



**TESINA PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIADO EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Profundización en Biotecnología

***Suplementación pre parto de vacas de cría:
Efectos sobre la condición corporal y
concentración plasmática de metabolitos e insulina
como indicadores
del balance energético***

Autor: Valeria G. Camarero Sanz

Tutor: Prof. Dra. Raquel Pérez Clariget (PhD)

Tribunal:
Prof. Dra. Raquel Pérez Clariget
Dr. Mario Señorale
Dra. Cristina Cabrera

Montevideo, Septiembre 2014

AGRADECIMIENTOS

A todas aquellas personas que están o estuvieron en mi vida, aportando así su grano de arena en ella.

A mi familia, por quienes soy la persona que soy.

A mis amigos, por haberme acompañado y por haber aguantado que perdiera cumpleaños por estar estudiando (especialmente aquellos que cumplen en Julio, Diciembre y Febrero).

A los compañeros de estudio y amigos que conocí durante la carrera, por esas secciones con café.

A Gonzalo, por acompañarme, apoyarme, motivarme y hacer más llevadero este camino.

A Juan Manuel, mi co-tutor, por haberme confiado sus datos y ayudado a que esta tesis fuera posible.

A Raquel, mi tutora, por también haber confiado en mí, por el gran apoyo tanto académico como emocional y por haber cedido tanto de su tiempo en mí en este periodo.

INDICE

Resumen.....	5
Abstract.....	5
Introducción y antecedentes.....	5
Hipótesis.....	9
Objetivos.....	9
Materiales y Métodos	
<i>Localización, animales, diseño y tratamientos.....</i>	9
<i>Mediciones, muestreos y determinaciones.....</i>	10
<i>Análisis estadísticos.....</i>	11
Resultados	
<i>Peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina.....</i>	12
<i>Variables reproductivas y peso del ternero al nacer.....</i>	16
Discusión.....	17
Conclusiones.....	20
Bibliografía.....	20

LISTA DE FIGURAS

Grafica 1. Evolución de la condición corporal (a) y el peso (b) durante el pre parto, posparto temprano, pre entore y un mes de entore en vacas suplementadas con afrechillo de arroz y glicerina cruda (línea roja con circulo relleno) y vacas control (línea negra con circulo vacio).....	15
Grafica 2. Evolucion de las concentraciones de insulina (a), albúmina (b), urea (c), proteína total (d), beta-hidroxibutirato (e), colesterol (f), AGNE (g) y glucosa (h) durante el pre parto, posparto temprano, pre entore y 2 semanas de entore en vacas suplementadas con afrechillo de arroz y glicerina cruda (línea roja con circulo relleno) y en vacas control (línea negra con circulo vacio).....	16

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición química de la glicerina cruda, el afrechillo de arroz y las pasturas utilizadas.....	10
Cuadro 2. Valores de P de los efectos de tratamiento, semana y la interacción tratamiento por semana sobre el peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina en vacas suplementadas o no durante 52 días antes del parto analizando los valores pre parto y posparto temprano, así como pre entore y entore.....	12

Cuadro 3. Valores de P de los efectos de tratamiento, semana y la interacción tratamiento por semana sobre el peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina en vacas suplementadas o no durante 52 días antes del parto, analizando los valores pre parto y posparto temprano.....	13
Cuadro 4. Coeficientes de correlaciones entre concentración de glucosa (GLU), albúmina (ALB), ácidos grasos no esterificados (AGNE), colesterol (COL), Beta-hidroxibutirato (BHB), insulina (INS), proteína total (PT) y la condición corporal (CC) en vacas de carne primíparas..	13
Cuadro 5. Medias y error estándar de peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina estudiando los valores pre parto y posparto temprano, así como pre entore y entore.....	14
Cuadro 6. Medias y error estándar de peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina estudiando los valores pre parto y posparto temprano.....	14
Cuadro 7. Variables reproductivas en vacas suplementadas o no con afrechillo de arroz y glicerina cruda y valores de P.....	17

RESUMEN

Se estudió la suplementación con afrechillo de arroz y glicerina cruda en la última etapa de gestación en vaquillonas de carne pastoreando campo natural. Se utilizaron muestras de sangre para medir las concentraciones plasmáticas de glucosa, colesterol, ácidos grasos no esterificados, proteína total, urea, albúmina y la hormona insulina, así como registros de peso y condición corporal de 29 vacas primíparas preñadas Hereford, Angus y sus cruza. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con estratificación de las vacas según el genotipo, la condición corporal y la edad de gestación previo a la asignación de tratamientos. Los tratamientos nutricionales comparados fueron: Grupo Control (n = 15): pastoreo de campo natural y Grupo Suplementado (n = 14): pastoreo a campo natural con una suplementación individual de 1 kg de materia seca/vaca/día de afrechillo de arroz entero y 550 mL/vaca/día de glicerina cruda durante los últimos 52 días de gestación. La suplementación disminuyó ($P < 0,05$) la pérdida de condición corporal durante el pre parto permitiendo que las vacas del Grupo Suplementado ($4,54 \pm 0,11$ unidades) llegaran al parto con una mejor ($P < 0,05$) condición corporal que las vacas del Grupo Control ($4,17 \pm 0,11$ unidades). El suplemento mejoró ($P < 0,05$) el balance energético indicado por el aumento de las concentraciones de colesterol, albúmina y glucosa y la disminución de las concentraciones de ácidos grasos no esterificados, beta-hidroxibutirato y urea. La tasa de preñez tendió ($P = 0,06$) a ser superior en las vacas suplementadas que en las controles (Grupo Suplementado: 93%; Grupo Control: 60%)

ABSTRACT

Supplementation with rice bran and crude glycerin in late gestation in beef heifers grazing native pasture was studied. Records of body condition score and weigh, blood samples of 29 pregnant primiparous Hereford, Angus and their cross cows were used. The experimental design was completely random, with previous stratification by genotype, body condition and gestational age of the cows. Nutritional treatments compared were: Control Group (n = 15) grazing native pasture and Supplemented Group (n = 14) grazing native pasture and supplemented with 1 kg of dry matter/cow/day whole rice bran and 550 mL/cow/day of crude glycerin during the last 52 days of pregnancy. Concentrations of glucose, cholesterol, free fatty acids, urea, albumin, total protein and insulin were determined. Supplementation decreased ($P < 0.05$) the body condition score lost during pre-partum, thus supplemented cows (4.54 ± 0.11 units) showed greater ($P < 0.05$) body condition score at calving than control cows (4.17 ± 0.11 units). Supplement cows showed better energy balance indicated by an increase ($P < 0.05$) of concentrations of cholesterol, albumin and glucose and a decrease ($P < 0.05$) of the concentrations of free fatty acids, beta-hydroxybutyrate and urea. Supplemented cows trend ($P = 0.06$) to show greater overall pregnancy rate (Supplemented Group: 93%; Control Group: 60%).

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La cría en Uruguay se realiza en un sistema pastoril cuya base forrajera fundamental es el campo natural. La producción de forraje del campo natural sufre fluctuaciones tanto de cantidad como de calidad a lo largo del año y entre años (Berreta et al., 2000), con la menor producción en invierno (Formoso, 1990). Las vacas tienen una gestación de alrededor de 280 días (Russo y Rutter, 2002) y los entores más frecuentes utilizados en nuestro país abarcan los meses de primavera tardía y verano, por lo que el periodo de menor producción de pasturas coincide con la gestación avanzada. En esa etapa, los requerimientos energéticos de la hembra aumentan a consecuencia del aumento de la demanda del feto, pudiendo ser hasta un 75% mayor que el de un animal no gestante del mismo peso (Bauman y Currie, 1980), la baja disponibilidad de forraje agrava la situación (Orscasberro, 2000). En este contexto se establece un balance energético negativo (BEN) ya que el aporte de nutrientes no alcanza para satisfacer las necesidades energéticas de mantenimiento y gestación (Bell, 1995). En estos momentos, para cubrir el déficit de energía, los animales movilizan los depósitos grasos y también la proteína

muscular. (Robinson et al., 1999). La severidad del BEN depende del potencial genético de producción, de las reservas corporales y de la ingesta de materia seca (Ingvarsen y Andersen, 2000). Esta situación es más grave en vaquillonas gestantes ya que a las demandas de mantenimiento, gestación y posterior lactación, se suma las del propio crecimiento (Short et al., 1990). En estas condiciones la función reproductiva queda relegada hasta que mejore el balance energético lo que determina un alargamiento del anestro posparto (Quintans y Vázquez, 2002; Quintans et al., 2004), con la consecuente baja de la tasa de preñez y procreo (Short et. al., 1990; Orscasberro, 1991).

La condición corporal (CC) es un indicador de largo plazo para estimar el balance energético. Durante los últimos meses de gestación, las vacas de cría disminuyen las reservas grasas y como consecuencia, llegan al parto con baja CC (Chilliard et al., 1998). Inmediatamente posterior al parto, deben enfrentar la demanda de energía que implica la producción de leche, por lo que el BEN continúa o incluso se agrava dependiendo del potencial de producción de leche (Robinson et al., 1999). La CC al parto es el factor más importante que determina la duración del anestro posparto (Perry et al., 1991). La pérdida de CC y el momento al cual la vaca llega a su nadir varía de acuerdo a los autores (Houghton et al., 1990; Perry et al., 1991; Lalman et al., 1997). En nuestro país, las vacas de cría preñadas sufren un largo periodo de BEN, en forma especial las vaquillonas. Desde 4 meses antes del parto se observan pérdidas de la CC, siendo los dos últimos los más críticos. Luego del parto continúan perdiendo CC por los menos por dos meses más, aproximadamente. La magnitud de la pérdida de CC y el momento que alcanzan el nadir varía de un año a otro en función de la disponibilidad de forraje (Echenagusía et al., 1994; Gestido et al., 2008; Astessiano, 2010; Scarsi, 2012; Soca et al., 2013).

El estado metabólico puede definirse como un cambio en la disponibilidad de nutrientes y de energía a los tejidos en determinado momento y depende de la cantidad de alimento consumido, de la cantidad de reservas corporales y del ritmo de utilización de la energía (Blache et al., 2006) y es un potente regulador de la función reproductiva en rumiantes. La capacidad del animal para adaptarse y sobrellevar el BEN durante etapas de gestación avanzada y posparto temprano depende de los mecanismos endócrinos y metabólicos para mantener la homeostasis (Chilliard et al., 1998). El reinicio de la ciclicidad ovárica luego del parto está estrechamente relacionada al balance energético durante este período (Butler et al., 1981). La duración del anestro posparto es dependiente del BEN (Meikle et al., 2004) así como del amamantamiento/presencia del ternero (Williams, 1990; Hoffman et al., 1996; Quintans et al., 2009).

La concentración de metabolitos en sangre como ácidos grasos no esterificados (AGNE), B-hidroxibutirato (BHB), colesterol, urea, albúmina y glucosa, así como la hormona metabólica insulina, pueden ser utilizados como indicadores a corto plazo del balance energético (Chilliard et al., 1998).

Los AGNE son utilizados por el hígado como fuente de energía (Drackley et al., 2006). Si los niveles de glucosa son restringidos, los AGNE son convertidos a cuerpos cetónicos, que pueden causar el cuadro conocido como cetosis (Grummer, 1993). El aumento de la concentración de AGNE en sangre es un reflejo del incremento de la lipólisis, se asocia a un aumento en la movilización de las reservas de grasa corporal y son indicativos de un BEN (Bell, 1995). El aumento de los niveles circulantes de AGNE sobre el final de gestación se hace más evidente si la ingesta de energía es restringida voluntaria o involuntariamente (Reid y Hinks 1962; Radloff et al., 1966; Petterson et al., 1994; Gestido, 2008). Niveles elevados de concentración plasmática de AGNE, junto a una disminución en la concentración de colesterol indican una movilización de reservas lipídicas para obtención de energía.

El ácido betahidroxibutírico (BHB) es un cuerpo cetónico que se forman durante el proceso de lipólisis. Participa en el metabolismo energético anaerobio, reduciendo el piruvato generado durante la glucólisis para regenerar NAD (Lenhinger et al., 2005). En rumiantes el BHB

también proviene del metabolismo del rumen. En efecto, este cuerpo cetónico es producto de la transformación del ácido butírico, ácido graso volátil que se forma en el rumen como consecuencia de la fermentación de carbohidratos, a BHB en la propia mucosa ruminal. Una pequeña cantidad de butírico y el BHB pasan a la circulación portal (Relling y Mattioli, 2003). Una producción aumentada de BHB en rumiantes puede reflejar un aumento en el metabolismo del rumen pero también un incremento en la lipólisis como consecuencia de déficit energético (Meikle et al., 2005).

El colesterol es un lípido afipático, componente estructural de las membranas plasmáticas y precursor de hormonas sexuales, hormonas corticoesteroidales, vitaminas y sales biliares (Lenhinger et al., 2005). El colesterol puede ser sintetizado en el hígado e intestino delgado o provenir por el aporte de una dieta rica en grasa (Grummer y Carroll, 1988) a partir de acetil-CoA. Su síntesis es un proceso complejo y costoso energéticamente, por lo que es finamente regulado por la concentración intracelular de colesterol y por las hormonas insulina y glucagón (Lenhinger et al., 2005). La mayoría del colesterol sanguíneo es transportado por lipoproteínas de baja densidad (LDL), para ser captadas por los tejidos extrahepáticos (Grummer y Carroll, 1988). Al ser precursor de hormonas esteroideas puede influir en el comportamiento reproductivo (Ruegg et al., 1992). Se ha reportado en vacas, que una mayor concentración plasmática de colesterol está asociada a una mejor condición corporal al parto (Scarsi, 2012) y a un menor tiempo en el reinicio de la actividad ovárica (Guédon et al., 1999).

La concentración plasmática de urea y albúmina son un buen indicador del nivel proteico en la dieta (Meikle et al., 2005). La urea se forma principalmente en el hígado como el principal producto final del metabolismo proteico en mamíferos (Hill et al., 2004) y depende de la composición y degradabilidad de la proteína de la dieta (Gestido, 2007). La medición de urea en sangre es una herramienta para medir la respuesta biológica a la suplementación proteica o energética o a cambios en la pastura u oferta de forraje (Hammond, 2006). Un aumento en la concentración plasmática de urea puede indicar un aumento en el catabolismo proteico de los tejidos, principalmente del muscular como consecuencia de una dieta que no alcanza a cubrir los requerimientos o una alta ingesta de proteínas en la dieta (Chimonyo et al., 2002). Valores mayores a 20 mg/dl de nitrógeno de urea en sangre han sido asociados a una disminución en la fertilidad, con una menor tasa de preñez en vacas de leche (Elrod y Butler., 1993; Butler et al., 1998). La albúmina es la principal proteína en la sangre, es fundamental para el mantenimiento de la presión coloidosmótica y es sintetizada en el hígado (Lehninger et al., 2005). La concentración plasmática de albúmina es un buen indicador del estatus proteico ya que posee una vida media corta en plasma, de aproximadamente 16 días (Agenas et al., 2006). Las concentraciones de proteína total y albúmina reflejan la disponibilidad de proteína y sus concentraciones están influenciadas por el estatus nutricional, disminuyendo cuando existe déficit de proteína o desnutrición (Ndlovu et al., 2007).

La glucosa es la principal fuente de energía, especialmente para el tejido nervioso y los eritrocitos. La glucosa es fuente de oxalacetato que permite la oxidación de acetil CoA para la depuración de lactato y glicerol y también es utilizado como fuente de otros carbohidratos de glicerol. También es fuente de glucosa 3-fosfato que se utiliza en la síntesis de grasa (McDonald et al., 2006). La concentración plasmática de glucosa está relacionada con el consumo energético (Schmidt y Keith 1983, Vizcarra et al., 1998). En los rumiantes la principal fuente de glucosa es la neoglucogénesis hepática y sus principales precursores son el propionato, el lactato, los aminoácidos y el glicerol (Relling y Mattioli, 2003).

La homeostasis de la glucemia está bajo control endócrino siendo la hormona insulina el factor hipoglucemiante por excelencia. La concentración plasmática de insulina indica la disponibilidad de energía y el estatus metabólico de los animales. La insulina juega un rol clave en la homeostasis de la glucosa promoviendo su captación y oxidación celular y puede disminuir la neoglucogénesis hepática en rumiantes (Brockman y Laaveld, 1986), así como, estimular la lipogénesis, la utilización periférica de glucosa y la síntesis proteica en los

músculos. Es una de las señales que transfieren información del estatus energético del animal al cerebro (Lalman et al., 2000) y al sistema reproductivo (Blache et al., 2006). Un aumento en la concentración de insulina se relaciona con un buen estatus nutricional en vacas de carnes lactantes y es responsable de la variación en el reinicio de la ciclicidad luego del parto (Sinclair, 2008). Su concentración plasmática está relacionada con la duración del anestro posparto (Roberts et al., 1997; Lalman et al., 2000; Meikle et al., 2004; Lake et al., 2006).

El control del metabolismo durante la gestación y la lactancia implica dos tipos de regulación; el homeostático y el homeorhético (Bauman y Currie, 1980). El control homeostático consiste en la capacidad del individuo de mantener una condición interna estable, compensando los cambios que se producen en el entorno mediante su actividad metabólica (Cannon, 1926). El control homeorhético es el control orquestado o coordinado del metabolismo de los tejidos corporales necesarios para apoyar un estado fisiológico (Bauman y Currie, 1980). Esto asegura el aporte de energía necesaria para el crecimiento del feto y útero grávido así como el desarrollo de la glándula mamaria y producción de leche (Bauman y Currie, 1980).

En vacas con gestación avanzada, la oxidación de glucosa y lactato a nivel fetal representan 50 a 60 % del total de los sustratos que se oxidan para la respiración, los aminoácidos representan del 30 al 40 % del sustrato de oxidación y el acetato del 10 al 15 % (Bell, 1995). Las demandas de glucosa y aminoácidos aumentan del 30 al 50 % al final de la gestación y lactancia temprana como consecuencias del crecimiento fetal y posteriormente la producción de leche (Bell, 1995). Las estrategias nutricionales y metabólicas maternas para cumplir con este desafío metabólico son: un aumento en la ingesta voluntaria de alimento, una mayor neoglucogénesis hepática a partir de sustratos endógenos, una disminución de la utilización periférica de glucosa en los tejidos, un aumento de la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo asociada a un aumento en la utilización periférica de los mismos y de su metabolito hepático y un aumento de la movilización de aminoácidos desde el tejido muscular (Bell, 1995). Todas estas adaptaciones metabólicas resultan consistentes con la promoción de la disponibilidad de glucosa y aminoácidos para el metabolismo del feto, que implican una creciente dependencia de los tejidos maternos de AGNE y cuerpos cetónicos para el metabolismo oxidativo (Bell, 1995). Sin embargo, durante las últimas semanas de la gestación, cuando el feto alcanza los máximos niveles de crecimiento, el consumo voluntario disminuye entre 10 y 30 % (Bell, 1995). Incluso, esta disminución del consumo voluntario se prolonga en el posparto temprano cuando las demandas de producción de leche aumentan rápidamente y exceden el consumo de nutrientes (Esposito et al., 2014).

Investigaciones nacionales en vacas de carne utilizando suplementaciones pre parto y pre entore han reportado cambios de las concentraciones plasmáticas de glucosa, AGNE, colesterol y de hormonas metabólicas como la insulina, que reflejan el BEN que sufre el rodeo de cría en nuestro sistema de producción y que compromete los logros productivos (peso de terneros al destete) y reproductivos (tasa de preñez) (Gestido et al., 2008; Astessiano et al., 2010; Scarsi, 2010, Roman et al., 2011).

Una alternativa al problema de la pérdida de CC y baja eficiencia reproductiva debida al BEN producido por la baja producción de pasturas en el campo natural, sería suplementar energéticamente a las vaquillonas en el último tercio de la gestación. El objetivo de la suplementación sería adicionar energía en un momento en que existe un desfase entre las demandas de la vaca en gestación avanzada tardía y el aporte de nutrientes del campo natural. El afretillo de arroz, es el subproducto más conocido de los cultivos de arroz, uno de los principales productos agrícolas del país. Es utilizado comúnmente como suplemento energético por ser un alimento balanceado (Gayo, 2007), con buena relación energía/proteína y calcio/fosforo. Está disponible a nivel nacional, su costo es accesible con la actual relación de precios y no presenta problemas de palatabilidad para el ganado, por lo que es una buena alternativa para utilizar en suplementaciones en rodeos de cría.

La glicerina cruda es el principal residuo industrial en la producción de biodiesel, por cada 3,7 litros de biodiesel se generan aproximadamente 0,3 kg de glicerina cruda como producto de la transesterificación del aceite en la formación de ésteres metílicos de los ácidos grasos (Thompson, 2006). El principal componente de la glicerina cruda es el glicerol, pero también contienen alcoholes (metanol o etanol), sales de sodio y/o potasio, restos de ésteres y ácidos grasos. En el estado en que son generados, no se encuentran oportunidades de aplicación por lo que requiere de un procesamiento adicional para adecuar sus propiedades a posibles usos (Pena et al., 2012). La glicerina cruda es reconocida como ingrediente seguro para la alimentación animal por la legislación de EEUU (Code of Federal Regulations, 2004) siendo un potente elemento gluconeogénico (Ortega y Mendoza, 2003). Al poseer poco valor debido a la cantidad de impurezas que contiene y a causa de la continua generación del mismo como consecuencia de la demanda en aumento de la producción de biodiesel se plantea como conveniente una utilización provechosa y sustentable de sus residuos ya que la gestión de los mismos plantea problemas ambientales. El glicerol es un alcohol con tres grupos hidroxilos que posee propiedades neoglucogénicas y es componente estructural en triglicéridos y fosfolípidos. Es uno de los principales productos de la degradación digestiva de los lípidos (Lehninger et al., 2005). El glicerol, es un compuesto normal del metabolismo de los rumiantes. Cuando se aporta glicerol, si bien una fracción puede ser absorbida directamente en el rumen, la mayor cantidad es rápidamente fermentada por los microorganismos del rumen a ácido propiónico fundamentalmente (Rémod et al., 1993). También es posible que una proporción escape a dicha fermentación y llegue como tal al intestino donde es absorbido como glicerol. Cualquiera que sea la ruta, como glicerol o como propiónico, llega al hígado vía la vena porta y su destino final es convertirse en glucosa a través de la neoglucogénesis (Rémod et al., 1993).

HIPÓTESIS

La hipótesis que se desafió en este trabajo fue que una suplementación con afrechillo de arroz y glicerina cruda en la última etapa de gestación en vaquillonas de carne pastoreando campo natural tendría un impacto positivo sobre el balance energético estimado a través de la concentración de metabolitos y la hormona insulina sin modificar el peso al nacimiento de los terneros, que permitiría el reinicio de la ciclicidad ovárica más temprana y una mejor tasa de preñez.

OBJETIVOS

Evaluar el impacto de la suplementación a base de afrechillo de arroz y glicerina cruda durante 52 días antes del parto en vaquillonas de carne pastoreando campo natural sobre el balance energético estimado a través de la condición corporal y las concentraciones plasmáticas de glucosa, colesterol, ácidos grasos no esterificados, proteína total, urea, albúmina y la hormona insulina, el peso del ternero al nacer y el comportamiento reproductivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización, animales, diseño experimental y tratamientos

Se utilizaron muestras de sangre y registros de peso y condición corporal (CC; escala del 1 al 8, donde 1 es un animal muy magro y 8 un animal obeso (Vizcarra et al., 1986)) de 29 vacas primíparas Hereford, Angus y sus cruces pertenecientes a la Estación Experimental Bernardo Rosengurtt, Facultad de Agronomía (Cerro Largo, Uruguay; 32° S, 54° W), sometidas a un experimento de suplementación pre parto. Estos animales tenían al inicio del invierno (Junio), una CC de $5,0 \pm 0,1$ unidades y estaban gestantes.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con estratificación previa, teniendo en cuenta el genotipo, la CC y la edad de gestación (estimada a través de la fecha probable de parto) de tal manera de conformar dos grupos similares; las vacas de cada grupo fueron asignadas al azar a uno de los siguientes dos tratamientos nutricionales: Grupo Control (n = 15):

pastoreo de campo natural y Grupo Suplementado (n = 14): pastoreo de campo natural con una suplementación individual de 1kg de materia seca (MS)/vaca/día de afrechillo de arroz entero y 550 mL/vaca/día de glicerina cruda (ALUR, Uruguay) durante los últimos 52 días de gestación. El afrechillo de arroz y la glicerina cruda fueron premezclados antes de la suplementación individual. El suplemento en total brindaba 4,5 Mcal de energía metabolizable y 142 g de proteína cruda. La energía metabolizable se estimó utilizando las tablas internacionales de FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). La composición química del afrechillo de arroz y de la pastura fue evaluada a través de análisis químico en el Laboratorio de Nutrición Animal de Facultad de Agronomía [% Cenizas, % Proteína Cruda % Extracto Etéreo (AOAC, 2007), % Fibra Detergente Neutra y Ácida (Van Soest et al., 1991)] y la composición de la glicerina fue brindada por el laboratorio de COUSA, Uruguay (Agua AOCS, Cc 8 - 58, Ceniza, AOCS, Ea 2 - 38, Glicerol AOCS Ea 6 - 51, Grasa AOAC Met 14019). La composición de la glicerina cruda, afrechillo de arroz y pasturas ofrecidas, se muestra en el Cuadro 1. La disponibilidad del forraje fue determinada por el método de doble muestreo (Haydock y Shaw, 1975) a través de un cuadrado de 50 cm x 50 cm, con 5 puntos en la escala y dos repeticiones, cortando el forraje al ras del suelo. Las vacas se manejaron como un solo grupo y pastorearon sobre campo natural con una asignación de forraje en el invierno de 7,5% del peso vivo y en primavera y verano del 10%.

Cuadro 1. Composición química de la glicerina cruda, el afrechillo de arroz y las pasturas utilizadas.

	Glicerina	Afrechillo de arroz	Pastura pre parto	Pasturas pre entore
Materia seca (%)	97	88	50	33
Materia grasa (%MS)	14			
Cenizas (%MS)	6	9	23	12
Proteína cruda (%MS)		14	7	11
FDN* (%MS)		19	56	62
FDA** (%MS)		6	27	31
Extracto etéreo (%MS)		17	2	
Metanol (%MS)	1			
Glicerol (%MS)	79			

*Fibra detergente neutra

**Fibra detergente ácida

A todas las vacas se les realizó un destete temporario durante 14 días previos al entore cuando tenían $66 \pm 2,3$ días posparto (DPP), aplicando tablillas nasales a los terneros. El entore comenzó cuando se re-integraron los terneros ($80 \pm 2,3$ DPP). Se utilizaron dos toros previamente evaluados andrológicamente de las razas Hereford y Angus que fueron introducidos a dos lotes de vacas clasificadas por su genotipo de acuerdo al programa de cruzamiento que lleva adelante la Estación Experimental. El entore duró en total 74 días. La preñez se diagnosticó por medio de ecografía transrectal a los 60 días después de comenzado (preñez temprana) y un mes después de finalizado el entore (preñez total).

Mediciones, muestreos y determinaciones

Cada 14 días desde el inicio de la suplementación ($- 52 \pm 2$ DPP) hasta el primer mes del entore (117 ± 2 DPP) se registró el peso utilizando una balanza digital (FX15, Iconix, Montevideo, Uruguay) y la CC, también se registró al inicio del destete temporario (66 ± 2 DPP) y al retiro

de las tablillas (80 ± 2 DPP). Al parto (Día 0) se registró el peso de los terneros y la CC de las madres.

Se extrajeron muestras de sangre de la vena coccígea en tubos heparinizados antes del inicio de los tratamientos (Semana -7), semanalmente durante el pre parto y posparto temprano (Semanas -3 a 2), antes del entore (Semanas 8 a 11) y durante las primeras dos semanas del entore (Semanas 12 y 13). La sangre fue centrifugada a 1529 g durante 15 minutos y el plasma almacenado a -20°C hasta la determinación del contenido de metabolitos e insulina. La concentración de insulina se determinó por medio de análisis inmunoradiométricos (IRMA) en fase sólida (Diasource, Bruselas, Bélgica). Todas las muestras fueron analizadas en un solo ensayo utilizando duplicados para la curva estándar. La sensibilidad del ensayo fue de 0,52 uUI/ml y los coeficientes de variación intraensayo para el control bajo (22,6 uUI/mL) y alto (87,1 uUI/mL) fueron de 4,9 y 5,1 %, respectivamente. La concentración de BHB, AGNE, colesterol, glucosa, proteína total, albúmina y urea se determinaron por espectrofotometría utilizando kits comerciales: D-3 Hydroxybutyrate, Randox, Londres, Reino Unido; Wako AGNE-HR (2), Wako Pure Chemical Industries Ltd., Osaka, Japón; Colesterol Oxidasa/Peroxidasa, ByoSistem S.A, Barcelona, España; Glucosa Oxidasa/Peroxidasa, ByoSistem S.A, Barcelona, España; Proteína (total) Biuret, ByoSistem S.A Barcelona, España; Albúmina, Verde de Bromocresol, ByoSistem S.A, Barcelona, España; Urea/BUN-Color, Ureasa/Salicilato ByoSistem S.A, Barcelona, España. La sensibilidad de los ensayos fue de 0,07 mmol/L para BHB, 0,001 mmol/L para AGNE, 0,3 mg/dL para colesterol, 0,23 mg/dL para glucosa, 4,6 g/L para proteína total, 1,1 g/L para albúmina y 1,3 mg/dL para urea. Los coeficientes de variación tanto intra como interensayo para los controles altos y bajos fueron siempre menores a 15 %. Todos los metabolitos y hormonas se determinaron en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Desde los 50 ± 2 DPP hasta el primer mes de entore se examinaron semanalmente ambos ovarios a través de ultrasonografía (ecógrafo portátil AMBIVISION, Digital notebook B Mode. Manufacture AMBISEA Technology Corp Ltd, China, Modelo AV-3018 V con un transductor lineal y una frecuencia bimodal de 5,0 y 7,5 Mhz) registrándose los cuerpos lúteos presentes. El reinicio de la actividad cíclica ovárica fue determinado por la presencia de cuerpos lúteos en dos ecografías sucesivas.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU) con el animal como unidad experimental.

Los datos de peso de las vacas, CC, concentración de metabolitos e insulina se analizaron mediante un análisis de medidas repetidas en el tiempo usando el procedimiento MIXED con la semana como factor de repetición. El modelo incluyó los efectos del tratamiento, grupo genético, semana y la interacción entre ambos factores como efectos fijos y la vaca como efecto aleatorio. Las concentraciones de metabolitos e insulina se analizaron incluyendo todos los valores, es decir los valores obtenidos durante el pre parto y posparto temprano (Semanas: -7 y -3 a 2) y los obtenidos antes y durante el entore (Semanas 8 a 13). Se corrieron modelos sin y con el valor inicial de la variable correspondiente y la CC inicial como co-variable. Los resultados de la interacción tratamiento por semana no fueron afectados por la inclusión de las co-variables en los modelos de las covariables, pero se eligieron los modelos que las incluyeron dado el mejor ajuste de los mismos. En forma similar se analizaron los datos de peso y CC, en estos casos los registros fueron ininterrumpidos por lo que abarcaron desde la Semana -7 hasta la 13. La separación de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey cuando el factor principal fue significativo. La CC al parto fue analizada en forma independiente incluyendo en el modelo el tratamiento como efecto fijo y la vaca como aleatorio. Los datos de peso del ternero al nacer fueron analizados utilizando el procedimiento MIXED incluyendo en el modelo el tratamiento y el sexo como efecto fijo, el ternero como efecto aleatorio y la CC al parto (CCP) de sus madres como covariable. Las variables reproductivas fueron analizadas usando modelos

lineales generalizados mediante procedimiento GENMOD, utilizando la función link logit e indicando la distribución de Poisson (intervalo parto-concepción) o binomial (% de vacas ciclando y tasa de preñez temprana y final). El modelo incluyó el efecto del tratamiento como efecto fijo. El intervalo parto-concepción se analizó considerando los intervalos obtenidos de las vacas que quedaron gestantes, y también del intervalo de todas las vacas, considerando los DPP hasta el fin del entore como intervalo parto-concepción de las que no quedaron preñadas. También se analizaron modelos incluyendo la CCP en el modelo además del tratamiento. Se realizaron correlaciones de Pearson entre las variables correspondientes utilizando el procedimiento CORR. Los datos se expresan como media \pm error estándar (ee) y las diferencias estadísticamente significativas se consideraron con $P < 0,05$. Los valores de $0,05 \leq P \leq 0,1$ se consideraron tendencia estadística.

RESULTADOS

Peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina

El grupo genético no afectó ninguna de las variables estudiadas ($P > 0,3$) por lo cual fue retirado de los modelos. La CC inicial, cuando se la incluyó como covariable en los modelos, solo afectó ($P < 0,045$) la concentración plasmática de insulina tanto cuando se analizaron todos los valores como cuando se analizaron solo los valores pre parto y posparto temprano. Cuando solo la CC al parto fue analizada se encontró que la suplementación tendió ($P = 0,07$) a incrementarla (Grupo Suplementado: $4,54 \pm 0,11$ vs Grupo Control $4,17 \pm 0,11$ unidades).

En el Cuadro 2 se presentan los valores de P para peso y CC (Semanas: -7 hasta 13), concentración de metabolitos e insulina (Semanas -7 y -3 a 2 y 8 a 13). En el Cuadro 3 se presentan los valores de P para peso, CC y concentración de metabolitos e insulina cuando solo los datos del periodo pre parto y posparto temprano (Semanas -7 y -3 a 2) fueron analizados.

Cuadro 2. Valores de P de los efectos de tratamiento, semana y la interacción tratamiento por semana sobre el peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina en vacas suplementadas o no durante 52 días antes del parto analizando los valores pre parto y posparto temprano, así como pre entore y entore.

VARIABLE	TRATAMIENTO	SEMANA	TRAT*SEMANA
Peso	0,70	<0,0001	0,19
Condición Corporal	0,15	<0,0001	0,12
Albúmina	0,005	0,002	0,11
Proteína total	0,14	0,35	0,72
Urea	0,011	<0,0001	0,015
Ácidos grasos no esterificados	0,06	<0,0001	0,28
Beta-hidroxibutirato	0,15	<0,0001	0,15
Colesterol	0,008	<0,0001	0,001
Glucosa	0,078	<0,0001	0,17
Insulina	0,86	0,001	0,94

Cuadro 3. Valores de P de los efectos de tratamiento, semana y la interacción tratamiento por semana sobre el peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina en vacas suplementadas o no durante 52 días antes del parto, analizando los valores pre parto y posparto temprano.

VARIABLE	TRATAMIENTO	SEMANA	TRAT*SEMANA
Peso	0,19	0,67	0,10
Condición Corporal	0,32	0,029	0,08
Albúmina	0,069	0,60	0,11
Proteína total	0,30	0,58	0,25
Urea	0,011	0,58	0,01
Ácidos grasos no esterificados	0,04	0,21	0,52
Beta-hidroxibutirato	0,017	0,11	0,31
Colesterol	0,0001	0,25	0,040
Glucosa	0,057	0,063	0,12
Insulina	0,84	0,052	0,50

Se encontraron varias correlaciones entre las concentraciones de metabolitos e insulina entre sí y con la CC. Las correlaciones se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Coeficientes de correlaciones entre concentración de glucosa (GLU), albúmina (ALB), ácidos grasos no esterificados (AGNE), colesterol (COL), Beta-hidroxibutirato (BHB), insulina (INS), proteína total (PT) y la condición corporal (CC) en vacas de carne primíparas.

	Urea	ALB	AGNE	COL	BHB	INS	PT	CC
GLU	ns	0,37**	-0,11*	0,23**	-0,20**	0,23*	ns	0,18*
Urea		ns	0,57**	-0,16*	0,27**	ns	ns	-0,41**
ALB			ns	0,24**	Ns	ns	ns	0,22*
AGNE				-0,17**	0,48**	ns	ns	-0,24*
COL					-0,15*	ns	ns	ns
BHB						-0,23**	ns	ns
INS							ns	ns
PT								ns

*P < 0,05

**P < 0,001

ns: no significativo (P < 0,1)

En el Cuadro 5 y 6 se presentan las medias y errores estándar del peso, CC, y concentración de metabolitos e insulina para todo el periodo y para el periodo pre parto y el posparto temprano, respectivamente.

Cuadro 5. Medias y error estándar del peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina estudiando los valores pre parto y posparto temprano, así como pre entore y entore.

	CONTROL	SUPLEMENTADO
Peso (Kg)	392,1 ± 8,0	395,9 ± 8,3
Condición Corporal (Unidades)	4,65 ± 0,05	4,93 ± 0,05
Albúmina (mg/dL)	30,02 ^a ± 0,48	32,15 ^b ± 0,50
Proteína total (g/L)	76,80 ± 0,99	74,06 ± 0,99
Urea (mg/dL)	19,76 ^a ± 0,44	17,39 ^b ± 0,45
Ácidos grasos no esterificados (mmol/L)	0,87 ^x ± 0,05	0,74 ^y ± 0,05
Beta-hidroxibutirato (mmol/L)	0,63 ± 0,03	0,52 ± 0,03
Colesterol (mg/dL)	138,99 ^a ± 3,18	155,57 ^b ± 3,26
Glucosa (mg/dL)	63,28 ^x ± 0,83	64,75 ^y ± 0,85
Insulina (uIU/mL)	9,48 ± 0,32	10,06 ± 0,32

Literales a y b ente columnas indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,02)

Literales x e y entre columnas indican tendencias estadísticamente significativas (P < 0,08)

Cuadro 6. Medias y error estándar del peso, condición corporal, concentración de metabolitos e insulina estudiando los valores pre parto y posparto temprano.

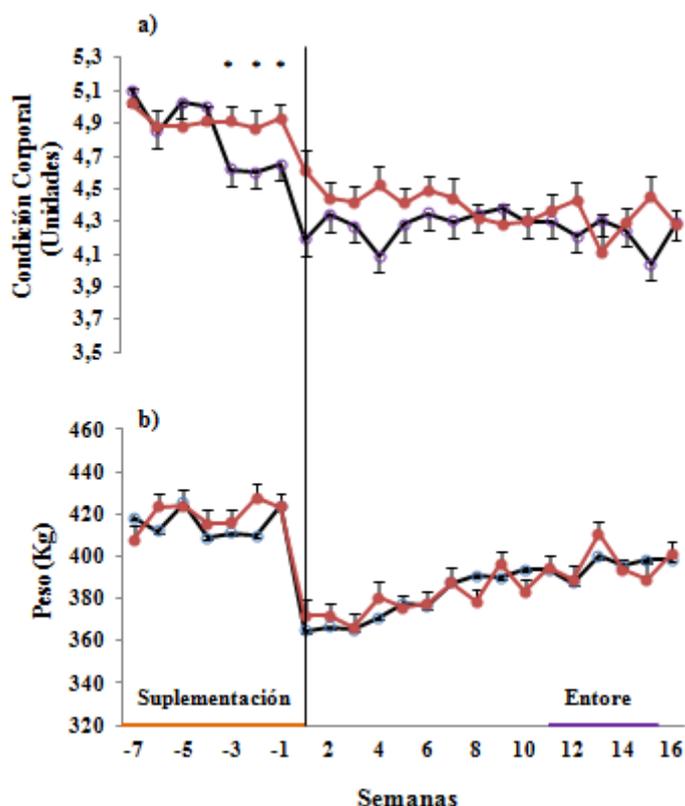
	CONTROL	SUPLEMENTADO
Peso (Kg)	411,2 ± 7,8	415,6 ± 8,0
Condición Corporal (Unidades)	4,79 ± 0,12	4,86 ± 0,12
Albúmina (mg/dL)	31,60 ^x ± 0,82	33,85 ^y ± 0,86
Proteína total (g/L)	75,71 ± 1,28	73,09 ± 1,33
Urea (mg/dL)	25,77 ^a ± 0,66	21,95 ^b ± 0,73
Ácidos grasos no esterificados (mmol/L)	1,29 ^a ± 0,07	1,04 ^b ± 0,08
Beta-hidroxibutirato (mmol/L)	0,70 ^a ± 0,05	0,53 ^b ± 0,05
Colesterol (mg/dL)	129,40 ^a ± 3,79	160,34 ^b ± 4,11
Glucosa (mg/dL)	61,72 ^x ± 1,01	67,46 ^y ± 1,10
Insulina (uIU/mL)	9,54 ± 0,51	9,56 ± 0,53

Literales a y b ente columnas indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,04)

Literales x e y entre columnas indican tendencias estadísticamente significativas (P < 0,07)

Las vacas del Grupo Suplementado tendieron (interacción tratamiento por fecha: P = 0,08) a mantener la CC durante el pre parto, mientras que las vacas del Grupo Control perdieron (P < 0,05) en promedio 0,5 unidades durante el mismo periodo. Independientemente de los tratamientos, las vacas perdieron CC (P > 0,05) luego del parto sin que se observara recuperación (P > 0,1) de la misma durante el periodo estudiado (Grafica 1a). El peso de las vacas de ambos grupos fue mayor (P < 0,05) durante el pre parto que durante el posparto,

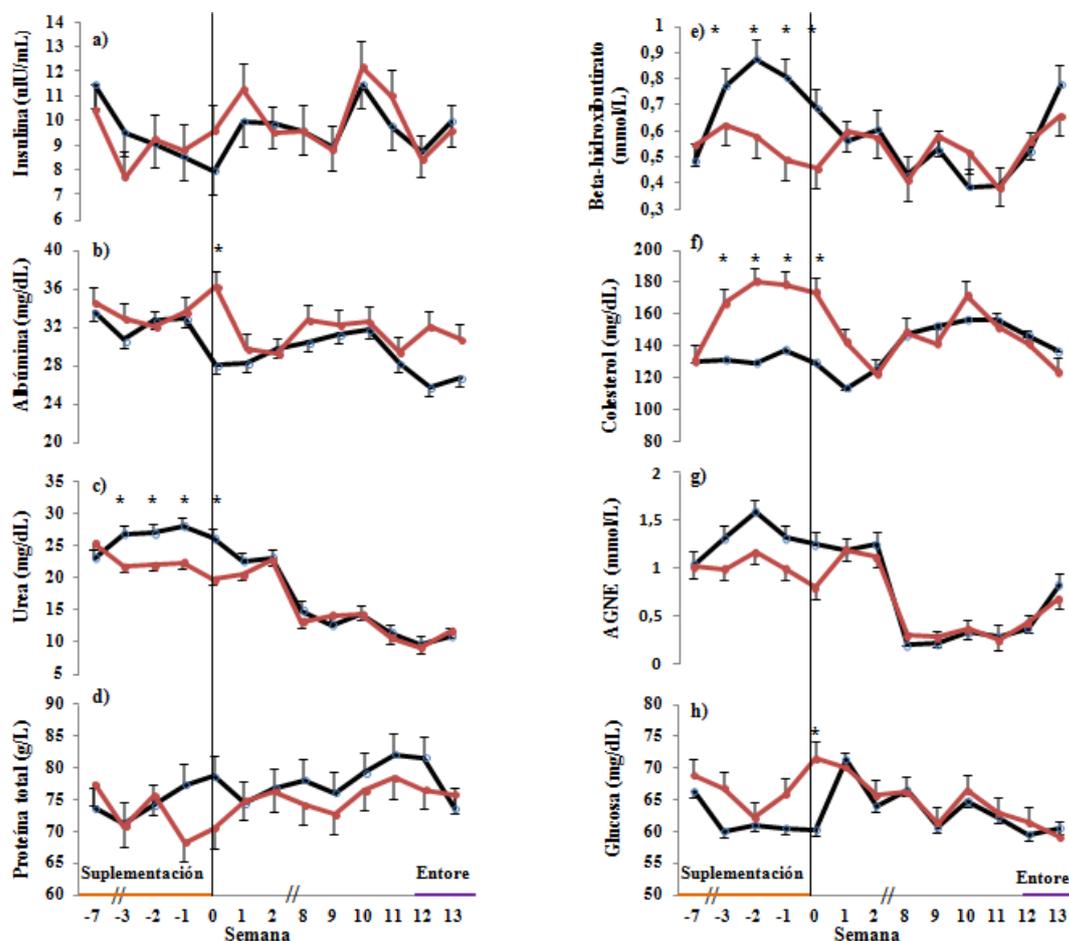
presentado una brusca caída luego del parto. Durante el pre parto no se observaron prácticamente modificaciones del peso ($P > 0,1$). Luego del parto, el peso se mantuvo bajo ($P > 0,1$) hasta la semana 7, cuando comenzó a aumentar ($P < 0,05$) lentamente (Gráfica 1b).



Gráfica 1. Evolución de la condición corporal (a) y el peso (b) durante el pre parto, posparto temprano, pre entore y un mes de entore en vacas suplementadas con afrechillo de arroz y glicerina cruda (línea roja con círculo relleno) y vacas control (línea negra con círculo vacío). El parto se indica con una línea vertical negra. Diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$) se indican con un asterisco (*).

Durante las últimas tres semanas antes del parto las vacas del Grupo Suplementado presentaron una mayor ($P < 0,05$) concentración plasmática de colesterol (Gráfica 2f) y una menor ($P < 0,05$) de urea (Gráfica 2c) que las vacas del Grupo Control; estas diferencias se perdieron ($P < 0,1$) cuando la suplementación se suspendió. Luego del parto, independientemente de los tratamientos, la concentración de colesterol (Gráfica 2f) disminuyó ($P < 0,05$) para volver a aumentar a partir de la semana 8 ($P < 0,05$). Sin embargo, los valores que se registraron en el Grupo Suplementado antes del parto solo se volvieron observar ($P > 0,1$) en estos animales en la semana 10 y no se observaron en ningún momento en las vacas del Grupo Control. La concentración de urea en ambos grupos fue mayor ($P < 0,05$) en el pre parto y posparto temprano que en el resto del periodo estudiado (Gráfica 2c). La concentración de glucosa (Gráfica 2h) alcanzó su máximo nivel en ambos grupos la semana del parto ($P < 0,05$) y fueron menores ($P < 0,05$) en las semanas previas al parto (Semanas -3 a -1) y en las últimas semanas del experimento (Semanas 11 a 13). Por su parte, la concentración de insulina fue menor ($P < 0,05$) en el pre parto (Gráfica 2a). La concentración de proteína total (Gráfica 2d), independientemente de los tratamientos registró el menor valor 3 semanas antes del parto para, posteriormente, aumentar ($P < 0,05$) paulatinamente hasta la Semana 11 cuando se observó el mayor valor ($P < 0,05$). La concentración de albúmina (Gráfica 2 b) disminuyó ($P < 0,05$) la semana después del parto (Semanas 1), para luego aumentar ($P < 0,05$) a los niveles previos al parto a partir de la Semana 4. Las concentraciones plasmáticas de BHB (Gráfica 2e) y AGNE (Gráfica 2g) fueron mayores ($P < 0,05$) durante el pre parto en las vacas del Grupo Control que

en las vacas del Grupo Suplementado (Cuadro 3). Independientemente de los tratamientos, los valores de ambos metabolitos fueron mayores ($P < 0,05$) durante el pre parto y posparto temprano que durante el pre entore y entore, sin embargo ambos aumentaron ($P < 0,05$) al finalizar el periodo monitoreado.



Grafica 2. Evolución de las concentraciones de insulina (a), albúmina (b), urea (c), proteína total (d), beta-hidroxi-butarato (e), colesterol (f), AGNE (g) y glucosa (h) durante el pre parto, posparto temprano, pre entore y 2 semanas de entore en vacas suplementadas con afretillo de arroz y glicerina cruda (línea roja con círculo relleno) y en vacas control (línea negra con círculo vacío). El parto se indica con una línea vertical negra. Diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$) se indican con un asterisco (*).

Variables reproductivas y peso del ternero al nacer

No se observaron problemas al parto como consecuencia de la suplementación pre parto. El peso de los terneros al nacer no fue afectado por el tratamiento ($P = 0,49$; Grupo Suplementado: $34,8 \pm 1,2$ kg vs Grupo Control: $33,2 \pm 1,2$ kg), ni por el sexo ($P = 0,79$; Hembras: $33,6 \pm 1,2$ kg; Macho: $34,4 \pm 1,1$ kg.) y tampoco se encontró una interacción entre el tratamiento y el sexo del ternero ($P = 0,87$). La CC al parto únicamente afectó ($P = 0,007$) la tasa de preñez final.

Los resultados de las variables reproductivas se muestran en el cuadro 7. Si bien, 31% más de vacas del Grupo Suplementado reiniciaron la ciclicidad ovárica durante el periodo monitoreado, y 24 % más quedaron gestantes en el primer mes de entore comparado con el Grupo Control, estas diferencias no fueron estadísticamente significativa ($P > 0,1$). La suplementación tendió ($P = 0,06$) a aumentar el porcentaje de preñez total. En efecto, 33% más de vacas del Grupo Suplementado fueron diagnosticadas gestantes comparado con el Grupo Control.

Cuadro 7. Variables reproductivas en vacas suplementadas o no con afrechillo de arroz y glicerina cruda y valores de P.

	Control	Suplementadas	Valor de P
Reinicio (%)	33 (5/15)	64 (9/14)	0,12
Preñez temprana (%)	40 (6/15)	64 (9/14)	0,23
Preñez final (%)	60 ^x (9/15)	93 ^y (13/14)	0,06
IPC preñadas (días)	104,0 ± 7,0 (9)	103,0 ± 7,3 (13)	0,89
IPC todas (días)	125,8 ± 8,2 (15)	107,3 ± 7,8 (14)	0,25

IPC: Intervalo parto-concepción.

Entre paréntesis se indica el número de vacas.

DISCUSIÓN

La suplementación mejoró el balance energético indicado por el aumento de las concentraciones de colesterol, albúmina y glucosa y la disminución de las concentraciones de urea, AGNE y BHB, sin modificar el peso al nacer de los terneros, pero permitiendo el mantenimiento de la CC durante el pre parto de las vacas del Grupo Suplementado, las que llegaron al parto con una mejor CC y posteriormente tuvieron un mejor desempeño reproductivo logrando una mejor tasa de preñez total.

El peso de las vacas de ambos grupos fue menor durante el posparto que durante el pre parto, ya que el peso no está corregido por peso fetal, placenta y líquidos placentarios. Si se resta el peso del ternero al peso pre parto, se observa que las vacas aumentaron de peso a partir de la séptima semana posparto, coincidiendo con la primavera, cuando la disponibilidad y calidad de las pasturas es máxima (Berreta et al., 2000). La suplementación aumentó el peso de las vaquillonas coincidiendo con lo observado por autores internacionales (Perry et al. 1991) y nacionales (Scarsi, 2012). Sin embargo, otros autores no observaron efecto de la suplementación pre-parto sobre el peso (Mulliniks et al., 2008). El efecto de la suplementación en el último tercio de la gestación sobre el peso de la vaca parece depender, entre otras cosas, del tipo y cantidad de suplemento, del tiempo de la suplementación, al estado en que se encontraban las vacas al inicio de la suplementación, y a la calidad de las pasturas.

El peso de los terneros al nacer no fue afectado por la suplementación. Estos resultados son similares a los encontrados por Lammoglia et al. (1996), Alexander et al. (2002) y Quintans y Scarsi (2013) cuando suplementaron periodos cortos durante el pre parto. Consecuentemente, no se observaron problemas al parto como consecuencia de la suplementación pre parto. Trabajos con mayores periodos de suplementación pre parto si han reportado mayor peso de los terneros de vacas suplementadas respecto a vacas no suplementadas (Corah et al., 1975; Perry et al., 1991) en vacas multíparas.

El peso corporal no es un buen indicador de las reservas corporales o del estatus nutricional ya que es influido por varios factores tales como la edad de gestación, raza, el “frame” y número de partos, entre otras (Ndlovu et al., 2007; Roche et al., 2009). La CC, en cambio, es un técnica subjetiva pero con alta repetibilidad y correlación entre técnicos entrenados (Vizcarra et al., 1986) que estima el grado de adiposidad aparente (Roche et al., 2009) y es ampliamente utilizada para estimar las reservas corporales que reflejan el plano nutricional en el cual los animales han estado expuestos (Ndlovu et al., 2007). En las condiciones de pastoreo sobre campo natural típicas de nuestra región, se ha observado que en el último tercio de gestación las vacas pierden CC ya que la ingesta de nutrientes es insuficiente para cubrir las necesidades

energéticas (Astessiano, 2010; Scarsi, 2012; Soca et al., 2013) La suplementación de 0,4% del peso vivo de las vacas durante los últimos 52 días de gestación fue suficiente para impedir la pérdida de CC y lograr que las vacas suplementadas llegaran al parto con una mejor CC, coincidiendo con los resultados de Perry et al. (1991) y Scarsi (2012). La mejor CC de las vacas suplementadas refleja los cambios metabólicos generados por la suplementación. En efecto, la menor concentración plasmática de AGNE, BHB y urea, y mayor de glucosa, colesterol y albúmina en las vacas del Grupo Suplementado comparado con el Grupo Control, indican una menor tasa de catabolismo, (lipólisis y proteólisis) (Bauman y Curie, 1980) en este grupo. Aún más, la mayor concentración de colesterol durante el pre parto sugiere una mayor actividad anabólica en el Grupo Suplementado que en el Grupo Control (Lenhinger et al., 2005) sugiriendo que la energía aportada por el suplemento permitió que se destinaran menos reservas corporales a mantener las demandas del feto. Ambos grupos estaban movilizando reservas al momento de iniciar la suplementación, considerando que los valores de AGNE y urea eran más altos en ese momento que en el pre entore. A pesar de la suplementación, los valores de ambos metabolitos durante el pre parto fueron más altos que en el pre entore en el Grupo Suplementado, evidenciando el estrés nutricional que provoca las demandas del feto en las últimas semanas antes del parto.

En respuesta al déficit energético las reservas del tejido adiposo se movilizan, la tasa de lipólisis aumenta y la de lipogénesis disminuye, observándose por ello, un aumento en las concentraciones plasmáticas de AGNE (Bauman y Curie, 1980; Bell, 1995). La captación y oxidación de AGNE por el hígado y tejidos extra-hepáticos, como el muscular, está directamente relacionada con su concentración plasmática (Bell, 1995). Confirmando la relación inversa entre la tasa de lipólisis y la CC, se encontró una asociación negativa entre la concentración plasmática de AGNE y la CC que coincide con lo reportado por otros autores (Vizcarra et al., 1998). El BHB también es un indicador de movilización de las reservas corporales, aunque no tan confiable como el AGNE, ya que en rumiantes también puede provenir de la dieta (Ndlovu et al., 2007). En efecto, BHB se forma a partir del ácido butírico en la mucosa ruminal y pasa a la sangre por la circulación portal (Relling y Mattioli, 2003). Por otra parte, en condiciones de BEN, la lipólisis acelerada genera abundancia de acetyl CoA como producto de la β oxidación, que es convertida en el hígado a BHB y constituye uno de los cuerpos cetónicos (Roche et al., 2009). En el presente trabajo, se descarta que el aumento de BHB observado en el pre parto en el Grupo Control pueda provenir de la dieta. Por el contrario, el suplemento logro disminuir su concentración.

El aumento de la concentración plasmática de colesterol es reflejo de un mejor estatus energético (Ndlovu et al., 2007), lo que está en concordancia con una mejor CC en el Grupo Suplementado respecto al Grupo Control sin que se haya encontrado una correlación entre ambas variables. La energía aportada por el suplemento, permitió la síntesis de colesterol, que es utilizado en la síntesis de membranas y tejidos en crecimiento así como hormonas y vitaminas (Lenhinger et al., 2005). El colesterol también puede aumentar sus concentraciones plasmáticas debido a dietas ricas en lípidos (Grummer y Carroll, 1988). Otros autores suplementando con afrechillo de arroz también han encontrado aumentos en la concentración de colesterol (Clariget et al., 2011, Scarsi, 2012, Astessiano et al., 2013, Soca et al., 2013).

El nivel plasmático de urea es una herramienta utilizada para medir los cambios en el estatus proteico y energético en ganado sometido a diferentes regímenes alimenticios (Hammond, 2006). Mayores concentraciones de urea suponen un mayor gasto energético asociado a su eliminación en el proceso de ureogénesis, además este proceso compite con la neoglucogénesis por el oxalato lo que incrementa el estrés metabólico de los animales. La urea en rumiantes, al igual que el BHB puede provenir de la dieta o del catabolismo proteico muscular que provee aminoácidos para la neoglucogénesis hepática (Chimonyo et al., 2002). La menor concentración plasmática de urea observado en las vacas del Grupo Suplementado respecto a las vacas del Grupo Control, indicarían una mejora en la situación energética de las vacas que recibieron el suplemento (Deiros et al., 2004). El origen de la urea en el Grupo Control sería,

entonces, endógeno. Al igual que la concentración de AGNE, la concentración de urea fue mayor en el pre parto que en el pre entore en ambos grupos, sugiriendo que a pesar de la suplementación las vacas del Grupo Suplementado estaban exigidas nutricionalmente.

La glucosa se eleva como consecuencia de un mayor plano nutricional (Ciccioli et al., 2003), por lo que no es de extrañar que el Grupo Suplementado tuviera durante el pre parto mayores niveles de glucosa. La elevación de este metabolito alrededor del momento del parto puede estar asociada al mecanismo que desencadena el mismo. En efecto, el cortisol fetal, señal que desencadena la cascada de reacciones del parto, eleva los niveles de glucosa en la sangre materna (Hill et al., 2006). Es interesante notar, que la concentración de este metabolito se correlacionó con la CC y la mayoría de los metabolitos excepto con las concentraciones de urea y proteína total.

Las concentraciones plasmáticas de proteína total y de albúmina tienen baja variabilidad en sangre, en consecuencia, ambos metabolitos tienen un alto valor diagnóstico en la evaluación del estado nutricional (Ndlovu et al., 2007). En especial, la concentración de albúmina, es un indicador muy sensible y precoz del estatus proteico dado que su turnover es de 16 días (Agenas et al., 2006). El aumento de la concentración de albúmina indicaría, entonces, que el Grupo Suplementado tiene también un mejor estatus proteico. Esto no es de sorprenderse, si se considera que el afrechillo de arroz contenía 14% de proteína y el campo natural durante el pre parto solo 7%. Las vacas del Grupo Control, por su parte, mostraron un BEN durante el pre parto y el posparto temprano, indicando que la ingesta de alimentos no fue suficiente para cubrir los requerimientos de la gestación avanzada y debieron recurrir a sus reservas corporales para sostener la demanda del feto. Estos indicadores del metabolismo proteico (proteína total y albúmina) indican que la síntesis proteica en el hígado no se vio afectada por la suplementación. Considerando que el contenido de metanol en la glicerina cruda utilizada era 1% se administró 5,5 mL/vaca/día de metanol. Este hallazgo es particularmente interesante, ya que el contenido de metanol en la glicerina cruda utilizada en el experimento no cumpliría con los requisitos de un máximo del 0,5% sugerido por la European Food Safety Authority (2010) para ser seguro para la alimentación animal.

Cuando la suplementación se suspendió luego del parto, la concentración de AGNE, BHB y urea aumentaron en el Grupo Suplementado mientras que el nivel de colesterol disminuyó en las dos siguientes semanas después del parto indicando que el aporte de nutrientes del campo natural y/o el consumo voluntario disminuido (Esposito et al., 2014) provoca que la ingesta no cubra los requerimientos del inicio de la lactancia.

La CC al parto es el factor más importante para determinar la duración del anestro posparto y la tasa de preñez (Houghton et al., 1990; Perry et al., 1991). Las vacas del Grupo Suplementado llegaron al parto con una CC que es la recomendada por Orcasberro (1992) para lograr probabilidad de preñez cercana al 80% en esta categoría de vacas, mientras que la del Grupo Control estuvo 0,5 unidades por debajo de ese estándar. Además, las señales con que ambos grupos llegaron al parto fueron diferentes, el Grupo Suplementado prácticamente mantuvo CC, mientras que el Grupo Control perdió CC.

La suplementación durante 52 días del pre parto con afrechillo de arroz y glicerina cruda al 0,4% del peso de las vacas mejoró el comportamiento reproductivo que se hizo estadísticamente significativo en la tasa de preñez total. Se falló en encontrar diferencias estadísticamente significativas tanto en el porcentaje de vacas que re-iniciaron la ciclicidad ovárica, como el de las preñadas en el primer mes del parto, a pesar de las diferencias aritméticas observadas (31 y 24%, respectivamente). El diseño experimental no fue adecuado para captar estas diferencias, ambas variables son binomiales por lo que el número de unidades experimentales utilizadas fue bajo y solo captó una tendencia cuando la diferencia fue 33 puntos porcentuales. Otros autores han observado un acortamiento del anestro pos parto en vacas que fueron suplementadas durante el pre-parto (Perry et al, 1991). Sin embargo, Scarsi (2012) suplementando vaquillonas

y vacas multíparas durante el último periodo de gestación observó un mejor comportamiento reproductivo en las multíparas que en las primíparas. En efecto, las vaquillonas suplementadas mejoraron su peso y su CC pero no mostraron ventajas reproductivas comparadas con las no suplementadas.

Luego del parto, al suspender la suplementación, y como consecuencia de la demanda de la producción de leche (Short et al., 1990), se observa una disminución en la CC en las vacas de ambos grupos, indicando que el campo natural en este periodo no cubrió los requerimientos de las hembras lactantes debido a una baja calidad de forraje, coincidiendo con los datos de producción y calidad de forraje del campo natural reportado (Bermúdez y Ayala, 2005) generando un balance energético negativo durante el posparto temprano (Bell 1995; Astessiano et al., 2013). Para enfrentar las demandas de producción de leche, las vacas debieron recurrir a sus reservas corporales, esto se ve reflejado en el aumento de las concentraciones plasmáticas de AGNE, BHB y una disminución de la concentración plasmática de colesterol.

CONCLUSIONES

Los datos sugieren que la suplementación en la última etapa de gestación de vaquillonas de carne con afrechillo de arroz y glicerina cruda mejoró el balance energético, la condición corporal al parto, sin aumentar el peso al nacer de los terneros o la incidencia de partos distócicos, y mejoró la tasa de preñez.

Los metabolitos estudiados en conjunto fueron buenos indicadores del estatus energético de las vacas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agenas, S; Heath, M. F; Nixon, R. M; Wilkinson, J. M y Phillips, C. J. C. 2006. Indicators of under nutrition in cattle. *Anim. Welfare.* 15(2): 149-160.

Alexander, B. M; Hess, B. W; Hixon, D. L; Garrett, B. L; Rule, D. C; Mcfarland, M; Bottger, J. D; Simms, D. D y Moss, G. E. 2002. Influence of pre-partum fat supplementation on subsequent beef cow reproduction and calf performance. *The Professional Animal Science* 18 (4): 351-357.

AOAC. 2007. *Official Methods of Analysis*, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.

Astessiano, A. L. 2010. Perfiles metabólicos, endocrinos y de expresión génica hepática asociados a cambios en el balance energético de vacas de carne primíparas en condiciones de pastoreo. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias, opción Ciencias Animales. Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica. 109 pp.

Astessiano, A. L; Pérez-Clariget, R; Espasandín, A. C; López-Mazz, C; Soca, P y Carriquiry, M. 2013. Metabolic , productive and reproductive responses to postpartum short-term supplementation in primiparous beef cows. *R. Bras. Zootecn.*, 42(4): 246-253.

Bauman, D y Curie, B. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* (63): 1514-1529.

Bell, A. W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* (73): 2804-2819.

Bermudez, R y Ayala, W. 2005. Producción de forraje de un campo natural de la zona de lomadas del este. En: Seminario de actualización técnica en manejo de campo natural. Serie técnica N° 151. INIA, Uruguay pp. 33-40.

Berreta, E; Risso, D; Montossi, F y Pigurina G. 2000. Campos in Uruguay in: Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology. New York. Eds G Lemaire, J Hodgson, A de Moraes, C Nabinger, PC d F Carvalho pp.377-394.

Blache, D; Zhang, S y Martin, G. B. 2006. Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. *Reprod Nutr Dev.* 46(4): 379-390.

Brockman, R. P y Laaveld, B. 1986. Hormonal regulation of metabolism in ruminants: A review. *Livestock Production Science* (14): 313-334.

Butler, W. R; Everett, R. W y Coppok, C. E. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci.* (53): 742.

Butler W. R. 1998. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. Symposium: Optimizing Protein Nutrition for Reproduction and Lactation. *J. Dairy Sci.* (81) 2533-2539.

Cannon, W. B. 1926. Physiological regulation of normal states: some tentative postulates concerning biological homeostatics. Paris: Éditions Médicales. 91pp.

Carámbula, M., 1991. Aspectos relevantes para la producción de forraje. Serie Técnica INIA, p.49.

Chilliard, Y; Bocquier, F y Doreau, M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reprod Nutr Dev.* (38): 131.

Chimonyo M; Hamudikuwana H; Kusina N. T y Ncube I. 2002. Changes in stress-related plasma metabolite concentrations in working Mashona cows on dietary supplementation. *Livest. Prod. Sci.* (73):165-173.

Ciccioli, N. H; Wettemann, R. P; Spicer, L. J; Lents, C. A; White, F. J y Keisler, D. H. 2003. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. *J. Anim Sci.* 81:3107-3120.

Clariget, J.M; Karlen, M y Román, L. 2011. Efecto de la glicerina cruda administrada junto a afrechillo de arroz en una suplementación de corta duración antes del entore, sobre el comportamiento productivo y reproductivo de vacas de carne de segundo entore en anestro pastoreando campo natural. Tesis. Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 101pp.

Code of Federal Regulations. 2004. U.S. Government Printing Office.

Corah, L. R; Dunn, T. G Y Kaltenbach, C. C. 1975. Influence of prepartum nutrition on the reproductive performance of beef females and the performance of their progeny. *J. Anim. Sci.* 41(3): 819-824.

Deiros, J.; Quintela, L, A; Peña, A, I; Becerra, J, J; Barrio, M; Alonso, G; Varela, B y Herradón, P. G. 2004. Urea plasmática: relación con el equilibrio Energético y parámetros reproductivos en vacuno lechero. *Arch. Zootec.* (53): 141-151.

Drackley, J. K; Donkin, S. S y Reynolds, C. K. 2006. Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *J. Dairy Sci.* (89): 1324-1336.

Echenagusia, M; Nuñez, A; Pereyra, A y Riani, V. 1994. Efecto del destete temporario sobre la performance reproductiva, producción de leche y crecimiento del ternero de vacas Hereford bajo pastoreo de campo natural. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía.

Elrod C. C y Butler W. R. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.* (71) 694-701.

European Food Safety Authority, 2010. Scientific Opinion on the abiotic risks for public and animal health of glycerine as co-product from the biodiesel production from Category 1 animal by-products (ABP) and vegetable oils. *EFSA Journal.* (8)12: 1934.

Esposito, G; Irons, P. C; Webb, E. C y Chapwanta, A. 2014. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition daily cows. *Animal Reproduction Science.* (144): 60-71.

Formoso, D. 1990. Pasturas naturales. Componentes de la vegetación, producción y manejo de diferentes tipos de campos. III Seminario Técnico de Producción Ovina. S.U.L. Paysandú, Uruguay. p 225-237.

Gayo Ortiz, J. 2007. Los subproductos del arroz en la alimentación del ganado. *R. Plan Agropecuario,* (123): 30-31.

Gestido, V. R. 2007. Parámetros productivos y metabólicos en el pre y postparto de vacas primíparas hereford pastoreando en campo natural. Tesis Ing. Agr.. Montevideo. Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica. 146 pp.

Gestido, V. R; Perez, M; Carriquiry and P. Soca. 2008. Evolución de la condición corporal en el pre y postparto y su relación con los niveles de metabolitos sanguíneos en vacas de cría primíparas Hereford pastoreando campo natural. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. 276-277 p.

Grummer, R. R y Carroll, D. J. 1988. A Review of Lipoprotein Cholesterol Metabolism: Importance to Ovarian Function. *J. Anim Sci.* (66): 3160-3173.

Grummer, R. R. 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* (76): 3882-3896.

Grummer, R. R y Carroll, D. J. 1988. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J. Anim Sci.* 66 (12): 3160-3173.

Guédon, L; Saumande, J; Dupron, F; Couquet, C y Desbals, B. 1999. Serum Cholesterol and Triglycerides in postpartum beef cows and their relationship to the resumption of ovulation. *Theriogenology* 51 (7): 1405-1415.

Hammond, A C. 2006. Update on BUN and MUN as a guide for protein supplementation in cattle, US Department of Agriculture, Florida.

Haydock, K. P y Shaw, N. H. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian J. of Exp. Agri. and Anim. Husbandry.* (15): 663-670.

Hill, R; Wyse, G y Anderson, M. 2006. *Fisiología Animal.* Madrid. Ediciones Panamericana. 1038 pp.

- Hoffman, D. P; Stevenson, S y Minton, J.E. 1996. Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cow. *J. Anim. Sci.* (74): 190-198.
- Houghton, P. L; Lemenager, R. P; Horstman, L. A; Hendrix, K. S y Moss, G. E. 1990. Effects of body composition, pre and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain. *J. Anim. Sci.* (68):1438.
- Ingvarstsen, K.L y Andersen, J.B. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J. Dairy Sci.* (83): 1573.
- Lake, S. L; Scholljegerdes, E. J; Nayigihugu, V; Murrieta, C. M; Atkinson, R. L; Rule, D. C; Robinson, T. J y Hess, B. W. 2006. Effects of body condition score at parturition and postpartum supplemental fat on adipose tissue lipogenic activity of lactating beef cows¹ *J. Anim. Sci.* (84): 397–404.
- Lalman, D. L; Keisler, D. H; Williams, J. E; Scholljegerdes, E. J y Mallett, D. M. 1997. Influence of postpartum weight and body condition change on duration of anestrus by undernourished suckled beef heifers. *J. Anim. Sci.* (75):2003-2008.
- Lalman, D. L; Williams, J. E; Hess, B. W; Thomás, M. G y Keisler, D. H. 2000. Effect of dietary energy on milk production and metabolic hormones in thin, primiparous beef heifers. *J. Anim. Sci.* (78): 530-538.
- Lammoglia, M. A; Willard, S. T; Oldham, J. R y Randel, R. D. 1996. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and hormonal cholesterol, triglycerids, follicular patterns, and postpartum reproduction in Brahman cows. *J. Anim. Sci.* 74(4):2253-2262.
- Lehninger, A. L; Nelson, D. L y Cox, M. M. 2005. *Principios de Bioquímica*. 4ta ed. Barcelona. Ediciones Omega, S.A, 1232 pp.
- McDonald, P; Edwards, R. A y Morgan, C. A. 2006. *Nutrición animal*. 6ª edición. Zaragoza. Editorial Acribia, S. A. 587 pp.
- Meikle, A; Kulcsar, M; Chilliard, Y; Febel, H; Delavaud, C; Cavestany, D y Chilbroste, P. 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*. (127): 727-737.
- Meikle, A; Cavestany, D; Blanc, J; Krall, E; Uriarte, G; Rodríguez-Iraozqui, M; Ruprecchter, G; Ferraris, A y Chilbroste, P. 2005. Perfiles metabólicos y endocrinos de la vaca lechera sobre pastoreo controlado. *Revista Veterinaria*. (40): 25-40.
- Mulliniks J, T; Kemp M, E; Valverde-Saenz S, I; Gardner, C. M. Ç; Cox S, H; Cibils A; Hawkins D, E y Petersen M, K. 2008. Reproduction in young postpartum range cows supplemented with glucogenic precursors. *Journal of Animal Science* 59:118–121.
- Ndlovu, T; Chimonyo, M; Okoh, A. I; Muchenje, V; Dzama, K y Raats, J. G. 2007. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. *African Journal of Biotechnology*. (6) 2727-2734.
- Orscasberro, R. 1991. Estado corporal, control del amamantamiento y performance reproductiva de rodeos de cría. En: *Pasturas y producción animal en áreas de ganadería extensiva*. Trabajos presentados. Montevideo, INIA. Serie Técnica. (13): 158-169 p.

- Orcasberro, R.; Soca, P.; Beretta, V.; Trujillo, A. I.; Franco, J.; Apezteguía, E y Bentancur, O. 1992. Características de la pastura y estado corporal del rodeo de cría en pastoreo de campo natural. En: Evaluación Física y Económica de Alternativas Tecnológicas en Predios Ganaderos. Facultad. de Agronomía. EEMAC. Jornada de Producción Animal. pp 36-44.
- Orcasberro, R. 2000. Manejo nutricional del rodeo de cría en las condiciones pastoriles del país. Jornada sobre cría vacuna. Centro Veterinario de Salto y Comisión de Reproducción de la Sociedad de Medicina Veterinaria de Uruguay. Gran Hotel Salto.
- Ortega, M. E y Mendoza G. 2003. Starch digestion and glucose Metabolism in the ruminant: a review. *Interciencia*. 28(7):380-386.
- Oulun, Y. 2005. Variation in the blood chemical constituents of reindeer, significance of season, nutrition and other extrinsic and intrinsic factors, *Acta Universitatis Ouluensis, Scientiae Rerum Naturalium*, A440.
- Pena, A; Veiga, S; Florencio, C; Couto, J; Spinelli, N; Musso, M y Bussi, J. 2012. Reformado catalítico de glicerina residual de la producción de Biodiesel. X Encuentro Regional, XXVI Congreso Interamericano de Ingeniería Química. Montevideo, Uruguay. 10 pp.
- Perry, R.C; Corah, L. R; Cochran, R. C; Beal, W. E; Stevenson, J. S; Minton, J. E; Simms, D. D y Brethour, J. R. 1991. Influence of dietary energy on follicular development , serum gonadotropins , and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *J. of Anim Sci.* (69): 3762-3773.
- Petterson, J. A; Slepatis, R; Ehrhardt, R. A; Dunshea, F. R y Bell, W. 1994. Pregnancy but not moderate undernutrition attenuates insulin suppression of fat mobilization in sheep. *Journal Nutr.* (124):2431-2436.
- Quintans, G y Vázquez, A.I. 2002. Effect of premature weaning and suckling restriction with nose plates on the reproductive performance of primiparous cows under range conditions. In: Proceedings of the Sixth International Symposium in Domestic Ruminants, Crieff, Scotland, p. A65.
- Quintans, G; Viñoles, C y Sinclair, K.D. 2004. Follicular growth and ovulation in postpartum beef cows following calf removal and GnRH treatment. *Animal Reproduction Science.* (80): 5-14.
- Quintans, G; Vázquez, A. I y Weigel, K. A. 2009. Effect of suckling restriction with nose plates and premature weaning on postpartum anestrous interval in primiparous cows under range conditions. *Animal Reproduction Science.* (116): 10-18.
- Quintans, G y Scarsi, A. 2013. Seminario de actualización Técnica: Cría vacuna. Serie Técnica N° 208. INIA, Uruguay. 272 pp.
- Radloff, H. D; Schultz, L. H y Hoekstra, W. G. 1966. Relationship of plasma free fatty acids to other blood components in ruminants under various physiological conditions. *J. Dairy Sci.* (49):179-182.
- Reid, R.L y Hinks, N.T. 1962. Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. The metabolism of glucose, free fatty acids, and ketones after feeding and during fasting or undernourishment of non-pregnant, pregnant, and lactating ewes. *Aust. Journal Agriculture Research.* (13): 1124-1136.

- Relling, A. E y Matioli, G. E. 2003. Fisiología digestiva y metabólica de los rumiantes. La Plata. Universidad nacional de La Plata. 65 pp.
- Rémond, B; Souday, E y Jouany, J.P. 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim. Feed. Sci. Technol.* (41): 121-132.
- Roberts, A. J; Nugent, R. A; Klindt, J y Jenkins, T. G. 1997. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *J. Anim. Sci.* (75): 1909-1917.
- Robinson, J. J; Sinclair, K. D; Randel, R. D y Sykes, A. R. 1999. Nutritional management of the female ruminant: mechanistic approaches and predictive models. *Nutritional Ecology of Herbivores. Proceedings of the Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores.* American Society of Animal Science. Savoy, Illinois, USA.
- Roche, J. R; Friggens, N. C; Kay, J. K; Stafford, K. J y Berry, D. P. 2009. Invited review: Body condition score and its association with cow productivity, health and welfare. *J. Dairy Sci.* 92 (12): 5769-5801.
- Román, L.; Clariget, J. M.; Karlen, M.; López Mazz, C y Pérez-Clariget, R. 2011. Efecto de la suplementación con glicerina cruda y afrechillo de arroz sobre el comportamiento productivo y reproductivo de vacas de carne. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp 235-236.
- Roseler, D. K; Ferguson, J. D; Sniffen, C. J y Herrema, J. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in holstein cows. *J. Dairy Sci.* (76): 525-534.
- Ruegg, P. L; Goodger, W. J y Holmberg, C. A. 1992. Relation among body condition score, milk production and serum urea nitrogen and cholesterol concentrations in highproducing Holstein dairy cows in early lactation. *Animal Journal Veterinary Research.* (53): 5-9.
- Russo, A y Rutter, B. 2002. Fundamentos de la fisiología de la gestación y parto en animales domésticos. Buenos Aires. Eudeba. 248 pp.
- Scarsi, A; Astessiano, A. L; Banchemo, G; Carriquiry, M y Quintans, G. 2010. Effect of short-prepartum supplementation on reproductive and productive performance in primiparous beef cows under grazing. In: Symposium of International Ruminant Reproduction (8th, 2010, Alaska). Proceeding. Alaska, s.e. s.p.
- Scarsi, M. A. 2012. Efecto de una suplementación corta preparto en variables metabólicas, productivas y reproductivas en vacas multíparas y primíparas para carne. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias, opción Ciencias Animales. Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica. 118 pp.
- Schmidt, S. P y Keith, R. K. 1983. Effects of diet and energy intake on kinetics of glucose metabolism in steers. *J. Nutr.* (113): 2155-2163.
- Short, R. E; Bellows, R. A, Staigmiller, R. B; Berardinelli, J. G y Custer, E. E. 1990. Physiological mechanism controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.* (68):799.
- Sinclair, K.D. 2008. Lactational anoestrus in cattle: lessons from the suckled beef cow. *Cattle Practice.* (16): 24-31.

Soca, P; Carriquiry, M; Keisler, D. H; Claramunt, M; Carmo, M; Olivera-Muzante, J; Rodríguez M y Meikle, A. .2013. Reproductive and productive response to suckling restriction and dietary flushing in primiparous grazing beef cows. *Animal Production Science*. 53(4): 283–291.

Thompson, J. C y He, B.B. 2006. Characterization of crude glycerol from biodieses production from multiple feedstocks. *Applied engineering in agriculture*. 22(2): 261-265.

Van Soest, P. J; Robertson, J. B y Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal Nutrition. *J. Dairy Sci.* (74): 3583-3597.

Vizcarra, J. A; Ibañez, W y Orcasberro, R. 1986. Repetibilidad y reproductividad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas*. (7): 45-47.

Vizcarra, J. A; Wettemann, R. P; Spitzer, J. C y Morrison, D. G. 1998. Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.* (76): 927-936.

Williams, G. L. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle; a review. *J. Anim. Sci.* (68): 831-852.