

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ENERGÉTICA DURANTE EL PREPARTO SOBRE
LA PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN EN VACAS HOLANDO MULTÍPARAS Y
PRIMÍPARAS EN PASTOREO**

Por

Sebastián BELASSI
Federico OLARIAGA
María Noel PEREZ

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

MONTEVIDEO
URUGUAY
2006

042 TG

**Efecto de la su
Belassi, Sebastián**



FV/26667

TESIS aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dra. Cecilia Cajarville



Segundo Miembro (Tutor):

Dr. Daniel Cavestany



Tercer Miembro:

Dra. Elena de Torres

Fecha:

7 de abril de 2006

Autores:

Sebastián Mario Belassi Rodríguez



Rodolfo Federico Olariaga Pérez



Maria Noel Pérez Somoza



AGRADECIMIENTOS

A nuestro tutor Dr. Daniel Cavestany por su invaluable apoyo.

A nuestras familias, amigos, compañeros por confiar en nosotros pese a todo.

A Federica Albanell y Ana Lucía Silva por su ayuda en el trabajo experimental.

A la Universidad de la Republica, Facultad de Veterinaria.

A los Ing Agr. Alejandro La Manna, Juan Mieres, Alejandro Mendoza de INIA La Estanzuela.

A la Dra. Carolina Viñoles.

A la familia López del tambo de INIA La Estanzuela.

Al Dr. Ricardo Sierra por el apoyo logístico.

Al Dr. Alberto Cirio por su ayuda en la interpretación del metabolismo energético.

Al Ing. Agr. Diego Mattiauda por sus consejos.

A los amigos y docentes de la Orientación Producción Animal (Paysandú) por ser más que profesores.

Al personal de Cantina de INIA La Estanzuela.

Al Dr. Gonzalo Uriarte, de DILAVE Miguel C. Rubino.

Índice

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	VI
1. <u>RESUMEN</u>	1
2. <u>SUMMARY</u>	1
3. <u>INTRODUCCIÓN</u>	3
4. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.</u>	4
4.1 EL SECTOR LÁCTEO: IMPORTANCIA Y CARACTERÍSTICAS GENERALES	4
4.2 PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE	5
4.3 METABOLISMO DE LA VACA LECHERA	6
4.3.1 Metabolismo energético	6
4.3.2 Metabolismo nitrogenado	7
4.3.3 Metabolismo mineral	8
4.3.3.1 Calcio	8
4.3.3.2 Fósforo	8
4.3.3.3 Magnesio	9
4.4 ALIMENTACION Y MANEJO DE LA VACA LECHERA PREPARTO	9
4.5 ALIMENTACION Y MANEJO DE LA VACA LECHERA LUEGO DEL PARTO	11
4.6 REINICIO DE LA ACTIVIDAD OVARICA	11
5. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	12
5.1 LOCALIZACION Y DURACION	12
5.2 ANIMALES Y TRATAMIENTOS	12
5.3 ALIMENTACIÓN Y MANEJO PREPARTO	13
5.4 ALIMENTACIÓN Y MANEJO POSPARTO	14
5.5 DETERMINACIONES	15
5.5.1 Consumo	15
5.5.1.1 Técnica de determinación de consumo por cromo	15
5.5.2 Condición corporal	16
5.5.3 Determinación del peso corporal	16
5.5.4 Producción de Leche	16
5.5.5 Composición de la leche (grasa y proteína)	16
5.5.6 Metabolitos y enzimas	17
5.5.7 Minerales	18
5.5.8 Pastura	18
5.5.9 Concentrado y ensilaje	18
5.5.10 Análisis estadístico	18
5.6 DETERMINACIONES METODOLÓGICAS	18
5.6.1 Consumo	18
5.6.2 Perfiles metabólicos	19
5.6.2.1 Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA)	19
5.6.2.2 Betahidroxibutirato (BHB)	19
5.6.2.3 Colesterol	19
5.6.2.4 Glucosa	20
5.6.2.5 Proteínas totales	20
5.6.2.6 Albúmina	20

5.6.2.7 Globulina	20
5.6.2.8 Urea	20
5.6.3 Minerales	21
5.6.3.1 Calcio	21
5.6.3.2 Fósforo	21
5.6.3.3 Magnesio	21
5.6.4 Enzimas	21
5.6.4.1 Aspartato Amino Transferasa (AST)	21
5.6.4.2 Gamaglutamil transferasa (GGT)	21
5.6.5 Reproducción	22
5.6.5.1 Determinación de la ovulación	22
6. RESULTADOS	22
6.1 CONSUMO	22
6.2 EVOLUCIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL	23
6.3 EVOLUCION DEL PESO CORPORAL	24
6.4 PRODUCCION DE LECHE	24
6.5 PORCENTAJE DE GRASA EN LECHE	25
6.6 PORCENTAJE DE PROTEINA EN LECHE	26
6.7 NEFA	26
6.8 BHB	27
6.9 PROTEINAS TOTALES	28
6.10 ALBUMINAS Y GLOBULINAS	29
6.11 COLESTEROL	30
6.12 UREA	31
6.13 GLUCOSA	31
6.14 AST Y GGT	32
6.15 CALCIO	33
6.16 FÓSFORO	34
6.17 MAGNESIO	35
6.18 CORRELACIONES	36
6.19 REPRODUCCIÓN	37
6.19.1 Intervalo parto-ovulación	37
6.19.2 Rango del intervalo parto-ovulación	37
7. DISCUSIÓN	38
8. CONCLUSIONES	41
9. BIBLIOGRAFÍA	42

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro I: Composición de los alimentos ofrecidos en el parto	13
Cuadro II: Composición de los alimentos ofrecidos en el posparto	14
Cuadro III: Características de las dietas parto	14
Cuadro IV: Composición de los alimentos ofrecidos en el posparto	15
Cuadro V: Características de las dietas posparto	15
Cuadro VI: Detalle de los análisis para metabolitos	17
Cuadro VII: Coeficientes de correlación de Pearson	36
Figura 1: Consumo de materia seca	22
Figura 2: Evolución semanal de la condición corporal	23
Figura 3: Evaluación semanal del peso corporal	24
Figura 4: Producción de leche	24
Figura 5: Porcentaje de grasa en leche	25
Figura 6: Porcentaje de proteínas en leche	26
Figura 7: Niveles de NEFA plasmáticos	26
Figura 8: Niveles séricos de BHB	27
Figura 9: Niveles plasmáticos de proteínas totales	28
Figura 10: Niveles plasmáticos de albúminas (panel superior) y globulinas (panel inferior)	29
Figura 11: Niveles plasmáticos de colesterol	30
Figura 12: Niveles plasmáticos de urea	31
Figura 13: Niveles plasmáticos de enzimas AST (panel superior) y GGT (panel inferior)	32
Figura 14: Niveles plasmáticos de calcio	33
Figura 15: Niveles plasmáticos de fósforo	34
Figura 16: Niveles plasmáticos de magnesio	35
Figura 17: Intervalo parto-ovulación	37
Figura 18: Porcentaje de animales que ovulan en diferentes intervalos posparto	37

1. RESUMEN

Se estudió el efecto de la administración de la suplementación energética durante el parto tardío sobre parámetros productivos, reproductivos y perfiles metabólicos en vacas lecheras primíparas y múltiparas en condiciones pastoriles. Se utilizaron 24 primíparas y 24 múltiparas con partos de otoño distribuidas en 2 grupos con un control (12 primíparas y 12 múltiparas) mantenido en campo natural más 12 kg de ensilaje de trigo (base fresca) por día por vaca y uno suplementado mantenido en campo natural, más 12 kg de ensilaje de maíz planta entera (base fresca) y 4 kg de afrechillo de trigo con 12 g de urea (12 primíparas y 12 múltiparas). Luego del parto los animales recibieron la misma dieta consistente en praderas, 12 kg/día de ensilado de maíz (base húmeda) y 8 Kg/día de concentrado comercial (18% de PC y 1.7 ENL). El ensayo comprendió las 3 semanas previas y las 7 posteriores al parto. Hubo una disminución de la CC hasta el momento del parto a excepción de las vacas suplementadas con energía preparto que mantuvieron la CC a lo largo del ensayo. Los grupos suplementados consumieron más durante el preparto, pero no afectó el consumo posparto. Los grupos suplementados y los controles no presentaron diferencias en la producción de leche, pero si se observó una mayor producción en múltiparas. El porcentaje de grasa en leche aumentó en los animales con suplementación energética preparto. Los niveles de NEFA aumentaron a partir del parto, registrando su pico máximo para los 4 grupos a los 7 días posparto. Los niveles de BHB fueron similares para los 4 grupos, mostrando un aumento desde el comienzo hasta el final del ensayo. El colesterol registró un importante aumento posparto en todos los grupos. No se registraron diferencias en los perfiles enzimáticos entre grupos, al igual que las proteínas totales, globulinas plasmáticas y albúmina. En los parámetros reproductivos los grupos suplementados presentaron un rápido inicio a la ciclicidad ovárica donde más del 50% de las primíparas y múltiparas tuvieron su primera ovulación antes de los 21 días posparto.

Palabras claves: bovinos de leche, suplementación energética preparto, producción de leche, reproducción

2. SUMMARY

The effect of an energetic supplementation during the late prepartum on productive and reproductive parameters, and metabolic profiles in Holstein cows under grazing conditions was studied on 24 multiparous and 24 primiparous cows with autumn calvings, that were distributed randomly in four groups (12 multiparous and 12 primiparous in each): control, maintained on natural pastures plus 12 Kg/day/cow of wheat silage (fresh base) and: supplemented, maintained on natural pastures plus 12 Kg/day/cow of corn silage (fresh base) and 4 Kg cow/day of wheat bran and 12 g of urea. After calving all cows received the same diet, consistent in improved pastures, corn silage (administered in group feeders once a day after the morning milking) and 8 KG of a commercial concentrate (18% of CP and 1.7 NEL). The experimental period was from 3 weeks prior to 7 weeks after parturition. There was a decrease in body condition score during the prepartum in all cows except for the multiparous in the supplemented group that maintained it throughout the experimental period. There were no treatment differences in milk production, although multiparous cows had better milk production than primiparous. Milk fat percentage was higher in supplemented animals. Plasma NEFA increased after calving, reaching maximum levels at day 7 postpartum. Plasma BHB levels were similar in the four groups, showing an increasing pattern throughout the

experimental period. Cholesterol increased postpartum in all groups. Supplemented cows started cycling earlier, and 50% had the first ovulation before 21 days postpartum.

Key words: dairy cows, prepartum energetic supplementation, milk production, reproduction.

3. INTRODUCCIÓN

El período de transición es de particular importancia en el ciclo productivo de la vaca lechera y abarca las tres semanas previas y las tres semanas posteriores al parto (Grummer, 1995). Con el advenimiento del parto y el inicio de la lactancia se establece un nuevo requerimiento nutricional, generando un balance energético y proteico negativo en la vaca en producción (Bauman y col., 1989), debido a que los grandes requerimientos nutricionales no son compensados por el consumo diario. El balance energético ha sido definido como el consumo de energía neta del animal menos la energía neta requerida para mantenimiento y la energía neta necesaria para la producción de leche (Bauman y col., 1989). El Balance Energético Negativo (BEN) puede acarrear efectos residuales negativos al resto de la lactancia registrándose tanto en la producción como en la composición química de la leche. Cuando el rumiante se encuentra en un período de BEN metaboliza sus reservas lipídicas para obtener la energía que necesita, fenómeno que se denomina lipomovilización (Cirio y Tebot, 1998). La gran movilización grasa que ocurre en el preparto y posparto temprano se acompaña de una pronunciada elevación de ácidos grasos no esterificados (NEFA). El aumento de NEFA es el resultado de la disminución de la ingesta de materia seca (MS) en este período y de los cambios hormonales que estimulan la movilización de NEFA del tejido adiposo para proveer energía para el parto y la lactogénesis (Vázquez-Añón y col., 1994; Grum y col., 1996). Este aumento de NEFA puede ser seguido de un aumento de β -hidroxibutirato (BHB) y el aumento de ambos metabolitos refleja lipólisis y déficit energético. Simultáneamente hay un acumulo de triacilglicéridos en el hígado, lo que provoca diferentes disfunciones que se reflejan en la bioquímica sanguínea (hipercolesterolemia, hipoalbuminemia, aumento de enzimas hepáticas) (Meikle y col., 2003). La lipomovilización se manifiesta con una disminución de la condición corporal (CC) por lo tanto puede ser utilizada indirectamente para identificar animales que presenten un BEN (Edmonson y col., 1989), esta manobra es una buena herramienta para identificar vacas con riesgo a fallas en la eficiencia reproductiva, su evaluación al parto y durante el posparto es de gran utilidad en el manejo de rodeos de leche (Meikle y col., 2004).

El potencial genético existente en la lechería Uruguaya es alto, pero no es acompañado con manejo nutricional adecuado, ya que el sistema productivo a base de pasturas no llega a cubrir los requerimientos en los períodos críticos (fin de la gestación y comienzo de la lactancia). Siendo la ingesta uno de los factores que determina la magnitud del BEN (Invgartsen y Andersen, 2000), las vacas que consumen menos, producen menos leche y tienen peor desempeño reproductivo (Staples y col., 1990). Por lo tanto el uso de concentrados y reservas forrajeras es una herramienta indispensable para maximizar el recurso forrajero y animal. La administración de concentrados en dietas preparto esta asociado a un incremento en el consumo de materia seca (MS) (Rabelo y col., 2003), mayor producción de leche, un rápido inicio de la ciclicidad ovárica y disminución de problemas metabólicos como la hipocalcemia. El uso de concentrado al final del periodo seco, permite a las bacterias del rumen y las papilas ruminales adaptarse a niveles altos de concentrados en la dieta posparto (Curtis y col., 1985). La práctica de suplementación preparto se puede implementar independientemente del tamaño de la empresa, de forma práctica, para el mejor rendimiento lechero, el temprano reinicio de la ciclicidad ovárica y la disminución de enfermedades metabólicas, así de ésta manera aumentar los índices económicos, ya que es el elemento más importante de la empresa.

Objetivo:

Estudiar el efecto de una suplementación energética preparto en vacas multíparas y primíparas sobre la producción y composición de leche, los perfiles metabólicos y el reinicio de la actividad ovárica posparto.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Sector lechero: importancia y características generales

La producción de leche en el Uruguay se duplicó en los últimos años, pasando de 723 millones de litros en 1975 a 1.431 millones de litros en 2002 (DIEA, 2003). Al mismo tiempo este incremento se tradujo en una mayor disponibilidad de materia prima para las agroindustrias, las cuales lo volcaron a satisfacer las demandas del mercado interno y a un aumento sostenido en las exportaciones de productos lácteos en los últimos años generando divisas del orden de los U\$S 2.7 millones en 1975 a U\$S 126 millones en 2002 (DIEA, 2003).

De acuerdo a la declaración jurada 2003 (DICOSE) hay 4.919 establecimientos que se dedican a la lechería comercial. El 80% de los productores residen en la propia explotación, situación comprensible por tratarse de una actividad que demanda, al menos en términos de trabajo, una presencia humana de forma diaria. La escala que tienen las explotaciones es un factor relevante para afrontar procesos de modernización y cambio técnico, en particular porque condiciona su continuidad y perspectiva en la actividad. Así, ha llevado a una reducción del número de tambos, pero hay un aumento en el tamaño de los predios.

Por tratarse de un sistema pecuario de base pastoril la producción de leche acompaña la correspondiente curva de oferta de las pasturas y determina por tanto que su distribución no resulte uniforme a lo largo del año. En los últimos años hubo un aumento notorio en la producción de leche a nivel nacional, dado por el incremento de los índices productivos de los tambos en los que los litros por hectárea se duplicaron y los litros por vaca masa también. Se ha registrado un aumento del consumo de concentrados y reservas forrajeras, pero la base del sistema de alimentación sigue siendo pastoril (Proyecto Alimentación-Reproducción 2002, Conaprole). La eficiencia de los sistemas pastoriles se determina por la producción de leche por unidad de superficie, a diferencia de los sistemas estabulados que priorizan la producción individual (Clark y Kanneganti, 1998).

La pastura mejorada representa un 43% del área total lechera y dentro de sus componentes se destacan las praderas plurianuales que cubren el 58% del área (DIEA, 2001), siendo éstas el soporte del cambio en la base forrajera procesado durante las últimas décadas y en cuya adopción notoriamente han participado la mayoría de los productores.

Hoy en día es muy importante la composición y calidad de la leche ya que el sistema de pagos utilizado por las industrias está basado en la composición de grasa y proteína.

4.2 Producción y composición de leche

La cantidad de leche que produce una vaca es el resultado de la capacidad fisiológica (habilidad genética, historia nutricional y estado de lactancia) y la cantidad de nutrientes que consume (plano nutricional, tipo de alimento) (Moe y Tyrrell, 1975). Las vacas primíparas producen menos leche que las múltiparas, ya que el desarrollo de la glándula mamaria es menor en las primeras. La glándula mamaria efectúa la síntesis de la mayor parte de los componentes orgánicos de la leche como son la lactosa, materia grasa (triglicéridos), caseínas, alfa y beta lactoglobulinas y ácido cítrico. Estas sustancias representan alrededor del 92% del extracto seco de la leche de vaca. Los otros componentes proceden directamente del circuito sanguíneo (Alais, 1970). La lactosa es quien determina el volumen de leche producida y su síntesis está íntimamente relacionada a la ingestión de alimentos, ya que la mayor parte de la lactosa proviene de la glucosa y ésta del ácido propiónico y aminoácidos absorbidos en el tracto digestivo. En vacas de alta producción, el metabolismo energético frecuentemente se ve alterado, ya que para mantener la glicemia y producir lactosa en la glándula mamaria, depende casi exclusivamente de la glucosa formada en el hígado (Contreras, 1998). Los niveles de lactosa son muy estables a lo largo de toda la lactancia (Bauman y Curie, 1980) y su curva de producción es similar a la curva de producción de leche (Alais, 1970). Los ácidos grasos y el glicerol, que constituyen los triglicéridos de la materia grasa, proceden en parte del torrente sanguíneo, pero otra cantidad se sintetiza en la mama a partir de moléculas pequeñas. En los rumiantes el acetato es el precursor más importante de esta síntesis (Alais, 1970). Alimentaciones con gran cantidad de fibra aumentan la producción de ácido acético a nivel ruminal, que van a ocasionar un aumento del porcentaje de grasa en leche (Krall, 2005, comunicación personal). La producción de grasa en la primera semana de lactancia coincide con la intensa lipomovilización, por lo que la misma puede usarse como un indicador del déficit de energía durante este periodo (de Vries y Veerkamp, 2000). A medida que la lactancia avanza, la producción de grasa disminuye en forma paulatina al igual que la lipomovilización (Cirio y Tebot, 1998). El aumento del tenor graso de la leche que se registra al final de la lactancia, es debido a una disminución de la producción de leche.

Las principales proteínas de la leche se sintetizan en la glándula mamaria a partir de un conjunto de aminoácidos libres. Aminoácidos no esenciales se sintetizan en la glándula mamaria a partir de la glucosa, del acetato, etc. El fósforo (P) de la caseína tiene como precursor al P inorgánico de la sangre (Alais, 1970). La eficiencia de la utilización de la proteína alimentaria es baja y variable, entre 15% a 32%, por lo tanto la fórmula inadecuada de proteínas en general y de aminoácidos en particular, resulta en una reducción en la producción y/o composición de la leche (Journet y col., 1995). Si el contenido de proteína cruda en el total de la ración oscila entre 12-14% la producción de leche puede ser del orden de 25-30 Kg/día (Phipps, 1977). Según Moyá y Coppock (1997) la práctica de una alimentación preparto de mejor calidad, estimula la habilidad de las vacas para producir más leche si además se les provee mayor energía al principio de la lactancia.

4.3 Metabolismo de la vaca lechera

4.3.1 *Metabolismo energético*

En el último mes de preñez los requerimientos energéticos aumentan un 23% para soportar el crecimiento fetal y del útero grávido (Moe y Tyrrell, 1972).

En la lactancia temprana, las vacas lecheras utilizan sus reservas lipídicas para cubrir los elevados requerimientos energéticos, por lo que están generalmente en un estado de BEN durante ese período, ya que la energía requerida para la producción de leche y para mantenimiento exceden la energía obtenida por el alimento, por lo cual los animales deben acudir a sus reservas corporales (Bauman y col., 1988). Desde el punto de vista metabólico los animales que llegan al parto con BEN tienen más posibilidades de acentuar esa pérdida en condiciones de pastoreo, comprometiendo la producción de leche y retardando el reinicio de la ciclicidad ovárica. La vaca lechera en alta producción (8-12 semanas posparto) presenta una baja tasa de incremento en materia seca (MS) consumida comparado con el incremento de producción de leche. Muchos mecanismos metabólicos de adaptación al BEN ocurren a nivel del organismo, involucrando la movilización de energía almacenada desde los sitios de depósito y la interconversión de combustibles metabólicos. En el estado de BEN el nutriente más limitante es la glucosa, ya que en el rumiante debe ser sintetizada mediante neoglucogénesis hepática a partir de precursores, cuyo aporte es variable de acuerdo a la dieta administrada; los precursores son: propionato, que puede contribuir en la formación de glucosa en 30-50% (Armentano y Young, 1983; Lomax y Baird, 1983), el lactato en aproximadamente un 10% (Huntington y Prior, 1983), los aminoácidos, en aproximadamente un 9% (Lomax y col., 1979) y el glicerol en un 5%, que puede llegar hasta un 23% en casos de ayuno (Bergman, 1963). La etapa de mayor requerimiento de glucosa es la lactancia, así, una vaca de 20 litros de producción requiere 1440 g/diarios de este azúcar, los que deben ser sintetizados por el hígado. La disminución en las concentraciones de glucosa e insulina y el aumento de ácidos grasos libres reflejan el déficit de energía y el aumento en la movilización de grasas. La lipomovilización que ocurre en el período de transición trae aparejado una pronunciada elevación de NEFA, que se traduce en una liberación brusca y masiva de energía (Vázquez-Añón y col., 1994). La entrada de NEFA al hígado es libre y está en función de la concentración plasmática; éstos son captados por el hepatocito para la oxidación y esterificación (Cirio y Tebot, 1998). La oxidación de estos NEFA produce grandes cantidades de acetil CoA, el exceso de este se deriva a la producción de cuerpos cetónicos, cuando éstos superan la capacidad del organismo de utilización se produce una cetosis clínica. El otro proceso que siguen los NEFA es el de esterificación con glicerol para formar triacilglicéridos que pueden depositarse en el hepatocito (esteatosis) o ser volcados a la circulación incorporadas en VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) (Cirio y Tebot, 1998). La producción de NEFA puede ser seguida de una producción aumentada de BHB el cual refleja la importante lipólisis y déficit energético (Meikle y col., 2003). El aumento de cuerpos cetónicos se debe a una escasez de oxalacetato y aumento de acetil CoA (Hibbit, 1979). El músculo esquelético juega un rol importante en la adaptación para el BEN, utilizando NEFA y cuerpos cetónicos como fuente de energía (Boden, 1998). Una de las actividades adicionales del músculo esquelético durante el BEN es la provisión de aminoácidos que son movilizados para participar en la neoglucogenesis (Herdt, 2000). Excesivos niveles de NEFA durante el BEN resultan en una infiltración del hígado y esto está asociado con una alta incidencia de enfermedades metabólicas en el periparto (Cameron y col., 1998; Dyk y col., 1995; Holtenius y Hjort., 1990). Los valores de NEFA son bajos para vacas con baja CC (Flamenbaum y col., 1995).

En conclusión, las causas más frecuentes de deficiencias de energía se encuentran asociadas a una ingesta insuficiente de alimentos, ya sea por falta de aporte o limitaciones del consumo voluntario. Esta situación se puede presentar cuando se emplean forrajes con escasa cantidad de materia seca, que producen repleción ruminal sin cubrir los requerimientos, trastornos digestivos que alteren la absorción, disminución del apetito o

alimentos de mala calidad, con escasa digestibilidad o mal balanceados, también el estrés del parto, los desbalances hormonales y una combinación de estos factores pueden provocar el déficit de energía (Chilliard, 1993; Grummer, 1993).

4.3.2 *Metabolismo proteico*

La utilidad de la proteína depende de su digestibilidad y de su valor biológico. El factor que determina la síntesis de proteína ruminal es la cantidad de energía disponible en el rumen como principal factor. La síntesis de proteína microbiana del rumen proporciona del 40% al 100% de las necesidades de proteína de la vaca, dependiendo de la producción de leche y del ambiente en el rumen (Palmquist y col., 1993). El suministro de dietas con contenido de proteína cruda (PC) inferiores a 120 g/Kg. de MS reduce proporcionalmente el volumen y rendimiento de proteína en la leche (Chew y col., 1984; Hook y col., 1989; Dewhurst y col., 2000). La concentración de proteína en la leche es mayor al principio y al final de la lactancia y menor en el pico máximo de producción (Palmquist y col., 1993). Muchos autores han señalado que las recomendaciones de los programas de alimentación más corrientes subvalúan las necesidades energéticas y especialmente las proteicas de vacas lecheras al final de la gestación (Grummer, 1995; Moorby y col., 1996; Van Saun y Sniffen, 1996). A partir de estudios efectuados con vacas multíparas alimentadas mayoritariamente con forrajes ensilados se determinó que para la fase de transición preparto la dieta debería proveer 140 g PC/Kg/MS con el propósito de suministrar la proteína necesaria para mantenimiento y nutrición de la unidad feto-placentaria, desarrollo de glándula mamaria y síntesis de calostro (Jaurena, 2003). La suplementación con proteína preparto en primíparas es de gran importancia (Hook y col., 1989; Robinson y col., 2001) debido a los altos requerimientos asociados al crecimiento (Verité y Chilliard, 1992). Adicionalmente, la concentración dietética de PC debe ser mayor dado que el consumo de MS en proporción de su peso vivo es menor que para vacas multíparas. La mejora del nivel nutricional preparto parecería influir positivamente sobre la proteína cruda lábil (Moorby y col., 1996; Jaurena y col., 2001) la cual permitiría una mayor movilización posparto de modo de sostener un mayor rendimiento de PC en la leche (Jaurena y col., 2001). Cuando hay una falta de energía fermentable o la PC de la dieta es excesiva, no todo el amoníaco producido en el rumen puede ser convertido a proteína microbiana. Un exceso de amoníaco pasa la pared del rumen y es transportado al hígado, donde éste lo convierte en urea que será liberada al torrente sanguíneo. La urea puede seguir uno de dos caminos: uno es volver al rumen por medio de la saliva o a través de la pared del rumen y otro camino es su excreción por orina.

4.3.3 *Metabolismo mineral*

4.3.3.1 Calcio

La calcemia normal en un animal es de 10 mg/dL (Capen y Rosol, 1989), en vacas con hipocalcemia clínica estos niveles pueden disminuir a valores cercanos a 4 mg/dL. Durante el preparto el requerimiento de calcio (Ca) para un animal de 600 kg de PV, tanto para mantenimiento y gestación es de 40 g por día aproximadamente (Althaus y col., 1991). La homeostasis del Ca esta regulada por la calcitonina, la paratohormona (PTH) y el 1.25 dihidroxicolecalciferol (1.25 (OH)₂). La calcitonina se libera de la tiroides en respuesta a la hipercalcemia, reduce la resorción ósea y aumenta la excreción urinaria de Ca iónico (Hollis y col., 1981; Shappell y col., 1987). La PTH, sintetizada en la paratiroides, se libera en respuesta a la hipocalcemia estimulando la 1.25 (OH)₂, la que a su vez se forma en el riñón

a partir de la vitamina D (Goff, 2000). La calcemia va aumentando a medida que transcurren los días posparto, al igual que los niveles plasmáticos de P. Larson y col. (1980) y Jones y col. (1982) afirman que la concentración plasmática de Ca esta correlacionada positivamente con la producción láctea; la calcemia aumenta a medida que avanza la lactancia (Claypool, 1976). En los primeros 90 días posparto de vacas Holando se describen incrementos de Ca, relación Ca/P y merma de la fosfatemia (Althaus y col., 1991). Tanto la carencia como exceso de Ca plasmático en las vacas da lugar a porcentajes de fecundación por debajo de lo normal (Hurley y Doane, 1989). La hipocalcemia se desencadena debida a que los mecanismos homeostáticos que regulan la concentración de Ca en la sangre son sobrepasados por los altos requerimientos que se producen al momento de iniciarse el proceso de parto. Entre los factores mas importantes se encuentran:

- Gran demanda de Ca requerida para las contracciones de la musculatura uterina y de la prensa abdominal.
- Alta y rápida excreción de Ca en el calostro y leche. Una vaca que produce 15 litros de calostro, elimina aproximadamente 35 g de Ca en el primer ordeño.
- Disminución de capacidad de absorción del Ca a nivel intestinal.
- Lenta movilización de Ca desde la matriz ósea, insuficiente para contrarrestar rápidamente la disminución brusca del Ca sanguíneo en el periparto.

4.3.3.2 Fósforo

EL fósforo (P) es el segundo mineral más abundante del cuerpo, que cumple con los roles vitales como el mantenimiento de la presión osmótica y el equilibrio ácido-base, la formación de fosfolípidos, en el transporte de ácidos grasos y en la formación de aminoácidos y proteínas. Los niveles de P en sangre en la vaca lechera van de 4 a 8 mg/dL, siendo su excreción en leche de 1 g/L, de la cual dos terceras partes están asociadas a la caseína (Goff, 2000). Según el NRC (1989), los requerimientos diarios de vacas lecheras de 600 kg de PV, para mantenimiento son de 17 g. El P no tiene regulación hormonal propia, es influenciado por la regulación del Ca en repuesta a la calcitonina y la PTH. Los animales poseen una serie de mecanismos a su disposición para optimizar la provisión temporaria de minerales esenciales en el caso de insuficiencia dietética. Estos incluyen la capacidad de incrementar la absorción del aparato digestivo, reduciendo las perdidas urinarias por la acción de una hormona liberada por la glándula paratiroides la cual aumenta la recirculación salival y retención de P en los riñones. La relación optima Ca y P en rumiantes no debe ser menor de 1/1 (Capen y Rosol, 1989) y no superar una relación de 2.9/1 (NRC, 1989). Las fuentes de P se pueden diferenciar en orgánicas e inorgánicas. Según CEFIC (1990) la alfalfa en forma de pastura posee 1.9 % de Ca, 0.27% de P, por lo tanto una relación Ca/P de 6-7, el ensilaje de maíz posee 0.20% de Ca, 0.19% de P con una relación de 1.0 y el afrechillo de trigo una relación de 0.13 (0.13% de Ca y 0.9% de P). La mayor parte del P de origen vegetal esta ligado a un complejo químico llamado "fitato". Dicha fuente de P es aprovechable por los rumiantes, ya que las bacterias ruminales producen una enzima llamada fitasa que degrada este complejo compuesto. Así cerca del 99% del fitato se degrada al ser incubado durante 24 horas en el rumen (Morse, 1989). La insuficiencia de P se manifiesta por la caída del apetito, causa síndrome de vaca caída, raquitismo en animales jóvenes y osteomalacia en adultos.

4.3.3.3 Magnesio

El magnesio (Mg) se obtiene de los alimentos, su utilización a partir de fuentes vegetativas es inferior a la que se logra con el mineral proveniente de heno, alimentos secos o inorgánicos. La concentración de magnesio en la sangre es 2.4 mg/dl (Capen y Rosol, 1989). Trabajos recientes en vacas lecheras cruce Holstein-Cebú estudiando absorciones parciales de minerales, sugieren que el retículo-rumen es el sitio más importante para la absorción de Ca y Mg, mientras que en los intestinos delgado y grueso ocurriría lo propio con P y potasio (Dearaujo y col., 1994; Remond y Meschy, 1996). Con la lipomovilización en los bovinos cae la tasa de Mg sanguíneo al ser captado este ión por los adipocitos (Cseh y col., 1984; Espinasse, 1980) o quelado por ácidos grasos no esterificados (Coles, 1986; Gunter, 1988). Las concentraciones del mineral en la secreción láctea son constantes en cada animal a valores de 9 a 16 mg/dL, registrándose pérdidas de hasta 3 g por día en vacas de alta producción (Payne, 1982). La depleción del Mg se agrava por menor aporte dietario, más pérdidas por leche y presencia de factores que interfieren en su utilización (Contreras y col., 1992).

4.4 Alimentación y manejo de la vaca lechera preparto

El período comprendido por las tres semanas preparto es clave para la futura lactancia, ya que involucra la producción de leche y la salud. En este período generalmente se traslada a los animales a potreros cercanos a las instalaciones del tambo para una mejor vigilancia y control, por lo general estos potreros son de pequeña superficie y de forraje de mala calidad y cantidad, ya que la prioridad en nuestras condiciones son las vacas en ordeño.

En un programa de alimentación preparto, Goff y Horst (1997) establecen 4 metas fisiológicas que afectan los rendimientos futuros de las vacas. Estos eventos son:

- Adaptación de las bacterias del rumen a una dieta que se utilizará al inicio de la lactación.
- Mantener niveles normales de Ca sanguíneo durante el periodo del parto.
- Mantener un sistema inmune fuerte durante el periodo del parto.
- Mantener un balance positivo de energía hasta el momento del parto y luego minimizar el balance negativo después del parto.

La adaptación de las papilas es más importante que la de las bacterias del rumen, porque entre mayor tamaño tengan existirá una mayor superficie de absorción de ácidos grasos volátiles (AGV) y una remoción más rápida de ellos, evitando una depresión en el pH que nos pueda llevar a una acidosis (Dirksen y col., 1985).

Generalmente el consumo de MS disminuye gradualmente en las 3 últimas semanas de gestación, siendo más manifiesto en los últimos 2 días (Grummer, 1995). Las causas de la disminución del consumo preparto incluyen restricciones por el volumen del rumen y aumento en las concentraciones sanguíneas de estrógenos previos al parto (Stockdale y Roche, 2002). En la primera etapa del período seco, el consumo de MS varía entre 1.8 y 2.2 % del peso vivo, pero 10 a 15 días antes del parto este consumo disminuye a 1.2 y 1.6 % (Weiss, 1997); llegando a una disminución del consumo de MS en un 15 % las últimas 2 semanas preparto.

Guardiola (1997) recomienda que las raciones preparto tengan por lo menos un 25% del forraje que van a recibir las vacas recién paridas y además deberán consumir alimento

balanceado entre un 0.5 a 0.75% de su peso vivo, equivalente a 3.5 a 5.5 Kg por día. La energía consumida cerca del parto parece ser crítica para eventos que van a ocurrir en el posparto, tal que un objetivo importante en la alimentación de la vaca seca es maximizar o mantener el consumo de alimento inmediatamente antes del parto, o por lo menos minimizar la declinación del consumo (Stockdale y Roche, 2002). Aunque la declinación en el consumo de MS parezca ser un evento normal adaptativo en el periparto, lo más importante es la magnitud y la duración de la disminución del consumo (Stockdale y Roche, 2002). Es importante considerar que el mayor consumo de energía en el período seco no debe producir un exceso de CC, pues predispone al animal a problemas de cetosis e hígado graso, por lo tanto la práctica que normalmente se recomienda es incrementar este consumo de energía al final del período seco (Oetzel, 1997).

El programa de alimentación de la vaca recién parida, empieza mucho antes del parto, con un manejo y una alimentación adecuada de la vaca preñada desde la lactancia previa que permita que al secado ésta tenga una CC óptima y la mantenga durante el periodo seco. Esto produce numerosos beneficios relacionados a la salud, a los rendimientos productivos y reproductivos, así como la rentabilidad de la empresa (Davidson y col., 1997). Algunos productores dejan a las vacas con las dietas preparto por algunos días después del parto, mientras que otros cambian inmediatamente a la dieta de principio de lactación. Ambos métodos son aceptables (Oetzel, 1997) siempre y cuando las vacas se adapten adecuadamente a la dieta de lactación y no se mantengan con la dieta preparto más que unos días después del mismo. El problema que existe en los sistemas que usan pastoreo y no confinamiento total, es que es difícil determinar si las vacas están consumiendo la cantidad y calidad del forraje que necesitan, por lo que es muy importante no introducir cantidades muy grandes y en forma rápida de alimento balanceado después del parto. Por lo tanto, este concentrado deberá ser incrementado paulatinamente y la forma ideal de hacerlo, es incrementarlo a medida que aumenta el consumo de MS, pero en caso de pastoreo es difícil de estimar.

Los objetivos nutricionales en el periodo seco son prevenir un exceso o deficiencia de nutrientes y de energía que puedan producir problemas de salud y preparar el ecosistema ruminal a las dietas altas en energía y nutrientes que se utilizan al inicio de la lactación (Allen y Beede, 1996; Dyk y Emery, 1996). El excesivo depósito de tejido adiposo preparto está altamente correlacionado con desordenes metabólicos parto como cetosis e hígado graso (Grummer, 1993).

4.5 Alimentación y manejo de la vaca lechera luego del parto

El principal objetivo del programa de alimentación de las vacas recién paridas, es evitar los problemas metabólicos y estimular el consumo de MS (Weiss, 1997). Este autor no recomienda, en las primeras 3 semanas posparto, suministrar más de 7.5 Kg de concentrado por día. También es importante suministrarlo en más de dos comidas por día donde cada una de ellas no supere los 3 Kg de concentrado. Oetzel (1997) recomienda mantener a las vacas con una ligera apetencia por alimento balanceado y suministrar los mejores forrajes del predio.

El reinicio de la ciclicidad ovárica luego del parto está íntimamente asociada con el balance energético durante este período; la duración del BEN se correlaciona de forma positiva con el tiempo de la primera ovulación (Butler y col., 1981). El balance energético no sólo es el factor

más crítico que afecta la eficiencia reproductiva sino que afecta además la salud animal y la producción de leche.

Los desordenes metabólicos y los problemas de salud son comunes durante este período y pueden atentar contra el potencial individual de la vaca en lactación, una adecuada nutrición y un manejo durante el período de transición pueden mejorar la performance de la lactación (Drackley, 1999).

4.6 Reinicio de la actividad ovárica

La vaca lechera de hoy es el producto de una fuerte selección genética a favor de la habilidad de producir grandes cantidades de leche. El sistema reproductivo compite con otros sistemas por los nutrientes ya que las hormonas metabólicas que controlan procesos como crecimiento y lactación también influyen la función del sistema reproductivo. El nivel nutricional después del parto es importante en el pronto reinicio de la actividad ovárica. Stevenson y Britt (1979), Butler y col., (1981), Ducker y col. (1985), Canfield y Butler (1990), han demostrado que el balance energético juega un rol importante en la reanudación de la ciclicidad ovárica posparto. Tanto el grado como la duración del BEN después del parto está correlacionado con el intervalo parto primera ovulación (Beam y Butler, 1999). El grado del BEN en el posparto temprano, ha sido correlacionado con los niveles de producción de leche y los días a la primera ovulación (Butler y col., 1981; Ducker y col., 1985). Existe también una correlación entre el balance energético y los niveles plasmáticos de NEFA, por lo que este metabolito es un potencial indicador del estado de balance energético e iniciación de primera ovulación (Canfield y Butler, 1991). Altos niveles de NEFA han sido reportados en vacas con retraso en la ciclicidad (Huszenicza y col., 1988). La CC es un indicador del balance energético (Edmonson y col., 1989), Krall y col. (1993) y Cavestany y col. (2005) han reportado una asociación entre el CC al parto y el reinicio de la actividad ovárica, lo cual es importante que la vaca al parto tenga una CC de 3.25 a 3.75 (Thatcher y col., 1995). Los efectos en los cambios de CC antes y después del parto con el reinicio de la actividad ovárica, son más evidentes en vacas que pierden ≥ 1 punto CC a las 7 semanas posparto y luego tendrán riesgo en el retraso de la primera ovulación (Shrestha y col., 2004). Butler y Smith (1989) informaron que la disminución de la CC en un punto en las primeras semanas luego del parto está relacionada con una pobre fertilidad al primer servicio. Por lo tanto, vacas perdiendo ≥ 1 punto CC a las 3-4 semanas posparto tardan más en comenzar la actividad luteal (ovulación), que otras vacas perdiendo menos CC en el mismo intervalo (Lucy y col., 1991; Beam y Butler, 1998). Recientes trabajos han mostrado alta correlación entre días del nadir del BEN y días primera ovulación (Canfield y Butler, 1990). El BEN afecta el número, tamaño y largo de los folículos ováricos (Lucy y col., 1991; Beam y Butler, 1997), que interfieren con la ovulación (Beam y Butler, 1997) y con bajos niveles de progesterona en plasma (Villa-Godoy y col., 1988). Si los folículos son expuestos a condiciones adversas como un severo BEN, stress por calor y alguna enfermedad puerperal durante las primeras etapas de crecimiento, puede afectar la expresión genética, resultando en un crecimiento alterado o despajeo (Britt, 1992).

En conclusión, una alta eficiencia reproductiva en bovinos requiere de un manejo nutricional apropiado de los animales tanto a corto como a largo plazo; también es importante que los parámetros reproductivos debieran ser ahora parte de los criterios de selección para la evitar la cría de animales infértiles en el futuro.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización y duración

El ensayo se realizó entre los meses de febrero y junio de 2004 en la Unidad de Lechería del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Estación Experimental "La Estanzuela", Ruta 50 Km 11, del Departamento de Colonia, Uruguay.

5.2 Animales y tratamientos

Se utilizaron 48 hembras de raza Holando con fecha probable de parto en otoño (período Marzo a Mayo 2004) siendo 24 multíparas y 24 primíparas.

A los 21 días previos al parto, los animales ingresaron al diseño experimental, donde se identificaron mediante collares con números relativos según fecha probable de parto y se asignaron aleatoriamente a cada grupo, los mismos se armaron de acuerdo a los siguientes criterios:

- Control, formado por 12 hembras primíparas y 12 hembras multíparas.
- Suplementado, formado por 12 hembras primíparas y 12 multíparas.

Ambos potreros tenían una superficie de 2 há cada uno, con un tapiz de campo natural mejorado (*Cynodon Dactylon*, *Paspalum Notatum* y *Dilatatum*). La asignación del forraje fue administrada diariamente mediante el uso de franjas. Cada potrero tenía un bebedero y 3 comederos colectivos de madera en donde eran suministrados los respectivos ensilaje correspondientes a control y tratamiento. Ambos grupos recibieron diariamente en horario matutino el suplemento asignado. En cada grupo se incluyó una vaca con una fístula ruminal para la determinación de digestibilidad.

5.3 Alimentación y manejo preparto

La alimentación del grupo suplementado consistió, además del pastoreo en el campo natural mejorado (14 Kg de MS/vaca/día), de 12 Kg de ensilaje de maíz de planta entera (base fresca) y 4 Kg de afrechillo de trigo al cual se le agregaron 12 g de urea por día por animal. El grupo control recibió solamente 12 Kg (base fresca) de ensilaje de trigo. Durante este período el grupo suplementado recibió afrechillo de trigo en comederos individuales en la sala de ordeño dos veces por día, a las 7:30 hs y 14:30 hs, hasta el acostumbramiento de los animales al nuevo manejo, luego se pasó a racionar a los mismos una vez por día a las 7:30. El consumo de concentrado se controló individualmente determinando la cantidad ofrecida y rechazada. A los grupos suplementados se les suministró 14 g de sesquióxido de cromo como marcador indigestible mezclado con el afrechillo de trigo y 12 g de urea. El grupo control fue dosificado con 14 g del mismo marcador dispuesto en capsulas de gelatina, que fueron administradas por vía oral con un sistema lanza bolo elaborado a tal fin, utilizando una manguera externa de 1.0 m por 3.5 cm de diámetro introducida hasta el esófago, dentro de la cual se introducía otra manguera de 1.4 m por 2 cm de diámetro, la cual expulsaba la cápsula de gelatina.

En los cuadros I y II se describen las dietas preparto y posparto.

Cuadro I. Composición de los alimentos ofrecidos en el parto al grupo control, expresados como % de Materia seca^a

TIPO	DMO ¹	PC ²	FDN ³	FDA ⁴	ENL/MS ⁵	% MS
Pastura	54.68	10.44	61.82	40.94	1.35	29.4
Ensilaje de trigo	57.75	9.01	59.41	42.36	1.29	43.0

^a: Análisis realizado en el Laboratorio de Nutrición de INIA La Estanzuela

1: Digestibilidad materia orgánica

2: Proteína cruda

3: Fibra detergente neutra

4: Fibra detergente ácida

5: Mcal/Kg

Cuadro II. Composición de los alimentos ofrecidos en el parto al grupo suplementado, expresados como % de Materia seca^a

TIPO	DMO ¹	PC ²	FDN ³	FDA ⁴	ENL/MS ⁵	% MS
Pastura	56.32	10.50	61.54	40.41	1.36	28.3
Ensilaje de maíz	67.00	6.03	52.31	30.98	1.46	39
Concentrado ⁶	70.64	16.40	44.22	14.47	1.69	87.3

^a: Análisis realizado en el Laboratorio de Nutrición de INIA La Estanzuela

1: Digestibilidad materia orgánica

2: Proteína cruda

3: Fibra detergente neutra

4: Fibra detergente ácida

5: Mcal/Kg

6: Afrechillo de trigo más 12 gramos de urea

Cuadro III. Características de las dietas ofrecidas parto para los grupos control y suplementado

Valor (%)	Control	Suplementado
Materia seca	32.1	34.0
Proteína cruda	10.1	10.6
Fibra detergente neutra	61.2	56.8
Fibra detergente ácida	41.3	34.3
Digestibilidad de la materia orgánica	55.5	60.8
Energía neta de lactación (Mcal)	1.34	1.43

5.4 Alimentación y manejo posparto

Luego del parto los animales se integraron en un lote único manejado en forma independiente del rodeo general del tambo y la alimentación fue la misma para todos, independientemente del tratamiento parto al que habían sido sometidos. Dicha alimentación consistió en pastoreo restringido de praderas mezcla de gramíneas (*Festuca Arrundinacea* y *Dactyles Glomerata*) y leguminosas (*Medicago Sativa*, *Lotus Corniculatus* y *Trifolium Repens*) se les ofreció en promedio 10 Kg de MS por vaca/día mediante asignación de franjas diarias, luego de los ordeñes de la mañana y la tarde, se les administraba silo de maíz planta entera base fresca (12 Kg/vaca/día) en comederos en una sola comida posterior al ordeño de la mañana. También se les suministro 8 Kg de un concentrado comercial (18%

PC y 1.7 ENL) por día por animal, el cual se dividió en los dos ordeñes aumentando progresivamente durante la primer semana posparto de cada animal. Los animales luego del ordeño eran conducidos a las instalaciones de manejo donde se les administro 14 g de sesquióxido de cromo en forma de bolo.

Cuadro IV. Composición de los alimentos ofrecidos en el posparto a ambos grupos, expresados como % de Materia seca^a

TIPO	DMO ¹	PC ²	FDN ³	FDA ⁴	ENL/MS ⁵
Pastura	67.62	21.05	47.75	34.01	1.45
Silo de maíz	67.00	6.03	52.31	30.98	1.46
Concentrado ⁶	71.75	20.61	34.52	13.82	1.70

^a: Analisis realizado en el Laboratorio de Nutrición de INIA La Estanzuela

¹: Digestibilidad materia orgánica

²: Proteína cruda

³: Fibra detergente neutra

⁴: Fibra detergente ácida

⁵: Mcal/Kg.

⁶: Concentrado comercial

Cuadro V. Características de las dietas ofrecidas posparto para ambos grupos

Parámetro	Valor (%)
Materia seca	34.9
Proteína cruda	17.6
Fibra detergente neutra	44.4
Fibra detergente ácida	26.8
Digestibilidad de la materia orgánica	68.8
Energía neta de lactación (Mcal)	1.53

5.5 Determinaciones

5.5.1 *Consumo*

El consumo individual de forraje se determinó mediante el uso de cromo como marcador indigestible (Galyean y Estell, 1996). El porcentaje de cromo en heces fue determinado por espectrofotómetro de absorción atómica PerkinElmer 3300 (PerkinElmer, Wellesley, MA, 02481, USA) en el Laboratorio de Suelos de INIA La Estanzuela. Se dosificaron diariamente los animales con 14 g de sesquióxido de cromo utilizando cápsulas de gelatina impulsado mediante un sistema de mangueras de fabricación propia desde el día -21 hasta el +24.

Se recogieron heces durante 4 días consecutivos a partir de los días -14, -7, 0, +7, +14, +21. Esto se realizó previo al ordeño tomando muestras directamente del recto de los animales. Las muestras se secaron en estufa a 100 °C, se molieron y se realizó un pool con 150 g con las muestras de los cuatro días consecutivos que fueron enviadas al laboratorio. Se guardaron muestras individuales en caso de que al ser procesadas hubiera que repetir el análisis.

5.5.1.1 Técnica de determinación de consumo por cromo:

Como el marcador no es absorbido, es posible calcular el consumo a través de la dosificación del marcador en las heces, según los siguientes cálculos:

Heces totales (kg MS/día) = consumo de cromo (g/día) / concentración de cromo en heces (g/kg MS)

A partir de la fórmula: producción de heces = consumo x (1-digestibilidad), y usando el consumo determinado de concentrado y estimado de ensilaje, y conociendo el contenido de materia orgánica y la digestibilidad de la materia orgánica (MO) *in vitro* de estos alimentos (Tilley y Terry, 1963), se determina la producción de MO de heces "atribuible" a cada uno de ellos. Por diferencia con el total, se determina la producción de MO de heces "atribuible" a la pastura, y se obtiene el valor de consumo de pastura con la siguiente fórmula:

Consumo de pastura (kg MS/día) = [kg MO heces "atribuibles" a la pastura / (1-% digestibilidad de la MO)] / (% MO de pastura/100)

El contenido de MO de los alimentos y heces se determinaron como: 100 - % cenizas, que se determinaron en mufla a 600 °C durante 6 horas. El contenido promedio de cenizas para la pastura, ensilaje de trigo y afrechillo usados en el preparto fue de 12,2%, 10,7% y 6,2%, respectivamente, y para la pastura, ensilaje de maíz y concentrado usados en el posparto, 11,8%, 7,0% y 8,0%, respectivamente, mientras que el contenido de cenizas promedio de las heces fue de 10,0 %. Para el cálculo de digestibilidad de la pastura se usaron los animales con cánula ruminal (que no se incluyeron en el número total de animales, pero integraron el grupo del ensayo). Cada vez que los animales cambiaban de potrero, a los animales canulados se les vaciaba el rumen, y se los hacía pastorear por 2 horas con el grupo. Luego se les tomaba una muestra representativa de los distintos volví a vaciar el rumen y se tomaba una muestra representativa del contenido, que era inmediatamente congelada a 20° hasta realizar análisis de digestibilidad *in vitro*, utilizando el procedimiento estándar propuesto por Tilley y Terry (1963).

5.5.2 Condición corporal

Se evaluó semanalmente, utilizando la escala de 1 a 5 de Edmonson y col., (1989), desde los 21 días previos al parto hasta los 50 días posteriores, por el mismo observador.

5.5.3 Determinación del peso corporal

Para determinar el peso corporal se utilizó una cinta que se coloca por detrás de la paleta del animal alrededor del perímetro torácico, a la que se le aplicó una presión constante de 5 Kg.

5.5.4 Producción de leche

Se midió producción de leche de cada ordeño diariamente durante los primeros 35 días posparto y para el análisis de los resultados se realizó un promedio de las siete medidas obtenidas en la semana. A partir del día 36 se realizó un control semanal.

5.5.5 Composición de la leche (grasa y proteína)

Los porcentajes de grasa y proteína de la leche se determinaron a partir de una muestra individual compuesta de 4 ordeños consecutivos en cada semana durante los primeros 21 días y luego se colectaron semanalmente muestras de 2 ordeños consecutivos hasta el día 35 posparto; a partir del cual se tomaron muestras mensuales de dos ordeños consecutivos. Las mismas fueron colectadas en recipientes plásticos individuales a los que se les agregó azida de sodio como conservante y fueron mantenidas a 4 °C en la heladera hasta su envío al Laboratorio de Leche de INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay. Allí se les realizó el análisis de composición, mediante el método Mojonnier para grasa y método Kjeldahl para proteína. Se utilizó un equipo Bentley 2000 (Bentley Instruments Inc.Chaska, MN 55318, USA).

5.5.6 *Metabolitos y enzimas*

Se extrajeron muestras de sangre por punción de la vena yugular para la determinación de los perfiles metabólicos y glucosa. Los tubos contenían heparina como anticoagulante para el análisis de los metabolitos y tubos con fluoruro de oxalato para medir glucosa. Luego de colectadas las mismas se centrifugaron a 3000 rpm por 10 min y el plasma se colocó en crioviales identificados (por número de vaca y fecha de colección) que se almacenaron a -20 °C. Las muestras se obtuvieron semanalmente a partir del día 21 preparto hasta el día 35 posparto, antes de la administración del suplemento durante el preparto y antes del ordeño de la tarde en el posparto.

Los metabolitos y la glucosa se determinaron en el DILAVE, Miguel C. Rubino, Montevideo, Uruguay. La bioquímica sanguínea fue analizada por las siguientes metodologías colorimétricas (Cuadro VI).

Cuadro VI. Detalle de los análisis para metabolitos y enzimas

Metabolito	Método	Kit
Proteína total	reacción de Biuret	Wiener Lab Lote: 504248
Albúmina	verde de Bromocresol	Wiener Lab Lote: 504249
Urea	urease UV	Human Lab Lote: 10521
AspartatoAminoTransferasa (AST)	IFCC optimizado (37°C)	Wiener Lab Lote: 503595
Colesterol	CHOD-PAP	Lote: 169
Ácidos Grasos No Esterificados (AGNE o NEFA)	ACS-ACOD (acil-CoA sintetasa y acil-CoA oxidasa)	Wako Lote: 994-75409
Betahidroxibutirato (BHB)	3-HBDH-NAD+3-hidroxibutirato deshidrogenasa-NAD+	Randox Lote: 053561
Glucosa	GOD-PAP	Wiener Lab Lote: 503589
GGT	IFCC (37° C)	Wiener Lab Lote: 504573

5.5.7 *Minerales*

El Ca y el Mg se estudiaron a través de espectrofotometría de absorción atómica. El P se determino por fosfomolibdato directo UV.

5.5.8 *Pastura*

Se midió disponibilidad y rechazo de la pastura a la entrada y a la salida de los animales de la franja por corte de tijera al ras, utilizando cuadros de metal de 20 por 50 cm. Se determinó el peso fresco de las muestras de forraje previo a su secado en estufa a 60 °C durante 72 hs. Una vez secas se registró el peso de las muestras que fueron molidas previo a su envío al Laboratorio de Nutrición del INIA de La Estanzuela, donde se realizó el análisis químico de la pastura obteniendo datos de Materia Seca (MS), Fibra Detergente Ácida (FDA), Fibra Detergente Neutra (FDN), Proteína cruda (PC) y Digestibilidad de Materia orgánica (DMO) (Cuadros II y III).

5.5.9 *Concentrado y ensilaje*

Se tomaron muestras del concentrado posparto y del ensilaje de maíz cada 15 días durante el experimento y se procesaron siguiendo la misma metodología de las descriptas para las muestras de forraje.

5.5.10 *Análisis estadístico*

Se realizó un arreglo factorial en el que se combinó tratamiento (suplementación preparto) y paridad (múltiparas y primíparas). La respuesta a los tratamientos (producción y composición de leche, condición corporal, metabolitos y minerales) se analizó por el modelo Proc Mixed (SAS, Statistical Analysis System, V 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2005) y el modelo incluyó los efectos de tratamiento, tiempo (semanas) y las interacciones (tratamiento*paridad, tratamiento*t tiempo, paridad*t tiempo y tratamiento*paridad*t tiempo). La estructura de covarianza fue auto regresiva de orden 1 y vaca se definió como efecto al azar. Se calcularon las funciones para cada variable. Los datos se presentan como medias de mínimos cuadrados \pm error estándar. Las diferencias entre medias fueron analizadas por el método LSD, con un nivel de probabilidad del 5%. Las correlaciones se analizaron por el Proc Corr de SAS (correlaciones de Pearson). El intervalo parto a primera ovulación se estudió por el modelo general linear (Proc GLM) de SAS y las frecuencias (rangos de ovulación posparto) mediante el Proc Freq (SAS) y las diferencias por la prueba de Chi cuadrado.

5.6 Determinaciones metodológicas

5.6.1 *Consumo*

El consumo se determina por medio de marcadores indigestibles que se administran al animal. En general, éstos se usan más comúnmente en la determinación de cantidad de heces excretadas y a través de estas se estima el consumo (Mieres, comunicación personal 2003); Un marcador es el cromo (Pond y col., 1987) que sirve para calcular tasa de dilución/flujo, volumen, digestibilidad, total de heces y consumo. Pero presenta un problema que es la variación que posee en su excreción en heces, lo que se puede subsanar en parte con muestreos estratégicos y seguidos en el tiempo. Es necesario un periodo de 5 a 7 días de dosificación con el marcador previo al muestreo de heces para lograr un equilibrio en la extracción (La Manna, comunicación personal 2004).

El muestreo de heces debe hacerse por un período de tiempo no menor a 3 días de manera de poder obtener un promedio de concentración del marcador en heces de aceptable precisión (Mieres, comunicación personal 2003).

5.6.2 *Perfiles metabólicos*

Rowland (1980) define a los perfiles metabólicos como un grupo o combinación de elementos sanguíneos analizados todos juntos en un test. La elección de los constituyentes a estudiar depende de factores relevantes al problema a investigar, el costo, el tipo de análisis, estabilidad de la muestra en relación con el tiempo de transporte entre el predio y el laboratorio. Estos han contribuido a entender las relaciones entre los constituyentes sanguíneos y varios fenómenos fisiológicos (Ingraham y Kappel, 1988). El valor del uso de los perfiles metabólicos depende del cuidado con el que se colecten las muestras de sangre, de la selección de las vacas y esto incluye la colección y el uso de información pasada y

presente del establecimiento, de los sistemas de alimentación, de los alimentos y además y, no menos importante, del estado físico de los animales (Whitaker, 1983).

Los perfiles metabólicos son usados generalmente para:

- Predecir la ocurrencia de enfermedades metabólicas
- El diagnóstico o confirmación de enfermedades metabólicas
- Determinar el estado de fertilidad
- Monitoreo del estado nutricional.

Los metabolitos usados para medir el grado de balance energético son BHB NEFA (Whitaker, 1983).

5.6.2.1 NEFA

Los niveles óptimos de vacas en lactación es por debajo de 0.7 mmol/L y para vacas secas dentro de las últimas 4 semanas de preñez su valor es por debajo de 0.4 mmol/L, los NEFA son una medida más directa de la movilización grasa que el BHB (Whitaker, 1983).

5.6.2.2 BHB

En vacas en lactación el nivel óptimo de BHB en sangre es por debajo de 1.0 mmol/L. El BHB refleja la movilización grasa y los altos valores están asociados con un grado severo de BEN. Valores por debajo de 0.6 mmol/L representan una situación donde las vacas tiene una desigual pérdida de CC, entre 0.6 y 1.0 es una aceptable tasa de movilización, dependiendo de la etapa de la lactación. Cerca de 1.0 mmol/L la salud y la productividad se ve afectada y en vacas con cetosis los valores probables son cercanos a 2.0 mmol/L (Whitaker, 1983).

5.6.2.3 Colesterol

Es un alcohol esteroideo insaturado. Constituye un componente estructural importante de las membranas de las células y un precursor en la biosíntesis de los ácidos biliares y las hormonas esteroideas. Dos tercios del colesterol plasmático está esterificado, el tercio restante esta libre. Del 60% al 70% va vehiculizado por lipoproteínas de baja densidad (LDL), del 20% al 35% por proteínas de alta densidad (HDL) y del 5% al 12% por lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

La colesterolemia es de 62.1-192.5 mg/dL (Kaneko, 1980).

5.6.2.4 Glucosa

El nivel óptimo de glucosa en sangre es cercano a los 3.0 mmol/L (Whitaker, 1983).

5.6.2.5 Proteínas totales

Se determinan con la finalidad de posibilitar el cálculo de las globulinas y la relación albúmina/globulina.

Nivel normal en sangre es de 62-82 g/L (El Manual Merck, 2000)

5.6.2.6 Albúmina

Es una proteína sintetizada en el hígado, el nivel óptimo en sangre es cercano a los 30 g/L. Bajos niveles reflejan alterada la salud del hígado y una pobre suplementación con aminoácidos, a su vez puede estar asociado con una prolongada hiponutrición (Whitaker, 1983). La relación albúminas/globulinas es de importancia para interpretar las variaciones de la albúmina y las proteínas totales, se puede diferenciar la hipoalbuminemia por causas alimenticias de la que puede causar algún tipo de insuficiencia a nivel hepático, el valor de referencia es de 0.8-0.9 (Crespi y col., 2005).

5.6.2.7 Globulinas

Su valor es la diferencia entre proteínas totales y albúmina. Los niveles óptimos están por debajo de los 50 g/L, estos valores no indican con total precisión la severidad del problema (Whitaker, 1983). Su importancia radica en la conservación de la presión osmótica del plasma, la inmunidad humoral y pasiva (calostro), acción tampón, regulación enzimática, contribuye a la interpretación de las causas de las variaciones de la albúmina (El Manual Merck, 2000).

5.6.2.8 Urea

Para una función satisfactoria ruminal los niveles de urea en sangre deben estar cercanos a 1.7 mmol/L (Whitaker, 1983). Los niveles sanguíneos de urea reflejan una tasa de arribo en el rumen de proteína degradable efectiva y el balance con la energía fermentable metabolizable (Whitaker, 1983). Bajos valores son muy importantes para la práctica desde el punto de vista nutricional y es importante para distinguir entre bajos valores por poca cantidad de alimento ofrecido y que la dieta no cubre los requerimientos básicos (Whitaker, 1983).

5.6.3 *Minerales*

5.6.3.1 Calcio

Es junto al P el elemento mineral más abundante, 99% del total de Ca se encuentra en el esqueleto y mínimas porciones en los distintos fluidos del cuerpo (Kaneko, 1980). Sus funciones son extremadamente importantes y comprenden excitabilidad neuromuscular, capilaridad de las células de membrana, permeabilidad de membrana, normal contracción del músculo y transmisión de impulsos nerviosos además de la normal coagulación (Kaneko, 1980; Henry, 1992). La concentración sérica de calcio normal en animales adultos oscila entre los 9-12 mg/dL (Kaneko, 1980).

5.6.3.2 Fósforo

Los valores en plasma reflejan el consumo dietético primariamente, niveles aceptables están entre 1.4 y 2.4 mmol/L. La medición de este mineral es frecuente debido a la deficiencia dietética y es común que cause pobre fertilidad (Whitaker, 1983).

5.6.3.3 Magnesio

Los niveles de Mg en sangre están entre los 0.8 y 1.3 mmol/L, bajos niveles requieren la intervención inmediata para la prevención y el tratamiento de la hipomagnesemia, esta es rara en la clínica bovina pero cuando ocurre suele ser fatal.

5.6.4 Enzimas

5.6.4.1 Aspartato amino transferasa (AST)

La aspartato amino transferasa (AST) cataliza la transaminación de aspartato al alfa cetoglutarato. Está presente en la mitocondria y el citosol de la mayoría de las células y en el plasma, refleja daño celular hepático o muscular ya que no es específica de un determinado órgano (Kaneko, 1980). La patología involucra al músculo esquelético y cardíaco además del parénquima hepático. La mayoría de los tejidos contiene elevadas concentraciones de esta enzima, la búsqueda de valores elevados no significa necesariamente daño hepático por necrosis, sin embargo es utilizada en rumiantes frecuentemente para pronosticar o evaluar el grado de necrosis en el hígado (Kaneko, 1980). Su nivel en el suero normalmente es de hasta 90 UI (Majó, 2004).

5.6.4.2 Gama glutamil transferasa (GGT)

El rango normal de GGT es de 5 y 20 u/L. El riñón y en menor grado el hígado y páncreas son ricos en GGT. Estudios preliminares sugieren que la actividad de esta enzima no necesariamente indica daño celular hepático temprano sino más bien puede ser utilizada como elección en la medición del daño intra y extra hepático de colestasis (Kaneko, 1980). Esta enzima está ausente del tejido esquelético, animales con desordenes a nivel óseo nunca exhiben niveles normales, la GGT es originaria del tejido hepático biliar y no es producida en enfermedades hepáticas.

5.6.5 Reproducción

5.6.5.1 Determinación de la ovulación

Se realizaron 3 ecografías semanales por vaca para determinar el inicio de la actividad ovárica y la primera ovulación, mediante la observación y seguimiento del folículo dominante y la desaparición del mismo, con la posterior aparición de un cuerpo lúteo.

6. RESULTADOS

6.1 Consumo

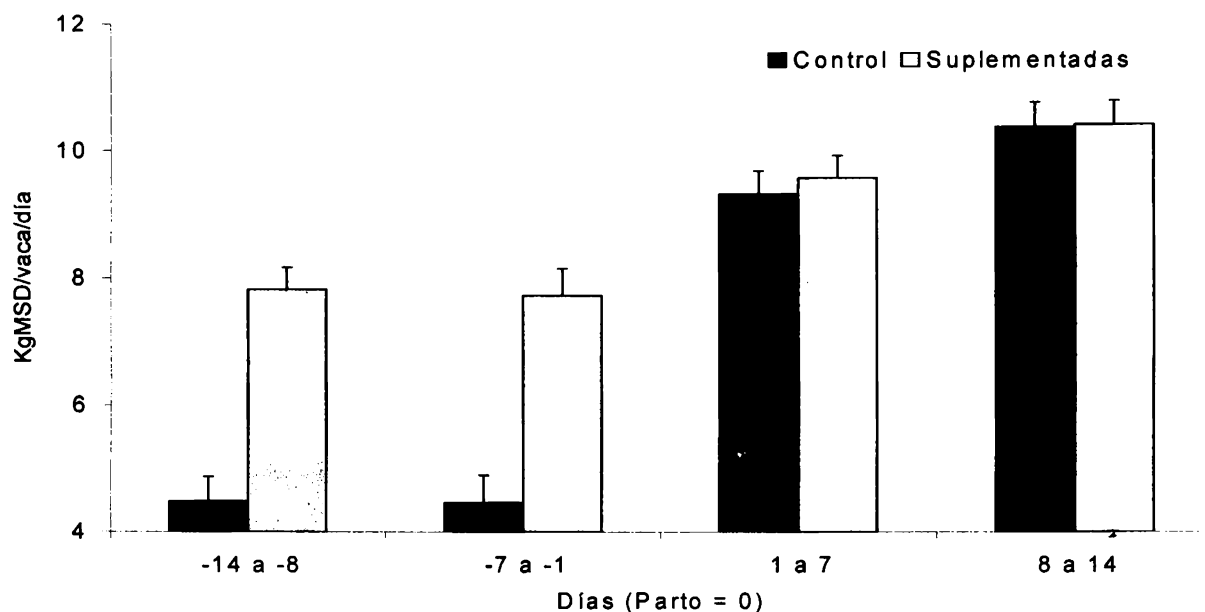


Figura 1: Consumo de materia seca digestible (Kg por vaca y por día) en primíparas y multiparas de los grupos control y suplementado en las dos semanas previas y las dos posteriores al parto

En la Figura 1 se muestra el consumo de materia seca digestible (MSD) por animal y por semana. En el periodo preparto (-14 a -8 y -7 a 0) se observó un consumo menor (de 4.5 Kg) del grupo control con respecto al grupo suplementado ($P < 0.05$). En el posparto los consumos se igualaron, ya que el grupo control aumentó significativamente el consumo con respecto al periodo preparto. El consumo promedio en la segunda semana posparto para todos los animales fue 10.4 Kg/MSD/vaca/día.

6.2 Evolución de la condición corporal (CC)

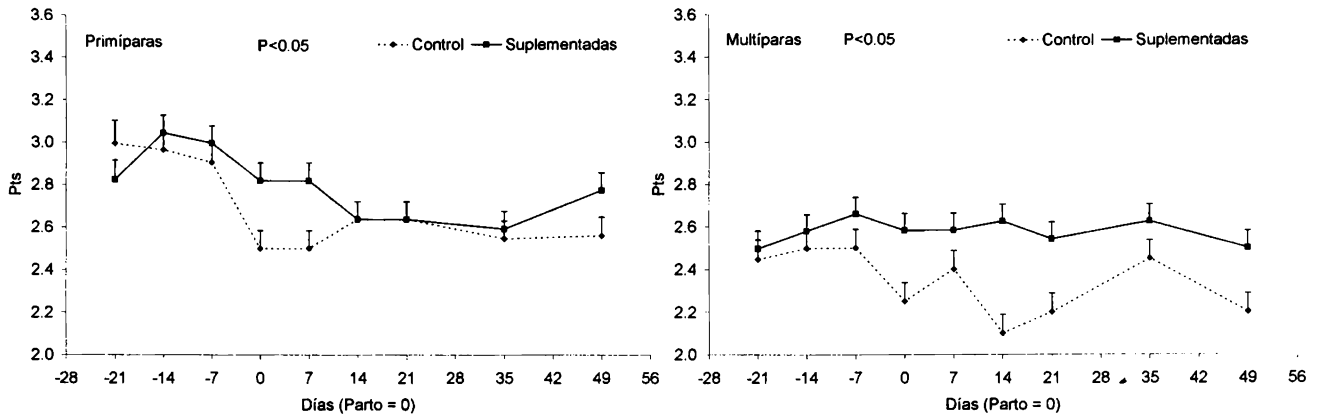


Figura 2: Evolución semanal de la condición corporal, desde el día -21 preparto al día 49 posparto en vacas primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementados

La CC al comienzo del ensayo fue usada como covariable en el análisis estadístico de la evolución de la CC y tuvo un efecto significativo en el modelo ($P < 0.01$). La evolución de la condición corporal (CC) del día -21 al día 49 (día 0 = parto) estuvo afectada por la suplementación preparto y por los días en relación al parto, pero no existió efecto de paridad en la CC. Hubo una interacción paridad*día y paridad*tratamiento*día significativa ($P < 0.05$). Primíparas del grupo control tuvieron una disminución marcada de la CC del día -7 al parto ($P < 0.001$), la cual no alcanzó los niveles preparto hacia el final del trabajo. En primíparas del grupo suplementado la caída en la CC no fue significativa hasta el día 14 posparto ($P < 0.001$) y la recuperación comenzó hacia el día 49 (Figura 2, izquierda). Múltiparas en el grupo control tuvieron una evolución similar a las primíparas ($P < 0.05$), con una disminución de la CC luego del parto, sin mostrar recuperación hacia el final del ensayo. Múltiparas del grupo suplementado mantuvieron la CC a lo largo del trabajo (Figura 2, derecha). La evolución de la CC determinó que las múltiparas del grupo suplementado tuvieran una mejor CC a los días 0, 14, 21 y 49 ($P < 0.05$). La CC tuvo una correlación positiva con el porcentaje de grasa de leche ($r = 0.29$; $P < 0.001$; $n = 180$) y negativa con los niveles de NEFA ($r = -0.12$; $P < 0.05$; $n = 385$) y urea ($r = -0.19$; $P < 0.001$; $n = 387$).

6.3 Evolución del peso corporal

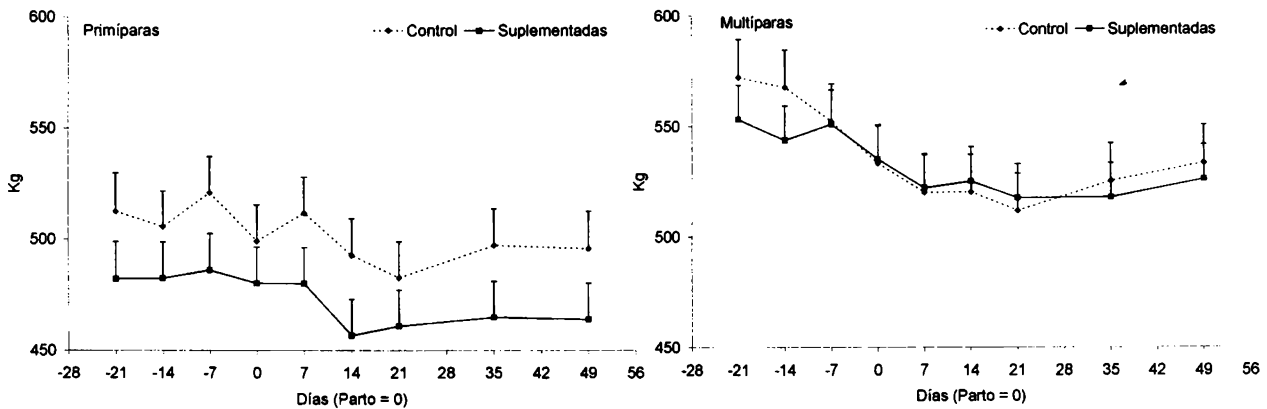


Figura 3: Evaluación semanal del peso corporal (Kg) desde la tercera semana preparto hasta la séptima semana posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

La Figura 3 muestra la evolución del peso corporal a lo largo del ensayo. El mismo se mantuvo constante durante todo el período experimental. No se registraron diferencias significativas entre los grupos ($P > 0.1$).

6.4 Producción de leche

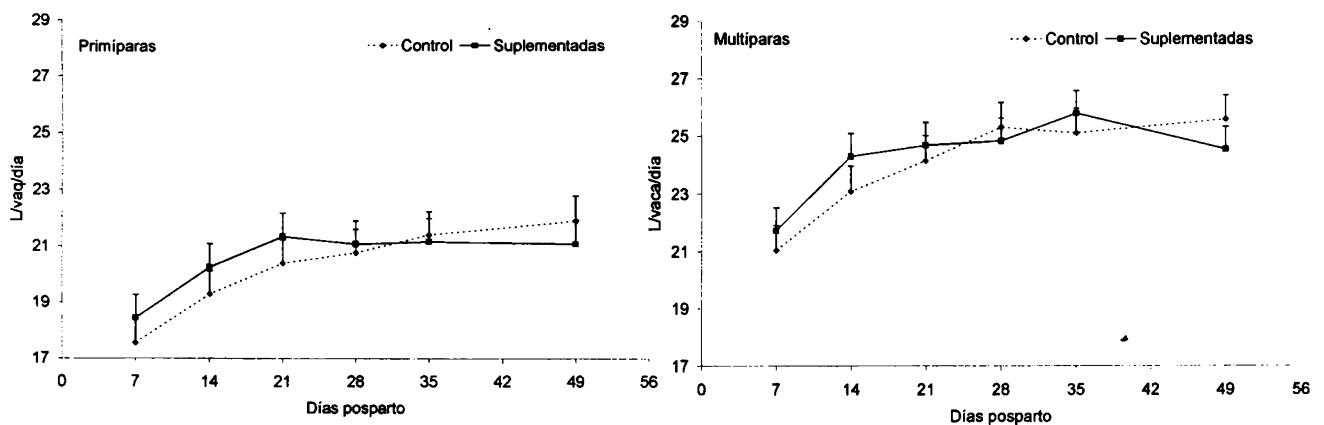


Figura 4: Producción de leche en litros/vaca/día desde la primer semana posparto hasta la séptima semana en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y tratamiento

En la Figura 4 se muestra la producción de leche (promedios semanales) de los animales del ensayo. La misma fue aumentando hasta la tercera semana en primíparas y múltiparas, manteniéndose constante posteriormente. La producción promedio de los grupos control fue de 22.1 ± 0.9 litros y en los grupos suplementados fue de 22.4 ± 0.8 litros, lo que no representa una diferencia significativa, pero si se observa una diferencia entre múltiparas y primíparas

($P < 0.05$). Los promedios de la producción total de leche en los diferentes grupos fueron, primíparas control 20.2 ± 0.84 litros, primíparas suplementadas 20.6 ± 0.83 litros, múltiparas control 24.0 ± 0.86 litros y múltiparas suplementadas 24.3 ± 0.79 litros. La producción de leche estuvo relacionada positivamente con los niveles de colesterol ($r = 0.33$; $P < 0.001$; $n = 188$).

6.5 Porcentaje de grasa en leche

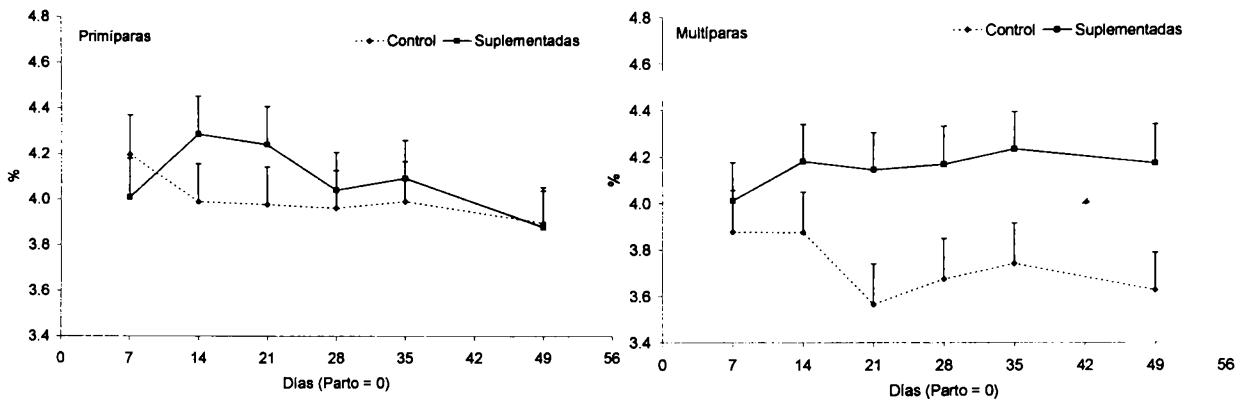


Figura 5: Porcentaje de grasa en leche durante las primeras 7 semanas de lactancia en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementadas

La Figura 5 muestra el porcentaje de grasa de leche de los animales del ensayo. No existieron diferencias significativas ($P > 0.1$) en tratamiento o paridad o su interacción. Las vacas primíparas del grupo control (izquierda) registraron un máximo valor a la semana posparto (4.2%) para luego disminuir, llegando con un 3.9% de grasa al término del ensayo; mientras tanto el grupo suplementado comenzó con un 4.0% de grasa aumentando a su máximo valor al día 14 posparto (4.3%), para luego disminuir progresivamente hasta el final. Las vacas múltiparas del grupo control (derecha) registraron niveles constantes en el porcentaje de grasa hasta el día 21 posparto ($P > 0.1$) para luego mantenerse sin grandes variaciones. Las múltiparas del grupo suplementado tuvieron un porcentaje de grasa más uniforme a lo largo del período experimental. A lo largo del ensayo las vacas múltiparas del grupo control produjeron menos grasa que las suplementadas, hubieron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los días 21, 28, 35 y 49 posparto.

6.6 Porcentaje de proteína en leche

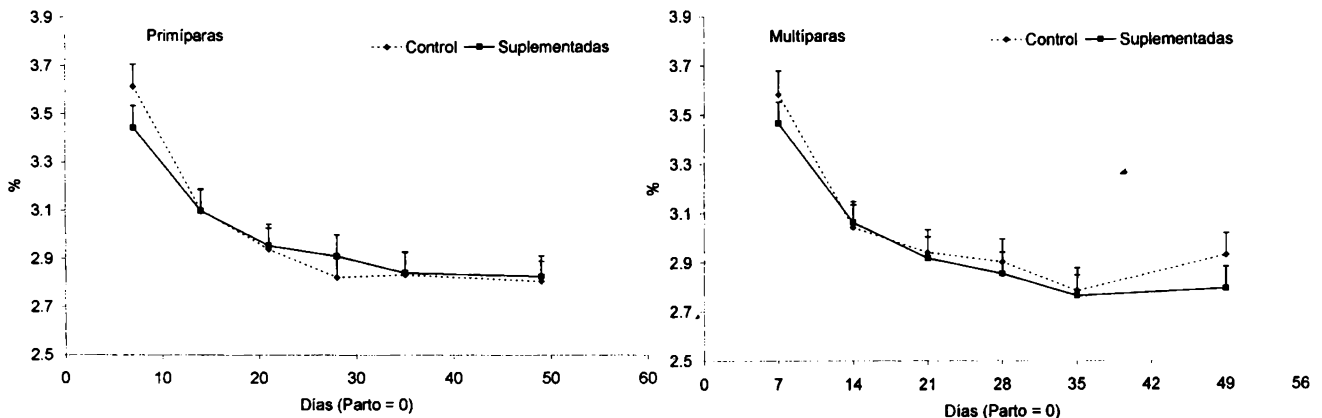


Figura 6: Porcentaje de proteína en leche durante las primeras 7 semanas de lactancia en primíparas (izquierda) y multíparas (derecha) de los grupos control y suplementado

La Figura 6 muestra el porcentaje de proteína en leche, el cual fue mayor al inicio del ensayo para luego ir disminuyendo, se comporto similar entre grupos y categorías. El porcentaje de proteína de la leche comenzó en 3.52 ± 0.04 en la primer semana posparto, para caer a 2.81 ± 0.04 en la quinta semana posparto ($P < 0.001$), que fue el valor más bajo registrado. No se registraron diferencias entre tratamientos ni categoría de animales ($P > 0.1$).

6.7 NEFA

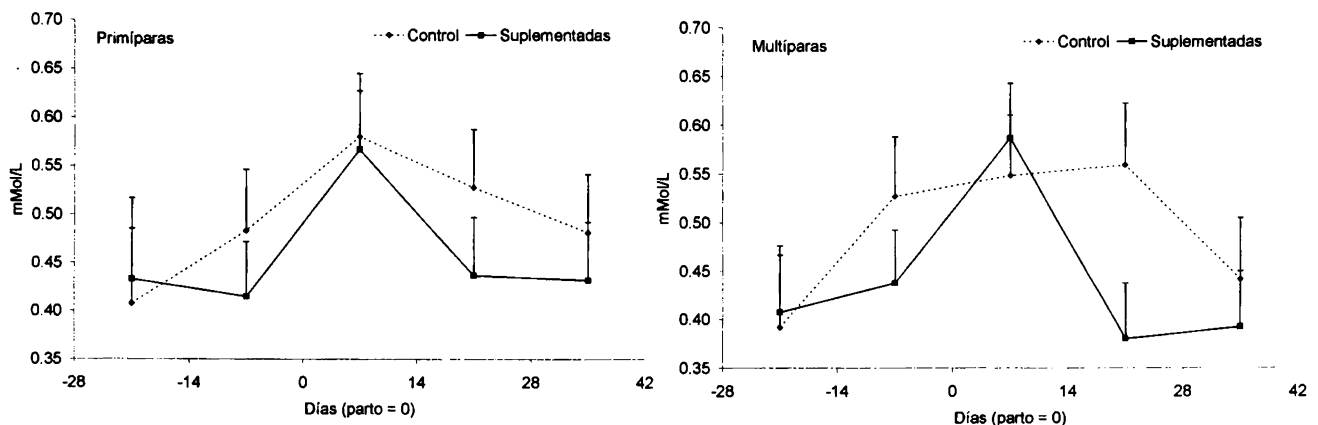


Figura 7: Niveles de NEFA plasmáticos medidos en mmol/L desde la tercera semana preparto hasta la quinta semana posparto en primíparas (izquierda) y multíparas (derecha) de los grupos control y suplementado

Los niveles de NEFA aumentaron en la semana siguiente al parto en todos los grupos a excepción de las vacas multíparas del grupo Control (Figura 7). En el panel izquierdo (primíparas) se observa que luego del mencionado aumento, los niveles comenzaron a disminuir en forma gradual hasta el final del ensayo. No se observaron diferencias significativas entre los grupos ($P > 0.1$). En el panel derecho (multíparas) el grupo suplementado tuvo un aumento de los niveles de NEFA en la primera semana posparto,

llegando a un valor máximo de 0.59 mmol/L, para luego comenzar a disminuir hasta la tercera semana posparto y así mantenerse hasta el fin de período experimental. En el grupo control los valores de NEFA se mantuvieron elevados por una semana más, hasta la tercera semana posparto, donde se registró un pico de 0.56 mmol/L, siendo por lo tanto la diferencia entre tratamientos en el día 21 posparto significativa ($P < 0.05$). A los 35 días posparto los niveles descendieron en los dos grupos a valores similares a los preparto. Los niveles de NEFA presentaron una correlación positiva con los niveles plasmáticos de la enzima GOT ($r = 0.13$; $P < 0.05$; $n = 233$)

6.8 Betahidroxibutirato (BHB)

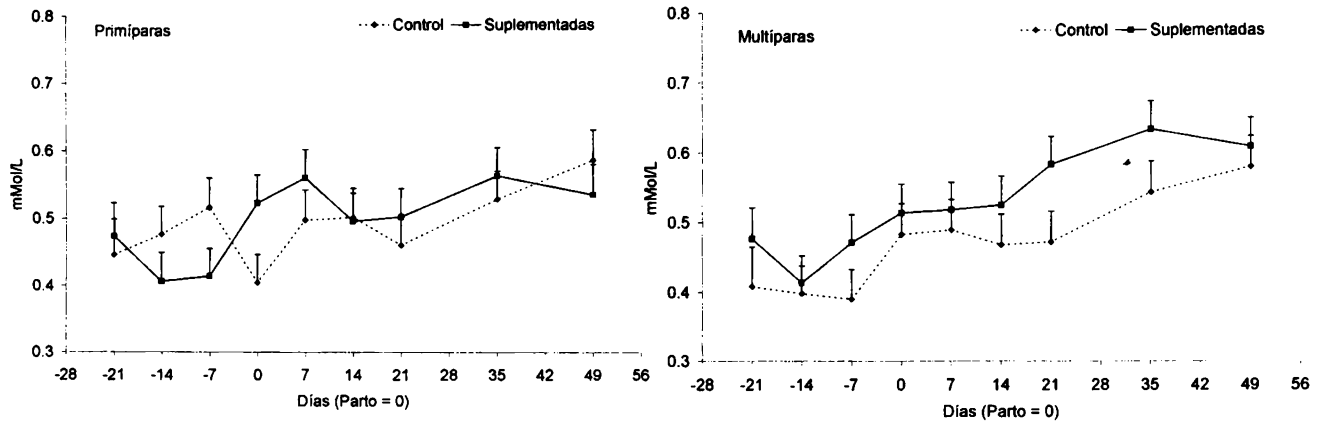


Figura 8: Niveles plasmáticos de BHB medidos en mmol/L desde la tercera semana preparto hasta la séptima semana posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y tratamiento

Las concentraciones séricas de BHB se mantuvieron estables durante el ensayo. (Figura 8). Las primíparas (panel izquierdo) del grupo suplementado registraron un aumento al parto, inversamente a las del grupo Control. Existieron por lo tanto, diferencias desde el día -7 al 0 ($P < 0.05$) y también del día 0 al +7 ($P < 0.05$); en suplementadas hubo diferencias en los días -7 al +7 ($P < 0.05$). Las múltiparas (panel derecho) mostraron una tendencia ascendente durante el ensayo, registrándose diferencias entre grupos en los días 21 y 35 ($P < 0.05$). El BHB tuvo una correlación positiva con el colesterol ($r = 0.18$; $P < 0.001$; $n = 392$) y con la urea ($r = 0.23$; $P < 0.001$; $n = 392$).

6.9 Proteínas totales

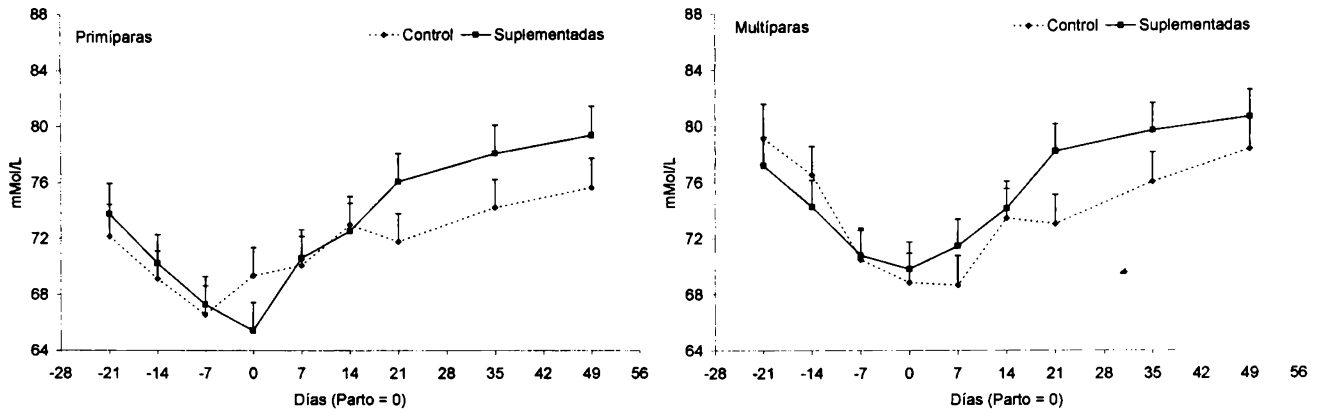


Figura 9: Niveles plasmáticos de proteínas totales medidos en mmol/L desde la tercera semana preparto hasta la séptima semana posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

La Figura 9 muestra la evolución de las proteínas séricas totales en primíparas y múltiparas. En el panel izquierdo (primíparas) se observa una disminución desde el día -21 hasta el día -7 ($P < 0.05$) y al parto presentaron valores de 69.36 ± 1.99 mmol/L para el control y de 65.43 ± 2.01 mmol/L en el grupo suplementado, para aumentar progresivamente hasta el final del periodo experimental (75.65 ± 2.09 mmol/L para el control y de 79.36 ± 2.09 mmol/L en el grupo suplementado). En múltiparas (panel derecho) hubo una disminución desde el día -21 al día 0 ($P < 0.05$), al parto presentaron valores de 68.84 ± 2.10 mmol/L para el control y de 69.81 ± 1.94 mmol/L en el grupo suplementado, niveles que fueron aumentando hasta el final del ensayo (78.30 ± 2.11 mmol/L para el control y de 80.57 ± 1.92 mmol/L en el grupo suplementado). No hubieron diferencias significativas entre los diferentes grupos ($P > 0.1$).

6.10 Albúminas y globulinas

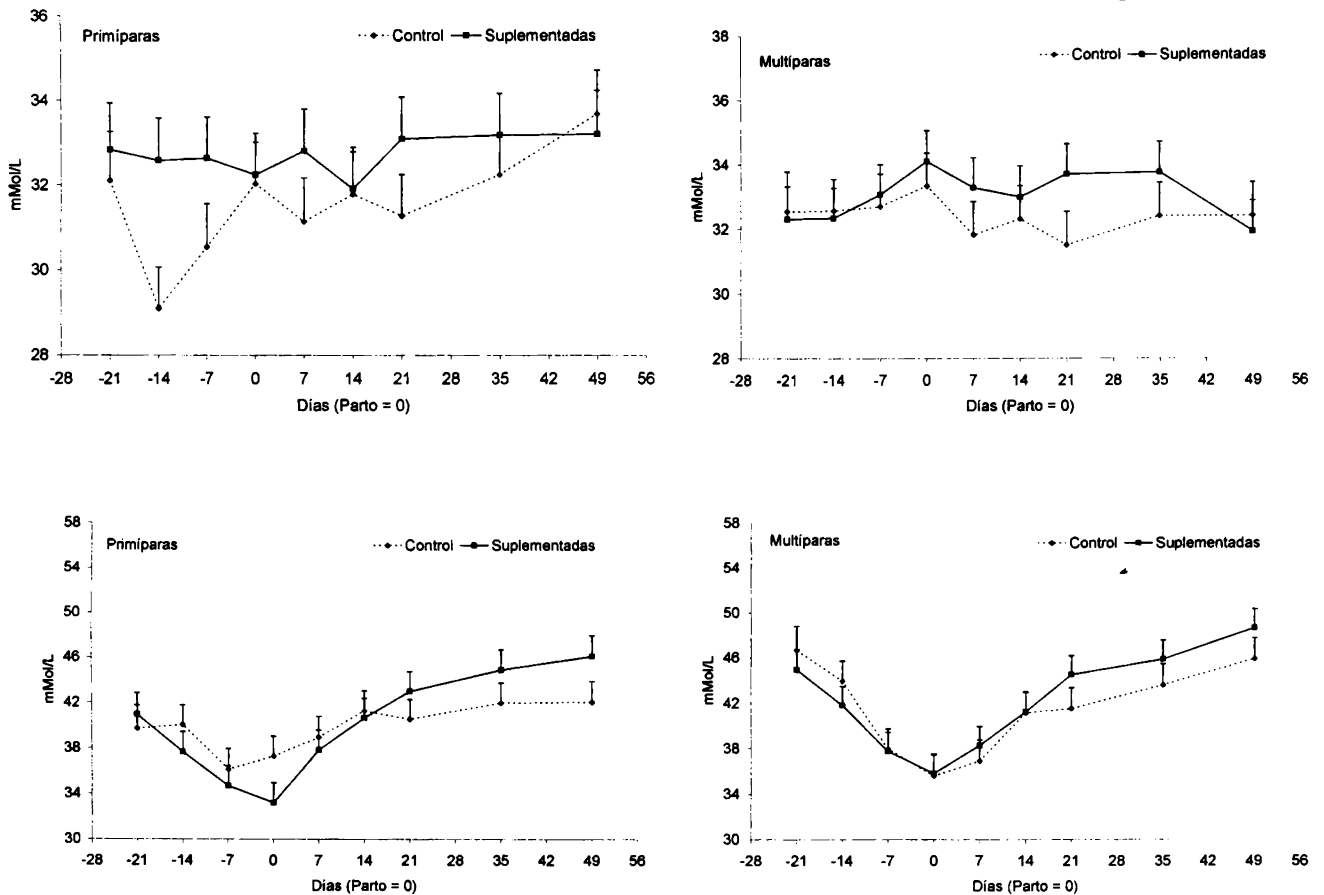


Figura 10: Niveles plasmáticos de albúminas (paneles superiores) y globulinas (paneles inferiores) medidos en mmol/L desde la tercera semana preparto hasta la quinta semana posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

En los paneles superiores de la Figura 10 se observan los perfiles de albúminas de primíparas y múltiparas. En primíparas (panel superior izquierdo) el grupo suplementado mostró valores constantes (32.7 ± 1.0 mmol/L) a lo largo del ensayo, mientras que el grupo control mostró una disminución de la concentración plasmática al día -14 (29.09 ± 0.97 mmol/L), luego aumentó hasta el día del parto (32.03 ± 0.98 mmol/L) para luego mantenerse en esos niveles. Hubo diferencia significativa en el día -14 ($P < 0.05$). En múltiparas (panel superior derecho) los valores se mantuvieron constantes a lo largo del período experimental (32.39 ± 1.05 mmol/L para el grupo control y de 33.05 ± 0.95 mmol/L para suplementadas), no existiendo diferencias significativas entre grupos. ($P > 0.1$).

En los paneles inferiores de la Figura 10 se muestran los niveles de globulinas para primíparas y múltiparas. El nivel de globulinas se determinó restando las albúminas a las proteínas totales, por lo tanto a los valores de los paneles inferiores habría que restarles los correspondientes para las proteínas de la coagulación. En el panel inferior izquierdo (primíparas) se observa una caída progresiva hasta el parto (control 37.3 ± 1.7 mmol/L y suplemento 33.2 ± 1.8 mmol/L) lo que coincide con la migración de inmunoglobulinas hacia la glándula mamaria para la elaboración de calostro. Luego del mismo hubo un progresivo

aumento de las concentraciones hasta el final del ensayo (control 42.1 ± 1.8 mmol/L y suplemento 46.1 ± 1.8 mmol/L). Hubieron diferencias significativas en los días 0 y 49 ($P < 0.05$). En múltiparas (panel inferior derecho) el comportamiento fue similar a las primíparas, presentado valores al parto de 35.6 ± 1.8 mmol/L para el grupo control y de 35.8 ± 1.7 mmol/L para el grupo suplementado; al final del ensayo presentaron valores de 45.9 ± 1.8 mmol/L para grupo control y de 48.6 ± 1.7 mmol/L para grupo suplementado. No hubieron diferencias significativas entre los grupos. ($P > 0.1$).

6.11 Colesterol

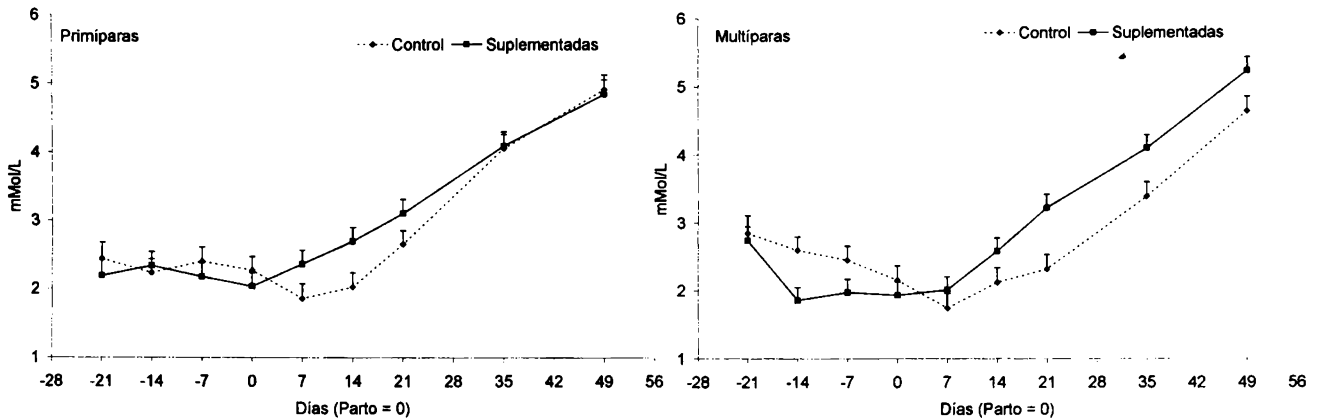


Figura 11: Niveles plasmáticos de colesterol medidos en mmol/L desde la tercera semana preparto hasta la séptima semana posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

En la Figura 11 se muestran los niveles séricos de colesterol. Este metabolito se mantuvo constante desde el día -21 preparto hasta el día 7 posparto para luego aumentar en forma progresiva hasta la finalización del período experimental. Los dos grupos de tratamiento y paridad mantuvieron el mismo patrón, registrándose diferencias significativas en los días 7, 14, 21 posparto ($P < 0.05$). En el panel izquierdo se muestran los perfiles de las primíparas y en el derecho los de las múltiparas. El grupo control con una disminución de su valor hasta el día 7 posparto; mientras que el grupo suplementado presentó el mínimo valor el día -14 preparto. Luego de estos valores el comportamiento del colesterol es ascendente para los dos grupos. Se presentaron diferencias significativas en los días -14, -7, 14, 21, 35 y 49 ($P < 0.05$).

6.12 Urea

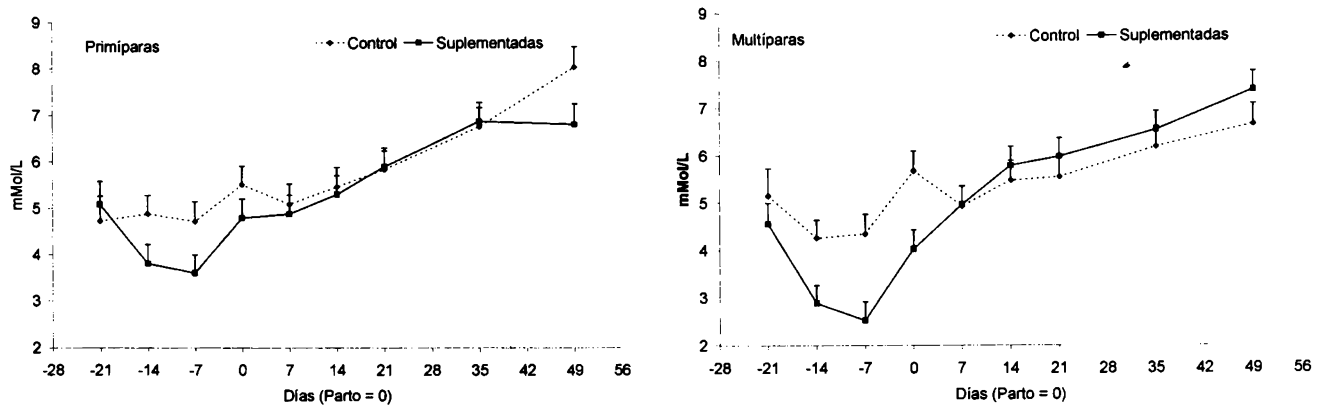


Figura 12: Niveles de urea en plasma medidos en mmol/L desde la tercera semana preparto hasta la séptima semana posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

En la Figura 12 se muestran los perfiles plasmáticos de urea durante el período experimental, donde se observó una importante caída de los mismos hasta la semana previa al parto en los grupos suplementados (primíparas y múltiparas). En el panel izquierdo se muestran los valores correspondientes a las primíparas, donde se aprecia que el grupo suplementado disminuyó el día -21 al -7 para luego aumentar, mientras el grupo control muestra una tendencia al aumento desde el día 7 posparto hasta el final del ensayo. Se presentaron diferencias significativas entre grupos los días -14, -7 y 49 ($P < 0.05$). En el panel derecho se muestran los valores correspondientes a las múltiparas, donde se aprecia que en el grupo control la urea disminuyó durante el preparto, para luego aumentar hasta el final del ensayo; mientras en el grupo suplementado se presentó una disminución de sus niveles hasta el día -7 para luego ir aumentando progresivamente. Se presentaron diferencias significativas entre grupos los días -14, -7 y 0 ($P < 0.05$).

6.13 Glucosa

El valor promedio obtenido durante todo el ensayo para todos los grupos fue de 3.2 mmol/L. Este valor se mantuvo constante, no hubo diferencia significativa entre grupos ni categorías ($P > 0.1$) (datos no presentados).

6.14 Aspartato amino transferasa (AST) y Gama glutamil transferasa (GGT)

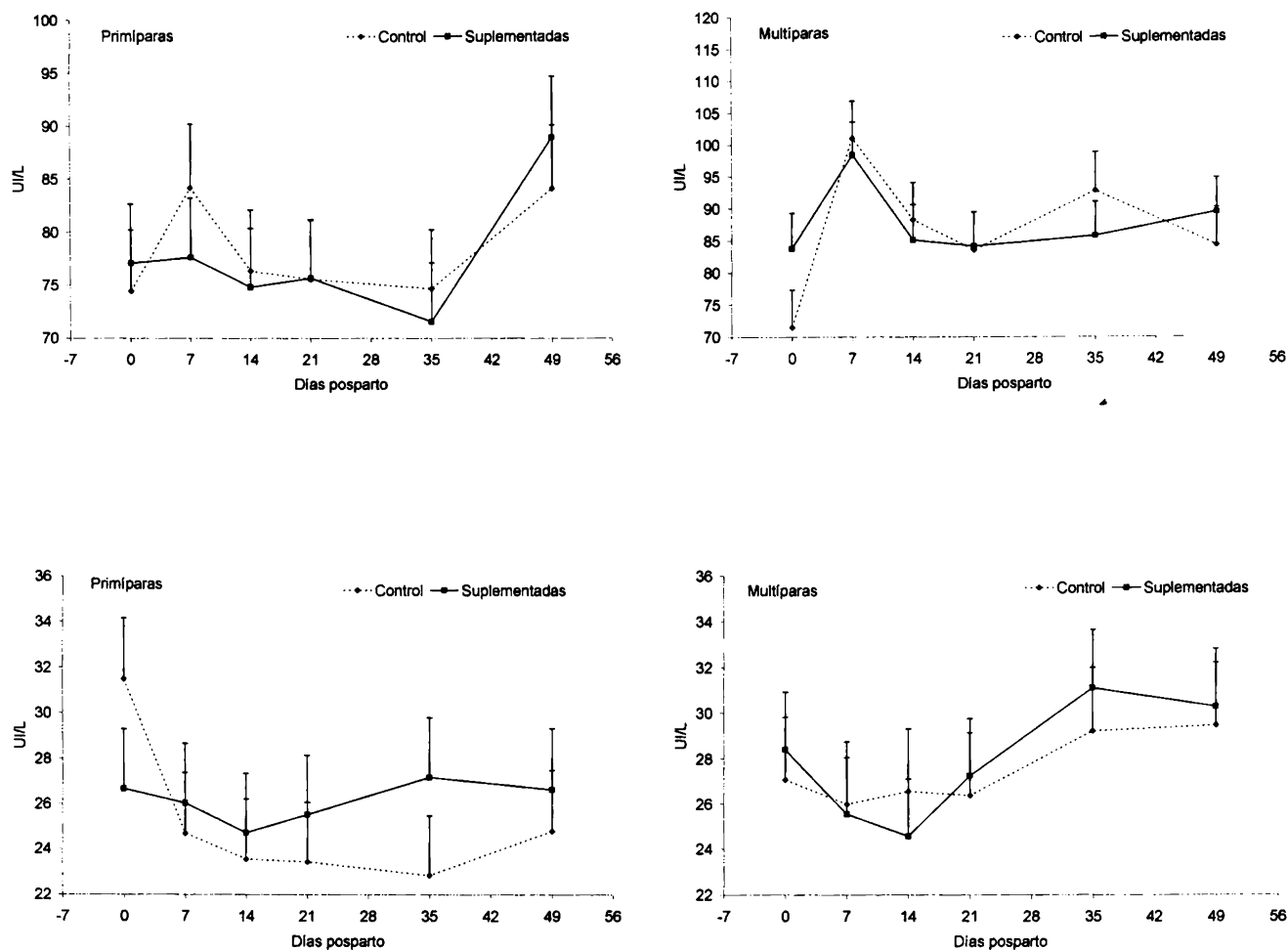


Figura 13: Niveles plasmáticos de las enzimas hepáticas aspartato amino transferasa (AST) (paneles superiores) y gama glutamil transferasa (GGT) (paneles inferiores) en plasma, medidos en U/L, desde el día del parto (día 0) hasta la séptima semana posparto (día 49) en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

Los niveles plasmáticos de las enzimas hepáticas AST (paneles superiores) y GGT (paneles inferiores) se muestran en la figura 13. El panel superior izquierdo se observa que el grupo control presentó un aumento hasta el día 7 posparto para luego disminuir y mantenerse constante hasta el día 35 posparto para luego ir aumentando hasta el final del ensayo. En el grupo suplementado los valores se mantuvieron constantes hasta el día 35 posparto para luego aumentar a lo largo comportarse como el grupo control. No se observaron diferencias entre los grupos ($P > 0.1$). Las múltiparas (panel superior derecho) se comportaron de forma similar a lo largo del ensayo, donde aumentaron el valor de AST a la primera semana posparto para luego disminuir el día 14 posparto.

El panel inferior izquierdo muestra que el comportamiento de las primíparas es similar, mostrando una disminución hasta el día 14 para luego ir aumentando hasta el final del ensayo, la única diferencia no significativa ($P > 0.1$) es que los valores iniciales del control son superiores. El panel inferior derecho muestra que las múltiparas se comportaron de similar manera, presentando un descenso de los valores hasta el día 14 posparto para luego ir

aumentando gradualmente. No hubieron diferencias significativas entre grupos ni categorías ($P > 0.1$). La GGT se correlacionó positivamente el colesterol ($r = 0.13$; $P < 0.05$; $n = 233$).

6.15 Calcio

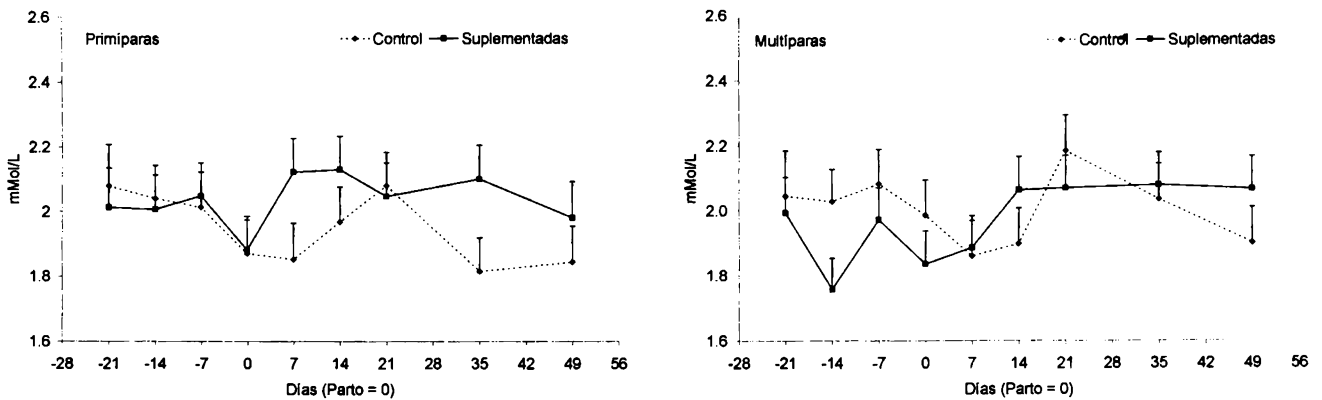


Figura 14: Niveles plasmáticos de Calcio medidos en mMol/L desde el día -21 preparto hasta el día 49 posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

La Figura 14 muestra los niveles plasmáticos de Ca. En las primíparas (panel izquierdo) se observó una disminución en el momento del parto. A partir de ese momento el grupo control fue aumentando hasta el día 21 posparto, para luego disminuir a lo largo del ensayo; mientras que el grupo suplementado aumento rápidamente en la primer semana posparto para luego mantener estos niveles. Hubo diferencias significativas el día 35 posparto ($P < 0.05$) entre grupos. En las múltiparas (panel derecho) muestra que el grupo control bajó sus niveles de Ca hasta el día 7 posparto, aumentando hasta el día 21 posparto para luego volver a bajar hasta el final del ensayo. Mientras que el grupo suplementado presentó un pico mínimo el día -14 preparto, luego ir aumentando hasta el día 14 posparto donde mantuvo los niveles hasta la finalización del ensayo. Hubo diferencias significativas el día -14 preparto ($P < 0.05$) entre grupos.

6.16 Fósforo

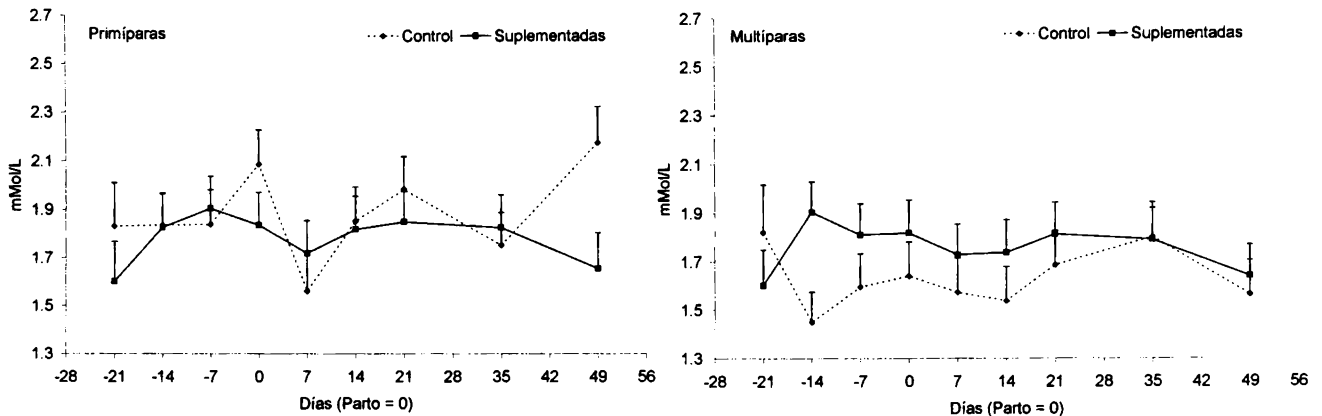


Figura 15: Niveles plasmáticos de fósforo, medidos en mmol/L, desde el día -21 preparto hasta el día 49 posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

En la Figura 15 se muestran los niveles séricos de P durante el periodo experimental, en el panel izquierdo (primíparas) el grupo control mantuvo sus niveles de P hasta el momento del parto (2.08 mmol/L), luego del mismo hay una disminución significativa hasta el día 7 posparto ($P < 0.05$), donde nuevamente los valores aumentaron hasta el día 49 posparto (2.17 mmol/L). En las primíparas suplementadas el nivel se mantuvo constante a lo largo del ensayo. Se observó una diferencia significativa al final del ensayo entre los grupos ($P < 0.05$). En las múltiparas (panel derecho) se observa que en el grupo control hubo una disminución de los valores hasta el día -14 para después aumentar en forma progresiva hasta el día 35 posparto, luego del cual vuelve a disminuir. El grupo suplementado mostró una tendencia a mantener los niveles constantes durante todo el ensayo. Se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en el día -14 ($P < 0.05$).

6.17 Magnesio

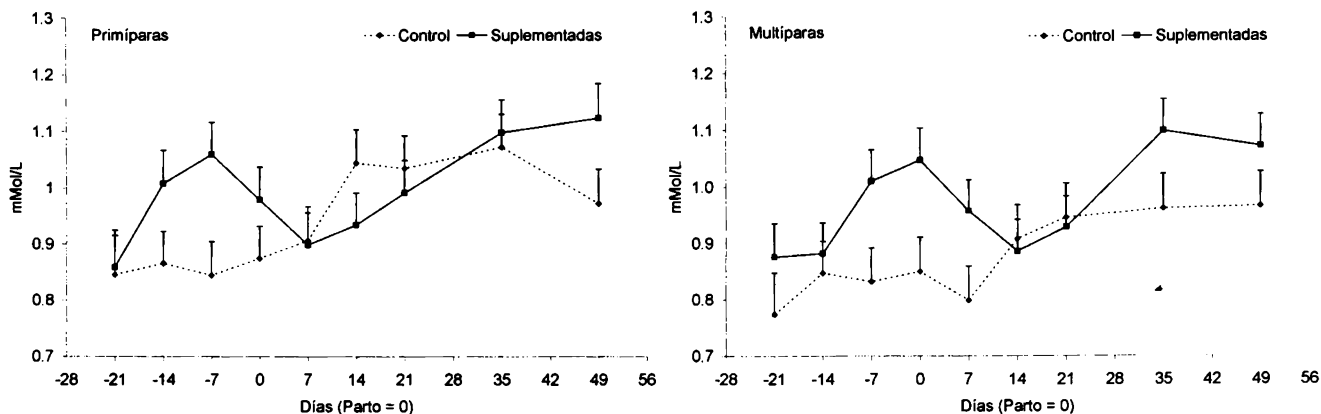


Figura 16: Niveles plasmáticos de magnesio, medidos en mmol/L, desde el día -21 preparto hasta el día 49 posparto en primíparas (izquierda) y múltiparas (derecha) de los grupos control y suplementado

En la Figura 16 se muestran los niveles plasmáticos de Mg a lo largo del periodo experimental para primíparas y múltiparas, donde se observó un gran aumento de los mismos hasta las semanas cercanas al parto en los grupos suplementados (primíparas y múltiparas). En primíparas (panel izquierdo) el grupo control mostró un aumento progresivo hasta el día 35 posparto (1.07 mmol/L). Las primíparas suplementadas mostraron un aumento hasta el día -7 preparto para luego comenzar a disminuir hasta el día 7 posparto, momento en el cual se produjo un aumento hasta el final (1.12 mmol/L). Se presentó diferencia significativa en el día -7 ($P < 0.05$) entre grupos. En múltiparas (panel derecho) el grupo control mantuvo los niveles hasta el día 7 posparto para aumentar progresivamente hasta el día 49 (0.97 mmol/L); en las suplementadas se observó un aumento hasta el día del parto (1.05 mmol/L), a partir de este se produjo una disminución hasta el día 14 posparto luego del cual fue aumentando hasta el final del ensayo (1.07 mmol/L). No hubieron diferencias significativas entre grupos ($P > 0.1$)

6.18 Correlaciones

En el cuadro VII se presentan las principales correlaciones encontradas entre las variables estudiadas.

Cuadro VII. Coeficientes de correlación de Pearson de las diferentes variables estudiadas

Variable	NEFA	BHB	Col ¹	AST ²	GGT ³	Urea	Grasa
Leche			.327 *** 188				
CC	-.121 * 385					-.197 *** 387	.286 *** 180
NEFA				.131 * 233			
BHB			.175 *** 392			.227 *** 392	
Col					.132 * 233	.415 *** 392	
AST					.274 *** 233		

¹Col = Colesterol

²AST = Aspartato Amino Transferasa

³GGT= Gama Glutamil Transferasa

*=P<0.05

**=P<0.01

***=P<0.001

La producción de leche presentó una correlación positiva con el colesterol ($r = 0.327$, $P < 0.001$, $n = 188$). La CC presentó una correlación positiva con el % de grasa en leche ($r = 0.286$, $P < 0.001$, $n = 180$), presentó también negativamente una correlación con urea ($r = -0.197$, $P < 0.001$, $n = 387$) y NEFA ($r = -0.121$, $P < 0.05$, $n = 385$). Los niveles de NEFA en plasma tuvieron una correlación positiva con los niveles de AST ($r = 0.131$, $P < 0.05$, $n = 233$). Los niveles de BHB presentaron una correlación positiva con colesterol ($r = 0.175$, $P < 0.001$, $n = 392$) y con urea ($r = 0.227$, $P < 0.001$, $n = 392$). El colesterol presentó una correlación positiva con los niveles de urea ($r = 0.415$, $P < 0.001$, $n = 392$). Las enzimas AST y GGT presentaron una correlación positiva ($r = 0.274$, $P < 0.01$, $n = 233$).

6.19 Reproducción

6.19.1 Intervalo parto-ovulación

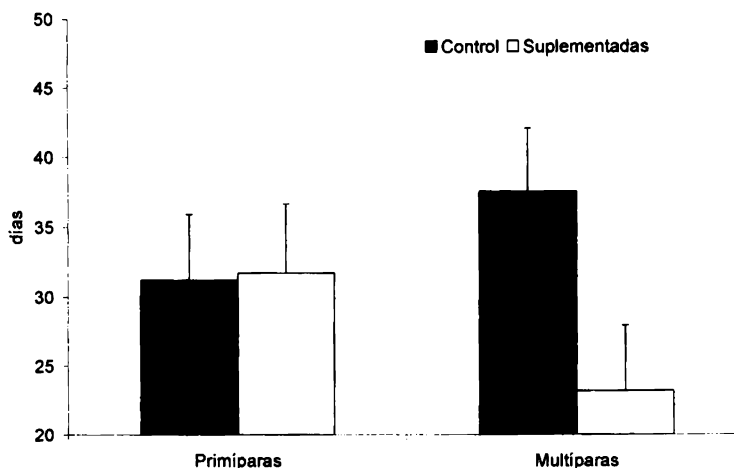


Figura 17: Intervalo parto a ovulación en días de primíparas y multiparas de los grupos control y suplementado

La Figura 17 muestra que el intervalo parto ovulación en primíparas y multiparas. En primíparas dicho valor fue similar tanto para control y suplementadas; con respecto a las multiparas se observó un mayor intervalo en el control en relación con las suplementadas. El promedio general fue 30.8 días. Las primíparas presentaron un rango de ovulación posparto de 31.7 días para las suplementadas y de 31.2 días para el grupo control. No hubo diferencias significativas ($P > 0.1$) en dicha categoría; en cambio las multiparas presentaron diferencia significativa ($P < 0.05$), ya que las del grupo control ovularon a los 37.5 días y las suplementadas a los 23.2 días.

6.19.2 Rango del intervalo parto ovulación

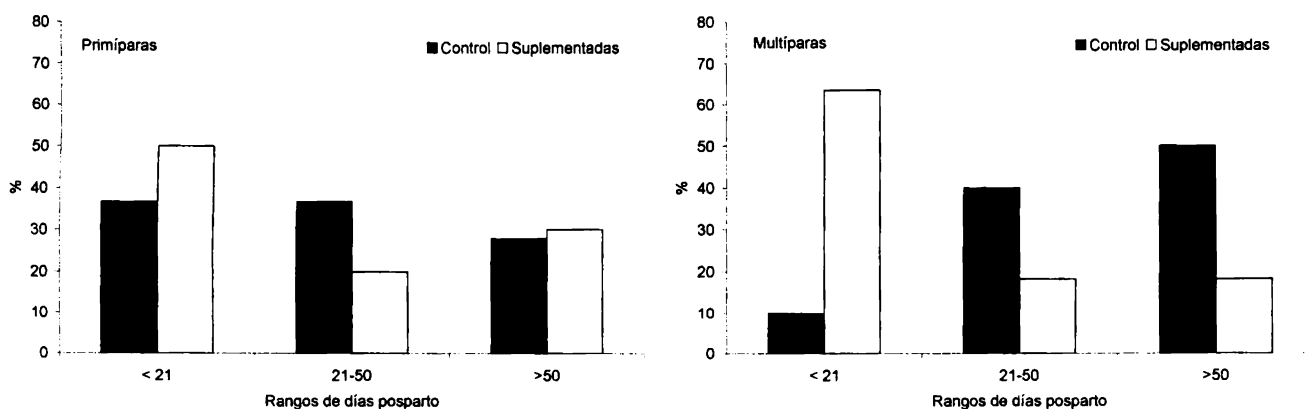


Figura 18: Porcentaje de animales primíparas (izquierda) y multiparas (derecha) que ovulan en distintos intervalos posparto

La Figura 18 muestra el porcentaje de animales ovulados en distintos intervalos. En primíparas (panel izquierdo) el 50% del grupo suplementado ovuló dentro de los 21 días

posparto mientras que en el grupo control lo hizo solo un 35%. Dentro de los 21–50 días posparto ovularon 35% de animales del grupo control y 20% de las suplementadas. Aproximadamente un 30% de los animales suplementados y control no ovularon antes de los 50 días. No hubieron diferencias significativa entre grupo ($P>0.1$). En el panel derecho (multíparas) se observa que el 60% del grupo suplementado y 10% del grupo control ovularon dentro de los primeros 21 días posparto ($P <0.05$). Entre el día 21 y 50 ovulo el 40% del grupo control y un 20% del suplementado; mientras el 50% del grupo control y el 20% del grupo suplementado no ovularon en los 50 días posparto ($P <0.05$).

7. DISCUSION

Las dietas preparto afectaron el consumo de materia seca en el preparto, no así en el posparto. El mayor consumo preparto de los animales suplementados es explicado por la ración y la pastura (adición), mientras el grupo control hizo sustitución de pastura por el ensilaje. La cantidad de materia seca consumida previo al parto no disminuyó contrariamente a Vazquez-Añon y col. (1994), Grummer (1995), Weiss (1997), Oetzel (2000) y Stockdale y Roche (2002), quienes reportaron una disminución del consumo de materia seca durante la semana previa al parto. La suplementación preparto no afectó el consumo de materia seca posparto, como tampoco la producción de leche, lo que coincide con Rabelo y col. (2003); sin embargo Moyá y Coppock (1997) sugieren que vacas alimentadas con bajo tenor energético preparto han tendido a consumir más materia seca y a producir más leche que las vacas alimentadas con alta densidad energética.

La caída de la CC en los grupos control hasta luego del parto pudo ser debido al menor consumo de MS preparto, lo que se corresponde con el aumento de los niveles de NEFA y urea, ya que los mismos presentaron una correlación negativa con CC; luego de este período la CC se iguala al grupo suplementado dado por la misma alimentación y consumo de MS posparto. La disminución de la CC hasta el momento del parto coincide con lo previamente descrito por Crespi y col. (2005), pero se contradice con Grum y col (1996) quienes encontraron que suplementando con energía preparto la CC no sufrió cambios. Sin embargo esto coincide con la evolución de la CC en las multíparas suplementadas, que mantuvieron ésta a lo largo del ensayo. Al parto existieron diferencias entre los grupos coincidiendo con Flamenbaun y col. (1995), pero no con Crespi y col. (2005) quienes no encontraron diferencias entre grupos. A lo largo del periodo experimental los animales que perdieron mayor CC fueron aquellos que tenían menor CC (grupo control) contrariamente a Cavestany y col. (2005) quienes reportaron que la mayor pérdida de CC se presentaba en los animales con mayor CC.

La suplementación energética preparto no afectó la producción de leche, similar a lo reportado en otros trabajos (Grummer, 1995; Rabelo y col., 2003; Crespi y col., 2005), aunque por lo contrario Ryan y col (2002) afirman que vacas alimentadas con una dieta preparto de alta densidad energética produjeron más leche en las primeras 4 semanas de lactación; esto puede ser posible debido a que nuestras vacas no complementaron la suplementación con el consumo de pasturas de alta calidad y cantidad, ya que el aporte de pasturas posparto fue escaso. En el presente ensayo, las primíparas produjeron menor cantidad de leche que las multíparas al igual que Meikle y col. (2003) y esta menor producción puede ser debida al menor desarrollo de la glándula mamaria que presentan las vaquillonas además de que parte de su energía va ser utilizada para su propio desarrollo.

El porcentaje de grasa en leche aumentó con la suplementación energética preparto, esto coincide con los resultados obtenidos por Rabelo y col., (2003) y Crespi y col (2005), contrariamente Ryan y col (2002) no encontraron diferencias en la producción de grasa en leche con suplementación energética preparto. Esta diferencia encontrada en nuestro ensayo pudo ser debida a una mayor reserva lipídica, permitiendo una mayor tasa butirométrica en la leche (Cirio y Tebot., 1998), esto coincidiría con los datos obtenidos de correlación positiva de la CC con la grasa en leche; también se podría pensar que esta diferencia sea debida a un diferente consumo de MS pero no pudo ser posible ya que en nuestro ensayo no existieron estas diferencias en el posparto; de todas maneras este dato no puede ser explicado, ya que durante el ensayo no se realizaron estudios que indiquen que tipo de triacilglicéridos estaban presentes en la leche, para diferenciar entre los producidos por la propia glándula mamaria y los extraídos directamente de la sangre luego de la lipomovilización. Un relativo decrecimiento en el porcentaje de grasa durante la lactación temprana ha sido significativamente correlacionado con un bajo nadir de balance energético y un retorno tardío al balance positivo. Hay una máxima correlación entre el nadir y la bajada del porcentaje de grasa en leche (de Vries y Veerkamp, 2000).

La curva de la proteína en leche fue la normal y se encuentra en su mayor nivel a las 2 semanas posparto disminuyendo progresivamente a lo largo de la lactancia; lo mismo que ocurre en nuestro periodo experimental, no mostrando modificaciones en los diferentes tratamientos. Lo mismo afirma Grummer (1995) al igual que Crespi y col. (2005), por lo contrario Ryan y col. (2002) encontraron diferencias significativas de la proteína en leche con dietas energéticas preparto.

Los niveles plasmáticos de NEFA son menores a 0.7 mmol/L para vacas en lactación temprana y 0.4 mmol/L al final del preparto (Whitaker y col., 1989), estos niveles coinciden con los obtenidos a lo largo de este ensayo. Los niveles de NEFA durante el preparto fueron aumentando hasta los 7 días posparto donde fue su pico máximo para las dos categorías. Relacionado con la correlación negativa que presentó NEFA con la CC y la correlación positiva con la enzima AST, probablemente debido al déficit de energía consumida por el menor consumo de MS en el grupo control durante el preparto. Meikle y col. (2004) coinciden con nuestros resultados donde las concentraciones de NEFA comenzaron a aumentar antes del parto; pero contrariamente con Mcnamara y col. (2003) donde vacas que recibieron suplementación energética preparto tuvieron un aumento significativo en los niveles de NEFA hasta las 8 semanas posteriores al parto.

El BHB se comportó igual entre los diferentes grupos, mostrando un aumento desde el comienzo del experimento hasta su final, a diferencia de lo ocurrido en el ensayo de Meikle y col. (2004) ya que los mismos bajan al final de la experimentación. Estos resultados son similares a los encontrados por Crespi y col (2005). Este dato no coincide con los resultados de NEFA ya que el mismo comienza a bajar luego de la segunda semana posparto, si coincide con los datos obtenidos del colesterol que aumentan luego de la semana posterior al parto y los valores obtenidos de urea en sangre que comienzan a aumentar en la última semana previa al parto, los dos presentaron una correlación positiva con los niveles de BHB ($P < 0.001$), esto nos indicaría un déficit de energía.

Los niveles de colesterol aumentaron en el posparto lo que coincide con Crespi y col. (2005); el aumento puede deberse a una mayor demanda energética que la suministrada en la dieta,

coincidiendo con los niveles de urea, BHB y GGT que presentaron una correlación positiva con el colesterol. Belyea y col. (1975) mencionan que un aumento de colesterol refleja un aumento en la ingesta lipídica. Ropstad y col. (1989) reportaron que la patología hígado graso cursa con un aumento de la actividad de la enzima AST, conjuntamente con niveles aumentados de colesterol, lo cual con nuestros datos no lo podemos confirmar.

En lo que respecta a las proteínas totales y globulinas no hubo diferencias con los grupos, donde ambas disminuyeron al parto coincidiendo con Crespi y col. (2005); lo cual puede estar asociada al secuestro de globulinas por la ubre como menciona Kehrlí y col. (1989) al aumentar la producción de calostro. Las concentraciones de albúmina son menores en el preparto que el posparto contrariamente con la descripción de Whitaker y col., (1999). Lo llamativo fue su incremento al momento del parto, lo cual coincide con Meikle y col (2004) que sugieren que este aumento podría amortiguar la disminución de otras proteínas plasmáticas y así mantener la presión oncótica.

El aumento de urea que se observó después del parto hasta el final del trabajo experimental esta dado por el déficit nutricional (BEN) posparto lo cual los animales tienen que acudir a sus reservas proteicas.

El Ca se mantuvo constante en el preparto y disminuyó al momento del parto, coincidiendo con Capen y Rosol, (1989); mientras tanto Cavestany y col. (2005) encontraron que los menores niveles de Ca son 20 días antes del parto y que se mantuvieron estables durante el posparto. En el posparto se observó un aumento del Ca, mientras que Crespi y col. (2005) observaron una disminución del mineral. El P aumentó en el período preparto, donde al momento del parto tiene su mayor valor; pero Cavestany y col. (2005) encontraron que los niveles de P durante el posparto duplicaron los niveles de P en el preparto, donde el aumento de P podría reflejar la resorción de Ca y P del hueso para satisfacer las demandas. El Mg se vio influenciado por la dieta preparto ya que el grupo suplementado tuvo mayores niveles, este aumento se podría explicar por un mayor consumo de materia seca. Crespi y col. (2005) encontraron una caída en los niveles de Mg al parto coincidiendo con la mayor lipólisis, dado por la redistribución del Mg en los adipocitos (Soder y Holden, 1999) y Cavestany y col. (2005) alrededor del día 50 posparto en vacas primíparas; lo cual no coincide con nuestro trabajo.

La actividad ovárica posparto se reinició más temprano que en el trabajo de Cavestany y col. (2001) que fue de 35 días y también fue menor que otros trabajos realizados con vacas en estabulación o semi-estabulación (Butler y col., 1981; Fonseca y col., 1983; Eger y col., 1988; Senatore y col., 1996; Slama y col., 1996) y en vacas en pasturas (McDougall y col., 1995). No se registraron diferencias significativas entre primíparas y múltiparas, coincidiendo con Cavestany y col. (2002) y contrariamente a los resultados de Rajamehendran y Taylor (1990) y Domecq y col. (1997), quienes encontraron un efecto de lactancia en estos parámetros.

8. CONCLUSIONES

La utilización de una suplementación energética durante el preparto tardío, aumentó el consumo preparto en múltiparas y primíparas, coincidiendo con el mantenimiento de la CC en múltiparas y una menor pérdida de la misma en primíparas. Las pérdidas de la CC en las múltiparas del grupo Control durante el posparto está relacionado con un aumento del nivel

de NEFA, reflejando un BEN y lipomovilización. La suplementación energética no incidió en una mayor producción de leche como tampoco en el porcentaje de proteína en la misma, aunque vacas con suplementación energética preparto produjeron más grasá en leche. El intervalo parto ovulación fue menor en los grupos suplementados, donde más del 50% ovularon antes de los 21 días y el 30% de los animales no ovulan dentro de los 50 días posparto. Esto puede deberse al mayor consumo preparto del grupo suplementado y a la menor pérdida y/o mantenimiento de la CC.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Alais, CH. (1970). Ciencia de la leche (principios de la técnica lechera)1ª Edición en español, Editorial Reverté S.A., Buenos Aires, Argentina. Pág. 27, 347.
2. Althaus RL, Tardivo PA, Perren LC, Flores A. (1991). Perfiles metabólicos en vacas lecheras Holando Argentina. Parte I: variación durante el período de lactancia. Rev Med Vet; 72:640-703.
3. Allen M, Beede D. (1996). Causes, detection and prevention of ruminal acidosis in dairy cattle. Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference. P 55-72.
4. Armentano LE, Young JW. (1983). Production and metabolism of volatile fatty acids, glucose and CO₂ in steers and the effects of monensin on volatile fatty acid kinetics. J Nutr; 113:1265-1277.
5. Bauman DE, Dunshea FR, Biosclair YR, McGuire MA, Harris DM, Houseknecht KL. (1989). Regulation of nutrient partitioning: homeostasis, homeorhesis and exogenous somatotropin. Pp. 306-323 in seventh Int Conf Prod Farm Anim. F.A. Kallfelz, ed. Cornell University, Ithaca, NY, USA.
6. Bauman DE, Peel CJ, Slenlanr WD, Reynolds PJ, Tyrrel HF, Blown ACG. (1988). Effects of bovine somatotropin on metabolism of lactating dairy cows: influence on rates of irreversible loss and oxidation of glucose and non esterified fatty acids. J Nutr 1988, 118, 1031-40.
7. Bauman DE, Currie WB. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. J Dairy Sci; 63:1514-1529.
8. Beam SW, Butler WR. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cow. J Reprod Fertil; 54(suppl):411-424.
9. Beam SW, Butler WR. (1998). Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipids. J Dairy Sci; 81:121-131.
10. Beam SW, Butler WR. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three concentrations of dietary fat. Biol Reprod; 56:133-142.
11. Bergman, W (1963). Glucose metabolism in ruminants is related to hypoglycemia and ketosis. The Cornell Vet; 53:341-382.
12. Belyea RL, Coppock CE, Lake GB. (1975). Effects of silage diets on health, reproduction, and blood metabolites of dairy cattle. J Dairy Sci; 58:1336-1346.
13. Boden, G. (1998). Free fatty acids (FFA) a link between obesity and insulin resistance. Frontier in Bioscience; 3:169-175.
14. Butler WR, Smith RD. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. J Dairy Sci; 72:767-783.

15. Butler WR, Everett RW, Coppock CE. (1981). The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci*; 53:742-748.
16. Britt, JH. (1992). Impacts of early postpartum metabolism on follicular development and fertility. Department of Animal Science, North Carolina State University, Dairy Session I, Pp 39-42.
17. Cameron REB, Dyk PB, Herdt TH. (1998). Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. *J Dairy Sci*; 81:132-139.
18. Canfield RW, Butler WR. (1991). Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J Anim Sci*; 69:740-746.
19. Canfield RW, Butler WR. (1990). Energy balance and pulsatile luteinizing hormone secretion in early postpartum dairy cows. *Dom Anim Endocrinol*; 7:323-330.
20. Capen CC, Rosol TJ. (1989). Calcium-regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism, En: Kaneko JJ *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 4th Ed., Academic Press, San Diego, California 92101, USA, pp. 678-752.
21. Cavestany D, Blanc JE, Kulcar M, Uriarte G, Chilbroste P, Meikle A, Febel H, Ferraris A, Krall E. (2005). Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: metabolic profiles. *J Vet Med A Physiol Pathol. Clin Med.* Feb;52:1-7.
22. Cavestany D, Meikle A, Chilbroste P. (2002). Manejo de la vaca lechera en transición en condiciones de pastoreo suplementado. PROGRAMA ECOS. Proyectos conjuntos de investigación científica Uruguay.
23. Cavestany D, Galina CS, Viñoles C. (2001). Características del reinicio de actividad ovarica postparto determinada por progesterona en leche y ultrasonografía ovarica y su efecto en la eficiencia reproductiva en vacas Holstein en pastoreo en condiciones del Uruguay. *Arch Med Vet (Chile)*. XXXIII:217-226.
24. CEFIC (1990). Fosfatos inorgánicos para la alimentación animal. El balance correcto. Bruselas. Bélgica.
25. Chew BP, Eisenman J, Tanaka ST. (1984). Arginine infusion stimulates prolactin, growth hormone, insulin and subsequent lactation in pregnant dairy cows. *J Dairy Sci*. 67:2507-2518.
26. Chilliard, Y. (1993). Dietary fat and adipose tissue metabolism in ruminants, pigs, and rodents. *J Dairy Sci*; 76:3897-3931.
27. Cirio A, Tebot I. (1998). Fisiología metabólica de los rumiantes. Depto. de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay Pp 69-135.
28. Clark DA, Kanneganti VR. (1998). Grazing management systems for dairy cattle. Page 331 in *Grass for Dairy Cattle* JH. Cherney & DJR Cherney, eds. CAB Int.
29. Claypool, DW. (1976). Factors affecting calcium, phosphorus, and magnesium status of dairy cattle on the Oregon coast. *J Dairy Sci*; 59:2005-2007.
30. Contreras PA, (1998). Síndrome movilización grasa en vacas lecheras al inicio de la lactancia y sus efectos en salud y producción de los rebaños. *Arch Med Vet (Chile)* 30:17-27.
31. Contreras PA, Wittwer F, Ferrando A. (1992) Control de un brote de tetania hipomagnesémica en una lechería mediante el empleo de una suplementación mineral magnésica. *Arch Med Vet (Chile)*; 24:93-98.
32. Coles, EH. (1986). *Veterinary clinical pathology*. 4th ed.: Saunders Co. Philadelphia, USA.

33. Crespi D, Medin J, Piana M. (2005). Efectos de la suplementación energética y del suministro de sales aniónicas durante el parto sobre la producción y reproducción en vacas Holando en pastoreo. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de República. Montevideo, Uruguay.
34. Cseh SB, Fay JP, Casaro A. (1984) Changes in blood composition of pregnant cows during the onset of hypomagnesaemia. *Vet Rec*; 1:567-570.
35. Curtis CR, Erb HN, Sniffen CJ, Smith RD, Kronfeld DS. (1985). Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorder and mastitis in Holstein cows. *J Dairy Sci*; 68:2347-2360.
36. Davidson JA, Rodríguez LA, Mashek DG, Risch CC, Scheurer SJ, Pilbeam TE, Beede, D. (1997). Feeding the transition cow. *Proc Tri-State Dairy Nutr Conf.* P 83-104.
37. Dearaujo GGL, Dasilva JFC, Filho SCV, Ignezleao M, Lombardi CT, Seara GS. (1994). Total and partial absorption of calcium, magnesium, phosphorus and potassium by lactating cows. *Rev Soc Bra*; 23:773-781.
38. Dewhurst RJ, Moorby JM, Dhanoa MS, Evans RT, Fisher WJ. (2000). Effects of altering energy and protein supply to dairy cows during the dry period. 1. Intake, body condition and milk production, *J Dairy Sci*; 83:1782-1794.
39. de Vries MJ, Veerkamp RF. (2000). Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J Dairy Sci*; 83:62-69.
40. DIEA (2003). Dirección de estadísticas agropecuarias MGAP. Montevideo. Uruguay.
41. DIEA (2001). Dirección de estadísticas agropecuarias MGAP. Montevideo. Uruguay.
42. Dirksen GU, Liebich HG, Mayer E. (1985). Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. *Bovine Practitioner*; 20:116-120.
43. Domecq JJ, Skidmore AL, Lloyd JW, Kaneene JB. (1997). Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. *J Dairy Sci*; 80:113-120.
44. Drackley, JK. (1999). Biology of dairy cow during the transition period, the final frontier?. *J Dairy Sci*; 93:2259-2273.
45. Ducker MJ, Haggett RA, Fisher WJ, Monant SV, Blomfield GA. (1985). Nutrition and reproductive performance of dairy cattle 1. The effect of level of feeding in late pregnancy and around the time of insemination on the reproductive performance of first lactation dairy heifers. *Animal Prod*; 41:1-12.
46. Dyk PB, Emery RS. (1996). Reducing the incidence of peripartum health problems. *Proc Tri-State Dairy Nutr Conf.* P 41-54.
47. Dyk PB, Emery RS, Liesman JL, Bucholtz HF, Van de Haar MJ. (1995). Prepartum non esterified fatty acids in plasma are higher in cows developing peripartum health problems on PS Michigan dairy farms, MSc Thesis, Michigan State University. Michigan, USA
48. Edmonson AJ, Lean J, Weaver LD, Farver T, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*; 72:68-78.
49. Eger S, Shemesh M, Schindler H, Amir S, Foote RH. (1988). Characterization of short luteal cycles in the early post-partum period and their relation to reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 16:215-224.
50. El Manual Merck de Veterinaria (2000). 5^{ta} edición, Barcelona (España), Océano Grupo Editorial, S.A. 2558 pp.
51. Espinasse, J. (1980). El síndrome de la vaca gorda -consecuencias clínicas de las anomalías del racionamiento energético y de la esteatosis. *Gaceta Vet Bs As*; 43:671-686.

52. Fonseca FA, Britt JH, Daniel BT, Wilk JC, Rakes AH. (1983). Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J Dairy Sci*; 66:1128-1147.
53. Flamenbaun D, Wolfenson P, Kunz L, Maman M, Berman A. (1995). Interactions between body condition at calving and cooling of dairy cows during lactation in summer. *J Dairy Sci*; 78:2221-2229.
54. Galyean ML, Estell LJ. (1996). Marked-based approaches for estimation of fecal output and digestibility in ruminants. *Oklahoma agric. Exp. Sta. Mp-121*:96.
55. Goff, JP. (2000). Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. *Vet Clinics North Am: Food Animal Practice*; 16:319-337.
56. Goff JP, Horst RA. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci*; 80:1260-1268.
57. Grum DE, Drackley JK, Younker RS, LaCount DW, Veenhuizen JJ. (1996). Nutrition during the dry period and hepatic metabolism of periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*; 79:1850-1864.
58. Grummer, RR. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci*; 73:2820-2833.
59. Grummer, RR. (1993). Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*; 76:3882-3896.
60. Guardiola, C. (1997). Alimentación de la vaca lechera durante la etapa de transición. *Semanario Anual de Elanco. México*.
61. Gunter, KD. (1988). Stress behavior of animals and its effects on the mineral balance. *Anim Res Develop*; 26:16-33.
62. Henry, JB. (1992). Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Ed. Científico Técnica. 8° Ed. La Habana, Cuba. 257 pp.
63. Herdt, TH. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Inferences on the Etiology of Ketosis and Fatty Liver. *Vet Clinics North Am: Food Animal Practice*; 16:720-749.
64. Hibbitt, KG. (1979). Bovine ketosis and its prevention. *Vet Rec*;105:13-15.
65. Hook TE, Odde KG, Aguilar AA, Olson JD. (1989). Protein effects on fetal growth, colostrum and calf immunoglobulins and lactation in dairy heifers. *J Dairy Sci*; 72 (Suppl. 1), 539 (abstract).
66. Holtenius P, Hjort M. (1990). Studies on the pathogenesis of fatty liver in cows. *Bovine Practitioner*; 25:91-94.
67. Hollis BW, Draper HH, Burton JH, Etches RJ. (1981). A hormonal assessment of bovine parturient paresis: Evidence for a role of oestrogen. *J Endocrinol*; 88:161-171.
68. Huntington GB, Prior RL. (1983). Digestion and absorption of nutrients by beef heifers fed a high concentrate diet. *J Nutr*; 113:2280-2288.
69. Hurley WL, Doane RM. (1989). Recent developments in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J Dairy Sci*; 72:784-804.
70. Huszenicza GJ, Haraszti J, Molnar L, Solti L, Fakete S, Ekes K and Yaro AC. (1988). Some metabolic characteristics of dairy cow with different postpartum ovarian function. *Zentralbl Veterinarmed A*. 35:506-515.
71. Ingraham RH, Kappel LC. (1988). Metabolic profile testing. *Metabolic diseases of ruminant livestock. Vet Clinics of North America: Food Animal Practice*; 4:391-411.
72. Ingvarsen KL, Anderson JB. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusig on periparturient animal. *J Dairy Sci*; 83:1573-1597.

73. Jaurena G, (2003). Effect of dry period protein nutrition on subsequent milk production from dairy cows. PHD, University of Wales, Aberystwyth UK.
74. Jaurena G, Moorby JM, Fisher WJ, Davies DWR, (2001). Lactational responses to energy and protein supplies during the dry period in dairy cows. Proc of the British Anim Sci 203.
75. Jones GM, Wilman EE, Troutt HF. (1982). Metabolic profiles in Virginia dairy herds of different milk yields. J Dairy Sci; 65:683-688.
76. Journet M, Huntigton G, Peiraud JL. (1995). Le bilan des produits terminaux de la digestion. INRA Editions. Paris, Francia.
77. Kaneko, JJ. (1980). Clinical biochemistry of domestic animals, 3a. ed. Academic Press. New York USA. pp 175-769.
78. Kehrl ME Jr, Nonnecke BJ, Roth JA. (1989). Alterations in bovine peripheral blood lymphocyte function during the peripartum period. Am J Vet Res; 50:215-220.
79. Krall E, Cordoba G, Blanc JE, Bentancur O. (1993). XXI Jornadas uruguayas de buiatria, Paysandú, Uruguay, 6.1-6.6.
80. Larson LL, Marbock MS, Lowry SR. (1980). Relation ship between early postpartum blood composition and reproductive performance in dairy cattle. J Dairy Sci; 63:283-289.
81. Lomax MA, Baird GD. (1983). Blood flow and nutrient exchange across the liver and gut of the dairy cows. Effect of lactation and fasting. British J Nut; 49 :481-496.
82. Lomax MA, Baird GD, Mallinson CB, Symonds HW. (1979). Differences between lactating and non-lactating dairy cows in concentration and secretion rate of insulin. Biochem; 180:281-289.
83. Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. (1991). Energy balance and size and number of ovarium follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. J Dairy Sci; 74:473-482.
84. McDougall S, Burke CR, MacMillan KL, Williamson NB. (1995). Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. Res Vet Sci; 58:212-216.
85. McNamara S, Ohara FP, Rath M, Murdhy JJ. (2003). Effect of different transition diets on milk production and milk composition in dairy cows. Livest Prod Sci; 84:195-206.
86. Majó, MC. (2004). Interpretación de la bioquímica clínica y hematológica en grandes animales. Boletín 19. Centro de Diagnostico Veterinario SA. Buenos Aires, Argentina. 12 pp.
87. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilbroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. Reproduction (2004) 127 727-737
88. Meikle A, Blanc EJ, Krall E, Rodríguez Irazoqui M, Garófalo EG, Ferraris A, Cavestany D. (2002) Estado corporal, producción de leche y reinicio a la ciclicidad ovárica posparto en vacas lecheras en condiciones de pastoreo controlado. IX Congreso Latinoamericano de Buiatría, XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú 12 al 15 de Junio.
89. Moe PW, Tyrrell J. (1975). Efficiency of conversion of digested energy to milk. J Dairy Sci; 58:602-610.
90. Moe PW, Tyrrell J. (1972). Metabolisable energy requirements of pregnant dairy cows. J Dairy Sci; 55:480-483.
91. Moorby JM, Dewhurst RJ, Marsden S. (1996). Effect of increasing digestible undegradable protein supply to dairy cows in the late gestation on the yield and composition of milk during the subsequent lactation. Anim Sci; 63:201-213.

92. Morse D, Head HH, Wilcox CJ, van Horn HH, Hissem CD, Harris B Jr, (1992). Effects of concentration of dietary phosphorus on amount and route of excretion. *J Dairy Sci*; 75:3039-3049.
93. Moyá JR, Coppock C. (1997). Efecto del nivel energético inmediatamente antes del parto en el comportamiento de la vaca lechera lactante. *Arch Latin Prod. Anim*; 5 (Supl. 1):161-163.
94. National Research Council (NRC). (1989). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 6th. Ed. National Academy Press. Washington, D.C., USA.
95. Oetzel, CR. (2000). Management of dry cows for the prevention of milk fever and mineral disorders. *Vet Clinics North Am: Food Animal Practice*; 16:369-386.
96. Oetzel, CR. (1997). Challenges to fulfill the requirements of dairy cows in transition. *Seminario Annual de Elanco. México*. P 1-12.
97. Palmquist DL, Weisbjerg MP, Huelplund T. (1993). Ruminant, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows feed diets high in fat and undegradable protein. *J Dairy Sci*; 75:1353-1364.
98. Payne, JM. (1982). *Enfermedades metabólicas de los animales*. Ed. Acribia Zaragoza, España.
99. Phipps, RH. (1977). *Studies on forage maize*. PhD Thesis, Univ of Reading, UK Pp 230.
100. Pond KP, Burns JC, Fisher DS. (1987). External markers – use and methodology in grazing studies. *Proc. Graz. Livest Nutr. Conf. Jackson, Wyoming, USA*. pp 49-54.
101. Proyecto Alimentación-Reproducción 2002. Conaprole. *Revista de difusión del área Producción Lechera y RR.CC*; (impreso en junio 2003).
102. Rabelo E, Razende RL, Bertics SJ and Grummer RR. (2003). Effects of transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and ruminal parameters of dairy cow. *J Dairy Sci*, 86:916-925.
103. Rajamehndran, E., Taylor, C. (1990). Characterization of ovarian activity in postpartum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim Reprod Sci*; 22:171-180.
104. Remond D, Meschy FR. (1996). Bovine metabolites, water and mineral exchanges across the rumen wall: mechanisms and regulation. *Ann Zootech*; 45:97-119.
105. Robinson PH, Moorby JM, Arana M, Hinders R, Graham T, Castelanelli L, Barney S. (2001). Influence of close-up dry period protein supplementation on productive and reproductive performance of Holstein cows in their subsequent lactation *J Dairy Sci*; 84:2273-2283.
106. Ropstad E, Larsen HJ, Refsdal AO. (1989). Immune function in dairy cow related balance and metabolic status in early lactation. *Acta Vet Scand*; 30:209-219.
107. Rowland, GJ. (1980). A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. *World Rev Nutr Diet*; 35:172-235.
108. Ryan G, Murphy JJ, Crosse S, Rath M. (2003) The effect of pre-calving diet on post-calving cow performance. *Livest Prod Sci* 79:61-71.
109. Senatore EM, Butler RW, Oltenacu PA. (1996). Relationships between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *Anim Sci*; 62:17-23.
110. Shappell NW, Herbein MH, Deftos LJ, Aiello RJ. (1987). Effects of dietary calcium and age on parathyroid hormone, calcitonin and serum and milk minerals in the periparturient dairy cow. *J Nutr*; 117:201-207.

111. Shrestha HK, Nakao T, Higaki T, Suzuki T, Akita M. (2004). Resumption of postpartum ovarian cyclicity in high-producing Holstein cows. *Theriogenology*; 61:637-679.
112. Slama H, Zaiem B, Chemli J, Tainturier D. (1996). Reprise de l'activité ovarienne en période postpartum chez la vache laitière. *Rev Med Vet*; 147:453-456.
113. Soder KJ, Holden LA. (1999). Use of anionic salts with grazing prepartum dairy cows, Dept of Dairy and Animal Science, The Penn State Univ, PA, USA.
114. Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. (1990). Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci*; 73:938-947.
115. Stevenson JS, Britt JH. (1979). Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weight and postpartum ovarian activity in Holsteins cows. *J Anim Sci*; 48:570-577.
116. Stockdale CR, Roche JR. (2002). A review of the energy and protein nutrition of dairy cows through their dry period and its impact on early lactation performance. *Aust J Agric Res*; 53:737-753.
117. Thatcher WW, Meyer MD, Dannet-Desnoyers G. (1995). Maternal recognition of pregnancy. *J Reprod Fertil (Suppl)*; 49:15-28.
118. Tilley JMA, Terry RA. (1963). A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of British Grassland Society* 18 (21) 104:111.
119. Vazquez-Añón M, Bertic S, Lucy M, Grummer RR. (1994). Peripartum liver triglycerides and plasma metabolites in dairy cows. *J Dairy Sci*; 77:1521-1528.
120. Van Saun RJ, Sniffen CJ. (1996). Nutritional management of the pregnant dairy cow to optimize health, lactation and reproductive performance. *Animal feed Sci Technol*; 59:13-26.
121. Verité R, Chilliard Y. (1992). Effect of age of dairy cows on body composition changes throughout the lactation cycle as measured with deuteriated water. *Ann Zootech*; 41:118.
122. Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT, Fogwell RL. (1988). Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 71:1063-1072.
123. Weiss WP. (1997). Nutrition and management of the periparturient cows. *Memorias Curso de Nutrición de ganado de leche. LANCE-97. San José, Costa Rica.*
124. Whitaker DA, Goodger WJ, Garcia M, Perera BMAO, Wittwer F. (1999). Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Prev Vet Med*; 38:119-131.
125. Whitaker DA, Smith EJ, Kelly JM. (1989). Milk production, weight changes and blood biochemical measurements in dairy receiving recombinant bovine somatotropin. *Vet Rec*; 124:83-86.
126. Whitaker, DA. (1983). Bovine Medicine-metabolic profiles. En: *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle*. Ed by A. H. Andrews. Blackwell Publishers, Hanover, Alemania. pp 1-17.