pélvico abdominal en relación a los otros dos grupos (65% vs 28% y 41%, para los grupos monensina y control respectivamente. Este resultado sería indicativo de una involución uterina más lenta para el grupo de fitoquímicos. Estos valores difieren de lo reportado por Miettinen (1990), quien afirma que el tiempo requerido por el útero para alcanzar la cavidad pélvica es menor, reportando valores de $16,4 \pm 2,5$ y $15,7 \pm 2,3$ días para primíparas y multíparas, respectivamente. Debe tenerse en cuenta que dicho trabajo se realizó con animales de diferentes razas lecheras y bajo un sistema de confinamiento total.

También es importante mencionar que a los 21 dpp el 30,3% de los animales presentaron los cuernos uterinos simétricos lo cual contrasta con el trabajo de Balarezo, García-Díaz, Hernández-Barreto y Vargas-Hernández (2018) quienes hallaron un 73,3% de los animales con cuernos uterinos simétricos entre los 21-25 dpp. Puede que estas diferencias, estén vinculadas al hecho de que: el 100 % de los animales del presente estudio presentaron hipocalcemia subclínica (McNally et al., 2014); el carácter subjetivo propio de la técnica de

palpación rectal (Okano y Tomizuka, 1987); como también los efectos antiinflamatorios descritos para ciertos componentes de los fitoquímicos que podrían ir en detrimento del proceso de involución uterina (Cardoso et al., 2009).

A pesar de las diferencias encontradas con otros estudios, la mayoría de los parámetros evaluados se encuentran comprendidos dentro de la definición de involución uterina normal considerada en este trabajo, por lo que se puede afirmar que tanto los animales del grupo con Monensina, como los del grupo con Fitoquímicos y los del grupo Control, presentaron una correcta involución uterina (con excepción de las 3 vacas que tuvieron metritis y se excluyeron del análisis). Cabe mencionar que, de los tres grupos, las vacas que consumieron Fitoquímicos tendieron a presentar el útero en posición pélvico-abdominal en mayor proporción que los demás animales a los 21 dpp ($p=0,06$), lo que como se mencionó anteriormente, podría estar asociado a las propiedades antiinflamatorias de algunos principios activos presentes en estos (Cardoso et al., 2009).

Con relación a la hipocalcemia subclínica, si bien se suele asociar que vacas con esta patología tienden a presentar un retraso en la involución uterina y una mayor susceptibilidad a padecer otras enfermedades metabólicas e infecciosas (McNally et al., 2014), ello no se vio reflejado en el presente estudio y en particular en este trabajo no se encontró una alta incidencia de enfermedades postparto asociadas con estos bajos valores de calcemia.

Por otra parte, puede que la gran cantidad de animales con hipocalcemia subclínica haya incidido en que no se apreciaran los efectos de los aditivos empleados, ya que se desconoce si puede haber una interacción negativa entre esta condición en los animales y los efectos de los fitoquímicos. Esta descrito que estos pueden ser beneficiosos, contraproducentes o nulos, en función del tipo de dieta con la que se suministran, la combinación de principios activos empleados, las concentraciones de los mismos, el tiempo y regularidad con que se empleen y el sistema productivo (Calsamiglia et al., 2007).

En cuanto a la administración de los distintos aditivos, ésta se inició treinta días previo al parto, lo cual permitiría tener un período de adaptación adecuado para la microbiota y epitelio ruminal considerando el estudio de Dieho, Dijkstra, Klop, Schonewille y Bannink (2016) quienes mediante la administración de concentrado desde los 28 días preparto hasta el parto hallaron cambios significativos en la pared ruminal en cuanto al aumento de la superficie de las papilas ruminales en los primeros 20 días preparto. Además, Fraga (2015) ha determinado un período de adaptación de la microbiota ruminal de 16 días para la evaluación *in vitro* de distintas dietas. Cabe destacar que en la amplia mayoría de trabajos en los que se evaluó monensina como aditivo, como bien se muestra en el artículo de metaanálisis llevado adelante por Duffield, Rabiee y Lean (2008) los periodos de adaptación a los mismos fueron mayoritariamente menores a 30 días.

En cuanto al reinicio de la ciclicidad ovárica, el 42% de los animales se encontraban ciclando a los 21 dpp lo cual es coincidente con lo hallado por LeBlanc et al., (2002) quien describió que a los 20-26 dpp el 41,3% de los

animales presenta cuerpo lúteo. Mientras que a los 40 dpp solamente el 54,6% de los animales se encontraban ciclando, no encontrándose diferencias significativas entre tratamientos. Esto contrasta con otros trabajos en los cuales también se manejó el parto con un buen plano alimenticio, pero que obtuvieron un intervalo parto-primera ovulación más acotado. Es así que, Cavestany, Viñoles, Crowec, La Manna y Mendoza, A. (2009), reportaron que vacas multíparas suplementadas con un plano nutricional alto desde las 3 semanas preparto, bajo un sistema de base pastoril, tuvieron su primera ovulación posparto a los 22,9 días. En esta misma línea Adrien (2010) en un sistema de base pastoril, con animales que 30 días previo al parto presentaron un EC similar al del presente experimento ($EC = 3,44 \pm 0,07$ para multíparas y $3,43 \pm 0,05$ para primíparas), reportó una probabilidad de reinicio de ciclicidad ovárica a los 30 dpp de un 70% y un 80% para primíparas y multíparas respectivamente. Además, tanto sus animales como los de este trabajo llegaron al parto con una condición corporal dentro del rango de 3-3,25 considerado óptimo por Roche et al., (2009) y Chagas et al., (2007). También se destaca que, en el trabajo de esta tesis, no hubo pérdidas significativas (en torno a 0,5 puntos de pérdida) entre el parto y los sesenta días postparto, encontrándose estos animales siempre dentro de lo considerado “un perfil de estado corporal ideal” por Chagas et al., (2007). Por lo anterior, considerando que el anestro posparto está ligado al balance energético por la diferencia entre los aportes de la dieta y los requerimientos energéticos para hacer frente a la producción láctea y mantenimiento (Butler et al., 1981; Beam y Butler, 1998), y que las diferencias con Adrien (2010) no residen en la evolución del EC de los animales desde el parto temprano hasta los 60 días postparto sino que fundamentalmente en la producción láctea ($29,72 \pm 0,94$ L vs $23 \pm 0,7$ L para primíparas y $27 \pm 0,7$ L para multíparas), se cree que el retraso en el reinicio de ciclicidad ovárica en el presente estudio podría atribuirse a una mayor utilización de energía para sostener una mayor producción láctea, lo cual estaría actuando en detrimento de la performance reproductiva. Como también podría estar relacionado a la hipocalcemia subclínica de nuestros animales, considerando que Jonsson, Pepper, Daniel, McGowan y Fulkerson (1999) mencionan una relación entre esta condición y un reinicio de ciclicidad ovárica más retrasado.

Siguiendo con el análisis de la evolución del EC, es importante mencionar que en promedio a lo largo del trabajo se observó una tendencia del grupo Monensina a presentar un EC mayor que el grupo tratado con Fitoquímicos ($p=0,09$), esto podría deberse al probado efecto de la monensina en incidir en que los procesos ruminales sean energéticamente más eficientes, mejorando el balance energético (McGuffey, Richardson y Wilkinson, 2001; Bretschneider, 2009) mientras que los efectos de los Fitoquímicos dependen de varios factores como se mencionó anteriormente.

En cuanto a la producción láctea (LCG al 4%) llama la atención el hecho de que no hubo diferencias entre los tratamientos en los primeros sesenta días postparto, siendo la misma de $29,72 \pm 0,94$ L en promedio. Esto contrasta con otros trabajos que evaluaron el uso de monensina como aditivo y encontraron efectos positivos en su uso, tales como Gallardo et al., (2002) quien obtuvo diferencias productivas respecto a animales sin aditivo del orden de 1,05 L/v/día en vacas alimentadas bajo un sistema de PMR durante las primeras 20

semanas de lactancia (26,6 L/v/día vs 27,65 L/V/día) y McGuffey, Richardson y Wilkinson (2001), quienes en un artículo de revisión sobre el empleo de monensina en pre mezcla mencionan una mejoría en la producción del orden de los 1,3 kg/v/d. Por lo que, si bien era esperable obtener una mayor producción láctea en el grupo Monensina con respecto al grupo Control (30,15±0,95 L vs 28,3±0,99 L), el que no haya ocurrido podría deberse a lo señalado por McGuffey et al, (2001) quien indica que en muchos estudios de respuesta a la monensina faltó la suficiente potencia estadística como para detectar diferencias en la producción láctea. Por lo que, quizás extendiendo el período del experimento o evaluando a un mayor número de animales, se podrían esperar ver esas diferencias productivas. Como también debe tenerse en cuenta que existen estudios en los que tampoco se obtuvieron efectos beneficiosos del tratamiento con monensina sobre parámetros productivos o reproductivos (Salar, Calisici, Bastan y Bastan, 2017). Pudiendo estas diferencias entre resultados deberse a la heterogeneidad de las condiciones en las que se llevan a cabo los estudios y a la influencia de numerosos factores tales como la dieta, el manejo, o la genética, entre otros (Alcázar, Martínez, Madrid, Larrosa y Hernández, 2020).

Al analizar el Ca sérico, la totalidad de los animales presentaron durante todo el estudio, valores de calcemia inferiores a 2,14 mmol/L, encontrándose por tanto en hipocalcemia subclínica. A nivel nacional Bertinat (2022) obtuvo valores de 81 % de hipocalcemia subclínica realizando las mediciones dentro de las 72 horas postparto y utilizando un punto de corte de Ca menor a 2,14 mmol/L, mientras que Cruz (2019) obtuvo una incidencia del 79 % empleando un punto de corte de Ca menor a 2,1 mmol/L dentro de las 96 horas postparto. Dichos valores son altos si se les compara con resultados internacionales, por ejemplo, Roberts y Mc Dougall (2018) hallaron una prevalencia de 52,3 % y Venjakob, Borchardt y Heuwieser (2017) de un 53%. Bertinat (2022) vincula estas diferencias fundamentalmente a dietas preparto con altos niveles de P y K mientras que Cruz (2019) hace mayor énfasis en la genética de los animales empleados, Holstein de la línea Norteamericana, por lo cual relaciona la alta producción láctea del biotipo norteamericano con una mayor demanda de Ca por la ubre como también postula que en su estudio la implementación de sales aniónicas en la dieta preparto y la suplementación con calcio en el postparto quizás no fueron suficientes para alcanzar niveles más elevados de calcemia. Dado que en este trabajo no se encontraron diferencias en cuanto a la concentración de Ca sérico entre los grupos, se hipotetiza al igual que Bertinat (2022) que el alto porcentaje de hipocalcemia pudo estar asociado a altos porcentajes en relación a la MS de P y K en la dieta preparto (0,31% de P y 1,31% de K vs 0,21% de P y 0,65% de K recomendado por NASEM, 2021). Esta descripto que altos niveles de fósforo inhiben la conversión renal de 25-hidroxivitamina D a 1,25-dihidroxivitamina D interfiriendo con el transporte intestinal de Ca (Goff, 2008). Además, altas concentraciones de K interfieren negativamente con la absorción de Mg a nivel ruminal. La deficiencia de Mg, afecta el metabolismo del Ca de dos maneras, por un lado, reduciendo la secreción de paratohormona (PTH) en respuesta a hipocalcemia y por otro reduciendo la sensibilidad de los tejidos a la PTH y por tanto disminuyendo su efecto cuya finalidad es el de elevar la calcemia (Goff, 2008).

En cuanto a la relación Ca/P se obtuvo una media general de 0,92, menor a lo recomendado por Wittwer (2012) siendo lo ideal una relación Ca/P mayor a 1 y menor a 1,6. Esto se debe a los bajos niveles de calcemia de nuestros animales, puesto que los niveles de P, con una media de 2,2 mmol/L, en todo momento se encontraron dentro de los rangos de referencia (1,4 a 2,6 mmol/L) (Goselink, Klop, Dijkstra, Bannink, 2015).

Respecto a la incidencia de enfermedades reproductivas postparto, se encontró que un 5 % de los animales presentó metritis clínica a los 5-10 dpp, valor inferior al 13,8% hallado por Giulodori et al., (2014) entre los 5-7 dpp, no encontrándose diferencias entre tratamientos ($p=0,64$). Cabe mencionar que las vacas que desarrollaron metritis presentaron gestación múltiple y una de ellas desarrolló previamente retención de placenta. Varios factores están involucrados en la incidencia de metritis posparto, siendo el parto de mellizos un factor predisponente dado no solo por la mayor probabilidad de retención de membranas fetales, sino que también por una mayor incidencia de partos prematuros. En cuanto a la incidencia de endometritis clínica a los 21 dpp, esta fue del 11,9 % siendo dicho valor similar a lo hallado por Knutti, Küpfer y Busato (2001) quienes examinaron 3276 vacas durante 6598 lactancias, obteniendo una incidencia de endometritis clínica del 14,4%. Por otro lado, LeBlanc et al., (2002) obtuvo un valor promedio de 16,9% examinando 27 rodeos (1865 animales en total) empleando un criterio más abarcativo para considerar endometritis, incluyendo animales con presencia de una descarga uterina o de un diámetro cervical mayor de 7,5 cm luego de 20 días postparto o con descarga mucopurulenta luego de 26 días post parto. Cuando se analiza por tratamiento, el grupo con Fitoquímicos y grupo Control tendieron a presentar una mayor incidencia (0% grupo Monensina vs 10% grupo Fitoquímicos vs 25% grupo Control) ($p=0,06$). Esto coincide con que los animales del grupo con Fitoquímicos tendieron a presentar una involución uterina más lenta ($p=0,06$) lo cual podría estar asociado a los efectos antiinflamatorios de algunos principios activos de los fitoquímicos, como el caso de la piperina (Cardoso et al., 2009) lo que podría interferir con los mecanismos reguladores de reparación de tejidos y recuperación de la actividad y función reproductiva del endometrio para lo cual las defensas inmunitarias, principalmente la infiltración de células polimorfonucleares, son necesarias ya que cumplen la función de limpiar el tejido placentario residual y los microorganismos infecciosos (Butler, Lucy y Garverick, 2014). Como también podría haber una asociación con el elevado porcentaje de hipocalcemia subclínica (100% de los animales), condición con la cual se desconoce si existe alguna interacción negativa.

En este estudio se obtuvo una incidencia de cetosis subclínica del 19%, lo cual se encuentra dentro de los valores mencionados por Sepúlveda y Wittwer (2017) y Suthar et al., (2013), y si bien era esperable encontrar una menor cantidad de animales con cetosis en el tratamiento con Monensina respecto al grupo Control debido al conocido efecto de este aditivo sobre el metabolismo energético, no se encontraron diferencias entre tratamientos. En esta línea McGuffey et al., (2001) en su artículo de revisión afirma que un hallazgo común y consistente en los estudios que evaluaron el uso de monensina para caracterizar su impacto en cuanto a cetosis subclínica, es la disminución en las concentraciones sanguíneas de NEFA's y/o BHB, los cuales son metabolitos

normalmente utilizados como indicadores de un balance energético negativo y de la severidad de la cetosis.

10. CONCLUSIONES

Todos los animales del experimento presentaron una correcta adaptación al período de transición evidenciado en la evolución de la producción láctea, la salud reproductiva y la evolución del estado corporal. A su vez, los animales de los tres grupos evaluados (Monensina, Fitoquímicos y grupo Control) presentaron una involución uterina normal.

El bajo reinicio de ciclicidad ovárica registrado a los 40 dpp podría explicarse por la gran demanda de energía asociada a la elevada producción láctea como también a la alta incidencia de hipocalcemia subclínica en este trabajo.

Considerando que no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros reproductivos, productivos y de salud evaluados entre los distintos grupos del experimento, no se puede descartar la mezcla de Fitoquímicos evaluada como un posible sustituto de la Monensina. Es necesario considerar las otras variables analizadas en su conjunto, más allá de este trabajo de tesis, para determinar si este producto tiene efectos benéficos sobre la alimentación, eficiencia alimenticia, mitigación en la producción de gases de efecto invernadero, etc.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Adrien, L. (2010). *Regulación nutricional del estado corporal al inicio del período de transición en vacas lecheras en condiciones de pastoreo* (Tesis de maestría). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Alcázar, E., Martínez, S., Madrid, J., Larrosa, P., y Hernández, F. (2020). Desafíos para la salud de las vacas durante el período de transición. Uso de monensina. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 34, 7–16.
- Ali, B., Marrif, H., Noureldayem, S., Bakheit, A., y Blunden, G. (2006). Some Biological Properties of Curcumin: A Review. *NPC Natural Product Communications*, 6(1), 509-521.
- Alves, A. (2021). *Efeitos da associacao de Curcuma longa L. e piper nigrum L. sobre a imunidade: uma revisao integrativa* (Tesis de grado). Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília.
- Amaguaña, F., y Churuchumbi, E. (2018). *Estandarización fotoquímica del extracto de Caléndula (Caléndula officinalis)* (Tesis de grado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito.
- Arechiga-Flores, C., Cortes-Vidauri, Z., Hernandez, P., Lozano, R., Lopez, M., Macias, U., y Avedaño, L. (2002). La hipoalcemia en la vaca lechera. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 13(4), 1025-1054.
- Arévalos, A., Duchens, M., Melendez, P., y Pinedo, P. (2019). Efecto de monensina intrarruminal sobre el β -hidroxibutirato, enfermedades del periparto, producción de leche y sus componentes en ganado Holstein. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(1), 84-103.
- Akter, J., Hossain, A., Sano, A., Takara, K., Islam, Z., y Hou, D. (2017). Antifungal activity of various especies and strains of tumeric (*Curcuma* spp.) against *Fusarium Solani* sensu lato. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 52(4), 320-325.
- Baeck, J. (2012, octubre 25-26). Transición de la vaca lechera. Nuevos criterios nutricionales que desafían nuestros paradigmas. En *VI Congreso de conservación de forrajes y nutrición*. Mendoza, Argentina.
- Balarezo, L., García-Díaz, J., Hernández-Bareto, M., y Vargas-Hernández, S. (2018). Involución uterina en vacas Holstein en la provincia de El Carchi, Ecuador. *Revista MVZ Córdoba*, 23(2), 6649-6659.
- Barrientos, L. (2013). *Evaluación de la adición de aceites esenciales en la ración de vacas lecheras en pastoreo estival* (Tesis de magister). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia.
- Beam, S., y Butler, W. (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *Journal of Dairy Science*, 81, 121-131.

- Bell, A. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science*, 73, 2804-2819.
- Bertinat, A. (2022). *Estimación de la prevalencia de hipocalcemia subclínica en 15 tambos del Departamento de San José* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Blanc, E. (2004). Evaluación Clínica Racional del Puerperio y sus Principales Trastornos [CO-ROM]. En *Curso a distancia: Manejo de la Reproducción en Ganado Lechero*. Facultad de Veterinaria-Conaprole.
- Bonifacino, C. (2012). *Búsqueda de agentes moduladores del rumen a partir de la quimioteca del laboratorio de química orgánica* (Tesis de grado). Facultad de Ciencias, UDELAR, Montevideo.
- Bretschneider, G. (2009). Beneficios del uso de monensina en la alimentación del ganado para carne, leche y cría. *Revista Electrónica de Veterinaria, REDVET*, 10(10).
- Butler, W. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60, 449-457.
- Butler, W., Everett, R., y Coppock, C. (1981). The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *Journal of Animal Science*, 53(3), 742-748.
- Butler, S., Lucy, M., Garverick, H. (2014). Endocrine and metabolic mechanisms linking postpartum glucose with early embryonic and foetal development in dairy cows. *Animal*, 8, 82-90.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P., Castillejos, L., y Ferret, A. (2007). Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2580-2595.
- Cardoso, V., Ribeiro de Lima, C., Freire de Lima, M., Gomes, L., Teixeira, W., Silva, R., Silva, ... Miranda, M. (2009). Administração oral de piperina em frangos de corte. *Ciência Rural*, 39(5), 1521-1526.
- Cardozo, P. (2005). *Efectos de los Extractos de Plantas sobre las Características de Fermentación Microbiana Ruminal en Sistemas In Vitro e In Vivo* (Tesis Doctoral) Universitat Autònoma de Barcelona.
- Carro, M., Saro, C., Mateos, I., Díaz, A., y Ranilla, M. (2014). Perspectivas y retos de los extractos vegetales como aditivos alimentarios en rumiantes. *Albeitar*, 179, 4-6.
- Cavestany, D., Geymonat, D., y Sienra, R. (1985). *Tema I: Post parto en la hembra bovina*. Montevideo: MAP-IICA.
- Cavestany, D., Viñoles, C., Crowec, M., La Mannaa, A., y Mendoza, A. (2009). Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-based dairy system. *Animal Reproduction Science*. 114(1-3), 1-13.

- Chagas, L., Bass, J., Blanche, D., Burke, C., Kay, J., Lindsay, D., ... Webb, R. (2007). Invited Review: New Perspectives on the Roles of Nutrition and Metabolic Priorities in the Subfertility of High-Producing Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4022-4032.
- Chaves, A., Standford, K., Dugan, M., Gibson, L., McAllister, T., VanHerk, F., y Benchaar, C. (2008). Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livestock Science*, 117, 215-224.
- Chavez, D., Vázquez, J., Hernández, J., Martínez, J., Esparza, S., y López, D. (2021). Los aceites esenciales en los pequeños rumiantes y su efecto sobre la productividad. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(2) <http://dx.doi.org/10.56369/tsaes.3468>.
- Coates, D., y Penning, P. (2000). Measuring animal performance. En t'Mannetje, L. y Jones, R. (Ed.), *Field and Laboratory Methods for Grassland and Animal Production* (pp. 353-402). Wallingford: Research CABI International.
- Committee on Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Board on Agriculture and Natural Resources, Division on Earth and Life Studies, and National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2021). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition* (p. 25806). National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/25806>
- Cruz, I. (2019). *Incidencia de enfermedades durante la lactancia temprana y su asociación con paridad y tamaño de rodeo en predios comerciales* (Tesis de Maestría). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Dai, T., Ma, Z., Guo, X., Wei, S., Ding, B., Ma, Y., y Dan, X. (2023). Study on the Pattern of Postpartum Uterine Involution in Dairy Cows. *Animals*, 13(23), 3693.
- Da Silva, V., Amorim, C., Freiré, M., Gomes, L., Leira, W., Silva, R., y Miranda, M. (2009). Administração oral de piperina em frangos de corte. *Ciencia Rural (Santa Maria)*, 39(5), 1521-1526.
- DIEA. (2023). Anuario estadístico agropecuario. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias. Disponible en: <https://descargas.mgap.gub.uy/DIEA/Anuarios/Anuario2023/ANUARIO2023WEB.pdf> Fecha de consulta: 27/08/2024.
- Dieho, K., Dijkstra, J., Klop, G., Schonewille, J., y Bannink, A. (2016). The effect of supplemental concentrate fed during the dry period on morphological and functional aspects of rumen adaptation in dairy cattle during the dry period and early lactation. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 343-356.
- Dotti, N., y Fernandez, S. (2020). *Validación de métodos de diagnóstico de cetosis subclínica durante el postparto de vacas* (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Drackley, J. (1999). Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier?. *Journal of Dairy Science*, 82(11), 2259-2273.

- Duffield, T., Lissemore, K., McBride, B., y Leslie, K. (2009). Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92(2), 571-580.
- Duffield, T., Rabiee, A., y Lean, I. (2008). A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1334-1346.
- Edmonson, A., Lean, I., Weaver, L., Farver, T., y Webster, G. (1989). A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 68-78.
- Elli, M. (2005). *Manual de reproducción en ganado vacuno*. Zaragoza: Servet.
- Elmetwally, M. (2018). Uterine involution and ovarian activity in postpartum holstein dairy cows. A Review. *Journal of Veterinary Healthcare*, 1(4), 29-40.
- Fajardo, M. (2013). *Integración de pastura y dietas totalmente mezcladas en la alimentación de vacas Holando a inicio de lactancia* (Tesis de maestría). Facultad de Agronomía, UDELAR, Montevideo.
- Fraga, M. (2015). *Modulación de la microbiota y fermentación ruminal con microorganismos ruminales nativos* (Tesis de Doctorado). Instituto de Investigaciones Biológicas Celestino Estable, Montevideo.
- Gallardo, M., Gaggiotti, M., Castro, H., Aronna, M., Lettieri, D., Cuatrin, A., ... Pérez-Monti, H. (2002). *Utilización de monensina-cápsulas intrarruminales en vacas lecheras bajo condiciones de pastoreo de alfalfa. Consumo, producción y composición de leche*. Sitio Argentino de Producción Animal. Recuperado de https://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/invernada/promotor_crecimiento/32-Anuario_2002_1.pdf.
- García, C., Martínez, A., Ortega, J., y Castro, F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química Viva*, 9(2), 86-96.
- Giulodori, M., Magnasco, R., Becu-Villalobos, D., Lacau-Mengido, I., Risco, C., y de la Sota, R. (2014). Endometritis clínica en vacas lecheras: factores de riesgo y performance reproductiva. *Revista Taurus*, 61, 25-33.
- Goff, J. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Veterinary Journal*, 176, 50-57.
- González, A. (2007). Metabolismo hepático y vaca en transición. *Revista Frisona Española*, 160, 116-119.
- Goselink, R., Klop, G., Dijkstra, J., y Bannink, A. (2015). *Phosphorus metabolism in dairy cattle: A literature study on recent developments and gaps in knowledge*. Wageningen: Livestock Research. Recuperado de <https://research.wur.nl/en/publications/phosphorus-metabolism-in-dairy-cattle-literature-study-on-recent->

- Griffin, S., Grant, S., Markham, J., y Leach, D. (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. *Flavour and Fragrance Journal*, 14, 322-332.
- Grunert, E. (1990). Puerperio. En J. Ostrowski, *Obstetricia del bovino* (201-208). Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur.
- Haydock, K., y Shaw, N. (1975). A comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 15(75), 663-670.
- Hernández, L., y McArt, J. (2023). Perspective: Transient postparturient hypocalcemia-A lactation-induced phenomenon of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 106(12), 8177-8180.
- Houe, H., Østergaard, S., Thilsing, T., Jorgensen, R., Larsen, T., Sørensen, J., Agger, J., y Blom, J. (2001). Milk Fever and Subclinical Hypocalcaemia - An evaluation of parameters on incidence risk, diagnosis, risk factors and biological effects as input for a decision support system for disease control. *Acta veterinaria Scandinavica*, 42, 1-29.
- INALE. (2019). Encuesta Lechera. Disponible en: <https://www.inale.org/wp-content/uploads/2021/09/Resultados-Encuesta-2019.xlsx> Fecha de consulta: 27/08/2024.
- Jonsson, N., Pepper, P., Daniel, R., McGowan, M., y Fulkerson, W. (1999). Association between non-parturient postpartum hypocalcaemia and the interval from calving to first ovulation in Holstein-Friesian dairy cows. *Animal Science*, 68, 377-383.
- Juven, B., Kanner, J., Schved, F., y Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*, 76, 626-631.
- Kamimura, S., Oui, T., Takahashi, M., y Sukamoto, T. (1993). Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 55, 643-647.
- Knutti, B., Küpfer, U., y Busato, A. (2001). Reproductive efficiency of cows with endometritis after treatment with intrauterine infusions or prostaglandin injections, or no treatment. *Journal of Veterinary Medicine*, 47, 609-615.
- Kobayashi, Y., Boyd, C., Bracken, C., Lamberson, W., Keisler, D., y Lucy, M. (1999). Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, 140, 3947-3954.
- LeBlanc, S., Duffield, T., Leslie, K., Bateman, K., Keefe, G., Walton, J., y Jhonson, W. (2002). Defining and diagnosis postpartum clinical endometritis and its impacts on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2223-2236.

- Lin, Y., Yang, H., Ahmad, M., Yang, Y., Yang, W., Riaz, H., ...Hua, G. (2021). Postpartum uterine involution and embryonic development pattern in chinese holstein dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 604729.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D., Papon, Y., Mousset, J., y Arturo-Schaan, M. (2007). Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 335-350.
- Martínez, R., Ortega, M., Herrera, J., Ramsy, J., y Garza, K. (2015). Uso de aceites esenciales en animales de granja. *Interciencia*, 40(11), 744-750.
- McGuffey, R., Richardson, L., y Wilkinson, J. (2001). Ionophores for Dairy Cattle: Current Status and Future Outlook. *Journal of Dairy Science*, 84, 194-203.
- McNally, J., Crowe, M., Roche, J., y Beltman, M. (2014). Effects of physiological and/or disease status on the response of postpartum dairy cows to synchronization of estrus using an intravaginal progesterone device. *Theriogenology*, 82(9), 1263-1272.
- Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, División Industria Animal. (2015). *Manual del Programa Nacional de Residuos*. Recuperado de <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/publicaciones/manualv-6pnrbcapitulocarne-ultimaversion.pdf>
- Meikle, A., Cavestany, D., Carriquiry, M., Adrien, M., Ruprecht, G., Rovere, ...Chilibroste, P. (2010). Endocrinología metabólica en la vaca lechera durante el período de transición y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica. *Agrociencia Uruguay*, 14(3), 89-95.
- Meikle, A., Kulcsar, M., Chilliard, Y., Febel, H., Delavaud, C., Cavestany, D., y Chilibroste, P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*, 127, 727-737.
- Miettinen, P. (1990). Uterine involution in Finnish dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 31(2), 181-185.
- Morales, T., Dotti, N., Fernández, S., Cartaya, A., y Ruprecht, G. (2021). Eficiencia de tres herramientas diagnósticas de cetosis subclínica. INIA. Recuperado de <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/15756/1/Revista-INIA-65-Junio-2021-05.pdf> Fecha de consulta: 1/09/2024.
- Moreira, C., y Patiño, J. (2008). Puerperio bovino, en vacas y vaquillonas Holando en pastoreo paridas en otoño: parámetros normales y principales trastornos (Tesis de grado). Facultad de Veterinaria, UDELAR, Montevideo.
- Morrow, D., Roberts, S., y McEntee, K. (1969). Pospartum ovarian activity and involution of the uterus and cervix in dairy cattle. II. Involution of uterus and cervix. *Cornell Veterinarian*, 59(2), 190-198.

- Mulligan, F., y Doherty, M. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176,3-9.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2021). *Nutrient requirements of dairy cattle* (8th ed.). Washington: National Academies Press.
- North, M., Zotte, A., y Hoffman, L. (2019). The use of dietary flavonoids in meat production: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 257, 114291.
- Oetzel, G. (2004). Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 20, 651-674.
- Okano, A., y Tomizuka, T. (1987). Ultrasonic observation of postpartum uterin involution in the cow. *Theriogenology*, 27, 369-376.
- Opsomer, G., Gröhn, Y., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H., y de Kruif, A. (2000). Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, 53(4),841-57.
- Ostrowski, J., Romano, L., y Vicentini, G. (1987). El puerperio fisiológico de la vaca. En J. Ostrowski, *Teriogenología IV* (pp. 73-124). Buenos Aires: Hemisferio Sur.
- Pereira, V., Chapel, L., Rodríguez-Bermúdez, R., Orjales, I., Dominguez, R., y Vázquez, P. (2017). Los extractos vegetales son una alternativa natural a los antibióticos. *Albéitar*, 209, 8-10.
- Peter, A., Vos, P., y Ambrose, D. (2009). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 71, 1333-1432.
- Polin, L., Muro, A., y Díaz, L. (2014). Aceites esenciales modificadores de perfiles de fermentación ruminal y mitigación de metano en rumiantes. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 5(1), 25-47.
- Quiñones, M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., y Constable, P. (2007). Metabolic diseases. En *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (10^a ed., pp.1613-1690). Edinburgh: Elsevier.
- Red de Seguridad Alimentaria, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. (2018). *Resistencia a la monensina* (Informe final). Buenos Aires: RSA-CONICET. Recuperado de <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2018/09/Informe-RAM-monensina.pdf>
- Risco, C., Drost, M., Thatcher, W., Savio, J., y Thatcher, M. (1994). Effects of calving-related disorders on prostaglandin, calcium, ovarian activity and uterine involution in postrartum dairy cows. *Theriogenology*, 42(1),183-203.
- Roberts, K., y McDougall, S. (2018). Risk factors for subclinical hypocalcaemia, and associations between subclinical hypocalcaemia and reproductive performance, in pasture-based dairy herds in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 67(1), 12-19.

- Roche, J., Friggens, N., Kay, J., Fisher, M., Stafford, K., y Berry, D. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5769-5801.
- Rodriguez, E., Aris, A., y Bach, A. (2017). Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 7427-7434.
- Rupprechter, G., Noro, M., Meotti, O., Batista, C., Adrien, L., Barca, J., y Meikle, A. (2020). Endocrine and reproductive parameters in sick and healthy primiparous and multiparous dairy cows. *Theriogenology*, 141, 173-179.
- Salar, S., Çalisici, O., Çalisici, D., Bastan, I., y Bastan, A. (2017). Effect of utilization of a controlled-release intraruminal monensin device on dry matter intake, milk yield, and some reproductive parameters in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 41, 621-626.
- Sepúlveda, P., y Wittwer, F. (2017). *Periodo de transición: Importancia en la salud y bienestar de vacas lecheras*. Valdivia: Universidad Austral. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/323773170_Periodo_de_transicion_Importancia_en_la_salud_y_bienestar_de_vacas_lecheras
- Sheldon, M. (2004). The postpartum uterus. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 20(3), 569-591.
- Sheldon, M., Lewis, G., Leblanc, S., y Gilbert, R. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8), 1516-1530.
- Suthar, V., Canelas-Raposo, J., Deniz, A., y Heuwieser, W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2925-2938.
- Talib, W., Alsalahat, I., Daoud, S., Abutayeh, R., y Mahmud, A. (2020). Plant-derived natural products in cancer research. Extraction, mechanism of action, and drug formulation. *Molecules*, 25(22), 5319.
- Terryn, N., Van Montagu, M., Inzé, D., y Goossens, A. (2006). Functional genomic approaches to study and engineer secondary metabolism in plant cell cultures. En R. J. Bogers, L. E. Craker, y D. Lange (Eds.), *Medicinal and aromatic plants: agricultural, commercial, ecological, legal, pharmacological and social aspects* (Vol. 17, pp. 291-300). Dordrecht: Springer.
- Unión Europea. (2003, septiembre 22). Reglamento No 1831/2003: sobre los aditivos en la alimentación animal. Recuperado de <https://eurlex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32003R1831&qid=1690200099352>
- Venjakob, P., Borchardt, S., y Heuwieser, W. (2017). Hypocalcemia-Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100, 1-9.
- Williams, E., Fischer, O., England, G., Dobson, H., Pfeiffer, D., y Sheldon, M. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial

infection and the inflammatory response to endometritis in cattle.
Theriogenology, 63, 102-117.

Wittwer, F. (2012). *Manual de Patología Clínica Veterinaria*. Valdivia: Imprenta América.

12. ANEXOS

[illegible]

Anexo 1. Planilla de evaluación reproductiva a los 5-10 dpp.

[illegible]

Anexo 2. Planilla de evaluación reproductiva a los 21 – 40 dpp.