

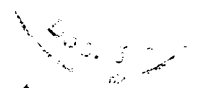
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**LA SEMILLA DE GIRASOL ENTERA COMO SUPLEMENTO PARA VACAS
LECHERAS EN PASTOREO DURANTE EL POSPARTO TEMPRANO: EFECTOS
SOBRE EL REINICIO DE LA CICLICIDAD OVÁRICA, Y SOBRE LA PRODUCCIÓN Y
COMPOSICIÓN DE LECHE**

Por

Ernesto ARTÍA FREITAS
Paola CASTRO GELBER
Fernando CLAVELL CABRERA



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
2007

058 TG

La semilla de

Artía Freitas, Ernesto



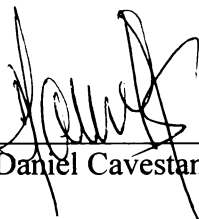
FV127246

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dra. Ana Meikle

Segundo Miembro (Tutor):



Dr. Daniel Cavestany

Tercer Miembro:

Dra. Cecilia Cajarville

Co-Tutor:

Ing. Agr. Alejandro La Manna

Fecha:

18 de mayo de 2007

Autores:

Ernesto Artía Freitas



Paola Castro Gelber

Fernando Clavell Cabrera

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Daniel Cavestany

A los Ing. Agr. Alejandro Mendoza y Alejandro La Manna, de INIA “La Estanzuela”

A Rosalía Macías, Gimena Moré, Ignacio Dodera y Christian Guedes

A la Dra. Daniela Crespi

A la familia López, del tambo de INIA “La Estanzuela”

Al Bq. Leonidas Carrasco

A los Dres. Gonzalo Uriarte y Ana Meikle

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	IV
<u>RESUMEN</u>	1
<u>SUMMARY</u>	1
<u>INTRODUCCIÓN</u>	2
<u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	4
CONSIDERACIONES GENERALES	4
EFICIENCIA REPRODUCTIVA	5
Nutrición y Reproducción	6
Eficiencia reproductiva y Balance Energético	6
Las tres fases de la reproducción en el posparto	8
Regulación de la actividad ovárica posparto	8
Actividad ovárica y metabolismo	10
GH, IGF-I e insulina	11
LA SUPLEMENTACIÓN GRASA EN VACAS LECHERAS	14
Efectos de la suplementación grasa sobre el BEN	16
Efectos de la suplementación grasa sobre la eficiencia reproductiva	17
Efectos sobre la secreción de gonadotrofinas, insulina, GH e IGF-I	18
Efectos a nivel ovárico:	20
Colesterol y progesterona	20
Estrógenos	22
Prostaglandinas	22
Efectos de la suplementación grasa sobre la producción y composición de leche	23
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	25
ANIMALES Y TRATAMIENTOS	25
ALIMENTACIÓN Y MANEJO PREPARTO	25
ALIMENTACIÓN Y MANEJO POSPARTO	25
DETERMINACIONES	28
En los animales:	28
Condición corporal	28
Peso corporal	28
Producción y composición de leche	28
Metabolitos	28
Dinámica folicular y hormonas reproductivas	29
Manejo de los servicios	29
Consumo	30
En los alimentos:	31
Disponibilidad de pastura	31
Valor nutritivo de los alimentos	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
<u>RESULTADOS</u>	33
CONSUMO	33

Consumo Total	33
Consumo de Energía Neta de Lactación (ENL)	34
Consumo de Proteína Cruda (PC)	34
Consumo de Extracto Etéreo (EE)	34
Consumo de pastura	34
Consumo de silo	35
CONDICIÓN CORPORAL	36
PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE	38
Producción de leche	38
Producción de leche corregida por grasa (LCG) al 4 %	39
Porcentaje de grasa en leche	39
Porcentaje de proteína en leche	40
PERFILES METABÓLICOS	41
Betahidroxibutirato (β HB)	41
Ácidos grasos no esterificados (NEFA)	43
Colesterol	44
Urea en plasma (PUN)	45
Glucosa	46
INDICADORES DE EFICIENCIA REPRODUCTIVA	47
Destino de la primera onda folicular posparto (POFP)	48
Intervalo Parto-Ovulación	49
IGF-I	49
Diámetro máximo del folículo dominante de la primera onda folicular posparto	49
Día máximo diámetro del folículo dominante de la primera onda folicular posparto	49
<u>DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</u>	50
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	55

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro I. Composición de los concentrados comerciales	26
Cuadro II. Descripción de la composición química de los alimentos concentrados utilizados	27
Cuadro III. Descripción de la composición química de los forrajes utilizados	27
Cuadro IV. Resumen de las técnicas analíticas usadas para determinar la concentración de metabolitos plasmáticos	29
Cuadro V. Resumen de las técnicas analíticas usadas para determinar la composición de los alimentos	32
Cuadro VI. Resultados de consumo de los alimentos ofrecidos	35
Cuadro VII. Resultados de variables productivas	36
Cuadro VIII. Producción de leche	38
Cuadro IX. Producción de leche corregida por grasa (LCG) al 4 %	39
Cuadro X. Porcentaje de grasa en leche	40
Cuadro XI. Resultados de perfiles metabólicos	41
Cuadro XII. Resultados de variables reproductivas	47
Cuadro XIII. Destino de la primera onda folicular posparto (POFP)	48
Cuadro XIV. Intervalo Parto-Ovulación	49
Figura 1. Evolución del consumo total	33
Figura 2. Evolución de la condición corporal (CC)	37
Figura 3. Concentraciones plasmáticas de betahidroxibutirato (β HB)	42
Figura 4. Concentraciones plasmáticas de ácidos grasos no esterificados (NEFA)	43
Figura 5. Concentraciones plasmáticas de colesterol	44
Figura 6. Concentraciones plasmáticas de urea (PUN)	45
Figura 7. Concentraciones plasmáticas de glucosa	46

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la suplementación con grasa poliinsaturada (GPI) durante la lactancia temprana sobre el destino de la primera onda folicular posparto (POFP) y el intervalo parto a primera ovulación (IPOV) de vacas lecheras primíparas o multíparas Holando, se estratificaron 48 animales según paridad (primíparas o multíparas), y dentro cada estrato fueron asignados al azar a uno de tres tratamientos: 0 (G0), 0,7 (G0.7) y 1,4 (G1.4) kg de semilla de girasol entera (SGE)/vaca/día. El experimento duró dos meses luego del parto y las dietas, que consistieron en pastoreo de praderas, ensilaje de trigo y concentrado, fueron diseñadas para ser isoenergéticas e isoproteicas (1,6 Mcal ENL/kg MS, 16,7% PC). Los ovarios se examinaron por ultrasonografía a partir del día 8 posparto hasta el momento de la primera ovulación. Mientras que en los tratamientos G0.7 y G1.4, 7/8 y 6/8 vacas primíparas ovularon durante la POFP, solo 1/8 lo hizo en el G0, mientras que no hubo diferencias en las vacas multíparas. El IPOV fue 43,9, 19,4 y 21,1 días para las vacas primíparas, y 21,4, 22,0 y 24,8 días para las multíparas, de los tratamientos G0, G0.7 y G1.4, respectivamente. La concentración plasmática de IGF-I y colesterol, que podrían vincular el consumo de GPI con la modulación de procesos reproductivos, no fueron afectados por la suplementación o la paridad, ni tampoco la condición corporal. El consumo de GPI en lactancia temprana bajo la forma de SGE aceleró el reinicio de la actividad ovárica posparto solamente en vacas primíparas, aunque no pudo establecerse el mecanismo preciso que explicara dicho resultado.

SUMMARY

To evaluate the effects of polyunsaturated fat (PUFA) supplementation during early lactation on the fate of the first follicular wave (FFW) and the interval from parturition to first ovulation (IPOV) of primiparous and multiparous Holstein cows, 48 animals were stratified according to parity (primiparous or multiparous) and within each stratum were randomly assigned to one of three treatments: 0 (G0), 0.7 (G0.7) and 1.4 (G1.4) kg of whole sunflower seeds (WSS)/cow/day. The experiment lasted two months after parturition, and the diets, which also consisted of pastures, wheat silage and commercial concentrate, were designed to be isoenergetic and isoproteic (1.6 Mcal NEL/kg MS, 16.7% CP). Ovaries were examined by ultrasonography from day 8 postpartum until first ovulation. While in treatments G0.7 and G1.4, 7/8 and 6/8 primiparous cows ovulated during the FFW after parturition, only 1/8 did it in G0, whereas no differences were detected in multiparous cows. IPOV was 43.9, 19.4 y 21.1 days for the primiparous cows and 21.4, 22.0 y 24.8 days for multiparous cows of treatments G0, G0.7 and G1.4, respectively. IGF-I and cholesterol plasma concentration, which could link fat supplementation with the modulation of reproductive processes, were not affected by WSS supplementation or parity, and either body condition score. PUFA supplementation as WSS hastened the resumption of ovarian cyclicity postpartum only in primiparous dairy cows, although the precise mechanism that explained this result could not be established.

INTRODUCCIÓN

La intensa selección genética en las vacas lecheras para aumentar su producción ha estado asociada con una disminución en la fertilidad (Butler y Smith, 1989; Darwash y col., 1999; Lucy y col., 2004). Una buena eficiencia reproductiva es necesaria para una producción de leche eficiente y por lo tanto tiene una importante influencia en las pérdidas económicas que afectan a varios tambos (Overton, 2006; Pryce y col., 2004). La misma depende de obtener una normal involución uterina posparto (PP), una temprana reanudación de la ciclicidad ovárica, una alta eficiencia en la detección de celos y un alto índice de concepción por servicio (Roche, 2006). Diversos estudios han examinado la ciclicidad ovárica de vacas lecheras modernas constatando un incremento en la incidencia de anestros PP (Lamming y col., 1998; Roche y col., 2000; Royal y col., 2000), la cual también ha sido identificada como una de las principales limitantes reproductivas en nuestros sistemas de producción de leche (Cavestany y Galina, 2001b; Ibarra, 2002).

La nutrición, a través del balance energético, tiene un importante impacto en la fertilidad de las vacas lecheras debido a su efecto en el reinicio de la actividad ovárica PP (Miettinen, 1990). Durante la lactancia temprana el costo energético de maximizar la producción de leche es mucho mayor que la energía consumida, resultando en un período a veces prolongado de balance energético negativo (BEN). Hay muchos cambios metabólicos y endócrinos asociados con el BEN de las vacas en el periparto, los cuales están implicados en los bajos desempeños reproductivos. Este momento es crítico porque, dependiendo de su severidad, las vacas sufren desórdenes metabólicos y reproductivos, los que pueden tener prolongados efectos en la futura eficiencia reproductiva (Jorritsma y col., 2003; Zulu y col., 2002). El BEN está directamente relacionado al intervalo parto a ovulación de las vacas lecheras (Butler y Smith, 1989; Butler y col., 1981; Canfield y Butler, 1990; Lucy y col., 2004; Staples y col., 1990).

La reanudación temprana de los ciclos estrales ovulatorios luego del parto está asociada con mejoras en la fertilidad de las vacas lecheras (Butler, 2003; Butler y col., 2004; Darwash y col., 1997; Westwood y col., 2002). La primera ovulación luego del parto determina el número y la duración de los ciclos estrales antes de que comience el período de servicios. Cuanto mayor sea el número de ciclos normales durante el PP mayor es la probabilidad de concepción al primer servicio (Cavestany y col., 2001; Lucy y col., 1992a; Martínez y Sánchez, 1999; Roche y Diskin, 2005a; Thatcher y Wilcox, 1973). Dado que el desarrollo de un folículo dominante (FD) no es un factor limitante en la reanudación de los ciclos ováricos PP, la función (capacidad esteroidogénica) y el destino del primer FD durante el BEN se ha tornado en un importante aspecto de investigación (Beam y Butler, 1999). El BEN en la lactancia temprana no afecta la población folicular o el comienzo del crecimiento del FD, pero si afecta la ovulación del primer folículo dominante PP (Beam y Butler, 1997). Las vacas que están movilizando reservas corporales a un gran ritmo tienen altas concentraciones en sangre de NEFA, BHB y triacilgliceroles, pero bajas concentraciones de insulina, glucosa e IGF-I (Grummer y col., 2004). Las consecuencias de estos cambios metabólicos en el eje de la reproducción son una disminución en la frecuencia de pulsos de LH y una disminución en la producción de estrógenos por el FD, resultando en su atresia más que en su ovulación (Diskin y col., 2003); por ende la mayoría de los primeros folículos dominantes PP fracasan en ovular resultando en un aumento de la incidencia de anestros en el período de PP temprano.

Manejos nutricionales diferentes al tradicional durante el período de transición (3 semanas antes y 3 semanas después del parto) pueden contribuir a mejorar la eficiencia reproductiva de las vacas (Meikle y col., 2005). Recientemente ha habido un gran interés en suplementar con grasa a las vacas lecheras para aumentar la densidad energética de la dieta y mejorar la reproducción. Las vacas alimentadas con grasa adicional pueden experimentar mejoras en el BE y comienzan a ciclar más temprano debido a un mejor crecimiento y desarrollo folicular (Grummer y Carroll, 1991), y esto puede ser debido a un mecanismo independiente del de la energía adicional aportada por la grasa (Lucy y col., 1992b; Staples y Thatcher, 2001). Este mecanismo parece estar relacionado al perfil de ácidos grasos de la fuente de grasa suplementada (Block, 2004; Staples y col., 1998), aunque los mecanismos por los que los lípidos pueden influir sobre los índices reproductivos no han sido elucidados (Thatcher y col., 2004). Algunos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son nutrientes esenciales y necesitan ser incluidos en la dieta porque no pueden ser producidos de forma endógena. Hay dos familias principales de ácidos grasos esenciales: los $\Omega 3$ y los $\Omega 6$. La semilla de girasol contiene más del 65% de ácido linoleico (C18:2n-6) entre sus ácidos grasos, el cual es la principal fuente de ácidos grasos $\Omega 6$ de la dieta.

Los ácidos grasos insaturados (específicamente linoleico y linolénico), pueden alterar la funcionalidad reproductiva y la fertilidad al actuar sobre tejidos reproductivos blanco (Thatcher y col., 2004). Las mejoras en la performance reproductiva involucran la estimulación de la funcionalidad ovárica en el período PP (Hightshoe y col., 1991; Lucy y col., 1991b; Staples y col., 1998) y mejoras en los índices de preñez posiblemente provocados por una mayor producción y/o a una disminución del “clearance” de progesterona (Hawkins y col., 1995; Thatcher y col., 2004). La suplementación grasa podría alterar la sensibilidad ovárica a hormonas metabólicas como: la somatotrofina (GH), el factor de crecimiento insulinosímil-I (IGF-I) y gonadotrofinas (LH y FSH), provocando cambios en la dinámica folicular (Thatcher y col., 2004). Los efectos de la suplementación grasa sobre la performance reproductiva han sido atribuidos a una cascada de eventos que cambian los patrones de fermentación ruminal, elevan la síntesis de lipoproteínas de colesterol, incrementan la secreción de esteroides ováricos, modifican las concentraciones circulantes de insulina y GH, aumentan la síntesis o acumulación de IGF-I en las células ováricas y disminuyen la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ en el útero (Grummer y Carroll, 1991; Mattos y col., 2002; Staples y col., 1998; Williams y Stanko, 1999).

La mayor parte de la información sobre suplementación grasa en vacas lecheras se ha generado en condiciones de estabulación. Por lo tanto, con el objetivo de generar información sobre la utilización de una fuente de grasa poliinsaturada en nuestros sistemas de producción de leche, se realizó un ensayo en el que se compararon tres niveles de semilla de girasol entera para evaluar sus efectos sobre el destino de la primera onda folicular posparto y el intervalo parto-primer ovulación en vacas primíparas y multíparas en pastoreo durante el posparto temprano, consumiendo dietas isoenergéticas e isoproteicas. También se evaluó sus efectos sobre: el consumo de materia seca, la condición corporal, los perfiles metabólicos, la concentración plasmática de la hormona IGF-I y sobre la producción y composición de leche.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CONSIDERACIONES GENERALES

La producción de leche en Uruguay ha tenido un sostenido crecimiento en cuanto a volumen de litros producidos por año (374 millones de litros/año más en el ejercicio 2004-2005 con respecto a la del ejercicio 1997-1998) y en cuanto a la producción individual por vaca en ordeño (2054 litros/año en 1998 vs. 2810 litros/año en el 2005). Asimismo, se presenta una marcada tendencia a la desaparición de productores remitentes con superficies de explotación menores a 50 hectáreas (aproximadamente 400 productores menos en los últimos 10 años); también se observa un menor número de hectáreas dedicadas a este tipo de explotación y un mayor porcentaje de pasturas mejoradas lo que demuestra una intensificación constante y sostenida del sector (MGAP-DIEA, en base a información de DICOSE correspondiente al cierre de cada ejercicio, 30 de junio, www.mgap.gub.uy).

En Uruguay los sistemas de producción de leche se basan en el pastoreo directo de pasturas de gramíneas y leguminosas, anuales y perennes, sembradas puras o en mezcla. La producción de leche acompaña la curva de oferta de pasturas lo cual determina que la misma no resulte uniforme a lo largo del año (Chilibroste, 2003, comunicación personal). Si bien las vacas pastorean durante todo el año, la disponibilidad de forraje durante otoño e invierno disminuye debido a la menor tasa de crecimiento de las pasturas en estas estaciones y porque en muchos casos las pasturas anuales invernales aún no se han sembrado (Ernst, 2004) o no han acumulado suficiente biomasa que permita un adecuado pastoreo (Chilibroste y col., 2002). Se ha registrado un aumento del consumo de concentrados y reservas forrajeras, pero la base del sistema de alimentación sigue siendo pastoril (Chilibroste y col., 2002). Alrededor del 50% de las vacas paren durante el otoño y comienzo del invierno (Oleggini, 2002), lo que implica que para un elevado número de animales el comienzo de la lactancia transcurra durante el momento de mayor restricción de la oferta forrajera. En los sistemas pastoriles, los animales deben hacer frente a esta demanda en un ambiente en el que la búsqueda y cosecha de forraje suponen un costo energético extra y en donde el consumo de energía puede ser limitante para permitir un pronto reinicio de la ciclicidad ovárica PP, particularmente en vacas primíparas (Meikle y col., 2004).

Un buen manejo reproductivo es fundamental para maximizar la producción de leche y es clave en el crecimiento productivo de nuestra lechería (Ibarra, 2005). El reinicio de la ciclicidad ovárica PP es una limitante para mejorar nuestros indicadores reproductivos, especialmente en las vacas de primera lactancia que demoran casi 50 días más que las múltiparas en volver a servirse en el PP (Meikle y col., 2004). Estudios realizados en Uruguay, han demostrado que el intervalo parto a primer servicio fue de más de 100 días y el intervalo parto a concepción de más de 130 días. El porcentaje de detección de celos (celos detectados/animales a inseminar en 21 días) es inferior al 40% (Cavestany y Galina, 2001a) y el porcentaje de anestro de 12.5%, dentro del cual las vacas de primer parto aportan un 82% (Cavestany y Galina, 2001b).

EFICIENCIA REPRODUCTIVA

La causa de la baja fertilidad en las vacas lecheras modernas es multifactorial, incluyendo: el progreso genético, la inadecuada nutrición, el pobre manejo reproductivo, un aumento en la incidencia de patologías y un pobre bienestar animal (Lucy, 2001). Se está tornando cada vez más claro que un buen manejo reproductivo depende de la atención adecuada en una óptima nutrición para la vaca, cuyos requerimientos nutricionales varían dependiendo del estado fisiológico y de las demandas específicas de nutrientes para prevenir los desórdenes metabólicos del período del parto (Boland y col., 2001; Overton y Waldron, 2004). Por lo tanto, un manejo exitoso de las vacas lecheras en lactancia necesita integrar disciplinas como reproducción y nutrición con programas de salud PP del rodeo para optimizar la producción de leche y la eficiencia reproductiva (Thatcher y col., 2004).

En los últimos años hemos asistido a una creciente producción de leche por vaca debido a las mejoras conseguidas en:

- la formulación de las raciones,
- en la conservación de forrajes,
- en el manejo de la alimentación,
- el incremento del potencial genético de producción de los rodeos y
- a un desarrollo tecnológico significativo en diferentes aspectos de la gestión productiva.

Por desgracia, estos avances se han visto parcialmente eclipsados por un reducción paralela en la eficiencia reproductiva, un fenómeno que ha generado interés universal (Diskin y col., 1999; Martínez y Sánchez, 1999). La intensa selección genética de las vacas lecheras para aumentar la producción de leche ha estado asociada con un recíproco cambio en la eficiencia reproductiva (Butler y Smith, 1989; Darwash y col., 1999). Ha habido una firme tendencia a disminuir los índices de concepción en vacas lecheras en algunos países durante los pasados 30 años en conjunto a los incrementos en la producción de leche (Beam y Butler, 1999; Lamming y col., 1998). Una alta eficiencia reproductiva es necesaria para una producción de leche eficiente y esto, por lo tanto, tiene una influencia importante en la rentabilidad del tambo (Pryce y col., 2004). Es un componente clave para una producción eficiente y para la rentabilidad de los sistemas de producción de leche o de carne. Sin embargo, la eficiencia reproductiva en vacas lecheras está declinando lo que afecta la rentabilidad de los tambos debido a:

- *largos intervalos inter-parto*: resultan en menos leche y menor número de terneros cada año;
- *bajas tasas de concepción*: aumentan los costos de semen y gastos veterinarios;
- *largos intervalos parto-concepción*: aquellas vacas que se preñan tarde, pasan un tiempo desproporcionado de su lactación a niveles productivos bajos, provocando costos por una producción potencial marginal por debajo de la deseada (Overton, 2006);
- *aumento del descarte debido a fallas reproductivas*: reduce el progreso genético y aumenta los costos de reemplazos. El refugio de vacas que no se preñan, cuando su producción disminuye por debajo de los niveles económicamente convenientes, obliga al reemplazo de un animal, a pesar que esté sano (Overton, 2006);
- *un largo período seco o de baja producción* puede resultar en vacas con un estado corporal excesivo con los subsiguientes problemas reproductivos.

Nutrición y reproducción

Los requerimientos clave para lograr una alta eficiencia reproductiva son los siguientes (Roche y Diskin, 2005a):

- una involución uterina normal,
- un rápido retorno a la ciclicidad,
- una alta eficiencia en la detección de celos y
- una alta tasa de concepción por servicio.

Dejando a un lado los problemas propiamente reproductivos y ambientales (patologías asociadas, tasa de detección de celos, capacidad del inseminador y calidad del semen usado, estrés por calor, etc.), existen aspectos de la nutrición de las vacas que pueden influir positiva o negativamente en la reproducción (Martínez y Sánchez, 1999). La nutrición puede afectar: el comienzo de la pubertad, la dinámica del ciclo estral, la incidencia de problemas ginecológicos PP, el intervalo a la primera ovulación y la tasa de concepción. Por ende, es un componente vital de un buen programa de manejo reproductivo para obtener una alta eficiencia reproductiva en vacas (Roche y Diskin, 2005a).

Los nutrientes, componentes básicos de los alimentos, que afectan directa o indirectamente a la capacidad reproductiva son a grandes rasgos: energía, grasa, proteína, vitaminas y minerales. Las vías por las cuales los nutrientes se relacionan con la reproducción son:

- metabólica: aportando precursores o intermediarios necesarios (ej. grasa → P₄)
- hormonal: estimulando los mecanismos hormonales a diferentes niveles (ej. energía → gonadotrofinas)

Ambas vías están estrechamente unidas y a través de ellas la alimentación puede ejercer su influencia positiva o negativa en los resultados reproductivos (Martínez y Sánchez, 1999). No existen nutrientes específicamente requeridos para la reproducción que no sean requeridos para las otras funciones fisiológicas normales en el animal y por ende, es difícil de determinar las funciones específicas y los mecanismos por los cuales la nutrición afecta la función reproductiva (Roche y Diskin, 2005a).

Eficiencia reproductiva y balance energético

Aunque la eficiencia reproductiva disminuida ha sido asociada con altas producciones de leche, el retraso en el reinicio de la ciclicidad ovárica PP estaría determinada por el balance energético negativo (BEN) (Butler y Smith, 1989; Lucy y col., 2004; Miettinen, 1990). La relación entre el BE y la actividad reproductiva PP se refleja por largos intervalos a la primera ovulación en las vacas con mayores pérdidas de condición corporal (CC) (Beam y Butler, 1999). El lograr un consumo elevado en energía para sacar a las vacas del balance energético negativo decreciente lo más pronto posible en el PP, es crítico para la producción de leche y la eficiencia reproductiva. (Thatcher y col., 2004). Al inicio de la lactancia la vaca lechera debe ajustar su consumo, su jerarquización de nutrientes y su actividad metabólica de manera de satisfacer los requerimientos de la glándula mamaria que representan más de 2 veces los requerimientos de todos los otros sistemas corporales juntos (Nielsen y Riis, 1993). Esto refleja el riesgo metabólico al que está expuesta y la importancia de la nutrición para enfrentar adecuadamente este desafío. Luego del parto la mayoría de las vacas lecheras de alta producción entran en un período de BEN que puede durar por muchas semanas, el cual es controlado movilizandando grasa de reserva. La severidad del

BEN para cada vaca dependerá de su potencial genético de producción, de las reservas corporales disponibles y de la dieta ofrecida (Ingvarsen y col., 1999). Ésta es una condición en la que los requerimientos de energía para mantenimiento y producción de leche exceden al consumo de energía utilizable. El incremento en la demanda de las vacas por nutrientes antes y justo después del parto son del orden de: tres veces para la glucosa, dos veces para los aminoácidos, cinco veces para ácidos grasos y cuatro veces para calcio (Roche y Diskin, 2005a). Esto resulta en un período de movilización rápida de grasa y a veces de proteína en el periodo de PP temprano. Las vacas pueden perder en la lactancia temprana de 50 a 70 kg de peso corporal, y entre 30 y 40% de sus reservas lipídicas de las que tenían al parto (Chilliard y col., 2000; Roche y Diskin, 2005a), resultando en una rápida disminución del estado corporal y pérdida de peso. Se ha encontrado que las vacas lecheras en condiciones pastoriles pierden entre 0.5 y 1 punto de CC en el mes previo al parto (Cavestany y col., 2005) y que la CC al parto está asociada a la primera ovulación PP (Meikle y col., 2004). El BEN es crítico porque dependiendo de su severidad las vacas sufren desórdenes metabólicos y reproductivos, los que pueden tener prolongados efectos en la futura eficiencia reproductiva (Zulu y col., 2002), ya que los procesos reproductivos tienen una menor prioridad (referido a la energía disponible) respecto a la producción de leche (Liefers y col., 2003).

Está comprobado que esta movilización de reservas energéticas corporales es básicamente una respuesta al déficit en el consumo de energía relativo a la energía requerida para producción de leche. Esto implica que aumentando el contenido energético de la dieta ofrecida, disminuiría la movilización energética corporal en la lactancia temprana. Pero hay una serie de estudios que indican que éste no es siempre el caso (Gagliostro y Chilliard, 1991; Grummer y col., 1995). En un estudio de Friggens y col. (2004) se observó que la movilización de reservas corporales en la lactancia temprana, y la subsiguiente recuperación de reservas durante la preñez, están dirigidas genéticamente. Visto de este modo, la movilización de reservas corporales no es una respuesta sino que un componente natural del ciclo reproductivo.

Está generalmente aceptado que el BE en general más que el consumo de algún nutriente específico (carbohidratos, lípidos o proteínas) es el principal regulador de la función reproductiva (Butler y Smith, 1989; I'Anson y col., 1991; Roche y Diskin, 2005a). Una asociación negativa entre el BE y el anestro PP prolongado está bien establecida para vacas lecheras (Butler y col., 1981; Canfield y Butler, 1990; Staples y col., 1990). Butler y Smith (1989) encontraron que el BEN está directamente relacionado con el intervalo PP a la ciclicidad estral de vacas lecheras. Las mejoras a partir del "nadir" del BEN (punto más bajo del BEN) están correlacionadas con mejoras en la función folicular y un menor intervalo a la primera ovulación PP. Estas observaciones son consistentes con incrementos en la frecuencia de pulsos de LH luego del "nadir" de BE en vacas lecheras (Beam y Butler, 1999). Hay muchos cambios metabólicos y endócrinos asociados al BEN de las vacas en el periparto, los cuales están implicados en las bajas eficiencias reproductivas. En el PP temprano las concentraciones sanguíneas de metabolitos tales como: NEFA, β Hb y triglicéridos aumentan en sangre (Butler, 2003; Diskin y col., 2003; Grummer y col., 2004; Roche, 2006). Ese período crítico es análogo a una subnutrición aguda y resulta en una disminución de la glucosa, insulina y en un hígado refractario a la hormona de crecimiento o somatotrofina (GH) resultando en una disminución de la concentración de IGF-I (factor de crecimiento insulinosímil-I) (Grummer y col., 2004; Roche, 2006; Roche y Diskin, 2005a). Las consecuencias de estos cambios metabólicos en el eje reproductivo son una disminución en la frecuencia de los pulsos de LH y una disminución en la producción de estrógeno por el folículo dominante (FD). Esto trae como resultado la atresia del FD más que su ovulación a causa de la carencia de estrógeno

suficiente para un feedback positivo que provoque los picos preovulatorios de GnRH y LH/FSH (Butler, 2003; Diskin y col., 2003). Por ende la mayoría de los primeros folículos dominantes PP fracasan en ovular resultando en un aumento de la incidencia de anestros en el período de PP temprano (Roche y Diskin, 2005a).

Las tres fases de la reproducción en el posparto

La primera etapa es la recuperación del hipotálamo y de la hipófisis de los efectos de la preñez previa. Durante la preñez tardía los niveles de progesterona (P_4) se encuentran muy elevados, y si bien el desarrollo folicular continúa, no existe crecimiento y desarrollo de folículos de tamaño ovulatorio (Lucy, 2003). La clave para que estos folículos recuperen su capacidad de madurar y ovular es recuperar el soporte normal de la LH. La pulsatilidad de la LH está influenciada por varios factores los que incluyen: el balance entre la P_4 y el estradiol (E_2), así como la estimulación de la hipófisis anterior por la hormona liberadora de gonadotropinas del hipotálamo (GnRH). Normalmente las vacas lecheras recuperan la pulsatilidad y el pico de liberación de LH dentro de las 2-3 semanas PP (Lucy, 2003). Sin embargo un BEN severo, el amamantamiento, infecciones bacterianas como la metritis y el estrés calórico, pueden todos alterar la liberación normal de LH desde la hipófisis anterior y frenar el crecimiento folicular a su capacidad ovulatoria y en última instancia, la ovulación en sí (Beam y Butler, 1999). La incapacidad de desarrollar folículos hasta su capacidad ovulatoria, y por lo tanto la incapacidad de ovular, así como la incapacidad de mostrar celo son llamados “anestros anovulatorios”. Éstos, pueden llevar a largos períodos al primer servicio posparto, bajas probabilidades de concepción al primer servicio y por lo tanto a intervalos parto-concepción largos. Parte del problema con los anestros anovulatorios es la baja concentración de insulina PP (Lucy, 2003). Teóricamente, todas las vacas lecheras lactantes experimentan cierto grado de BEN debido a una gran desviación de nutrientes, fundamentalmente energía, hacia la leche comparada con la ingesta diaria de nutrientes desde los alimentos. Estas vacas comienzan la transición desde el anestro anovulatorio hacia la ciclicidad una vez que llegan al “nadir” del BEN (Lucy, 2003). Una vez que las vacas llegan a este “nadir” y luego comienzan a cerrar el espacio existente entre la demanda y el consumo de energía, los niveles de insulina y de IGF-I aumentan y el soporte endocrino de la GnRH se restaura (Lucy, 2003). La clave es por lo tanto, limitar tanto la duración como la severidad del BEN.

La segunda fase es la involución uterina. Es rápida y se completa entre los días 30 y 40 PP. Este tiempo coincide con la recuperación completa de la fertilidad de las vacas PP. Esto no es considerado como una limitante en la reproducción porque la mayoría de las vacas son inseminadas entre los días 40 y 80 PP cuando el proceso de involución uterina ya está concluido (Lucy, 2003).

La última etapa corresponde a la recuperación de la actividad ovárica PP. Los ovarios contribuyen al control hormonal del ciclo estral y de la preñez. Pero éstos no trabajan de forma independiente al hipotálamo, la hipófisis o el útero. Cada una de estas estructuras debe estar coordinada para obtener un resultado reproductivo favorable.

Regulación de la actividad ovárica posparto

Luego del parto hay un aumento en las concentraciones de FSH lo que resulta en la emergencia de la primera onda folicular 2 a 3 días luego del parto (Crowe y col., 1998; McDougall y col., 1995). El aumento de la FSH resulta en la emergencia de folículos estrógeno-activos de 3 a 5 mm que producen concentraciones crecientes de estrógeno e inhibina. Estas dos hormonas tienen un efecto

de retroalimentación negativa sobre la FSH. Esta disminución en la FSH resulta en la supresión de los folículos antrales crecientes, los que sufren atresia, excepto uno. El folículo antral más grande continúa creciendo, produciendo estrógeno y se torna en un FD debido al incremento del número de receptores de LH en las células de la granulosa y continúa la producción de IGF-I debido a la presencia de proteasas de la proteína de conjugación IGF (Fortune y col., 2004). El destino del FD depende ahora de la frecuencia pulsátil de la LH. Una baja frecuencia en los pulsos de LH (un pulso cada 3-4 horas) resulta en la atresia del FD debido a un apoyo insuficiente de LH. Una frecuencia pulsátil de LH de uno por hora resulta en una producción continua de estrógeno y en la inducción de picos preovulatorios de GnRH, LH y FSH; y de aquí que el FD ovula (Roche y Diskin, 2005b).

Beam y Butler (1999) describieron tres patrones distintos de desarrollo folicular basados en el destino de la primera onda folicular dominante PP para vacas lecheras:

- ovulación del FD estrógeno-activo durante la primera onda folicular PP;
- desarrollo de una primera onda folicular anovulatoria de un FD no estrógeno-activo, seguido de ondas adicionales de desarrollo folicular anovulatorias hasta que la primera ovulación PP ocurra;
- desarrollo de una primera onda de un FD estrógeno-activo el que forma un quiste folicular.

El crecimiento folicular surge en los primeros 10 días PP, tanto en vacas lecheras (Savio y col., 1990) como de carne (Stagg y col., 1995) y el fracaso de la ovulación más que la inexistencia de un FD es el responsable de anestros PP prolongados. La reanudación temprana de los ciclos estrales ovulatorios luego del parto está asociada con mejoras en la fertilidad de las vacas lecheras (Butler, 2003; Darwash y col., 1997; Westwood y col., 2002). Prolongados períodos anovulatorios luego del parto tienen un impacto negativo en la fertilidad de las vacas lecheras (Butler y col., 2004). Butler y col. (2004), indican que la actividad folicular durante el PP temprano está caracterizada por una gran incidencia de FDs que parecen crecer hasta un tamaño normal pero tienen comprometida su capacidad de síntesis de estradiol (Beam y Butler, 1997 y 1998). Esto resulta en un porcentaje dispar de folículos que se atresian (>40%) en vez de ovular (Beam y Butler, 1999; Roche y Diskin, 2005a). La capacidad del FD para producir estrógeno, estimular el pico de LH y ovular depende de la frecuencia de pulsos de LH durante el crecimiento folicular y las concentraciones circulantes de insulina e IGF-I, las que actúan sinérgicamente con las gonadotropinas para estimular la esteroidogénesis (Beam y Butler, 1999).

El balance energético durante el PP temprano, cuando las deficiencias son por lo general mayores, aparentemente no afecta las poblaciones de folículos de 3 a 5 o de 6 a 9 mm presentes en los ovarios tanto al día 8 (Beam y Butler, 1997) como al día 25 PP (Richards y col., 1989), o el momento de desarrollo de la primera onda folicular PP. Más aún, estos resultados sugieren que el BEN en la lactancia temprana no afecta la población folicular o el tiempo de comienzo de crecimiento del FD, pero sí afecta la ovulación del primer FD. Existe información (Beam y Butler, 1997) de que los folículos dominantes que emergen luego del “nadir” del BEN, tienen tasas de crecimiento más rápidas, diámetros mayores y mayor producción de estrógeno y son, por ende, más propensos a ovular. Es probable que estos cambios en la tasa de crecimiento folicular, diámetro máximo y producción esteroidea sean debidos a un aumento en la frecuencia de pulsos de LH, la que también aumenta luego de haber alcanzado el “nadir” del BEN, más que debido al efecto directo de mejoras en el BE. Por ende, la nutrición puede afectar la secreción de LH mucho más de lo que lo hace con la de FSH (Roche y Diskin, 2005a).

La primera ovulación luego del parto determina el número y la duración de los ciclos estrales antes de que comience el período de servicios. Cuanto mayor sea el número de ciclos durante el PP mayor es la probabilidad de concepción al primer servicio (Cavestany y col., 2001; Lucy y col., 1992a; Roche y Diskin, 2005a; Thatcher y Wilcox, 1973). El momento en que ocurre la primera ovulación determina el número de ciclos estrales para unos determinados días abiertos, por lo tanto cuanto más temprano en el PP ocurra la primera ovulación habrá mayor número de ciclos y mayores posibilidades de lograr que la vaca quede preñada dentro de ese período. Son las vacas de peor recuperación del consumo en el PP o las de mayor BEN las que tienen mayor número de días abiertos (Martínez y Sánchez, 1999). Debido a que el costo energético requerido para el crecimiento folicular, fertilización del óvulo e implantación del embrión es ínfimo comparado con las necesidades de producción de leche y mantenimiento del organismo, se deduce que el problema no es una carencia de energía para los gastos reproductivos sino que, más bien el estado energético repercutirá en la concentración de metabolitos y en la concentración y actividad de las hormonas metabólicas y reproductivas (Martínez y Sánchez, 1999). Por ende, es importante tener vacas que vuelvan a ciclar 30 a 40 días PP, teniendo vacas al parto con una CC de 2,75-3, evitando una rápida caída de la CC, minimizándola a una pérdida de 0.5 puntos antes del primer servicio (Overton y Waldron, 2004; Roche y Diskin, 2005a). Las que pierden 1 punto o más de CC tienen un período PP a la primera ovulación más largo (Roche, 2006). Es más probable que las vacas que paren con baja CC (< 2.5) puedan tener un prolongado período de anestro debido presumiblemente a una baja frecuencia de pulsos de LH y subsiguiente baja concentración de estrógenos, los que son inefectivos para inducir el pico de LH y la ovulación. Las vacas con pobre CC luego del parto tienen menor diámetro del FD, baja concentración de insulina e IGF-I y baja frecuencia de pulsos de LH (Roche, 2006).

Por lo tanto, el BE durante las primeras 3 o 4 semanas PP ha sido correlacionado con el intervalo a la primera ovulación (Beam y Butler, 1998; Lucy y col., 1991a). En adición a la influencia del nivel del BEN durante las primeras semanas PP, la recuperación del BE diario de su valor más negativo (“nadir”) parece brindar una importante señal para el inicio de la actividad cíclica ovárica. El número de días al nadir está correlacionado positivamente con el número de días a la primera ovulación (Beam y Butler, 1997; Canfield y Butler, 1990; Canfield y col., 1990). En las vacas lecheras modernas, el promedio de días a la primera ovulación es de aproximadamente 25 a 30 días PP, con un rango típico de 17 a 42 días (Butler y Smith, 1989). El destino del FD de la primera onda folicular PP tiene un impacto significativo en el intervalo PP anovulatorio (Beam y Butler, 1997). La regresión del FD de la primera onda o la formación de un quiste folicular resultan en un similar prolongado intervalo a la primera ovulación PP (51 y 48 días respectivamente), comparado con el de las vacas que ovulan su primer FD (20 días) (Beam y Butler, 1997). El promedio de duración del período anovulatorio en vacas con primer FD anovulatorio (no quístico) es de 40 días, indicando que la mayoría de las vacas cuya ovulación temprana falla está seguida por el desarrollo de ondas adicionales de folículos anovulatorios antes de que se logre la primera ovulación (Beam y Butler, 1999).

Actividad ovárica y metabolismo

Los estudios sobre las señales metabólicas que regulan la actividad ovárica se han concentrado principalmente en los metabolitos y las hormonas metabólicas que fluctúan durante estados metabólicos alterados. Los cambios en las hormonas metabólicas son dinámicos en el PP de las vacas y reflejan el estado metabólico cambiante del animal. Se ha sugerido que las señales

endocrinas que informan al eje reproductivo respecto del BE son: insulina, IGF-I y leptina (Butler, 2003). Las concentraciones de IGF-I, insulina y leptina disminuyen luego del parto (Block y col., 2001; Butler, 2000; Lucy, 2000). La insulina e IGF-I gradualmente aumentan en el PP, mientras que la leptina permanece baja en vacas en lactación. Las concentraciones de IGF-I, insulina y leptina son mayores en vacas en BE positivo. Vacas en BEN y vacas seleccionadas para producción de leche tienen menores concentraciones de insulina e IGF-I (Gong, 2002; Snijders y col., 2001). Estas hormonas, que son controladas metabólicamente, pueden influenciar la secreción de GnRH y LH. Su acción puede ser sobre las neuronas productoras de GnRH o sobre sus axones en la hipófisis (Adam y col., 2000; Williams y col., 2002). El control hormonal viene desde los tejidos que responden al estado nutricional o metabólico del animal (insulina del páncreas, IGF-I del hígado y leptina del tejido adiposo). También otros metabolitos (por ej. glucosa, ácidos grasos) y otras hormonas podrían estar involucrados. Los mismos metabolitos y hormonas que influyen la secreción de GnRH, y finalmente de LH y FSH, pueden actuar directamente sobre el ovario para influenciar su sensibilidad a la LH y FSH (Lucy, 2003). Las vacas que están nutricionalmente comprometidas tienen las concentraciones de metabolitos alteradas y menor concentración de hormonas metabólicas en sangre (Gong, 2002; Snijders y col., 2001). La baja concentración de hormonas metabólicas teóricamente disminuye la respuesta ovárica a las gonadotropinas. Al mismo tiempo, las vacas PP tienen menor concentración en sangre de LH, en parte por los efectos de hormonas metabólicas sobre la secreción de GnRH en el hipotálamo. Por lo tanto, los efectos de la nutrición sobre la reproducción se manifiestan en el ovario, la hipófisis e hipotálamo (Lucy, 2003). Al superar una limitante puede no necesariamente recuperarse la función ovárica. La duración del período de anestro PP depende del amamantamiento (vacas de carne), del estado corporal (vacas de carne y leche) y de la intensidad del BEN (factor fundamental en vacas de leche en el PP) (Lucy, 2003). Hipotéticamente los mecanismos que aumentan la pulsatilidad de LH a través de sus acciones sobre el hipotálamo e hipófisis también coordinan una respuesta aumentada del ovario a la LH. Por ejemplo, la pulsatilidad de LH aumenta en las vacas durante el PP; las concentraciones sanguíneas de insulina e IGF-I aumentan también (Butler, 2000; Lucy, 2000), por lo tanto hay una serie de eventos coordinados para promover el crecimiento folicular y eventualmente la ovulación.

GH, IGF-I e insulina

Luego del parto, debido al BEN, las concentraciones de GH aumentan lo cual induce la lipólisis y suprime la respuesta de los tejidos periféricos a la insulina. La GH alta induce un estado catabólico y resulta en pérdidas de CC y peso de las vacas (Lucy, 2003). También hay disminución en la sensibilidad hepática a la GH (disminuye el número y la sensibilidad de los receptores para la GH), lo cual resulta en la disminución de las concentraciones de IGF-I a pesar del aumento de las concentraciones de GH en el período de PP temprano (Lucy, 2001; Vandehaar y col., 1995). Esta disminución en la IGF-I es un importante indicador del status nutricional al eje hipotálamo-hipófisis-ovariano en el período de PP temprano.

El mecanismo por el cual el BEN afecta la fertilidad de las vacas lecheras no está claro. En términos generales la información es consistente con una interpretación basada en un efecto del eje somatotrófico (GH, IGF-I, insulina) sobre la folículo-genesis y el desarrollo embrionario (Webb y col., 1999). El BEN genera una caída en los niveles de IGF-I e insulina que actúan modulando la sensibilidad de los folículos a las hormonas gonadotróficas. Asimismo, aumentan los niveles de algunas IGFBPs (IGF "binding proteins") que podrían disminuir aún más la biodisponibilidad de

esta molécula (Cox, 1999). Las IGFs son producidas principalmente por el hígado, pero también por otros órganos (D'Ercole y col., 1996; Thissen y col., 1994). La GH es la influencia endocrina dominante en la producción hepática y en las concentraciones circulantes de IGFs, especialmente de la IGF-I que es 100% dependiente de la GH. Una vez liberada del hígado, la IGF-I tiene funciones endocrinas viajando por la sangre para actuar en tejidos distantes incluyendo los del tracto reproductivo. La IGF-I es el factor que indica el status nutricional al eje reproductivo y la valoración de la IGF-I en sangre en el PP temprano durante el período de BEN podría ser usado para predecir el status nutricional y reproductivo de las vacas lecheras. Juega un importante rol en la inducción gonadotrópica de la foliculogénesis, de la esteroidogénesis ovárica y de la función del CL. También modula la función de la hipófisis y del hipotálamo (Zulu y col., 2002). Las concentraciones plasmáticas de IGF-I están asociadas positivamente con las concentraciones circulantes de glucosa e insulina, con el peso y CC, y están asociadas negativamente con las concentraciones plasmáticas de NEFA y cuerpos cetónicos (Nishimura y col., 2000; Rutter y col., 1989). Muchos estudios han mostrado que los niveles de IGF-I en sangre están directamente relacionados a la energía. Por ejemplo, vacas lecheras con BE positivo tienen mayores concentraciones circulantes de IGF-I que las que están en BEN (Beam y Butler, 1998 y 1999; Ginger y col., 1997). Una mejoría en el BE (BEN menos severo) está asociado con un incremento en las concentraciones séricas de IGF-I (Breukink y Wensing, 1998). Algunos estudios revelaron que las concentraciones sanguíneas de IGF-I en el bovino están influenciadas por variaciones en el consumo de proteína o energía (Breukink y Wensing, 1998; Ronge y Blum, 1989). Resultados de Zulu y col. (2002), indican que la IGF-I está negativamente asociada con los NEFA y positivamente asociada con la urea en plasma durante el período seco y el PP temprano de vacas lecheras; lo que sugiere que la IGF-I sérica está afectada por el consumo de proteína y de energía.

La IGF-I está involucrada en la modulación de la función del hipotálamo e hipófisis (D'Ercole y col., 1996; Tannenbaum, 1983; Williams y col., 1995). Muchas acciones biológicas inducidas por la IGF-I en la GnRH y gonadotrofinas han sido elucidadas por unos cuantos estudios in vitro (Longo y col., 1998; Zhen y col., 1997). La IGF-I actúa en la hipófisis anterior para estimular la secreción de gonadotrofinas. Los efectos estimulantes de la IGF-I sobre la LH podrían estar disminuidos durante el período de BEN PP cuando las concentraciones de IGF-I son bajas. Zurek y col. (1995) encontraron que la IGF-I está correlacionada positivamente con la frecuencia de pulsos de LH durante el período de BEN en el PP de las vacas. La IGF-I también aumenta la sensibilidad de las células foliculares a la FSH y LH (Spicer y Echterkamp, 1995). Parece que la IGF-I estimula sinérgicamente con las gonadotrofinas tanto la proliferación como la diferenciación de las células de la granulosa dependiendo del grado de desarrollo de los folículos (Zulu y col., 2002). Lucy y col. (1992a) observaron una correlación positiva entre la proporción de estrógenos/progesterona en el fluido folicular y la IGF-I en plasma, sugiriendo un efecto de la IGF-I plasmática en el desarrollo folicular. La IGF-I aumenta la sensibilidad de las células foliculares a la FSH y LH, está involucrada en la inducción de receptores de LH en las células de la granulosa, y en la conversión de andrógenos de las células internas de la teca a E_2 en las células de la granulosa del FD (Zulu y col., 2002). Estudios de Zulu y col. (2002), también han encontrado una correlación positiva entre la IGF-I y el E_2 sérico en el PP temprano de vacas lecheras. Una mejoría en el BE no solo lleva a un aumento en la secreción de IGF-I, sino que también de P_4 durante el primer y segundo ciclo estral PP (Spicer y col., 1990 y 1991). Beam y Butler (1997 y 1998) también encontraron que los niveles en plasma de IGF-I fueron 40-50 % mayores durante las dos primeras semanas PP en vacas lecheras cuando el primer FD ovuló comparado con los de vacas con folículos no ovulatorios. Ginger y col. (1997) reportaron una relación significativa entre

los días a la primera ovulación PP y la IGF-I. Thatcher y col. (1996) encontraron que vacas lecheras en anestro tuvieron menos IGF-I en plasma que las vacas que iniciaron su ciclicidad estral temprano en el período PP. Zulu y col. (2001) también encontraron que las vacas que ciclaron normalmente dentro de los 30 días PP tuvieron mayores niveles de IGF-I. Incrementos en plasma de IGF-I podrían estar asociados con la ovulación. Burns y col. (1997) observaron un incremento de un día en la IGF-I luego del celo de las vacas. Zulu y col. (2001) hicieron observaciones similares, reportando un incremento pronunciado de la IGF-I en torno a la primera ovulación PP.

Los cambios en la IGF-I circulante en el PP inmediato podrían ayudar a predecir el status nutricional y reproductivo en vacas lecheras (Adam y col., 1997; Breukink y Wensing., 1998; Chase y col., 1998; Zulu y col., 2002). Entender los efectos de la IGF-I en la reproducción es importante porque previo al primer servicio PP el sistema IGF-I pasa por cambios dinámicos y podría ayudar a identificar problemas que llevan a la infertilidad en el PP temprano permitiendo medidas correctivas a ser realizadas antes del servicio (Zulu y col., 2002).

La insulina juega un importante rol en la función ovárica de muchas especies y está profundamente disminuida en las vacas lecheras durante la lactancia temprana (Butler y col., 2004). La insulina, que es secretada por las células β pancreáticas, juega un rol central en el metabolismo corporal. También ha sido reconocida como un indicador del status energético al SNC (Ingvarsen y Anderson, 2000; Schwartz y col., 2000). Los receptores de insulina han sido localizados en el núcleo arqueado y basal medio del hipotálamo (regiones del cerebro que contienen neuronas liberadoras de GnRH) de las ratas (Van Houten y col., 1979). A nivel del ovario, los receptores de insulina están ampliamente distribuidos por sus compartimentos, incluyendo los tejidos de la granulosa, de la teca y estroma (Poretsky y Kalin, 1987). La insulina e IGF-I son ambas conocidas como estimulantes de la proliferación de las células de la granulosa (Webb y col., 1992). Estudios in vitro han mostrado que la insulina estimula directamente la mitosis y producción de esteroides de cultivos bovinos de células de la granulosa (Gutierrez y col., 1997), de la teca (Stewart y col., 1995) y luteales (Mamluk y col., 1999). Gong y col. (2002) demostraron que la dieta induce aumentos de la insulina circulante resultando en mejorías de la eficiencia reproductiva de vacas lecheras. Las altas concentraciones circulantes de insulina estimulan la esteroidogénesis ovárica independientemente de cualquier efecto aparente en la pulsatilidad de LH, implicando que la hipoinsulinemia no es la responsable de la baja frecuencia de pulsos de LH observada en la lactancia temprana. Según Butler y col. (2004), los posibles mecanismos para explicar esta observación son los siguientes:

- la insulina tiene un efecto estimulante directo en la producción total de esteroides en el ovario,
- la insulina tiene un efecto estimulante específico en la aromatización de andrógenos a estrógenos,
- la insulina aumenta la respuesta ovárica a otros factores circulantes como la LH o IGF-I,
- la insulina tiene un efecto indirecto alterando los niveles de otros factores como los NEFA o IGF-I.

Está claro que la IGF-I alta es beneficiosa para la esteroidogénesis ovárica, y por lo tanto podría representar un importante modo indirecto por el cual la insulina aumentaría la síntesis de estradiol (Butler y col., 2004).

La acción de la insulina en los tejidos blanco está debilitada por las altas concentraciones plasmáticas circulantes de NEFA durante la lactancia temprana (Bajaj y col., 2002; Bodeen y col., 2002). La insulina tiene un importante rol en la estimulación de la captación de glucosa por el

ovario (Williams y col., 2001). Durante el BEN la insulina y la glucosa están disminuidas y las altas concentraciones de NEFA son antagonistas a la acción de la insulina, la actividad ovárica está suprimida debido a una inadecuada captación de combustible oxidativo (Butler y col., 2004). La insulina estimula las células foliculares in vitro en una gran variedad de especies incluyendo el ganado (Spicer y col., 1993), y pequeños aumentos PP podrían tener importantes efectos durante muy tempranos estadios de crecimiento folicular. Además un incremento en la proporción insulina/GH luego del parto podría conducir a una mayor producción hepática de IGF-I (McGuire y col., 1995), resultando en altas cantidades de este factor de crecimiento temprano en el PP.

LA SUPLEMENTACIÓN GRASA EN VACAS LECHERAS

La implementación de métodos diseñados para mejorar la eficiencia reproductiva de vacas lecheras PP se ha tornado en una prioridad para muchos tambos ya que una adecuada nutrición es crítica para el suceso de la función reproductiva. Recientemente ha habido un gran interés en suplementar con grasa a las vacas lecheras para aumentar la densidad energética de la dieta y mejorar la reproducción (Lucy, 2002). Los forrajes consumidos por los rumiantes no contienen altos niveles de ácidos grasos digestibles. Sin embargo la grasa ha sido usada por muchos años en vacas de carne y leche para aumentar la densidad calórica de la dieta, disminuir los rechazos y aumentar la palatabilidad (Church, 1976).

El incremento de lípidos en la ración de las vacas lecheras puede tener importantes beneficios potenciales (Wattiaux y Grummer, 2000):

- incremento de la densidad calórica (energía) de la ración, especialmente cuando el consumo puede estar limitado en una dieta con mucho forraje;
- limita la necesidad de carbohidratos concentrados que usualmente son requeridos en la lactancia temprana cuando las vacas están en BEN;
- en altas temperaturas, los lípidos pueden ayudar a disminuir el stress calórico de las vacas en lactancia.

Hay dos familias de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) denominados $\Omega 6$ y $\Omega 3$, basado en la posición del primer doble enlace a lo largo de la cadena hidrocarbonada. Entre éstos, el ácido linoleico (C18:2n-6) y el ácido α -linolénico (C18:3n-3), son considerados ácidos grasos esenciales y deben ser suplementados a la dieta de las vacas (Staples y col., 1998). Los PUFAs provienen de diferentes fuentes. El ácido linoleico ($\Omega 6$) predomina en la mayoría de las oleaginosas (soja, semillas de algodón y girasol) y el ácido linolénico ($\Omega 3$) predomina en la mayoría de los forrajes (Mattos y col., 2002).

Para poder explotar el uso de cantidades significativas de grasas en la dieta del ganado, se deben considerar muchos aspectos de la digestión ruminal (Williams y Stanko, 1999). Las oleaginosas conteniendo PUFAs podrían ser protegidas de la biohidrogenación ruminal (Mattos y col., 2002) ya que los ácidos grasos insaturados de la dieta normalmente sufren una extensiva biohidrogenación en el rumen y por lo tanto no alcanzan la circulación (Demeyer y Doreau, 1999). La biohidrogenación ruminal puede ser disminuida por varios métodos físicos y químicos de protección (Gulati y col., 1997) y así aumentar la absorción de ácidos grasos insaturados para su siguiente incorporación a los tejidos y a la leche. La microflora ruminal hidroliza los triglicéridos y fosfolípidos contenidos en los PUFAs. Las grasas son hidrolizadas a sus ácidos PUFAs constitutivos y glicerol, ya que los puentes entre el glicerol y los ácidos grasos se rompen

separándolos. Una alta proporción de los ácidos grasos son luego parcial o completamente hidrogenados, proceso en el cual un doble enlace es reemplazado por dos átomos de hidrógeno y el glicerol es fermentado a ácido propiónico (Church, 1976; Noble, 1978; Williams y Stanko, 1999), uno de los principales ácidos grasos volátiles (AGV) y precursor de la glucosa. Al suplementar con grasa aumenta la proporción de ácido propiónico/acético (Howlett y col., 2003; Williams y Stanko, 1999). Algunos ácidos grasos son usados por las bacterias para la síntesis de fosfolípidos que son necesarios para construir sus membranas celulares. Los fosfolípidos microbianos son un 10-15 % de los lípidos que abandonan el rumen y el restante 85-90 % son ácidos grasos saturados libres encontrados principalmente en la forma de ácido palmítico o esteárico enlazados al alimento y a las partículas microbianas (Wattiaux y Grummer, 2000). Los fosfolípidos microbianos son digeridos en el intestino delgado y contribuyen al pool de ácidos grasos que son procesados y absorbidos a través de la pared intestinal. Al incorporar los microorganismos ruminales el ácido linoleico y otros ácidos grasos en sus lípidos celulares la biohidrogenación ruminal no es 100% efectiva (Bauchart y col., 1990). Aproximadamente entre un 60 y 90% de los ácidos grasos insaturados son biohidrogenados en el rumen antes de llegar al intestino delgado para ser absorbidos (Murphy y col., 1987). El rango estimado de eficiencia de hidrogenación del ácido linoleico es de un 70 a 90 % (Staples y col., 1998). Cuanto mayor grado de insaturación del ácido graso mayor será la biohidrogenación en rumen (Staples y Thatcher, 2001). Si el ácido linoleico juega un rol único en la función reproductiva de las vacas lecheras en lactancia, esta pequeña cantidad que llega al intestino delgado indica su potencial. La bilis secretada por el hígado y el jugo pancreático (rico en enzimas y bicarbonato) se mezcla con el contenido del intestino delgado, y estas secreciones son esenciales para preparar a los lípidos para su absorción al formar partículas micelares que pueden entrar a las células intestinales. En las células intestinales la mayor parte de los ácidos grasos son unidos al glicerol (proveniente de la sangre) para formar triglicéridos (Wattiaux y Grummer, 2000). Los triglicéridos, algunos ácidos grasos libres, el colesterol y otros lípidos son cubiertos con proteínas (quilomicrones y VLDL). Éstos entran a los vasos linfáticos y fluyen al ducto torácico (la unión del sistema linfático con el circulatorio) donde entran al sistema circulatorio. En contraste a la mayoría de los nutrientes absorbidos desde el tracto GI, los lípidos absorbidos entran directamente a la circulación general y son usados por todos los tejidos corporales sin ser procesados preliminarmente por el hígado (Wattiaux y Grummer, 2000). La absorción de ácidos grasos totales por los rumiantes es lineal hasta aproximadamente 1200 g/día, lo que representa entre un 4 y 5 % (Martínez y Sánchez, 1999), 6 % del consumo de MS (Wattiaux y Grummer, 2000). Las dietas típicas, no suplementadas con grasa, contienen aproximadamente un 2 a 3 % de grasa (Staples y col., 1998; Wattiaux y Grummer, 2000), por lo tanto hay espacio significativo para aumentar el uso de grasas en la dieta sin perder eficiencia. Los lípidos son una parte importante de la ración de las vacas lecheras porque contribuyen directamente con aproximadamente un 50 % de la grasa de la leche y son la fuente más concentrada de energía en el alimento. Los lípidos contienen 2,25 veces más energía que los carbohidratos (Wattiaux y Grummer, 2000).

Los ácidos grasos pueden tener importantes impactos en la fermentación ruminal (Jenkins, 1993). Al aumentar la disponibilidad de grasas insaturadas (o no protegidas) en el rumen, se incrementan los impactos negativos sobre la fermentación ruminal. Si la capacidad de hidrogenación de los microorganismos ruminales se ve excedida, los ácidos grasos insaturados se pueden acumular en el rumen y pueden potencialmente interferir en la fermentación (NRC, 2001). El consumo de altas cantidades de grasa activa en rumen (> 5% del total de consumo de MS) puede disminuir marcadamente la digestibilidad de la fibra y disminuir el consumo de MS en rumiantes (Coppock

y Wilks, 1991). Esto ocurre debido a la selección en contra de los microorganismos con capacidad celulolítica. Los ácidos grasos libres en rumen tienden a atacar los alimentos y las partículas microbianas e impedir la normal fermentación, especialmente de los carbohidratos fibrosos. Los lípidos insaturados tienen un efecto más negativo que los lípidos saturados. Por esto, los lípidos deberían estar protegidos para disminuir el índice de hidrólisis y hacerlos más “inertes” en el rumen. La cáscara de las semillas protegen a los lípidos dentro de las semillas y los hacen menos rápidamente accesibles para la hidrólisis ruminal, en comparación con los aceites libres (Wattiaux y Grummer, 2000). Sin embargo algunos alimentos que contienen grasa pueden ser administrados en cantidades que proveerían grasa en niveles mayores al 5 % límite sin estos efectos negativos. Como se mencionó una de las formas de presentación de esas grasas protegidas ha sido mediante el uso de semillas oleaginosas enteras (Anderson y col., 1984; McGuffey y Schingoethe, 1982; Rafalowski y Park, 1982). El objetivo de la protección es evitar el efecto negativo que un exceso de ácidos grasos causa en la fermentación ruminal (Henderson, 1973; Palmquist y Jenkins, 1980). Aparentemente esto es posible porque el metabolismo ruminal del aceite es más lento por la cubierta fibrosa de la semilla y una porción pasaría por el rumen intacta (Coppock y Wilks, 1991). Para ello se cuenta con que la liberación de la grasa de estas semillas no se va a realizar de forma inmediata tras la ingestión, sino que va a ser incorporada al medio ruminal de forma paulatina, a medida que las semillas vayan siendo masticadas y las fracciones resultantes solubilizadas y atacadas por los microorganismos ruminales (Journet y Chilliard, 1985).

Un objetivo adicional de la suplementación grasa en el PP temprano es reducir el balance energético negativo del rodeo. La densidad energética de la dieta es incrementada al reemplazar granos o forraje por grasa. Sin embargo el consumo de diario de energía podría permanecer sin cambios debido a un menor consumo de MS en las dietas suplementadas con grasa (Andrew y col., 1991; Harrison y col., 1995; Jerred y col., 1990; Romo y col., 1996). Un incremento de la colecistoquinina endógena puede ser la responsable del menor consumo de MS en vacas suplementadas con grasa (Choi y col., 1996).

La semilla de girasol es un suplemento muy interesante para incorporar a la dieta de vacas lecheras, ya que presenta una muy alta densidad energética (2,90-3,38 Mcal ENL/kg MS), así como una interesante concentración de proteína (17-21%). Sin embargo, su uso no está muy difundido, probablemente debido a que resulta relativamente caro comparado con otros suplementos. Presenta un elevado contenido de grasa (42-48%) que podría llegar a interferir con la digestión ruminal, aunque si se lo da entero, es poco probable que existan efectos negativos sobre la misma (Rafalowski y Park, 1982). La semilla de girasol contiene más del 65% de ácido linoleico ($\Omega 6$) entre sus ácidos grasos y supone una alternativa interesante a los ácidos grasos protegidos artificialmente (Ortiz y col., 1998).

Efectos de la suplementación grasa sobre el BEN

Las dietas con grasa, incluyendo PUFAs, pueden ser suplementadas a vacas en lactancia para aumentar su densidad energética, disminuir el déficit energético que ocurre en la lactancia temprana y evitar los efectos negativos asociados (Coppock y Wilks, 1991; Palmquist y Jenkins, 1980; Staples y col., 1998). Las vacas lecheras en el PP temprano pueden experimentar un prolongado e intenso BEN y tener un retraso en la reanudación de los ciclos estrales luego del parto, lo que puede aumentar los días abiertos. La suplementación grasa puede ayudar a aumentar el consumo de energía y posiblemente a mejorar el status energético de las vacas, y ayudar a que

los ciclos estrales sean reanudados temprano. Se sabe que las vacas alimentadas con grasa adicional pueden experimentar mejoras en el BE y comienzan a ciclar más temprano debido a una mejoría en el crecimiento y desarrollo folicular (Grummer y Carroll, 1991; Palmquist y Jenkins, 1980). Sin embargo, Lucy y col. (1992a) sugirieron que son los ácidos grasos y no la energía adicional proporcionada por éstos quienes estimulan la función ovárica. En varios estudios no se reportó una mejoría en el status energético durante el PP temprano al suplementar con grasa a las vacas, ya sea por: una no significativa disminución del consumo y/o un incremento en la producción de leche (Beam y Butler, 1997; Cummins y Sartin, 1987; Harrison y col., 1995; Jerred y col., 1990; Lucy y col., 1993; Spicer y col., 1993). Aunque hay evidencia de que la suplementación grasa puede mejorar el status energético de los animales, una mejoría en la eficiencia reproductiva ocurre en muchas instancias de forma independiente a las mejoras en el status energético (Funston, 2004; Staples y col., 1998). Por lo tanto la suplementación grasa parece mejorar la eficiencia reproductiva por otros medios (Staples y Thatcher, 2001).

Efectos de la suplementación grasa sobre la eficiencia reproductiva

Al suplementar con grasa se han reportado efectos positivos y negativos asociados sobre la reproducción (Grummer y Carroll, 1991; Staples y col., 1998), principalmente por diferencias extremas en el consumo de MS y en la producción de leche. Los ácidos grasos esenciales han sido implementados como nutrientes clave para mejorar la eficiencia reproductiva de las vacas. La suplementación con algunos tipos de grasas a vacas lecheras en lactancia ha mejorado su eficiencia reproductiva, pero los mecanismos por los que los lípidos pueden influir sobre los índices reproductivos no han sido elucidados (Thatcher y col., 2004). En algunos casos la suplementación grasa tuvo poco o ningún efecto en la eficiencia reproductiva (Carroll y col., 1990; Schingoethe y Casper, 1991). La razón por la que algunos suplementos grasos resultan en mejorías en la eficiencia reproductiva y otros no, no está totalmente clara. Una posibilidad es que un mecanismo independiente de la energía esté involucrado. Este mecanismo parece estar relacionado al perfil de ácidos grasos de la fuente de grasa suplementada (Block, 2004; Staples y col., 1998). Algunos PUFAs son nutrientes esenciales y necesitan ser incluidos en la dieta porque no pueden ser producidos de forma endógena. Estos ácidos grasos esenciales son requeridos para la síntesis normal de las hormonas reproductivas (Block, 2004). Las dietas actuales para vacas lecheras de alta producción no tienen generalmente cantidades suficientes de estos PUFAs esenciales.

Staples y Thatcher (2001) han propuesto algunas hipótesis para explicar cómo la grasa suplementada podría mejorar la fertilidad:

- la alimentación con energía adicional en forma de grasa disminuye el status energético negativo de las vacas y por lo tanto retornan al estro temprano luego del parto y así conciben antes;
- las vacas alimentadas con grasa producen o secretan más progesterona (P_4), una hormona necesaria para la implantación y nutrición del embrión;
- la manipulación de la insulina, que estimula el desarrollo de folículos ováricos;
- algunos ácidos grasos de cadena larga específicos encontrados en algunas fuentes de grasa inhiben la producción o liberación de $PGF_{2\alpha}$ por el útero. Esto previene la regresión del CL en el ovario para que el nuevo embrión formado sobreviva.

Mecanismos de acción sugeridos por Staples y col. (1998) por los cuales la suplementación grasa con PUFAs de cadena larga mejorarían los índices de concepción en vacas lecheras en lactancia:

- ahorraría glucosa para estimular la liberación de LH desde la hipófisis anterior, la cual estimula el desarrollo de las células luteales del ovario;
- aumentarían las concentraciones circulantes de colesterol, un precursor de la progesterona, lo cual está asociado con mejoras en la fertilidad;
- podrían inhibir la producción de $\text{PGF}_{2\alpha}$ y de 17β -estradiol para aumentar la permanencia del CL y potencialmente aumentar la supervivencia del embrión.

La suplementación lipídica afecta positivamente la función reproductiva en muchos tejidos importantes incluyendo: el hipotálamo, la hipófisis anterior, ovarios y útero (Funston, 2004). El tejido blanco y la respuesta reproductiva parece ser dependiente del tipo de ácido graso contenido en la fuente de grasa.

Efectos sobre la secreción de gonadotropinas, insulina, GH e IGF-I

La secreción de LH desde la hipófisis y el crecimiento folicular en vacas están regulados parcialmente por el status energético del animal. La energía brindada por la suplementación grasa aumenta la secreción de LH en animales deficientes en ella. El mecanismo independiente de la energía por la que los ácidos grasos de la dieta afectan la secreción de LH no ha sido establecido (Mattos y col., 2000). En algunos estudios la dinámica de la LH fue estimulada por la suplementación grasa (Hightshoe y col., 1991; Morgan y Williams, 1989), pero en otros no hubieron diferencias o disminuyó (Staples y col., 1998). El mecanismo por el que la suplementación grasa estimularía la liberación de LH no se conoce salvo por un efecto de ahorro de glucosa que ocurriría en la glándula mamaria, suministrando mayor cantidad de glucosa para indicarle al sistema de control del hipotálamo e hipófisis que secrete más LH (Staples y col., 1998). Similarmente la suplementación grasa puede aumentar la producción de glucosa a través del incremento de producción de propiónico. Este incremento de glucosa puede tener un efecto positivo en la liberación de LH (Funston y col., 1995).

La suplementación grasa estimula el crecimiento programado de folículos preovulatorios, aumenta el número total de folículos y aumenta el tamaño del folículo preovulatorio (De Fries y col., 1998; Mattos y col., 2000). El incremento de tamaño de los folículos preovulatorios podría deberse en parte a un incremento de las concentraciones en plasma de LH, la que estimula el crecimiento final de los folículos. La ovulación de folículos más grandes puede resultar en la formación de CL más grandes con capacidad esteroidogénica aumentada y resulta en una mayor producción de P_4 , la cual ha sido asociada con mayores índices de concepción (Funston, 2004). Los receptores para las lipoproteínas se desarrollan en las células luteales para tomar al colesterol para la síntesis de P_4 , y también se desarrollan en el CL en crecimiento para la LH. Pero, no hay evidencias suficientes para concluir que el aumento en plasma de la P_4 resulte de una mayor diferenciación de las células de la granulosa en células luteales o por una mayor estimulación de las células luteales durante el diestro por una mayor secreción de LH (Staples y col., 1998).

Según Ryan y col. (1995) la respuesta de la hipófisis anterior a la GnRH no fue afectada por dietas altas en grasa y no se observaron efectos sobre el número o afinidad de los receptores de LH en el CL inducido (Johnson y col., 1987; Morgan y Williams, 1989). Aunque la suplementación grasa parece tener algún efecto en las concentraciones basales de LH (Hightshoe y col., 1991; Morgan y

Williams, 1989), no está claro hasta este momento qué rol pueden jugar estos sutiles cambios en el contexto de los cambios observados en los ovarios (Williams y Stanko, 1999). Las dietas altas en grasa también influenciarían la secreción de FSH, porque los cambios en el crecimiento folicular parecen ocurrir principalmente como un incremento del número de folículos de tamaño medio (De Fries y col., 1998; Hightshoe y col., 1991; Lammoglia y col., 1996; Ryan y col., 1992; Stanko y col., 1997; Thomas y Williams, 1996; Thomas y col., 1997; Wehrman y col., 1991; Williams y Stanko, 1999).

No existe suficiente evidencia de un efecto directo de la grasa sobre la secreción de gonadotrofinas. Sin embargo se cree que éstas ejercen su efecto a través de la concentración plasmática de insulina. Tras su consumo, la grasa disminuye la concentración de insulina en sangre y esto provoca lipólisis y aumento del aporte de ácidos grasos endógenos a la ubre. El subsiguiente ahorro de glucosa para la síntesis de grasa láctea (en el ciclo de las pentosas fosfato), aumentará la glucosa disponible para otros tejidos y estimulará la producción de insulina que será la señal para la liberación de LH (Martínez y Sánchez, 1999).

La insulina ha probado ser un poderoso estimulante de la función de las células de los folículos ováricos. Sin embargo el efecto de la suplementación grasa sobre las concentraciones de insulina son variados (Staples y col., 1998). La concentración de insulina usualmente refleja el consumo de energía. Las concentraciones en plasma de insulina aumentan al aumentar los días PP y al aumentar el consumo de MS (Lucy y col., 1991a). Si la producción o liberación de insulina disminuye con la suplementación grasa, luego se esperaría que su influencia resultante sobre el crecimiento folicular sea negativa (Staples y col., 1998). Sin embargo, las menores concentraciones de insulina en plasma podrían resultar de un mayor "clearance" de insulina por los tejidos desde la sangre, incluyendo los del tracto reproductivo, los que estimularían el crecimiento de los folículos ováricos. La IGF-I es un potente estimulador de las células de la granulosa in vitro (Spicer y col., 1993) y la supresión de la insulina al suplementar con grasa podría permitir a la IGF-I afectar el desarrollo folicular en forma positiva. Bajas concentraciones en sangre de insulina también aumentan la lipólisis en el tejido adiposo de vacas lecheras en lactancia. Grummer y Carroll (1991), sugieren que la hidrólisis de triglicéridos en el tejido adiposo aumenta cuando se suplementa con grasa. Muchos estudios reportaron importantes pérdidas de peso corporal cuando las vacas fueron suplementadas con grasa (Sklan y col., 1991; Sklan y col., 1994). El consumo de grasa adicional disminuye la lipogénesis en el tejido adiposo y el incremento de la lipólisis resulta en un aumento de la concentración en plasma de NEFA. La concentración de NEFA en plasma es casi siempre alta en vacas suplementadas con grasa (Grummer y Carroll, 1991). La glándula mamaria puede tomar los NEFA del plasma y por lo tanto la síntesis de novo de ácidos grasos en la glándula mamaria esta disminuida cuando se suplementa con grasa (Grummer, 1991). La concentración de glucosa en sangre generalmente no cambia bajo las condiciones de suplementación grasa (Funston, 2004; Grummer y Carroll, 1991). Estudios realizados desde 1993 confirman la carencia de un efecto consistente de la suplementación grasa sobre la glucosa sanguínea (Staples y col., 1998). Por supuesto, las concentraciones en plasma no dan indicios de posibles diferencias en el flujo sanguíneo o de los índices de "clearance".

La relación entre las concentraciones de insulina y el desarrollo folicular al suplementar con grasa no es consistente, ya que en otros estudios las concentraciones de insulina aumentaron (Lammoglia y col., 1997; Palmquist y Moser, 1981; Thomas y Williams, 1996; Thomas y col., 1997), mientras que en otros no hubieron cambios (Beam y Butler, 1997; Robinson y col., 2002). Es posible que el incremento de las concentraciones en suero de insulina que ocurren en respuesta

al consumo de grasas poliinsaturadas jueguen un rol en mediar el incremento del crecimiento folicular, ya sea directamente a través de sus propios receptores o indirectamente al modular la producción de IGF-I por las células de la granulosa (Yoshimura y col., 1994).

En un estudio de Robinson y col. (2002) los valores de IGF-I aumentaron en las vacas suplementadas con $\Omega 6$, las cuales mostraron los mayores cambios en el número y tamaño folicular. El diámetro del primer folículo dominante, las concentraciones de IGF-I al estro y las concentraciones de colesterol fueron todas mayores en vacas suplementadas con $\Omega 6$. En este estudio también se demostró que no hubo incremento en las concentraciones circulantes de IGF-I en el período de 48 horas alrededor del estro (Robinson y col., 2002). Este trabajo es consistente con trabajos previos de Gong y col. (1993). Las concentraciones de IGF-I medidas en este estudio son consistentes con otros estudios realizados en vacas de primera lactancia, en las que las concentraciones PP de IGF-I fueron significativamente mayores que en las vacas multíparas (Wathes y col., 2001). En otros estudios de suplementación con grasa no se encontraron efectos en las concentraciones séricas de IGF-I, en cambio sus concentraciones sí se vieron incrementadas en el fluido folicular y también su producción in vitro por el tejido luteal (Ryan y col., 1995; Thomas y Williams, 1996; Thomas y col., 1997). En estos mismos estudios las concentraciones séricas de GH también se vieron incrementadas. Sin embargo, Bottger y col. (2002) reportaron que no hay diferencias en las concentraciones en suero de: glucosa, NEFA, GH, IGF-I, insulina o proteínas ligantes a la IGF-I en vaquillonas primíparas de carne suplementadas con altas concentraciones de linoleico u oleico.

Generalmente la alimentación con dietas suplementadas con grasa al ganado, estimula la función ovárica (Hightshoe y col., 1991; Lucy et al., 1991b; Staples y col., 1998). Los cambios en la dinámica folicular pueden ser afectados por la suplementación grasa incluyendó alteraciones potenciales en la sensibilidad del tejido ovárico a la estimulación por parte de las hormonas metabólicas como la GH, IGF-I y gonadotropinas (LH y FSH) (Thatcher y col., 2004).

Efectos a nivel ovárico

Aunque algunos reportes indican que la suplementación grasa influencia la función hipofisaria, los mecanismos por los que ésta mejora la eficiencia reproductiva parece ser principalmente por una función incrementada a nivel ovárico (Williams y Stanko, 1999). La suplementación grasa tiene influencia positiva sobre la función reproductiva de vacas lecheras ya que: incrementa el número y tamaño de folículos ováricos durante el PP temprano (De Fries y col., 1998; Hightshoe y col., 1991; Oldick y col., 1997; Robinson y col., 2002; Staples y col., 1998; Thomas y col., 1997), aumenta la concentración de P_4 , disminuye la secreción de PG, aumenta el tiempo de permanencia del CL e incrementa la fertilidad al mejorar los índices de concepción en muchos estudios. Staples y col. (1998) constataron estos efectos con niveles de suplementación grasa de un 3% del consumo de MS.

- Colesterol y progesterona:

Las grasas estimulan a los ovarios y mejoran el desarrollo de los folículos grandes, aunque el mecanismo no está claro. Estos efectos podrían estar relacionados a incrementos del colesterol en sangre en vacas PP suplementadas con grasa (Hightshoe y col., 1991; Williams, 1989). La concentración en plasma de colesterol aumenta en forma consistente bajo regímenes de

suplementación grasa (Grummer y Carroll, 1991). Las lipoproteínas también aumentan (Grummer y Carroll, 1988). Este incremento del colesterol se debe a la necesidad de aumentar la absorción de ácidos grasos dentro de los quilomicrones y de las VLDL desde el intestino delgado. La mayor parte del colesterol (90-95%) en la sangre bovina es encontrado en las HDL (Grummer y Carroll, 1988). No solo están las concentraciones en sangre incrementadas al suplementar con grasa, sino que también las concentraciones en el fluido folicular (Staples y col., 1998). El colesterol puede ser abastecido desde las lipoproteínas circulantes, puede ser sintetizado de novo en las células luteales a partir del acetato, o sintetizado desde el almacenamiento intracelular de ésteres del colesterol; pero la mayor parte del colesterol en el ovario proviene del transporte directo de lipoproteínas de colesterol desde la sangre (Niswender y Nett, 1994). El colesterol sirve como precursor en la síntesis de P_4 por las células luteales del ovario. La secreción de P_4 es la principal función del CL. La P_4 es llamada la “hormona de la preñez” ya que es continuamente sintetizada durante la preñez. No solo prepara al útero para la implantación del embrión sino que también ayuda a mantener la preñez al proveerle alimentación al embrión. El suceso del establecimiento y mantenimiento de la preñez (antes del día 16 pos-servicio) requiere el mantenimiento de la secreción de P_4 durante el período crítico de reconocimiento materno de la preñez cuando la luteólisis ocurre en animales no preñados (Lamming y Royal, 2001). Entre un 25 a 55% de los embriones mamíferos mueren en la gestación temprana y muchas de estas pérdidas se deben a una inadecuada función de las células luteales (Niswender y Nett, 1994). El aumento de la P_4 sugiere que la función luteal mejora al suplementar con grasa. Al suplementar con grasa, el aumento de las concentraciones circulantes de colesterol aumenta la síntesis de P_4 por las células foliculares y luteales (Adams, 1998; Carroll y col., 1990; García-Bojalil y col., 1998; Lucy y col., 1993; Sklan y col., 1991; Son y col., 1996; Spicer y col., 1993; Williams y Stanko, 1999). El perfil de ácidos grasos en la dieta puede influir en el aumento de P_4 en plasma. Sin embargo el colesterol no sería un sustrato limitante para la síntesis de P_4 . Altas concentraciones en plasma de P_4 han sido asociadas con incrementos en los índices de concepción de los rumiantes en lactancia (Butler y col., 1996; Petit, 2002; Staples y col., 1998). Para otros las altas concentraciones en sangre de P_4 reflejarían un grado de “clearance” más lento de la P_4 , más que un alto grado de síntesis (Hawkins y col., 1995; Staples y Thatcher, 2001; Williams y Stanko, 1999). Spicer y col. (1993) han sugerido que los incrementos en los índices de concepción podrían ser el resultado de los aumentos en las concentraciones plasmáticas de colesterol, aunque esta hipótesis no fue sustentada por Petit (2002). Otros estudios han reportado que no hay relación entre las concentraciones de colesterol en sangre y las medidas reproductivas (Ferguson y col., 1990; Spicer y col., 1990). Al suplementar con grasa, más que un incremento en las concentraciones de colesterol como mediador del aumento en la P_4 , la formación de folículos más grandes y por lo tanto CL más grandes serían las causas para los mayores niveles de P_4 (Beam y Butler, 1997; Lucy y col., 1990; Lucy y col., 1993; Oldick y col., 1997; Staples y col., 2000). Usando ultrasonografía se ha encontrado mayores tamaños de los folículos dominantes en vacas lecheras en lactancia recibiendo una suplementación grasa (Staples y Thatcher, 2001). Estudios recientes han indicado que la ovulación de folículos dominantes más grandes resultó en CL de mayor tamaño, los que estuvieron asociados a una tendencia a tener mayores concentraciones circulantes de P_4 y mayores índices de preñez (Vasconcelos y col., 1998). Resumiendo, la suplementación grasa puede aumentar la concentración de colesterol y P_4 en sangre y en las estructuras ováricas de rumiantes así como aumentar el tamaño de los folículos ovulatorios. Las mejorías en la fertilidad podrían resultar de la mayor cantidad de P_4 disponible para aumentar la supervivencia embrionaria en las vacas suplementadas con grasa (Staples y Thatcher, 2001). El mayor tiempo de permanencia del CL puede estar relacionado a la habilidad de la suplementación grasa en modificar el crecimiento y la

fisiología del folículo pre-ovulatorio antes de la ovulación (Ryan y col., 1992; Wehrman y col., 1991). Este fenómeno podría estar relacionado a los efectos del ácido linoleico sobre la síntesis de prostaglandinas en el útero (Williams y Stanko, 1999).

- Estrógenos:

Los estrógenos estimulan la secreción uterina de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Knickerbocker y col., 1986; Thatcher y col., 1994) y aumentan la sensibilidad del CL a la $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Howard y col., 1990), causando una regresión completa del CL. Aunque son necesarios más estudios, la suplementación grasa parecería disminuir el $17\beta\text{E}_2$ (Martínez y Sánchez, 1999; Staples y col., 1998). Bajas concentraciones de E_2 reducen la sensibilidad del CL a la $\text{PGF}_{2\alpha}$, y se asocian con una disminución en la tasa de muerte embrionaria temprana (Martínez y Sánchez, 1999).

- Prostaglandinas:

Las prostaglandinas (PG) juegan un amplio rol en la fisiología y en el metabolismo de los mamíferos. La mayoría de los órganos de los mamíferos sintetiza PGs, aunque su actividad y síntesis varía entre los órganos. Las PGs son reguladores locales y generalmente son sintetizadas cerca de las células que van a influenciar. Dentro del tracto reproductivo de las vacas el tejido uterino es la principal fuente de PGs de la serie F (por ejemplo $\text{PGF}_{2\alpha}$) (Guilbault y col., 1984). Las concentraciones de PG en plasma alcanzan un pico en los días 3 a 4 PP el cual está asociado con la regresión del CL de gestación y con la involución del útero PP. En las dos semanas siguientes la PG gradualmente retorna a sus concentraciones basales. El útero luego libera $\text{PGF}_{2\alpha}$ regularmente en las siguientes semanas para regresar cada nuevo CL formado e iniciar un nuevo ciclo estral si la vaca no está preñada (Staples y col., 1998). Si la vaca es concebida, la liberación de $\text{PGF}_{2\alpha}$ por el útero está inhibida para preservar el CL y mantener la preñez. Como la $\text{PGF}_{2\alpha}$ tiene un efecto en la regresión del CL, la concentración en plasma de P_4 es inversa a la de la $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante la regresión del CL en el diestro tardío.

Algunos PUFAs de cadena larga al ser suplementados a la dieta de las vacas pueden servir como sustratos o como inhibidores para la síntesis de PG (Martínez y Sánchez, 1999; Staples y col., 1998). El ácido linoleico tiene efectos inhibitorios en la síntesis in vivo e in vitro de PG uterina (Kaduce y col., 1982; Mattos y col., 2002; Staples y col., 1998) a través de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (cox). Esto es, en cierto modo opuesto a lo esperado porque los PUFAs son precursores de las PGs. El ácido linoleico es precursor del ácido araquidónico ($\text{C}_{20:4n-6}$), el cual es un precursor inmediato de la $\text{PGF}_{2\alpha}$. Sin embargo, el ácido linoleico actúa como inhibidor para la síntesis de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ya que compite con el ácido araquidónico para unirse con esta enzima. Basado en estas observaciones se ha especulado que los cambios en la síntesis de PG podrían explicar cómo la suplementación grasa mejora la función luteal y los índices de preñez (Staples y col., 1998). También se ha sugerido que las bajas concentraciones de estradiol intrafoliculares (Wehrman y col., 1991) y en suero (Hightshoe y col., 1991) asociadas a la suplementación grasa podrían jugar un rol en la modulación de la respuesta luteal a la PG (Staples y col., 1998). Una forma potencial de mejorar la supervivencia embrionaria temprana es suplementar con PUFAs protegidos para bloquear la liberación natural de $\text{PGF}_{2\alpha}$ que ocurre entre los días 17 y 19 del ciclo estral (Abayasekara y Wathes, 1999; Mattos y col., 2000). La teoría es que los pequeños embriones podrían no ser capaces de indicarle al útero su presencia y prevenir la luteólisis natural a través de la $\text{PGF}_{2\alpha}$. Bloquear la $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina al suplementar con PUFAs, podría ayudar

parcialmente al pequeño embrión a establecer la preñez. Se supone que el embrión crecería hasta un tamaño normal una vez que pase el período crítico de reconocimiento materno de la preñez. Si esta teoría se comprueba, la suplementación con PUFAs podría aumentar los índices de preñez del ganado (Lucy, 2002).

Como se mencionó anteriormente, el ácido araquidónico es precursor para la síntesis de PGs de la serie 2 (como la $PGF_{2\alpha}$ y la PGE_2) a través de la acción de la enzima cox. Las PG de la serie 2 regulan muchos procesos fisiológicos incluyendo los de los sistemas vascular, inmune y endocrino. Éstas han sido involucradas en los procesos de la reproducción, incluyendo el desarrollo folicular (Wallach y col., 1975), la ovulación (Espey, 1980), la función del CL incluyendo la luteólisis (Abayasekara y col., 1995) y el parto (Challis, 1980). Contrario a los estudios reportados anteriormente en otros estudios se encontró que el administrar dietas con alta proporción de ácidos grasos Ω_6 (como la semilla de girasol), tiende a aumentar la secreción de PGs de la serie 2 en sangre (Petit y col., 2004). Hay evidencia creciente de que la composición de ácidos grasos suministrada al suplementar con grasa de by-pass a las vacas, puede alterar el perfil de ácidos grasos en sangre y aumentar el ácido linoleico (Thatcher y col., 1994). Esto resulta en incrementos de los niveles de ácido araquidónico, lo que resulta en mayor síntesis de PGF. La PGF juega un importante rol en la involución uterina, en la regulación del sistema inmune y en la función de los neutrófilos en el período de PP temprano. Thatcher y col. (2006) se han hipotetizado que una estrategia sería suplementar ciertas grasas de by-pass para aumentar la producción de PGF en el útero y por lo tanto aumentar la competencia inmune, disminuir las infecciones uterinas y tener una involución uterina normal en el período de transición con los consecuentes beneficios en la fertilidad.

Efectos de la suplementación grasa sobre la producción y composición de leche

La semilla de girasol puede ser usada como suplemento graso de la dieta de las vacas para aumentar su producción de leche y la proporción de ácidos grasos insaturados en la grasa de la leche (Schingoethe y col., 1996). El consumo de alimentos y la producción de leche varían en forma importante según el tipo de lípido adicionado a la dieta. La producción de leche es maximizada cuando los lípidos comprometen un 5 % de la MS de la dieta (Palmquist y Jenkins, 1980; Wattiaux y Grummer, 2000). La adición de grasa a la dieta usualmente disminuye la proteína en leche en un 0.1 % aproximadamente, en particular a nivel de la fracción caseína. Además, el exceso de lípidos puede deprimir el consumo de alimentos, la producción de leche y la composición de grasa en leche (Wattiaux y Grummer, 2000). El efecto sobre la grasa es variable, dependiendo del tipo de lípidos utilizados (Doreau y Chilliard, 1997). En otros estudios se determinó que aunque el consumo puede verse disminuido, los ácidos grasos insaturados aumentan la producción de leche y la eficiencia de la alimentación de vacas lecheras de alta producción (Block, 2004).

La concentración de NEFA en plasma es casi siempre alta en vacas suplementadas con grasa (Grummer y Carroll, 1991). Aunque los quilomicrones y las VLDL son las principal fuente de ácidos grasos de la glándula mamaria (Moore y Christie, 1979) la glándula mamaria puede tomar NEFA del plasma (Grummer, 1991). La síntesis de novo de ácidos grasos por parte de la glándula mamaria está disminuida cuando se suplementa con grasa (Grummer, 1991). Aproximadamente la mitad de la grasa de la leche deriva de la captación de ácidos grasos por la glándula mamaria. Al

haber un incremento de los ácidos grasos de cadena larga (más de C16) en la dieta, se incrementa su secreción en la leche, pero también disminuye la síntesis de ácidos grasos de cadena corta y media en el tejido mamario (Wattiaux y Grummer, 2000). Esto ocurre por una menor proporción de acetato y butirato en la mezcla de AGV producidos, o bien por inhibición de la síntesis de novo a nivel de la glándula mamaria mientras que la secreción de ácidos grasos de C16 y C18 se ve aumentada (Doreau y Chilliard, 1997).

Al alimentar a las vacas con dietas con altos contenidos de PUFAs, se puede alterar el contenido de PUFA de la leche para el consumo humano (Cheng y col., 2001). Un reporte del Committee on Medical Aspects of Food Policy (Cardiovascular Review Group, Department of Health, 1991) recomendaron que los consumidores deberían disminuir la proporción de grasas saturadas consumidas y aumentar la proporción de PUFAs ($\Omega 3$ y $\Omega 6$). La leche y sus subproductos contribuyen en un 30% del consumo total de grasa en humanos y comúnmente solo un 4% de los ácidos grasos de la leche son insaturados (Mansbridge y Blake, 1997). Esta proporción puede ser modificada al incluir vegetales o aceites en la dieta del ganado (Ashes y col., 1997; Demeyer y Doreau, 1999; Schingoethe y col., 1996; Wrenn y col., 1976). Estos aceites incluyen variadas cantidades de las dos familias de PUFAs esenciales, los que son derivados del ácido linoleico y α -linolénico. La posibilidad de modificar la composición de los ácidos grasos de la leche a través de la alimentación de las vacas es útil para obtener productos lácteos diferenciados capaces de mejorar significativamente su calidad dietética, su imagen ante los consumidores y por consiguiente su valor comercial. Este aspecto resulta de suma importancia a fin de obtener productos con propiedades altamente beneficiosas para la salud humana que permitan prevenir enfermedades cardíacas, exceso de colesterol y presión arterial (Gagliostro, 2003). El consumo de carne y leche proveniente de rumiantes representa la principal fuente natural de ácido linoleico conjugado (CLA) para el ser humano. Los CLA constituyen una familia de ácidos grasos que poseen una marcada actividad antimutagénica y anticancerígena demostrada en animales experimentales de laboratorio (Chilliard y col., 2000; Parodi, 1999). Los rumiantes poseen la habilidad de extraer compuestos con propiedades saludables de las pasturas y transferirlos al producto final para la alimentación humana (carne o leche). Esta habilidad natural en los rumiantes puede ser aumentada mediante estrategias de alimentación, a través de un incremento en las concentraciones basales de CLA en la leche. La semilla de girasol puede constituir una excelente herramienta para tal fin ya que su alto contenido de ácido linoleico (C18:2) de al menos 65 % (Coppock y Wilks, 1991), resulta predisponente a lograr los objetivos buscados. En lo que respecta a Uruguay, no hay información acerca de la concentración de CLA en la leche producida en nuestros sistemas productivos. Hay antecedentes en el tema que sugieren el incremento en el tenor basal de CLA con la inclusión de semillas de girasol en la ración (Gagliostro, 2003). Este incremento resulta en una mejor calidad de la grasa butirosa obtenida. La utilización de semilla de girasol puede resultar una práctica de bajo costo a fin de vehiculizar el ácido linoleico (precursor en la formación de CLA) sin afectar negativamente el metabolismo del rumen y la respuesta productiva de la vaca (Gagliostro, 2003). La forma biológicamente activa de los CLA está representada por el isómero *cis*-9, *trans*-11 del ácido linoleico, compuesto que representa más del 90% de los CLA y constituye el único ácido graso capaz de inhibir la cancerogénesis en animales (Parodi, 1999). Los compuestos denominados CLA representan productos intermedios en la hidrogenación ruminal del ácido linoleico (*cis*-9, *cis*-12 C18:2) a ácido esteárico (C18:0). Los CLA se originan en el rumen por biohidrogenación parcial y en forma endógena en el tejido adiposo.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES Y TRATAMIENTOS

El ensayo se realizó en la “Unidad de Lechería” del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) “La Estanzuela”, ubicado en el departamento de Colonia, Uruguay. Para el mismo se utilizaron un total de 48 vacas raza Holando (24 primíparas y 24 multíparas), con partos previstos para los meses de marzo y abril. La condición corporal (CC) y peso promedio de las vacas primíparas y multíparas al entrar al ensayo fue de $2,7\pm 0,4$ puntos (escala 1-5) y 512 ± 50 kg, y $2,6\pm 0,5$ puntos y 585 ± 52 kg respectivamente. El período pre-experimental se inició 21 días antes de los partos previstos. Inmediatamente luego del parto, los animales fueron asignados aleatoriamente a tres niveles de suplementación con semilla de girasol entera (SGE) (previa estratificación según paridad), por lo que cada uno de ellos estuvo integrado por 8 vacas multíparas y 8 primíparas.

ALIMENTACIÓN Y MANEJO PREPARTO

El preparto se inició a los 21 días previos a los partos previstos. Durante este período todos los animales recibieron un mismo manejo y alimentación. Las vacas primíparas y multíparas pastorearon en potreros separados, en franjas de cuatro días de duración. La pastura estaba compuesta básicamente por gramíneas (*Paspalum dilatatum* y *Cynodon dactylon*) y la oferta de forraje fue equivalente a 20 kg de MS por vaca y por día. Diariamente, en cada potrero, se ofreció 4 kg (base fresca) por vaca de afrechillo de maíz en pellets, en comederos grupales. Los animales tuvieron acceso al agua en forma *ad-libitum*.

ALIMENTACIÓN Y MANEJO POSPARTO

El período experimental comenzó después del parto, momento en el que cada animal recibió una dieta acorde al tratamiento asignado, y finalizó a los 60 días PP aproximadamente. Los tratamientos se diferenciaron de acuerdo al nivel de SGE en el concentrado, según se muestra a continuación (datos en base fresca):

- Grupo testigo (G0) = 0 kg de SGE + 7 kg de concentrado comercial N° 1
- Grupo con bajo nivel de suplementación grasa (G0.7) = 0.7 kg de SGE + 6.3 kg de concentrado comercial N° 2
- Grupo con alto nivel de suplementación grasa (G1.4) = 1.4 kg de SGE + 5.6 kg de concentrado comercial N° 3

Luego del parto y durante todo el período experimental las vacas pastorearon conjuntamente en praderas de 2^{do} y 3^{er} año, mezcla de alfalfa (*Medicago sativa*), *Lotus corniculatus*, trébol blanco (*Trifolium repens*) y festuca (*Festuca arundinacea*), en franjas de un día de duración y con una oferta diaria de forraje de 14 kg de MS por vaca. A cada vaca se le ofreció diariamente y de forma individual 17 kg (base fresca) de ensilaje de planta entera de trigo (cultivar INIA Gorrión, cortado en estado de anthesis). Estos alimentos fueron comunes para todos los animales.

Cuadro I. Composición de los concentrados comerciales (kg /100 kg de concentrado, base fresca) según nivel de suplementación con SGE

Composición	Concentrado N°1	Concentrado N°2	Concentrado N°3
Grano de sorgo	-	55,7	28,9
Grano de maíz	37,7	2,9	-
Grano de trigo	26,7	-	-
Harina de girasol	-	7,0	39,1
Harina de algodón	22,3	24,3	-
Afrechillo de trigo	11,3	7,1	27,9
Urea	0,2	-	-
Carbonato de calcio	0,8	1,3	1,3
Fosfato bicálcico	-	0,4	1,2
Sal	0,9	1,4	1,6
TOTAL	100	100	100

Cada dieta completa (SGE + concentrado comercial) fue formulada separadamente para ser isoenergéticas e isoproteicas entre sí, de manera de evaluar el efecto de la grasa del girasol por sí mismo y poder atribuir los resultados a los distintos niveles de grasa provenientes de la SGE, y no a un consumo de energía o proteína diferente entre los distintos niveles de suplementación. Esta suplementación se asignó en forma diaria, repartida en partes iguales en los ordeñes AM y PM respectivamente, dentro de la sala de ordeño. Se esperaba a que los animales parasen de comer de forma voluntaria antes de liberarlos.

Una vez finalizado el ordeño de la mañana, los animales eran conducidos a la pradera asignada para ese día, donde todos los animales pastoreaban conjuntamente en la franja correspondiente, permaneciendo en la misma hasta el ordeño de la tarde. Luego del mismo se los conducía a los comederos individuales, instalados cerca de la sala de ordeño, donde se les ofrecía el ensilaje de trigo. Luego de que terminaban de consumir el ensilaje eran liberados a un potrero con libre acceso al agua y sales minerales comerciales, donde permanecían hasta el ordeño AM.

Cuadro II. Descripción de la composición química de los alimentos concentrados utilizados (todos los valores expresados como % de MS, salvo que se especifique)

Composición	Girasol	C 0 ¹	C 0.7 ²	C 1.4 ³	Afrechillo de maíz
MS	91,2	89,3	89,3	89,6	87,9
PC	13,1	18,2	17,5	18,2	15,9
FDN	29,8	22,0	22,9	34,7	39,9
FDA	19,7	11,3	15,6	23,5	12,5
LDA	6,7	2,8	3,4	4,9	-
EE	46,6	3,2	2,5	1,8	4,2
NDICP	2,1	2,1	2,8	2,6	-
ADICP	1,9	0,8	0,7	0,8	-
MO	96,9	94,0	93,0	91,6	96,7
CHO no fibrosos	9,5	52,4	53,1	40,7	-
CHO digestibles de pared celular	11,7	13,4	11,9	19,3	-
ENL (Mcal/kg MS)	3,07	1,86	1,77	1,59	1,88 ⁴

^{1,2 y 3} concentrados comerciales ofrecidos en los niveles de suplementación G0, G0.7 y G1.4 respectivamente

⁴ estimado tomando los datos de composición faltante de las tablas del NRC (2001)

Cuadro III. Descripción de la composición química de los forrajes utilizados (todos los valores expresados como % de MS, salvo que se especifique)

	Ensilaje de trigo	Pastura en pie ¹	P 0 ²	P 0.7 ³	P 1.4 ⁴	Pastura parto ¹
MS	23,4	22,2	-	-	-	27,9
PC	8,2	17,1	19,5	18,3	19,4	12,2
FDN	64,2	44,4	42,2	43,0	39,5	67,4
FDA	50,1	37,6	33,9	33,9	34,2	39,2
LDA	4,1	6,3	6,2	5,6	7,1	-
EE	2,9	2,4	3,0	2,7	4,3	2,6
NDICP	1,35	2,1	2,8	2,6	2,8	-
ADICP	0,21	0,4	0,8	0,7	0,8	-
MO	87,8	90,0	88,9	88,3	89,1	89,4
CHO no fibrosos	13,9	28,1	27,1	26,9	28,7	-
CHO pared celular digestible	53,1	27,3	24,6	27,0	19,8	-
ENL (Mcal/kg MS)	1,25	1,43	1,46	1,44	1,52	1,23 ⁵

¹ corte al ras del suelo

² pastura cosechada por la vaca fistulada del nivel de suplementación G0

³ pastura cosechada por la vaca fistulada del nivel de suplementación G0.7

⁴ pastura cosechada por la vaca fistulada del nivel de suplementación G1.4

⁵ estimado tomando los datos de composición faltante de las tablas del NRC (2001)

MS = materia seca, PC = proteína cruda, FDN = fibra detergente neutro, FDA = fibra detergente ácido, LDA = lignina detergente ácido, EE = extracto al éter, NDICP = proteína insoluble en detergente neutro, ADICP = proteína insoluble en detergente ácido, MO = materia orgánica, CHO = carbohidratos, ENL = energía neta para lactancia

DETERMINACIONES

En los animales

- Condición corporal:

Semanalmente se determinó la condición corporal (CC) de los animales por una misma persona, utilizando la escala de 1 a 5 de Edmonson y col. (1989), desde la semana 3 previa a la fecha prevista de parto hasta la semana 7 posparto.

- Peso corporal:

Se determinó el peso corporal de los animales al inicio del período pre-experimental y al final del ensayo, utilizando una cinta que se coloca alrededor del perímetro torácico de la forma descrita por Albanell y Silva (2006).

- Producción y composición de leche:

Se registró la producción de leche individual diariamente desde el día 6 hasta el día 60 PP. Fue promediada para cada semana y también corregida por porcentaje de grasa al 4% (LCG), a partir de la fórmula $LCG = \text{litros de leche} \times (0,4 + 0,15 \times \% \text{ de grasa})$. En cada semana de medición, durante 6 ordeñes consecutivos se tomó una muestra individual de leche. Se mezclaron en partes iguales las dos muestras correspondientes al ordeño AM y PM de cada día (con conservante), de forma de obtener 3 muestras semanales por animal, las que se enviaron al Laboratorio de Calidad de Leche de INIA “La Estanzuela”, para determinar: porcentaje de grasa, de proteína y urea. La grasa y proteína en leche se analizaron por el método de infrarrojo medio, en equipo Bentley Model 2000 de Bentley Instruments, Inc., Chaska, MN, USA, según el método establecido por la FIL-IDF Standard 141 A:1990. La urea en leche (MUN) fue determinada por análisis enzimático automatizado en equipo ChemSpec Model 150, Bentley Instruments, Inc, Chaska, MN, USA año 1999 según la descripción de Lefier establecida en el Bulletin IDF 315, 1996.

- Metabolitos:

Se extrajeron muestras de sangre (en tubos con vacío con heparina diluida) por punción de la vena yugular para la determinación de los perfiles metabólicos. Éstas se obtuvieron semanalmente los días -21, -14, -7, al parto previsto (para caracterizar el período preparto de los animales), al parto (0), +7, +14, +21, +28 y +35 PP. Estas muestras se extraían antes del consumo de afrechillo de maíz en el preparto y antes del ordeño PM en el PP, aproximadamente ocho horas luego del consumo de concentrado en el ordeño AM. Las muestras de sangre se centrifugaban inmediatamente después de extraídas durante 15 minutos y a 3000 rpm, para luego obtener el plasma. El mismo se almacenó congelado hasta su posterior análisis. Los metabolitos, que se determinaron en el DILAVE, Miguel C. Rubino, Pando, Uruguay, fueron los siguientes: NEFA (ácidos grasos no esterificados), β HB (beta hidroxibutirato), colesterol, PUN (urea en plasma), glucosa, proteínas totales y albúminas. Por diferencia entre proteínas totales y albúminas se calculó la concentración de globulinas. En el caso de las muestras para determinar glucosa se utilizaron tubos sin heparina y con oxalato de potasio como antiglucofítico.

Cuadro IV. Resumen de las técnicas analíticas usadas para determinar la concentración de metabolitos plasmáticos

Parámetro	Método	Marca	Lote
NEFA	ACS-ACOD	Wako Chemicals	994-7509
β HB	BHB-DH-NAD	Randox Lab	053561
Colesterol	CHOD-POD	Wiener Lab	411555
Urea (PUN)	GLDH	Human GBD	10521
Glucosa	GOD-POD	Wiener Lab	503385
Proteínas totales (PT)	Biuret mod.	Wiener Lab	501486
Albúminas	Verde de Bromocresol	Wiener Lab	489256
Globulinas	Diferencia PT-Albúminas		

- Dinámica folicular y hormonas reproductivas:

Se realizó ultrasonografía ovárica 3 veces por semana (lunes, miércoles y viernes) con un transductor lineal de 5 MHz (Aloka SSD 500, Aloka, Tokio, Japón) a partir del día 8 PP y se determinó el diámetro del folículo dominante y subordinado. La ultrasonografía se continuó hasta determinar el destino del folículo dominante de la primera onda folicular PP de cada animal (ovulación o regresión), diámetro máximo del folículo dominante y día PP en que se alcanzó dicho tamaño. Esos días se les extrajo sangre a las vacas, de igual modo al explicado anteriormente, el plasma se congeló a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que se analizó para la determinación de progesterona para confirmar la ovulación. Ésta se realizó por radioinmunoanálisis en fase sólida por la Dra. Meikle, en el laboratorio del Departamento de Biología Molecular de la Facultad de Veterinaria, con kits comerciales (Coat-a-count, DPC Diagnostic Products Co, Los Ángeles, CA, USA). Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron 6% y 11% y la sensibilidad del ensayo de 0.1 nmol l^{-1} . Se asumió que la actividad luteal PP había comenzado luego de una muestra mayor a 1 nmol l^{-1} . A las vacas que no ovularon en esa primera onda folicular, se les continuó la extracción de muestras de sangre dos veces por semana y la realización de ultrasonografía un día a la semana hasta detectar la ovulación (desaparición del folículo dominante y posterior visualización de un cuerpo lúteo). Una vez finalizado el ensayo y determinado *ex post* el día PP en el que el folículo dominante de la primera onda folicular alcanzó su mayor diámetro, se analizó la muestra de sangre correspondiente a ese día (obtenida de la misma forma que en el caso anterior) para determinar la concentración de IGF-I (factor de crecimiento insulinosímil-I) por radioinmunoanálisis en fase sólida. La concentración de IGF-I fue determinada por Mark Crowe en la Facultad de Veterinaria de Dublin, Irlanda.

Manejo de los servicios:

Los animales siguieron el manejo reproductivo que se realiza en INIA “La Estanzuela”, con pariciones estacionales en otoño/invierno y comenzando los servicios en el mes de mayo. El período de espera voluntario (PEV) es de 40 días. La detección de celos se realiza dos veces por día, cuando los animales son llevados a los ordeñes y las inseminaciones se realizan en la mañana,

independientemente del momento en que se detecten los celos. Éstas se realizan con semen congelado de probada calidad por un técnico capacitado. Se registran todos los servicios y a partir de esos registros se calcularon los intervalos parto-primer servicio, parto-concepción y número de servicios por concepción. Estos indicadores son afectados por factores que no se tuvieron en cuenta en el experimento y que los afectan directamente (detección de celos, técnica y momento de inseminación, calidad del semen, etc.) por este motivo estos resultados no serán presentados.

- Consumo:

Para determinar el *consumo total de materia seca* (CMS) de cada animal se recolectaron datos durante 4 días seguidos en las semanas 2, 3 y 4 PP.

La estimación del *consumo individual de pastura* se realizó utilizando óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador externo. El criterio para que a una vaca se le empezara a recolectar datos para luego calcular su consumo (recolección de heces y datos de rechazo de ensilaje o ración), fue si al comenzar el período de 4 días antes mencionado tenía un tiempo suficiente de dosificación con cromo de 7 días. A partir del día +1 PP, cada vaca se dosificó una vez al día con 14 gramos de óxido de cromo en cápsulas (Torpac, Fairfield, NJ, USA). Se recolectaron heces durante el mencionado período de 4 días, directamente del recto, después del ordeño AM. Las muestras se conservaron congeladas hasta que se hicieron los análisis de cromo, utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer 3300, PerkinElmer, Wellesley, MA, USA).

La *producción de material orgánico* (PMO) *total en heces* fue calculada usando la ecuación:

$$PMO \text{ total en heces} = \frac{\text{g de cromo dosificado por día}}{\text{(g de cromo/g de MS de heces)}} \times \% \text{ materia orgánica (MO) en heces}$$

La PMO en heces atribuible al ensilaje de trigo, concentrado comercial y SGE fue calculado de la forma siguiente:

$$PMO \text{ en heces atribuible} = \text{consumo de MO del alimento X} \times (1 - \text{digestibilidad } in \text{ vitro de la materia orgánica (DIVMO) del alimento X})$$

La *PMO de heces atribuible al consumo de pastura* fue estimado como la diferencia entre la PMO total en heces y PMO en heces atribuible a los restantes alimentos, y luego fue usada para determinar el consumo de pastura según la ecuación:

$$\text{Consumo de pastura} = \frac{[PMO \text{ en heces atribuible a la pastura} / (1 - DIVMO \text{ de la pastura})]}{\% \text{ MO de la pastura}}$$

Para estimar la *DIVMO* (digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica) *de la pastura* consumida por las vacas, tres vacas en lactancia media no gestantes con fistulas en el rumen fueron asignadas al azar a uno de los tres niveles de suplementación con SGE, donde permanecieron durante todo el experimento. El primer día de cada período en los que se recolectaron datos para estimar el consumo, se vaciaba el contenido del rumen de estas vacas, antes que fueran conducidas a la pastura, y luego se les permitía que pastorearan durante dos horas. Transcurrido dicho período, se tomaba una muestra compuesta del contenido ruminal, que fueron almacenadas a -20°C hasta la realización de los análisis químicos correspondientes.

El CMS de concentrado total (SGE + concentrado comercial) y ensilaje de trigo de cada vaca fue determinado por diferencia entre la cantidad ofrecida y rechazada diaria. Si bien mayoritariamente el rechazo de concentrado total fue exiguo, en los casos en que hubo rechazo, luego de su visualización, se asumió que la proporción de SGE (cuando la había) en el rechazo era la misma que había en el concentrado total ofrecido.

En los alimentos

- Disponibilidad de pastura:

Se estimó a través del muestreo del área donde pastorearían las vacas esa semana, para lo cual se realizaron 15 cortes al azar con cuadros de 0,2 x 0,5 m con tijera de aro y al ras del suelo. Se pesaron en fresco en bandejas individuales y se secaron en estufa de aire forzado a 65 °C hasta peso constante, para determinar la materia seca parcial. Con el dato de disponibilidad se diseñaron las franjas correspondientes para toda la semana entrante, las cuales tuvieron una duración de 1 día. A la entrada de cada potrero nuevo se hizo además composición botánica de la pastura, para lo cual se tomaron al azar tres de las muestras de pastura y se separaron en los siguientes componentes: gramíneas, leguminosas, malezas y restos secos. Se pesaron y secaron como las otras muestras de pastura.

Un día a la semana, sobre una franja pastoreada, se determinó el rechazo de pastura, procediéndose de la misma forma que para el ofrecido, pero tomándose 30 muestras al azar de la pastura.

- Valor nutritivo de los alimentos:

Semanalmente se tomaron muestras de SGE, de cada concentrado comercial y del ensilaje de trigo, que junto a las muestras de pastura cortadas al ras del suelo y las obtenidas de las vacas fistuladas fueron secadas y molidas a 1 mm, y luego se enviaron al Laboratorio de Nutrición de INIA "La Estanzuela" para analizar: materia seca (MS), proteína cruda (PC), digestibilidad *in vitro* de la materia orgánica (DIVMO), extracto al éter (EE), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina detergente ácido (LDA), nitrógeno insoluble en detergente neutro (NIDN), nitrógeno insoluble en detergente ácido (NIDA) y cenizas. La concentración de ENL fue determinada para todos los alimentos de acuerdo a la metodología propuesta por el NRC (2001). Para la pastura y el afrechillo de maíz que se utilizaron durante el parto no se determinó la concentración de LDA, NDIN y NIDA, por lo que la densidad energética se determinó del mismo modo que para el resto de los alimentos, utilizando valores para estos índices de alimentos similares en las tablas de alimentos del NRC (2001).

Cuadro V. Resumen de las técnicas analíticas usadas para determinar la composición de los alimentos

	Método	Consideraciones
MS	Secado a 104 °C	
PC	Método Kjeldahl	Se determina como contenido de N x 6,25
Cenizas	Incineración de la muestra a 550 °C	Se obtiene el contenido de MO usando la ecuación: % MO = 100 – % cenizas
EE	Método Soxhlet	
FDN	Van Soest 91	Se utilizó α -amilasa estable al calor. Los resultados no se corrigieron por contenido de proteína. Los resultados se presentan como libres de cenizas
FDA	Van Soest 91	Los resultados se presentan como libres de cenizas
LDA	Van Soest 91	Solubilización de la celulosa con ácido sulfúrico
NIDN	Licitra 96	
NIDA	Licitra 96	

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño del experimento fue completamente al azar, con estratificación previa según paridad (primíparas o múltiparas). Para el análisis de variables continuas con más de una medición durante el transcurso del experimento (producción y composición de leche, CC, metabolitos y consumo) se utilizó un modelo mixto (procedimiento MIXED del SAS (Statistical Analysis System; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA; versión 9.1.3)), que incluyó como efectos fijos: tratamiento, paridad, la semana PP de medición (1 a 8 para producción y composición de leche, 1 a 7 para CC, 1 a 5 para metabolitos y 2 a 4 para consumo), las interacciones simples y la interacción triple entre estos efectos. El modelo incluyó como efecto aleatorio a la vaca dentro de suplementación x paridad. La estructura de covarianza utilizada fue AR (1) (Littell y col., 1998), y las medidas repetidas se realizaron sobre la unidad vaca dentro de suplementación x paridad. El peso al día 28 antes de la fecha prevista de parto fue incluido como covariable en el análisis de las variables de producción y composición de leche, lo mismo que la CC al día 28 para el análisis de la variable CC, y la concentración de cada metabolito al día 28 antes de la fecha prevista de parto para el análisis del metabolito correspondiente.

Para el análisis de variables continuas con un solo valor registrado durante el experimento (IGF-I, intervalo parto a primera ovulación y diámetro máximo del folículo dominante de la primera onda folicular PP) se utilizó un modelo lineal (procedimiento GLM del paquete estadístico SAS), que incluyó como efectos al tratamiento, la paridad, la interacción entre ambos factores, y el peso al día 28 antes de la fecha prevista de parto como covariable.

En todos los casos se utilizó un nivel de probabilidad de 5%, y la comparación de medias se realizó utilizando el procedimiento de mínima diferencia significativa. Los datos se presentan como medias de mínimos cuadrados \pm el error estándar de la media (EEM). Los datos de CC y metabolitos plasmáticos colectados durante el período pre experimental (semana 4 antes del parto hasta el parto inclusive) se presentan como medias aritméticas sin ajustar \pm EEM, sin análisis estadístico por no estar bajo el efecto de los tratamientos.

La variable discreta proporción de vacas que ovulan durante la primera onda folicular posparto se analizó con modelos lineales generalizados (procedimiento GENMOD del SAS). El modelo incluyó como efectos: tratamiento, paridad, la interacción entre estos factores, y los resultados se presentan como la probabilidad de que una vaca ovule durante dicho período, y el intervalo de 95% de confianza de dicha probabilidad.

Una vaca múltipara del grupo G1.4 se excluyó del análisis general por muerte al parto, mientras que otra vaca múltipara también del nivel G1.4 se excluyó del análisis de las variables reproductivas por problemas al parto.

RESULTADOS

CONSUMO

Consumo Total

El consumo total (kg MS/vaca/día) en las semanas 2, 3 y 4 posparto (PP) no presentó diferencias significativas entre los diferentes grupos de suplementación, pero fue diferente según el número de lactancia de los animales (vaquillonas 17.89 ± 0.40 vs. vacas 21.23 ± 0.42 ; $P < 0.0001$).

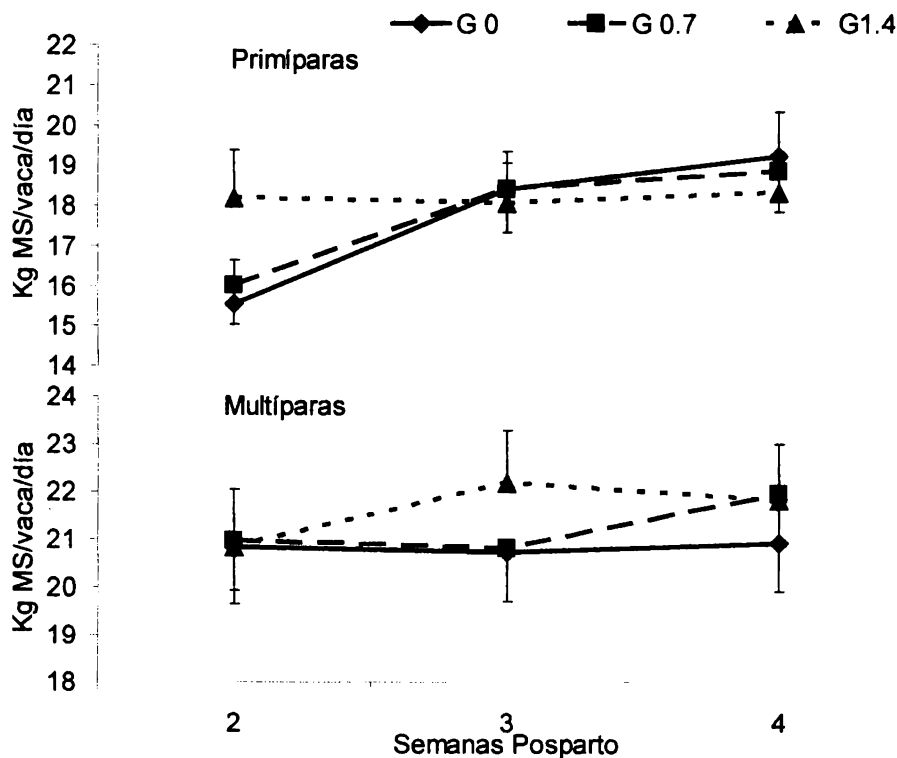


Figura 1: Evolución del consumo total en las semanas 2, 3 y 4 PP de las vacas primíparas (panel superior) y de las vacas múltiparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 1 (panel superior) se observa el consumo total de las vaquillonas en las semanas 2, 3 y 4 PP. No existieron diferencias significativas de consumo de MS entre las vaquillonas de los distintos tratamientos. Las vaquillonas de los tratamientos G0 y G0.7 en la semana 2 PP presentaron un menor consumo con respecto a las del G1.4 aunque estas diferencias no fueron significativas; y a partir de ese momento mostraron un incremento en su consumo total entre la segunda y tercera semana PP, para luego mantenerse constante. En cambio las vaquillonas del tratamiento G1.4 mantuvieron siempre un mismo consumo total de MS.

En el panel inferior se observa el consumo total de las vacas en las semanas 2, 3 y 4 PP. Tampoco existieron diferencias de consumo de MS entre las vacas de los tres tratamientos. Las vacas del tratamiento G0 mantuvieron constante su consumo. Las del tratamiento G0.7 entre la segunda y la tercera semana PP tuvieron igual consumo que las del grupo G0 y luego presentaron un incremento del mismo. En cambio, las del tratamiento G1.4 manifestaron ese incremento entre la segunda y la tercera semana PP.

Consumo de Energía Neta de Lactación (ENL)

El consumo de ENL (Mcal ENL/vaca/día) no fue diferente entre los distintos grupos de suplementación por lo que las dietas fueron isoenergéticas. En cambio, sí fue afectado por la paridad de los animales, siendo mayor en las vacas (32.72 ± 0.65 vs. 28.37 ± 0.62 ; $P < 0.0001$). En general los animales de los distintos tratamientos comenzaron a incrementar su consumo de ENL a partir de la segunda semana PP.

Consumo de Proteína Cruda (PC)

No hubieron diferencias significativas en el consumo de PC (kg PC/vaca/día) entre los diferentes grupos porque las dietas fueron isoproteicas; pero con un mayor consumo de las vacas respecto a las vaquillonas (3.509 ± 0.08 vs. 3.002 ± 0.08 ; $P < 0.0001$).

Consumo de Extracto Etéreo (EE)

El consumo de EE (kg EE/vaca/día) para los diferentes niveles de suplementación fueron: G0: 0.56 ± 0.02 , G0.7: 0.81 ± 0.02 , G1.4: 1.22 ± 0.02 ; $p < 0.0001$). Hubieron diferencias de consumo entre vaquillonas y vacas (0.83 ± 0.02 vs. 0.89 ± 0.02 respectivamente; $P < 0.05$). Pero este consumo de EE visto como % de la MS consumida fue mayor en las vaquillonas (4.58 ± 0.04 vs. 4.30 ± 0.04 ; $P < 0.01$). El EE (% de la MS consumida) para cada grupo fue de: G0: 2.94 ± 0.04 ; G0.7: 4.20 ± 0.04 y G1.4: 6.19 ± 0.04 ; $P < 0.0001$).

Consumo de pastura

El consumo de pastura (kg MS/vaca/día) no presentó diferencias entre tratamientos, pero fue afectado por la paridad de los animales (vaquillonas 8.14 ± 0.39 vs. vacas 10.93 ± 0.41 ; $P < 0.0001$).

Consumo de ensilaje

El consumo de ensilaje de trigo (kg MS/vaca/día) no fue diferente entre los grupos, aunque para los animales de los G0 y G0.7 éste se incrementó en las tres primeras semanas PP; mientras que para los del G1.4 a partir de la tercera semana PP el consumo de silo se mantuvo constante. Se presentaron diferencias en el consumo de silo según el número de lactancia de los animales (primíparas 3.569 ± 0.048 vs. multíparas 3.993 ± 0.049 ; $P < 0.05$).

Cuadro VI: Resultados de consumo de los alimentos ofrecidos

	Significancias			Interacciones			Medias					EEM
	Sup	Par	Ob	Sup	Sup	Par	G0	G0.7	G1.4	L1	L > 1	
				x	x	x						
Consumo		***	*				19.28	19.50	19.90	17.89 ^b	21.23 ^a	0.46
Total (kg MS/día)				Par	Ob	Ob						
PC (kg PC/día)		***					3.29	3.12	3.34	3.00 ^b	3.50 ^a	0.09
ENL(Mcal ENL/día)		***					29.79	30.35	31.50	28.37 ^b	32.72 ^a	0.71
EE (kg EE/día)	***	*					0.56 ^c	0.81 ^b	1.22 ^a	0.83 ^b	0.89 ^a	0.02
Pastura (kg MS/día)		***					9.26	9.51	9.82	8.14 ^b	10.93 ^a	0.45
Ensilaje (kg MS/día)		***	***			*	3.84	3.79	3.70	3.57 ^a	3.99 ^b	0.05
Ración (kg MS/día)	***	*					6.24 ^a	5.56 ^b	5.01 ^c	5.58 ^b	5.63 ^a	0.02
Girasol (kg MS/día)	***						0.00 ^c	0.63 ^b	1.27 ^a	0.63	0.63	0.002
Concentrado (kg MS/día)	*	*					6.24 ^{ab}	6.19 ^b	6.29 ^a	6.21 ^b	6.27 ^a	0.02
Composición de la dieta consumida												
PC, % de MS	***		*				17.08 ^a	15.97 ^b	16.86 ^a	16.4	16.88	0.16
ENL(Mcal /kg MS)	***	***	***			*	1.55 ^b	1.56 ^b	1.59 ^a	1.58 ^a	1.55 ^b	0.003
EE, % de MS	***	***					2.94 ^c	4.20 ^b	6.19 ^a	4.58 ^a	4.30 ^b	0.04

Sup = tratamientos, Par = paridad, Ob = observación (semana)

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$. (Letras distintas indican diferencias significativas mayores al 5 %)

EEM = error estándar de la media

Medias = medias de efectos

G0 = grupo testigo

G0.7 = nivel bajo de suplementación con girasol

G1.4 = nivel alto de suplementación con girasol

L1 = primíparas, L > 1 = multíparas

Cuadro VII: Resultados de variables productivas

	Significancias			Interacciones			Medias					EEM
	Sup	Par	Ob	Sup x Par	Sup x Ob	Par x Ob	G0	G0.7	G1.4	L1	L > 1	
CC (1-5)			**	*			2.37	2.33	2.37	2.35	2.37	0.02
Leche (L/día)		***	***				23.5	24.16	24.45	21.55 ^b	26.52 ^a	0.51
LCG (L/día)		***	***			*	23.13	24.15	23.92	21.07 ^b	26.40 ^a	0.55
% Grasa			***		**		3.89	4.00	3.85	3.85	3.98	0.07
% Prot			***				3.03	3.02	2.98	3.02	3.00	0.03

Sup = tratamientos, Par = paridad, Ob = observación (semana), L1 = primíparas, L>1 = multíparas

*** P<0.001, ** P<0.01, * P<0.05, tend P<0.1. (Letras distintas indican diferencias significativas mayores al 5 %)

EEM = error estándar de la media, Medias = medias de efectos

G0 = grupo testigo

G0.7 = nivel bajo de suplementación con girasol

G1.4 = nivel alto de suplementación con girasol

CONDICIÓN CORPORAL

La condición corporal (CC) promedio de los animales al inicio del período pre-experimental (semana 3 preparto) fue de 2.65 ± 0.04 , momento en el cual las vaquillonas tenían mejor CC con relación a las vacas ($P > 0.1$). Se observa una disminución en estos registros hasta el momento del parto, momento en el cual la CC promedio fue de 2.41 ± 0.03 , siendo similar entre tratamientos y paridad. Tampoco se observaron diferencias significativas en la evolución de la misma entre los distintos tratamientos durante el período experimental, así como tampoco entre primíparas y multíparas.

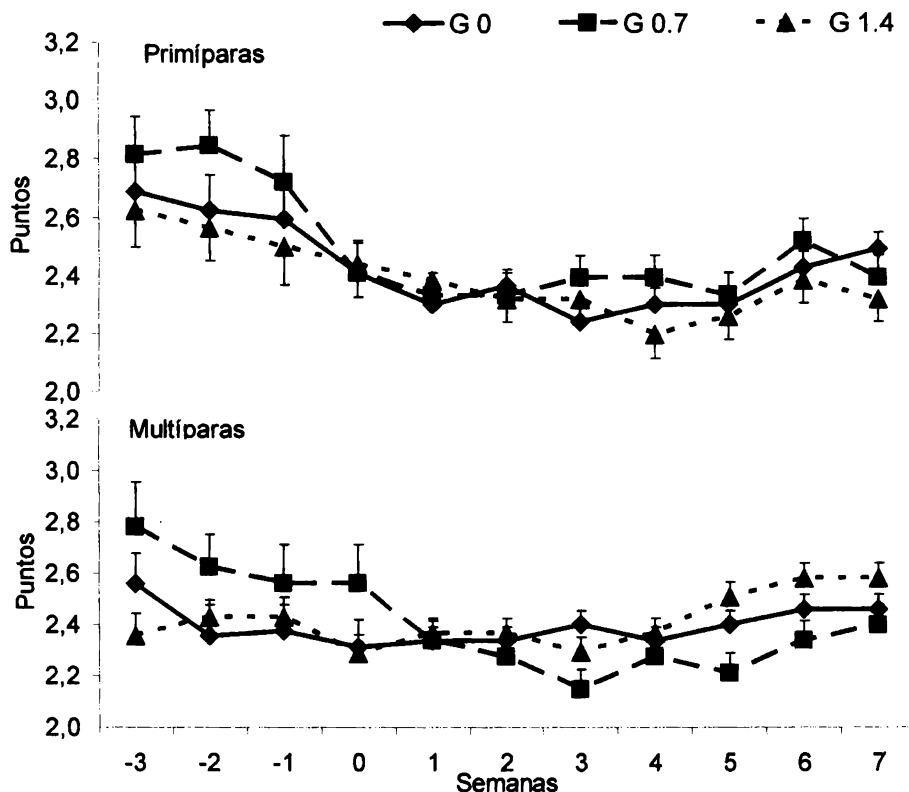


Figura 2: Evolución de la Condición Corporal (CC) durante las 3 semanas previas y las 7 semanas posteriores al parto en vacas primíparas (panel superior) y en vacas multíparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 2 (panel superior) se muestra la evolución de la CC de las vaquillonas 3 semanas antes y 7 semanas después del parto. Se observa que los animales del tratamiento G0 disminuyeron su CC hasta la tercera semana posparto (PP), y luego presentaron una leve evolución favorable de la misma en las semanas siguientes ($P < 0.02$). Los animales del tratamiento G0.7 disminuyeron su CC hasta la segunda semana PP, aumentando la misma hacia el final del periodo experimental ($P = 0.05$). En tanto, para los animales del tratamiento G1.4 se observa una disminución de la CC hasta la cuarta semana PP ($P < 0.08$), registrándose una evolución positiva de la misma entre la semana 4 y 6 PP ($P < 0.08$).

En el panel inferior se observa la evolución de la CC de las vacas multíparas durante las 3 semanas previas y las 7 semanas posteriores al parto. Los animales del tratamiento G0 mostraron una disminución de su CC en la tercera semana preparto, pero luego no presentaron variaciones en su CC. Se registró un descenso de la CC hasta la semana 3 PP para las vacas del tratamiento G0.7 ($P < 0.05$), mientras que en las siguientes semanas presentaron una aparente mejoría en dicho parámetro, igualmente su CC fue inferior a la de los demás tratamientos hasta la semana 6 PP. Los animales del tratamiento G1.4 mantuvieron una CC estable hasta la semana 4 PP, pero manifestaron una mejoría en su CC las semanas siguientes ($P < 0.06$). Al comparar la evolución de

la CC entre los tres tratamientos se observa que los animales del tratamiento G0.7 perdieron CC significativamente con respecto al tratamiento G0 ($P=0.02$) y al tratamiento G1.4 ($P=0.07$) hasta las primeras tres semanas PP. Las vacas de ese grupo tenían mejores CC durante el preparto y al parto, y también fueron las que presentaron más pérdidas de CC durante el PP. Como se mencionó anteriormente, los animales del tratamiento G1.4, a partir de la semana 4 PP presentan un aumento en su CC, observándose las mayores diferencias en la misma entre los animales de este tratamiento y los del G0.7 en la semana 5 PP ($P<0.05$).

PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE

Producción de leche

La producción de leche (litros/vaca/día) fue afectada significativamente por el número de lactancia de los animales ($P<0.0001$), registrándose diferencias importantes entre la producción promedio de las vacas (26.5 ± 0.5) y la de las vaquillonas (21.6 ± 0.5), mientras que los distintos tratamientos no tuvieron influencia sobre la misma.

Cuadro VIII: Producción de leche (L/vaca/día) de vacas primíparas y multíparas durante las primeras 8 semanas posparto (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

Semana PP	G0		G0.7		G1.4	
	L 1	L > 1	L 1	L > 1	L 1	L > 1
1	18.5±0.9	25.0±0.9	19.2±0.9	24.5±0.9	20.5±0.9	25.3±0.9
2	20.5±0.9	26.8±0.9	21.3±0.9	26.6±0.9	22.4±0.9	26.8±0.9
3	21.5±0.9	27.5±0.9	22.1±0.9	27.7±0.9	23.1±0.9	27.7±0.9
4	22.1±0.9	27.0±0.9	22.6±0.9	28.3±0.9	23.4±0.9	27.6±0.9
5	21.8±0.9	26.3±0.9	22.2±0.9	27.7±0.9	23.2±0.9	27.1±0.9
6	21.7±0.9	26.0±0.9	22.3±0.9	27.1±0.9	22.5±0.9	26.2±0.9
7	20.8±0.9	25.4±0.9	21.6±0.9	26.5±0.9	21.8±0.9	26.2±0.9
8	20.1±0.9	25.0±0.9	20.4±0.9	26.1±0.9	21.3±0.9	25.8±0.9

L 1: primíparas

L > 1: multíparas

Las vaquillonas comenzaron con una producción de leche de 19.4 ± 0.9 litros/día, registrando una producción máxima de 22.7 ± 0.9 en la semana 4 PP, para luego descender a 20.6 ± 0.9 en la semana 8 PP. No se registraron diferencias significativas en la producción de leche entre los tratamientos ($P>0.1$).

La producción de leche en litros de las vacas no presentó diferencias entre tratamientos ($P>0.1$). Las multíparas comenzaron con una producción promedio de 24.9 ± 0.9 litros/día, registrando su máxima producción entre las semanas 3 y 4 PP (27.5 ± 0.9), para luego descender a 25.6 ± 0.9 en la semana 8 PP.

Leche corregida por grasa al 4 %

La producción de leche corregida por grasa (LCG) al 4% (litros/vaca/día) fue afectada de modo muy significativo por la paridad de los animales ($P < 0.0001$), siendo mayor para las vacas multíparas (26.4 ± 0.6 vs. 21.1 ± 0.6). En cambio, los distintos tratamientos no ejercieron diferencias sobre la misma.

Cuadro IX: Producción de leche corregida por grasa (LCG) al 4 % (L/vaca/día) de vacas primíparas y multíparas durante las primeras 8 semanas posparto (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

Semana PP	G0		G0.7		G1.4	
	L 1	L > 1	L 1	L > 1	L 1	L > 1
1	18.0±1.0	25.7±1.0	19.9±1.0	25.1±1.0	21.0±1.0	26.3±1.0
2	19.9±1.0	27.1±1.0	21.4±1.0	27.4±1.0	22.6±1.0	27.5±1.0
3	21.1±1.0	28.2±1.0	22.1±1.0	28.5±1.0	22.4±1.0	28.0±1.0
4	21.1±1.0	26.7±1.0	22.5±1.0	28.7±1.0	22.9±1.0	27.0±1.0
5	21.2±1.0	25.9±1.0	22.4±1.0	27.4±1.0	22.3±1.0	26.9±1.0
6	20.8±1.0	25.1±1.0	22.1±1.0	26.4±1.0	21.1±1.0	25.7±1.0
7	20.3±1.0	24.5±1.0	21.5±1.0	25.8±1.0	20.4±1.0	24.7±1.0
8	19.6±1.0	24.9±1.0	19.9±1.0	25.2±1.0	19.1±1.0	24.4±1.0

L 1: primíparas

L > 1: multíparas

En la cuadro IX se muestra la producción de LCG (L/vaca/día) al 4 % hasta la 8ª semana PP. Las vaquillonas tendieron a aumentar su producción hasta la 4ª y 5ª semana PP, para luego disminuirla ($P < 0.05$). En ésta en general no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, constatándose solo una diferencia en los animales del tratamiento G1.4 a tener mayor producción de LCG con respecto a los del tratamiento G0 y G0.7 en la primera y segunda semana PP ($P < 0.05$) y que luego de la semana 4 PP presentaron un descenso más pronunciado de la misma con relación a los otros dos grupos.

La LCG de las vacas tampoco presentó diferencias significativas entre los tratamientos, aunque los animales del tratamiento G0 tuvieron siempre la menor producción y los del tratamiento G0.7 tendieron a la mayor producción entre los tratamientos luego del pico de producción. Las vacas presentaron su pico de producción de LCG entre las semanas 3 y 4 PP respectivamente ($P < 0.0001$) y luego de este momento mostraron un descenso significativo de la misma ($P < 0.0005$).

Porcentaje de grasa en leche

El porcentaje de grasa en leche promedio durante las 8 primeras semanas PP fue 3.91 ± 0.08 . No se presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos, excepto en las semanas 7 y 8 PP en las cuales los animales del G1.4 presentaron los menores valores con respecto a los otros dos tratamientos ($P < 0.05$). Los animales de este grupo tuvieron el mayor % de grasa en la semana 1 PP (4.22 ± 0.1) y mostraron un descenso en la misma durante todo el ensayo registrando los menores valores en la semana 8 PP (3.52 ± 0.1). En general tampoco se presentaron diferencias en

el % de grasa en leche entre vacas y vaquillonas, a no ser en la semana 3 PP en la cual se observan mayores registros para las vacas ($P<0.05$).

Cuadro X: Porcentaje de grasa en leche de vacas primíparas y múltiparas durante las primeras 8 semanas posparto (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

Semana PP	G0		G0.7		G1.4	
	L 1	L > 1	L 1	L > 1	L 1	L > 1
1	3.8±0.1	4.2±0.1	4.2±0.1	4.2±0.1	4.1±0.1	4.3±0.1
2	3.8±0.1	4.1±0.1	4.0±0.1	4.2±0.1	4.1±0.1	4.2±0.1
3	3.9±0.1	4.2±0.1	4.0±0.1	4.2±0.1	3.8±0.1	4.1±0.1
4	3.7±0.1	4.0±0.1	3.9±0.1	4.1±0.1	3.9±0.1	3.8±0.1
5	3.8±0.1	3.9±0.1	4.0±0.1	3.9±0.1	3.7±0.1	3.9±0.1
6	3.7±0.1	3.8±0.1	3.9±0.1	3.8±0.1	3.6±0.1	3.9±0.1
7	3.8±0.1	3.8±0.1	3.9±0.1	3.8±0.1	3.6±0.1	3.6±0.1
8	3.8±0.1	4.0±0.1	3.8±0.1	3.8±0.1	3.4±0.1	3.7±0.1

L 1: primíparas

L > 1: múltiparas

En la cuadro X se observan los valores de % de grasa en leche de las vaquillonas y vacas. En cuanto a las vaquillonas el grupo G0 comenzó con un menor tenor de grasa (3.8 ± 0.1) que los grupos de baja (4.2 ± 0.1) y alta (4.1 ± 0.1) suplementación con semilla de girasol ($P<0.05$) y mantuvieron porcentajes similares durante el resto del período experimental. Los animales de los tratamientos G0 y G0.7 no tuvieron variaciones significativas durante el ensayo, mientras que en los animales del tratamiento G1.4 se constata una disminución de los registros para éste parámetro a lo largo del período experimental ($P<0.0001$). En la semana 8 PP presentaron los menores registros con respecto a los otros dos grupos ($P<0.05$).

El porcentaje de grasa en leche para las vacas múltiparas no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. En los animales del tratamiento G0 y G0.7 se observa que a partir de la tercera semana PP disminuyeron sus valores hasta la semana 7 PP ($P<0.001$), momento en el que tendieron a aumentar estos registros los animales del grupo testigo. En tanto, en general los animales del tratamiento G1.4 presentaron una disminución en el % de grasa en leche durante todo el período experimental.

Porcentaje de proteína en leche

En el % de proteína en leche no se registró diferencias significativas en cuanto a la paridad de los animales ni entre los diferentes tratamientos. En la semana 1 PP presentaron un % de proteína en leche promedio de 3.4 ± 0.04 , valores que disminuyeron significativamente hasta el final del período experimental para todos los animales por igual, momento en el cual registraron un % de 2.88 ± 0.04 ($P<0.0001$).

PERFILES METABÓLICOS

Cuadro XI: Resultados de perfiles metabólicos (todos los valores expresados en mMol/L)

	Significancias			Interacciones			Medias					EEM
	Sup	Par	Ob	Sup x Par	Sup x Ob	Par x Ob	G0	G 0.7	G1.4	L1	L > 1	
β HB			*			**	0.50	0.53	0.61	0.52	0.57	0.02
NEFA	*	*	***				0.60 ^b	0.70 ^{ab}	0.75 ^a	0.63 ^b	0.73 ^a	0.03
Colesterol			***			*	3.21	3.40	3.69	3.29	3.58	0.17
PUN	*	***				*	6.15 ^b	6.04 ^b	6.74 ^a	5.58 ^b	7.04 ^a	0.17
Glucosa		***	***				3.20	3.11	3.05	3.33 ^a	2.92 ^b	0.04

Sup = tratamientos, Par = paridad, Ob = observación (semana), L1 = primíparas, L > 1 = múltiparas
 *** P<0.001, ** P<0.01, * P<0.05. (Letras distintas indican diferencias significativas mayores al 5 %)

EEM = error estándar de la media. Medias = medias de efectos

G0 = grupo testigo

G0.7 = nivel bajo de suplementación con girasol

G1.4 = nivel alto de suplementación con girasol

Betahidroxibutirato (β HB)

Las concentraciones de β HB (mMol/L) presentaron una tendencia a ser diferentes entre tratamientos (P=0.075), registrándose las mayores diferencias entre los tratamientos G0 y G1.4 (0.50±0.03 vs. 0.61±0.03). Los perfiles de este metabolito no fueron diferentes entre primíparas y múltiparas.

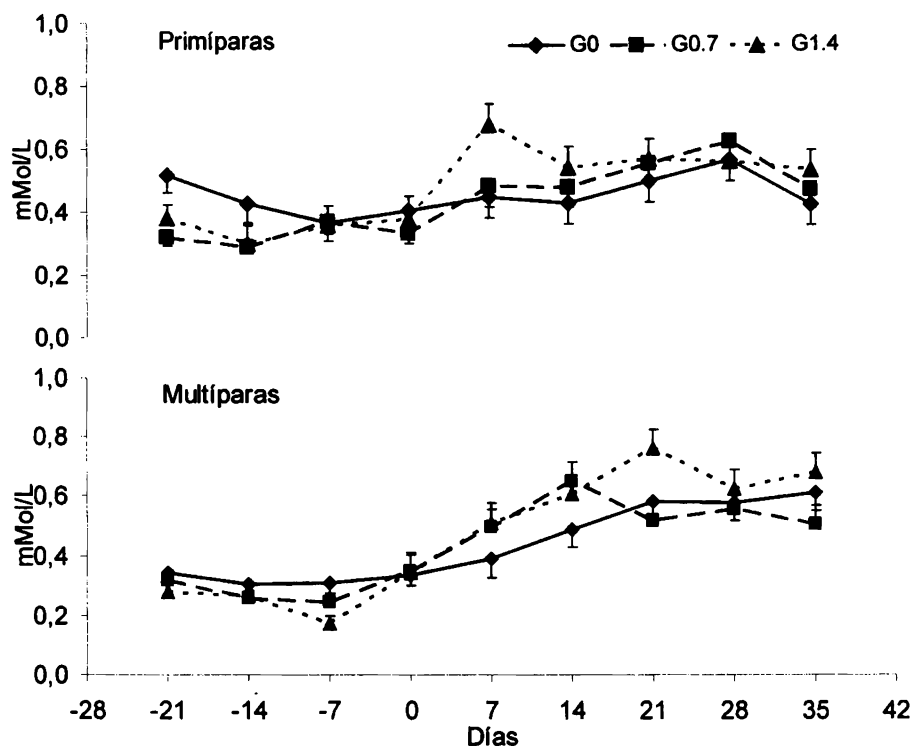


Figura 3: Concentraciones plasmáticas de betahidroxibutirato (β HB) durante los 21 días previos y los primeros 35 días posparto de vacas primíparas (panel superior) y múltiparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 3 (panel superior) se muestran los valores plasmáticos de β HB para las vaquillonas durante las 3 semanas previas y las 5 primeras semanas PP. Hasta el momento del parto sus valores se mantienen estables para los tres tratamientos y en general se observa que a partir del parto los valores de los G0 y G0.7 se incrementaron hasta la semana 4 PP. En los animales del tratamiento G1.4 la concentración de β HB en plasma fue mayor en el día 7 PP con respecto a los otros tratamientos ($P < 0.05$) (momento en el que registraron valores de 0.68 ± 0.06 mMol/L), mientras que en la semana siguiente los valores disminuyeron ($P < 0.08$) para luego mantenerse estables hasta el final del ensayo y con valores similares a los de los otros grupos.

En el panel inferior se muestran los valores plasmáticos de β HB para las vacas durante las 3 semanas previas y las 5 primeras semanas PP. Sus valores también se mantienen estables hasta el momento del parto. Se observa que para las vacas del tratamiento G0 su concentración se incrementó en el transcurso del período experimental, mostrando una curva de incremento más pronunciada hasta el día 21 PP ($P = 0.01$). En los animales del tratamiento G0.7 esta concentración se incrementó a 0.65 ± 0.06 mMol/L hacia el día 14 PP ($P < 0.02$), luego disminuyó a 0.52 ± 0.06 mMol/L ($P < 0.05$) y se mantuvo en niveles similares las semanas siguientes. Mientras que, en los animales del tratamiento G1.4 las concentraciones de β HB aumentaron hasta el día 21 a niveles de 0.76 ± 0.06 ($P < 0.002$), luego disminuyeron hasta el día 28 ($P = 0.05$) a 0.62 ± 0.06 y se mantuvieron en ese valor hasta el fin del período experimental. Al comparar los tres tratamientos se observa que en prácticamente todo el ensayo las mayores concentraciones de β HB correspondieron a los animales del tratamiento G1.4. Esta diferencia fue más acentuada el día 21 PP, con respecto a los animales del tratamiento G0.7 ($P < 0.05$) y a los animales del tratamiento G0 ($P < 0.1$).

Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA)

Las concentraciones plasmáticas de NEFA (mMol/L) fueron diferentes entre los tratamientos, siendo el grupo G1.4 el que registró en promedio los niveles más altos (0.75 ± 0.04), en comparación al grupo G0.7 (0.7 ± 0.04), ambos mayores que el grupo testigo G0 (0.6 ± 0.04 ; $P < 0.05$). Las primíparas tuvieron niveles promedio inferiores que las múltiparas (0.63 ± 0.03 vs. 0.73 ± 0.03 ; $P < 0.05$). En general se observa que los niveles de NEFA aumentaron hasta el momento del parto para todos los tratamientos. Luego éstos disminuyeron desde el momento del parto para el G0, luego de la 1ª semana PP para el G0.7 y de la 2ª semana PP para los animales del G1.4.

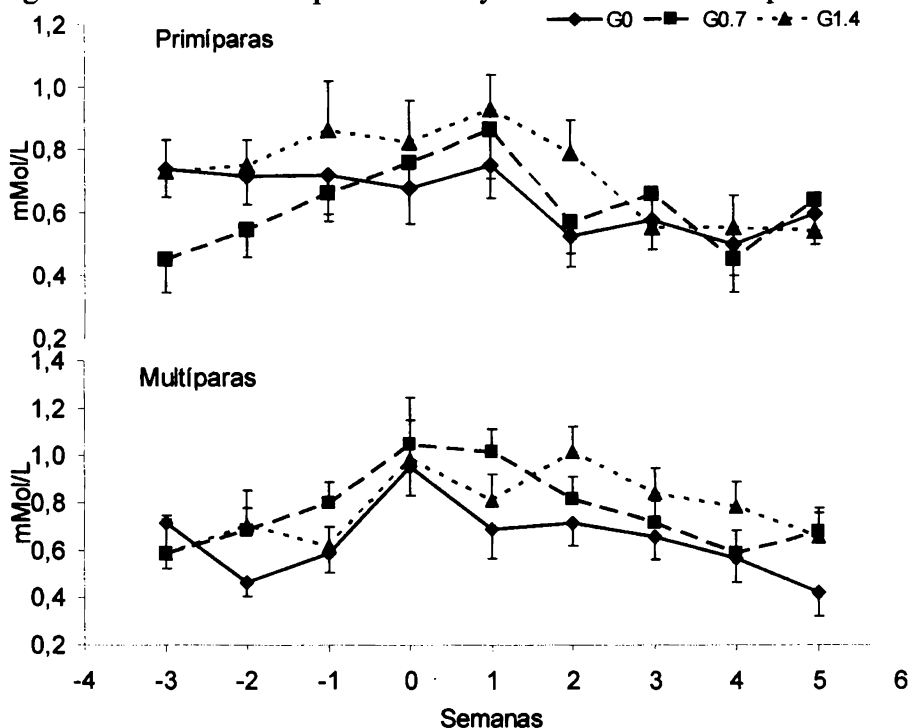


Figura 4: Concentraciones plasmáticas de Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA) durante las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas posparto de vacas primíparas (panel superior) y múltiparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 4 se muestran las concentraciones plasmáticas de NEFA en las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas PP. En ésta se observa que las vaquillonas (panel superior) del tratamiento G0 mostraron valores de NEFA estables hasta el parto, y luego de la 1ª semana PP estos registros comenzaron a disminuir. Las vaquillonas del tratamiento G0.7 mostraron un incremento en la concentración de NEFA desde 0.45 ± 0.11 mMol/L en la semana 3 preparto hasta 0.86 ± 0.15 mMol/L en la 1ª semana PP. Después de ésta, también presentaron una disminución de la misma, pero a partir de la semana 4 PP presentaron una tendencia a aumentarla ($P < 0.09$). Las vaquillonas del G1.4 al inicio del preparto tenían los mayores registros de NEFA (junto con las del G0). También presentaron un incremento en su concentración hasta la 1ª semana PP (momento en el que registraron los mayores valores: 0.93 ± 0.11 mMol/L) y luego sus valores disminuyeron. Las vaquillonas del G1.4 presentaron siempre los mayores registros de NEFA aunque esta diferencia presentó una tendencia a ser significativa solo en la segunda semana PP ($P < 0.1$).

En el panel inferior se muestran las concentraciones plasmáticas de NEFA de las vacas multíparas. En la misma se observa que todos los grupos aumentaron sus concentraciones hasta el momento del parto, cuando los niveles plasmáticos alcanzaron valores promedio de 1.0 ± 0.16 mMol/L. Luego del parto, los animales del tratamiento G0 presentaron una disminución en sus valores y registraron siempre las menores concentraciones de NEFA en relación a los otros dos grupos. Las vacas del tratamiento G0.7 presentaron los registros mas altos hasta la 1ª semana PP al compararla con los grupos G0 ($P < 0.05$) Y G1.4 ($P < 0.1$). Después de esta semana sus registros también comenzaron a disminuir. En los animales del tratamiento G1.4 hasta el día 14 PP se incrementaron sus valores de NEFA ($P < 0.06$), y luego disminuyeron ($P < 0.015$), pero mantuvieron durante el resto del ensayo registros de concentraciones mayores que los otros tratamientos, principalmente con respecto al grupo testigo ($P < 0.05$). Las mayores diferencias se registraron la semana 2 PP entre el G1.4 que registró los mayores valores (1.01 ± 0.1 mMol/L) con relación al G0 (0.71 ± 0.1 ; $P < 0.05$) y al G0.7 (0.81 ± 0.1 ; $P < 0.1$).

Colesterol

No se registraron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de colesterol (mMol/L) entre vaquillonas y vacas, ni entre los diferentes tratamientos. Se observa que presentaron una tendencia a disminuir su valor hasta el parto y a partir del mismo mostraron un importante aumento en su concentración durante todo el ensayo ($P < 0.0001$). Los niveles promedio al momento del parto fueron de 1.56 ± 0.09 y al final del período experimental de 4.57 ± 0.19 .

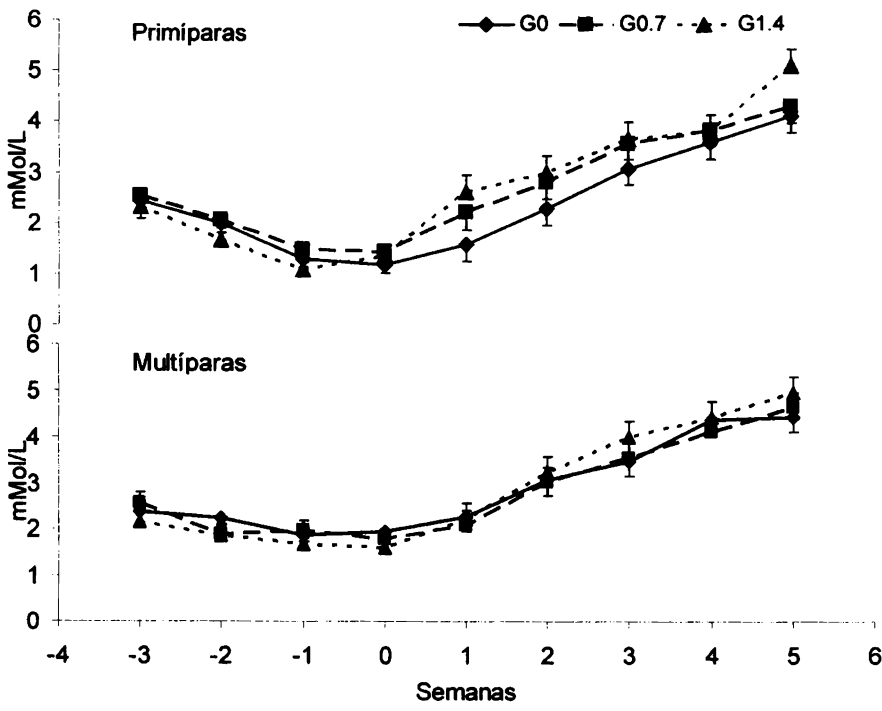


Figura 5: Concentraciones plasmáticas de colesterol durante las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas posparto en vacas primíparas (panel superior) y multíparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 5 (panel superior) se muestran las concentraciones plasmáticas de colesterol de las vacas primíparas en las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas PP. No se registraron diferencias significativas entre los distintos grupos. Se observa un mismo comportamiento para los tres tratamientos, en el cual se registra que presentaron una tendencia a disminuir la concentración de colesterol hasta el momento del parto y luego aumentaron su concentración de forma muy significativa en el transcurso del período experimental ($P < 0.0001$).

En el panel inferior se muestran las concentraciones plasmáticas de colesterol de las vacas pluríparas en las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas PP. Durante el parto se mantuvieron con valores estables y en el PP presentaron el mismo comportamiento que las vaquillonas.

Urea en plasma (PUN)

Se registró un efecto de tratamiento en las concentraciones plasmáticas de urea (mMol/L) registrándose los mayores valores para los animales del tratamiento G1.4 (6.74 ± 0.18 vs. G0.7: 6.04 ± 0.18 , y G0: 6.15 ± 0.17 ; $P = 0.026$). También se constató un efecto de la paridad (vaquillonas 5.58 ± 0.17 vs. vacas 7.04 ± 0.17 ; $P < 0.0001$).

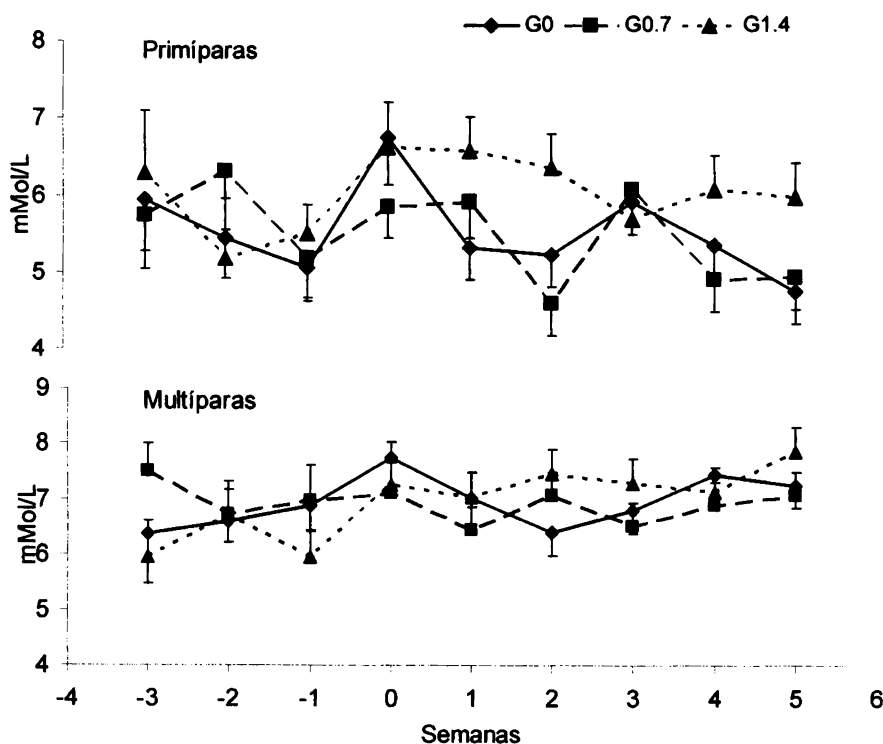


Figura 6: Concentraciones plasmáticas de urea (PUN) durante las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas posparto en vacas primíparas (panel superior) y múltiparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 6 (panel superior) se muestran las concentraciones plasmáticas de urea (PUN) en las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas PP en las vaquillonas. Para el grupo G1.4, fueron más elevadas durante el período experimental, particularmente en las dos primeras semanas PP ($P<0.05$). En el grupo G0.7 se registró una disminución en la 2^{da} semana PP, luego un aumento hacia la tercera semana PP ($P<0.02$), para luego caer en las semanas siguientes. Este aumento en el día 21 PP también se registró en el grupo G0, en el que también se registró una disminución posterior ($P<0.03$).

En el panel inferior se muestran las concentraciones plasmáticas de urea de las vacas multíparas. Se observa un mismo comportamiento en los animales de los tratamientos suplementados con girasol, que se mantuvieron bastante estables durante el período experimental. En cambio los animales del G0 presentaron un incremento hasta el parto, luego una disminución hasta la semana 2 PP y finalmente incrementaron su concentración. A pesar de lo anterior no se presentaron diferencias significativas en la concentración de PUN en las vacas de los distintos tratamientos.

Glucosa

Al parto se registraron los valores máximos de glucosa (promedio al parto: 4.00 ± 0.15 mMol/L), luego éstos disminuyeron en todos los animales en la semana posterior al parto y se mantuvieron estables durante el resto del período experimental. No se registraron diferencias entre los tratamientos excepto en la semana 5 PP que los animales del G0 tuvieron los mayores valores ($P<0.05$). Se observan diferencias importantes de acuerdo a la paridad de los animales, por lo cual las vaquillonas tuvieron registros mayores de glicemia (3.33 ± 0.4 vs. 2.92 ± 0.04 ; $P<0.0001$).

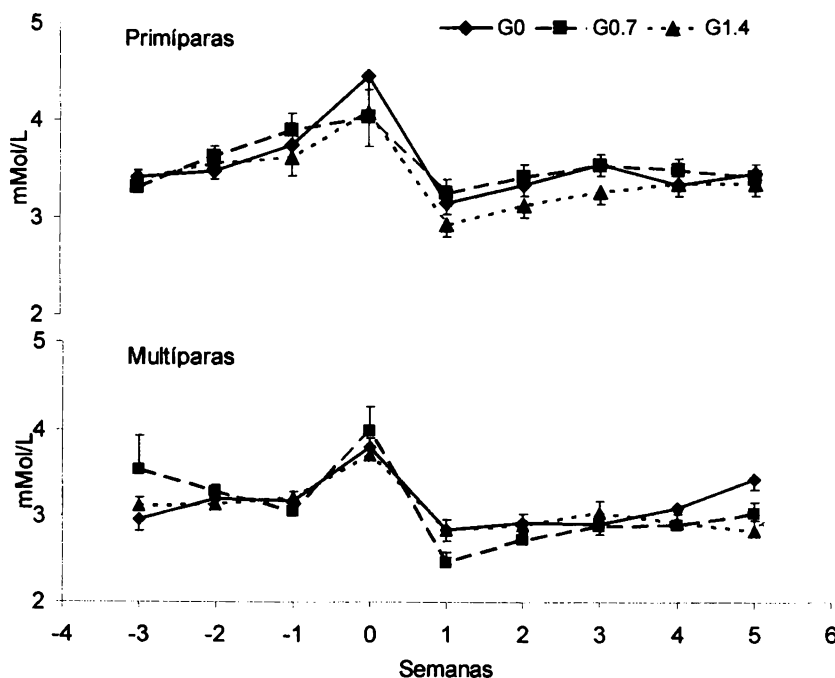


Figura 7: Concentraciones plasmáticas de glucosa durante las 3 semanas previas y las primeras 5 semanas posparto en vacas primíparas (panel superior) y multíparas (panel inferior) (G0: grupo testigo, G0.7: nivel bajo de suplementación con girasol, G1.4: nivel alto de suplementación con girasol).

En la figura 7 (panel superior) se muestran las concentraciones plasmáticas de glucosa durante las 3 semanas previas y las 5 primeras semanas PP en las vaquillonas. Se observa que todos los tratamientos experimentaron un incremento en su glicemia durante el parto. En la primera semana PP presentaron una importante disminución de su concentración y luego sus valores tendieron a ir incrementándose. En general no se observan diferencias entre los tratamientos.

En el panel inferior se muestran las concentraciones plasmáticas de glucosa de las vacas pluríparas. Al igual que en las vaquillonas, las vacas experimentaron un incremento en su glicemia durante el parto principalmente en la semana previa al parto. También evidenciaron una importante disminución de su concentración la primera semana PP, momento en el que el G0.7 presentó los menores registros respecto a los otros grupos ($P < 0.05$). En las semanas siguientes presentaron una tendencia a ir incrementando estos valores sin diferencias entre los grupos a no ser en la semana 5 PP que el G0 tuvo mayores niveles de glicemia ($P < 0.05$).

INDICADORES DE EFICIENCIA REPRODUCTIVA

Cuadro XII: Resultados de variables reproductivas

	Significancia Interac			Medias					EEM
	Sup	Par	Sup x Par	G0	G0.7	G1.4	L 1	L > 1	
Ov1 (prop)	*	**	*	0.45 ^b (0.164-0.774)	0.95 ^a (0.689-0.993)	0.84 ^a (0.564-0.958)	0.47 ^b (0.21-0.747)	0.96 ^a (0.765-0.992)	(*)
IPOv (días)	**	tend	**	32.6 ^a	20.7 ^b	23 ^b	28.1	22.7	2.43
IGF-I (ng/ml)				55.7	55.6	46.6	57.2	48.05	5.69
Día máx Ø			tend	14.50	14.13	15.23	14.13	15.11	0.9
Ø máx FD (mm)				14.56	15.44	15.52	14.75	15.6	0.77

	G0		G0.7		G1.4		EEM
	L 1	L > 1	L 1	L > 1	L 1	L > 1	
IPOv (días)	43.9 ^a	21.4 ^b	19.4 ^b	22.0 ^b	21.1 ^b	24.8 ^b	3.75
Ov1 (prop)	0.03 ^b (0.003-0.271)	0.95 ^a (0.649-0.995)	0.91 ^a (0.435-0.992)	0.97 ^a (0.662-0.998)	0.67 ^a (0.284-0.915)	0.93 ^a (0.558-0.993)	(*)

Sup = tratamientos, Par = paridad

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$. (Letras distintas indican diferencias significativas mayores al 5 %)

(*) Intervalo de 95 % de confianza entre paréntesis

EEM = error estándar de la media, Medias = medias de efectos

G0 = grupo testigo

G0.7 = nivel bajo de suplementación con girasol

G1.4 = nivel alto de suplementación con girasol

L1 = primíparas, L > 1 = multíparas

Ov1 = proporción de animales que ovulan en la 1ª onda folicular PP

IPOv = intervalo parto-ovulación

IGF-I = concentración plasmática de IGF-I al momento del mayor diámetro del folículo dominante (FD) en la 1ª onda PP

Día máx Ø = día en el que el FD de la 1ª onda PP logra su máximo diámetro

Ø máx FD = diámetro máximo del FD de la 1ª onda PP

Destino de la primera onda folicular posparto

Se estudió el destino de la primera onda folicular del total de animales por medio de ultrasonografía, con el objetivo de constatar la ovulación o regresión de la misma. La proporción de animales que ovularon en la primera onda folicular PP fue afectado por los diferentes tratamientos (G0: 0.45 vs. G0.7: 0.95 y G1.4: 0.84) ($P < 0.05$) y por la paridad de los animales (vaquillonas 0.47 vs. vacas 0.96) ($P < 0.006$). También se constató una interacción tratamiento-paridad para este parámetro ($P < 0.04$).

Del total de vacas primíparas (24 animales), 14 ovularon en la primera onda folicular (58.3%) y 10 no ovularon en esa onda folicular (41.7%). De las multíparas (22 animales en total), 19 ovularon en la primera onda folicular (86.4%), mientras que 3 no ovularon (13.6%). Del total de animales (46 animales), 33 ovularon en la primera onda folicular (71.7%) y 13 animales no ovularon en esa onda folicular, sino que la misma regresó (28.3%).

Cuadro XIII: Destino de la primera onda folicular posparto según tratamiento y paridad

Tratamiento	Categoría	Total animales	Ovulación
G0	Primíparas	8	1/8 ^b
	Multíparas	8	7/8 ^a
G0.7	Primíparas	8	7/8 ^a
	Multíparas	8	7/8 ^a
G1.4	Primíparas	8	6/8 ^a
	Multíparas	6	5/6 ^a

Letras distintas indican diferencias significativas mayores al 5 %

En el cuadro XIII se muestra la proporción de animales que ovularon en la primera onda folicular PP, de acuerdo al tratamiento y paridad. Para el tratamiento G0 se observa que de un total de 16 animales, 8 ovularon en la primera onda folicular (50%) y 8 regresaron (50%). Para los animales del tratamiento G0.7, de un total de 16 animales, 14 ovularon (87.5%) y 2 regresaron (12.5%). En los animales del tratamiento G1.4, de un total de 14 animales, 11 ovularon (78.5%) y 3 no mostraron ovulación en la primera onda folicular (21.5%). También se encuentran diferencias importantes en el destino de la primera onda folicular entre las vaquillonas del grupo testigo con respecto a las de los grupos suplementados. De los 8 animales del grupo testigo 1 ovuló en la primera onda, en cambio en las suplementadas 7 y 6 animales ovularon (grupos G0.7 y G1.4 respectivamente) ($P < 0.05$).

Intervalo Parto-Ovulación (IPOv)

El intervalo parto-ovulación promedio para el total de animales fue de 23.6 días. Este parámetro fue afectado por los diferentes tratamientos ($P < 0.006$) y presentó una tendencia a tener variaciones según el número de lactancia de los animales (primíparas 28.1 ± 2.1 vs. multíparas 22.7 ± 2.2 días) ($P = 0.09$). También fue afectado por su interacción (tratamiento x paridad) ($P = 0.0013$). Los promedios del intervalo parto-ovulación para los diferentes tratamientos fueron los siguientes: G0 (32.6 ± 2.6 días^a), G0.7 (20.7 ± 2.6 días^b) y G1.4 (23 ± 2.8 días^b).

Cuadro XIV: Intervalo Parto-Ovulación según tratamiento y paridad

Tratamiento	Categoría	IPOv (días)
G0	Primíparas	43.9 ± 3.6^a
	Multíparas	21.4 ± 3.6^b
G0.7	Primíparas	19.4 ± 3.6^b
	Multíparas	22 ± 3.6^b
G1.4	Primíparas	21.1 ± 3.6^b
	Multíparas	24.8 ± 4.2^b

Letras distintas indican diferencias significativas mayores al 5 %

Se verifica una importante diferencia en el IPOv de las vaquillonas del grupo testigo con respecto a las de los grupos suplementados (43.9 vs. 19.4 y 21.1 días; $P < 0.05$). Pero este menor IPOv registrado en los grupos suplementados con girasol no fue observado en las vacas multíparas.

IGF-I

Para la cuantificación de la concentración de IGF-I, se utilizaron las muestras de plasma obtenidas el día en el que el folículo dominante de la primera onda PP expresó su mayor diámetro para cada animal. Su concentración promedio fue de 53.4 ± 3.47 ng/ml; y la misma no fue diferente entre animales de diferentes tratamientos, ni entre primíparas y multíparas ($P > 0.1$).

Diámetro máximo del folículo dominante de la primera onda folicular posparto

El promedio sobre el total de animales para esta variable fue de 14.94 ± 0.69 mm. Éste no fue afectado por los distintos tratamientos ni por el número de lactancia de los animales ($P > 0.1$).

Día máximo diámetro del folículo dominante de la primera onda folicular posparto

El día en que el folículo dominante de la primera onda folicular PP logró su máximo diámetro (promedio 14.6 ± 0.6 días) no fue afectado por los diferentes tratamientos ni por el número de lactancia de los animales ($P > 0.1$).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las tres dietas fueron isoenergéticas e isoproteicas lo cual es indispensable para poder evaluar los efectos de la grasa del girasol independientemente a cualquier otro posible efecto. La inclusión de una fuente de grasa a la dieta de las vacas en forma de semilla de girasol entera no afectó el consumo de MS tanto para los animales del grupo con nivel bajo de suplementación grasa (G0.7: 4.20 % de la MS consumida), como para los del grupo con nivel alto de suplementación grasa (G1.4: 6.2 % de la MS consumida). Esto confirma lo sugerido por Wattiaux y Grummer (2000) que se puede incrementar el % de grasa en la dieta de las vacas hasta un 6 % de su consumo de MS sin perder eficiencia; y se contradice con Coppock y Wilks (1991), Harrison y col. (1995), Romo y col. (1996), para quienes este consumo de grasa no es recomendable por su efecto negativo potencial sobre la digestibilidad de la fibra y sobre el consumo de MS. Es posible también que este efecto haya sido evitado porque la grasa fue ofrecida en forma de semillas enteras de girasol lo cual pudo haber disminuido el efecto negativo que un exceso de ácidos grasos podría causar sobre la fermentación ruminal.

Las vacas llegaron al momento del parto perdiendo estado corporal, lo cual fue observado principalmente en las vacas primíparas. En ese momento entre todos los grupos presentaron una CC promedio de 2.4 la cual se encuentra por debajo de los valores ideales de 2.75-3.0 de CC al parto (Overton y Waldron, 2004; Roche y Diskin, 2005a). Sin embargo no se constataron pérdidas importantes de CC en las semanas posteriores al parto, contrariamente a lo comúnmente citado (Chilliard y col., 2000; Roche y Diskin, 2005a). Muchos estudios reportan importantes pérdidas de peso corporal cuando las vacas son suplementadas con grasa (Sklan y col., 1991; Sklan y col., 1994), sin embargo en nuestro estudio la suplementación con girasol no produjo diferencias en los valores de CC. Tampoco hubo diferencias entre primíparas y múltiparas contrario a lo observado por Meikle y col. (2004) quienes encontraron pérdidas más importantes de CC en las primíparas en el PP. Éstos reportaron que las vacas primíparas son las más afectadas por el BEN y tienen una producción de leche y eficiencia reproductiva menores.

La suplementación con hasta un 6.2 % de grasa en la MS consumida durante el PP de las vacas no afectó ni la producción ni la composición de la leche. En muchos estudios la suplementación grasa aumentó la producción de leche (Block, 2004; Cummins y Sartin, 1987; Jerred y col., 1990; Schingoethe y col., 1996) pero en la mayoría de estos casos la suplementación grasa fue usada como un aporte de energía adicional. Las vacas y vaquillonas presentaron su pico de producción de leche entre las semanas 3 y 4 PP. La diferencia de producción entre éstas podría ser explicada principalmente por el menor consumo presentado por las vaquillonas (Crampton, y col., 1960) y en parte también por su menor desarrollo de la glándula mamaria y a que parte de la energía consumida es utilizada para completar su crecimiento. En nuestro estudio la suplementación con semilla de girasol entera no disminuyó el % de grasa en leche contrario a lo observado por Ortiz y col (1998); aunque se podría suponer que si el período de suplementación hubiese sido mayor, los animales del G1.4 podrían haber presentado una disminución significativa en este parámetro en relación a los otros grupos. El % de proteína en leche tampoco mostró diferencias entre los distintos tratamientos y presentó una curva normal disminuyendo progresivamente durante la lactancia.

No se registraron diferencias entre primíparas y múltiparas en las concentraciones plasmáticas de β HB, contrariamente a lo reportado por Meikle y col. (2004). En ese estudio las vacas primíparas presentaron mayores pérdidas de CC, mayores concentraciones circulantes de NEFA y β HB por lo que evidenciaron un estado energético más deficiente y catabólico que las múltiparas (Meikle y col, 2004). En nuestro ensayo el β HB se mantuvo constante hasta el momento del parto y luego presentó un incremento durante el período experimental, pero siempre registrando valores por debajo del máximo aceptable para vacas al inicio de la lactancia de 0.8 mMol/L (Wittwer, 2000). Este incremento del β HB puede tener dos posibles orígenes: el ácido butírico de la dieta (proveniente de la pastura por ejemplo) es transformado en el epitelio de los pre-estómagos, vía acetoacetato, en β HB (siendo éste el principal cuerpo cetónico en sangre de los rumiantes); por otra parte, los ácidos grasos de cadena larga producidos en la movilización lipídica de reservas corporales son convertidos en el hígado en acetoacetato y después en β HB, el cual puede ser utilizado como fuente de energía y en la síntesis de la grasa de la leche. Es probable que los incrementos observados en nuestro estudio se expliquen por este último mecanismo, ya que ocurren cuando se incrementan los requerimientos energéticos de producción de leche y en consecuencia las vacas movilizan sus reservas corporales para minimizar el déficit. Además, el grupo con mayor nivel de suplementación grasa presentó una tendencia a tener mayores concentraciones de β HB plasmático lo cual concuerda con Grummer y Carroll (1991) quienes reportaron que la hidrólisis de triglicéridos en el tejido adiposo aumenta cuando se suplementa con grasa.

Las concentraciones de NEFA comenzaron a incrementarse durante el parto de los distintos grupos lo cual concuerda con Meikle y col. (2004) y Albanell y Silva (2006). Los animales de todos los grupos llegaron al momento del parto movilizand o reservas y registrando valores de NEFA por encima del máximo aceptable para vacas secas de 0.4 mMol/L (Whitaker, 2004). Esto probablemente haya ocurrido porque la alimentación preparto no fue la adecuada para permitir que los animales lleguen al parto con un mejor estado corporal (CC). Luego del parto los animales continuaron movilizand o reservas y registrando valores de NEFA por encima del máximo aceptable para vacas en lactancia de 0.7 mMol/L (Whitaker, 2004). Esto ocurrió en las vaquillonas hasta la semana 1 PP y en las vacas hasta la semana 3 PP. A pesar de estas concentraciones de NEFA por encima de los valores aceptables, consideramos que estos niveles de movilización no fueron tan graves ya que los valores de β HB se mantuvieron siempre dentro del rango normal. Las concentraciones de NEFA fueron mayores en las vacas múltiparas contrario a lo observado por Meikle y col. (2004). Esto podría ser explicado por la mayor producción de leche presentada por éstas, lo cual provocó que tuvieran mayores requerimientos energéticos para producción de leche y como consecuencia una mayor movilización de sus reservas lipídicas. Según Butler y col. (1981) el nivel de déficit energético usualmente está directamente relacionado a la producción de leche. Además los grupos suplementados con grasa presentaron mayores concentraciones de NEFA, registrándose los mayores valores para el grupo de alto nivel de suplementación grasa. Esto concuerda con Funston (2004) y, como fue mencionado anteriormente, con Grummer y Carroll (1991) quienes encontraron que al suplementar con grasa la hidrólisis de triglicéridos en el tejido adiposo aumenta y la lipogénesis disminuye, por lo cual las concentraciones de NEFA son altas. Por otra parte se contradice con los resultados de Robinson y col. (2002) quienes no encontraron diferencias en las concentraciones de NEFA al suplementar con diferentes fuentes de grasa (ya sea con $\Omega 6$ u $\Omega 3$).

El colesterol sérico total es una medida indirecta de las lipoproteínas de transporte en sangre (VLDL, LDL, HDL) y por lo tanto de la capacidad del hígado para producirlas (Van Saun, 2000), ya que éstas son las responsables de transportar los lípidos desde el hígado hacia otros tejidos. En numerosos estudios se encontró que la suplementación grasa en la dieta aumenta las concentraciones circulantes de colesterol (Grummer y Carroll, 1991; Hightshoe y col., 1991; Robinson y col., 2002; Staples y col., 1998; Talavera y col., 1985; Thomas y col., 1997; Wehrman y col., 1991; Williams, 1989; Williams y Stanko, 1999). Este incremento del colesterol se debe a la necesidad de aumentar la absorción de ácidos grasos desde el intestino delgado (Grummer y Carroll, 1988). Sin embargo en nuestro estudio la suplementación grasa no influyó en las concentraciones plasmáticas de colesterol ya que no se registraron diferencias entre ninguno de los tratamientos, para lo cual no encontramos una explicación adecuada. Presentó una tendencia a disminuir hasta el momento del parto y luego registró un importante incremento en su concentración al avanzar las semanas PP. Patrones similares fueron reportados (Cavestany y col., 2005; Crespi y col., 2005), quienes lo atribuyeron a la recuperación del balance energético. Los bajos niveles de colesterol alrededor del parto pueden relacionarse con movilización grasa debido a la deficiencia de energía (Ghargariu y col., 1984; Wittwer y col., 1987).

La urea es un producto de excreción del metabolismo del nitrógeno y su determinación revela información sobre el metabolismo proteico del animal. La concentración plasmática de urea (PUN) está en relación directa con el aporte proteico de la dieta, así como de la relación energía/proteína. Un aporte deficiente de proteínas está asociado con valores bajos de urea, mientras que valores altos indican un aporte excesivo de proteínas (degradables y solubles) en rumen o sino un aporte deficiente de energía (Wittwer, 2000). Esta última es probable que haya sido la causa de los mayores valores de PUN registrados en las vacas multíparas y en los animales del grupo de alto nivel de suplementación grasa, quienes experimentaron una mayor movilización de reservas corporales (lipídicas y proteicas). Las vacas del G1.4 durante todo el ensayo registraron valores por encima del rango normal de 7 mMol/L (Wittwer, 2000).

La suplementación grasa no tuvo efectos sobre la concentración de glucosa plasmática lo cual concuerda con lo reportado por Grummer y Carroll (1991), Staples y col. (1998) y Funston (2004). Ésta presentó un incremento al parto para luego disminuir y mantenerse estable. Esto ocurre debido al fuerte control homeostático hormonal que el organismo mantiene sobre su concentración, el cual permite que se mantenga siempre muy constante e independiente de factores asociados a la dieta (Wittwer, 2000). Sin embargo las vaquillonas presentaron mayores concentraciones de glucosa plasmática que las vacas, lo cual podría ser causado por sus menores requerimientos para producir leche tal cual fue descrito anteriormente.

Se estudió el destino de la primera onda folicular PP debido a su comprobado impacto sobre la duración del anestro PP (Beam y Butler, 1997). Las vacas que fallan en ovular el folículo dominante (FD) de la primera onda PP o forman quistes foliculares, tienen un prolongado período de ondas foliculares anovulatorias antes de que la primera ovulación PP ocurra, en comparación con las vacas que ovulan el FD de la primera onda PP (Beam y Butler, 1999). Además la primera ovulación PP determina el número y la duración de los ciclos estrales antes de que comience el período de servicios. Cuanto más temprano en el PP ocurra la primera ovulación habrá mayor número de ciclos y mayores probabilidades de concepción al primer servicio (Cavestany y col., 2001; Martínez y Sánchez, 1999; Roche y Diskin, 2005). En nuestro estudio la proporción de animales que ovularon el FD de la primera onda folicular PP fue afectado por la suplementación

grasa, por la paridad de los animales y por su interacción. La mayoría de las vaquillonas del grupo testigo (sin suplementación grasa) no ovularon el FD de la primera onda PP, contrario a lo observado en las suplementadas. Sin embargo este efecto no fue observado en las vacas multíparas. Según Butler y Smith (1989) el promedio de días a la primera ovulación PP en las vacas lecheras modernas es de aproximadamente 25 a 30 días, con un rango típico de 17 a 42 días. En nuestro ensayo el intervalo parto-ovulación (IPOv) promedio fue de 23 días, presentó una tendencia a ser diferente entre primíparas (28 días) y multíparas (22 días), con diferencias entre los grupos de suplementación y entre su interacción. Este mayor IPOv de las primíparas fue causado por los animales del grupo testigo, ya que para este indicador también hubo un efecto de la suplementación grasa en las vaquillonas y que tampoco se observó en las vacas multíparas. Se confirma lo reportado por Beam y Butler (1997) en cuanto a la importancia del destino del FD de la primera onda PP sobre el intervalo anovulatorio PP. Las vaquillonas del grupo testigo (sin suplementación grasa) fueron quienes en su mayoría presentaron regresión de los FDs de la primera onda y tuvieron los mayores intervalos anovulatorios PP. A pesar de lo anterior el IPOv promedio de las primíparas y multíparas fue menor a los reportados por Cavestany y col. (1996 y 2001), Meikle y col. (2004), Adrien (2006) y Albanell y Silva (2006).

En numerosos estudios se encontró que la suplementación grasa estimula el crecimiento y aumenta el tamaño del FD (Beam y Butler, 1997; De Fries y col., 1998; Hightshoe y col. 1991; Mattos y col., 2000; Oldick y col., 1997; Thomas y col., 1997). Según Lucy y col. (1991a) este efecto es independiente a la energía aportada por la grasa ya que también está presente en dietas isocalóricas. Sin embargo en nuestro ensayo la suplementación grasa no afectó el diámetro máximo del FD de la primera onda PP entre los diferentes tratamientos. Esto se contradice con Beam y Butler (1997) y Albanell y Silva (2006) quienes reportaron que los animales que ovulan el FD de la primera onda PP presentan mayores diámetros lo cual no fue observado en nuestro ensayo. Además el FD de la primera onda PP mostró su mayor diámetro en el mismo momento PP para los distintos grupos. Para ese día, en el que el FD de la primera onda expresó su mayor diámetro se analizaron las concentraciones de IGF-I. A nuestro entender hubiese sido mejor seguir la evolución de las concentraciones de IGF-I y no el haberlas analizado un día puntual. A pesar de lo anterior, como no hubo diferencias entre los grupos de diámetro y días al diámetro máximo del FD de la primera onda PP, podríamos haber encontrado alguna diferencia en las concentraciones de IGF-I que nos permitieran explicar las diferencias encontradas en cuanto al destino de la primera onda folicular PP y al IPOv. La IGF-I tiene un rol endócrino y es un factor que le indica el estado nutricional al eje reproductivo (Zulu y col., 2002). Actúa en la hipófisis anterior para estimular la secreción de gonadotrofinas, aumenta la sensibilidad de las células foliculares a la FSH y LH (Spicer y Echterkamp, 1995) y estimula tanto la proliferación como la diferenciación de las células de la granulosa dependiendo del grado de desarrollo de los folículos (Zulu y col., 2002). La IGF-I juega un importante rol en la inducción gonadotrópica de la foliculogénesis, de la esteroidogénesis ovárica y de la función del cuerpo lúteo. En las vacas lecheras hay una relación entre la actividad esteroidogénica del primer FD PP y las concentraciones circulantes de IGF-I. Beam y Butler (1999) y Zulu y col. (2002) encontraron un incremento pronunciado de la IGF-I en vacas con ciclos normales al momento de la ovulación. Sin embargo en nuestro estudio la concentración de IGF-I al día del máximo diámetro del FD de la primera onda PP no presentó diferencias entre los animales que ovularon de los que no lo hicieron. No hubo diferencias ni entre los distintos niveles de suplementación, ni entre primíparas y multíparas. Esto también se contradice con lo reportado en unos cuantos estudios en los cuales las concentraciones plasmáticas de IGF-I PP fueron significativamente mayores en las primíparas (Gong y col., 1993; Robinson y

col., 2002; Taylor y col., 2004; Wathes y col., 2001). Beam y Butler (1997 y 1998) encontraron que los niveles en plasma de IGF-I fueron 40-50 % mayores durante las dos primeras semanas PP en vacas lecheras cuando el primer FD ovuló comparado con los de vacas con folículos no ovulatorios. Los factores clave que determinan si el primer FD ovula o no son: el tamaño del FD, la frecuencia de pulsos de LH al que está expuesto y las concentraciones sistémicas de IGF-I (Roche, 2006). Tomando en cuenta lo anterior no encontramos una explicación adecuada para nuestros resultados ya que el diámetro máximo del FD de la primera onda no tuvo diferencias entre los que ovularon y los que regresaron, al igual que sus concentraciones de IGF-I. En un estudio de Robinson y col. (2002) la suplementación grasa (con $\Omega 6$) tuvo como resultados mayores diámetros del primer FD, y mayores concentraciones de colesterol y de IGF-I al estro. En cambio nuestros resultados no pueden ser explicados por ninguna de estas variables.

Zulu y col. (2002) encontraron que las vacas que ovulan en el primer FD dentro de los 20 días PP tienen un mejor estado energético y mayores concentraciones sistémicas de IGF-I que las vacas con folículos dominantes no ovulatorios. Sin embargo nuestros resultados, que presentaron un efecto de la suplementación grasa en vaquillonas sobre la proporción de animales que ovularon el FD de la primera onda PP, tampoco pueden ser explicados por su estado energético. Las vacas multíparas presentaron las mayores producciones de leche lo cual provocó que tuvieran una mayor movilización de reservas y un estado energético menor al de las vaquillonas. A pesar de esto se confirmó lo reportado por López y col. (2005) sobre la no asociación entre el riesgo de anestro anovulatorio y la producción de leche. Las multíparas presentaron similares intervalos parto-primer ovulación que las primíparas suplementadas en las cuales la grasa del girasol sí tuvo efectos. Con las variables estudiadas en nuestro estudio no encontramos una explicación de cómo la suplementación grasa produjo sus efectos, ni de por qué éstos fueron observados solamente en las vacas primíparas. Esto está de acuerdo con Funston (2004) quien dice que los animales jóvenes en crecimiento parecen ser los que mejor responden a la suplementación y que la respuesta animal parece ser dependiente de: la CC, edad (paridad), disponibilidad de nutrientes en la dieta base y del tipo de grasa suplementada.

La inclusión de una fuente de grasa poliinsaturada (GPI) durante el PP temprano de hasta un 6.2% del consumo de MS, bajo la forma de SGE, no afectó el consumo, la producción y composición de leche ni la CC de los animales. Esta suplementación aceleró el reinicio de la actividad ovárica posparto en las vacas primíparas pero no en las multíparas. Este resultado no pudo explicarse por cambios en las concentraciones plasmáticas de IGF-I o de colesterol, que podrían vincular el consumo de GPI con la modulación de los procesos reproductivos. Por lo cual, con las variables estudiadas en este estudio no se pudo establecer el mecanismo que explicara dicho resultado lo que deja abierto un camino para futuras investigaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abayasekara DRE, Sheldrick EL, Flick-Smith HC, Hint APF. (1995). Role of proteinkinase C in the inhibitory action of trophoblast interferons on expression of the oxytocin receptor in sheep endometrium. *Endocrine*; 3:151-158
2. Abayasekara DRE, Wathes DC. (1999). Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*; 61:275-287
3. Adam CL, Findlay PA, Moore HA. (1997). Effects of insulin-like growth factor-I on luteinizing hormone secretion in sheep. *Anim Rep Sci*; 50:45-56
4. Adam CL, Gadd TS, Findlay PA, Wathes DC. (2000). IGF-I stimulation of luteinizing hormone secretion, IGF-I binding proteins (IGFBPs) and expression of mRNAs for IGF receptors and IGFBPs in the ovine pituitary gland. *J Endocrinol*; 166:247-254
5. Adams AL. (1998). Dietary fat effects on rumen fermentation, milk production, and reproduction of dairy cattle, and economic implications for dairy production. PhD. Dissertation, Univ. of Florida.
6. Adrien ML. (2006). Efecto de las cantidades crecientes de forraje sobre la performance productiva y reproductiva en vacas lecheras en condiciones pastoriles. Tesis para el obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.
7. Albanell F, Silva A. (2006). Efecto de la suplementación energética sobre la reproducción y producción en vacas Holando en pastoreo. Tesis para el obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.
8. Anderson MJ, Obadiah YEM, Boman RL, Walters JW. (1984). Comparison of whole cottonseed, extruded soybean, or whole sunflower seeds for lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 67:569-573
9. Andrew SM, Tyrrell HF, Reynolds CK, Erdman RA. (1991). Net energy for lactation of calcium salts of long-chain fatty acids for cows fed silage-based diets. *J Dairy Sci*; 74:2588-2600
10. Ashes JR, Gulati, SK, Scott TW. (1997). Potential to alter the content and composition of milk fat through nutrition. *J Dairy Sci*; 80:2204-2212
11. Bajaj M, Berria R, Pratiparawatr T, Kashyap S, Pratipanawatr W, Belfort R, Cusik Mandarino L, DeFronzo RA. (2002). Free fatty acid-induced peripheral insulin resistance augments splanchnic glucose uptake in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 283:346-352
12. Bauchart D, Legay-Carmier F, Doreau M, Gaillard B. (1990). Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets. *Br J Nutr*; 63:563-578
13. Beam SW, Butler WR. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod*; 56:133-142
14. Beam SW, Butler WR. (1998). Energy balance, metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J Dairy Sci*; 81:121-131
15. Beam SW, Butler WR. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl*; 54:411-424

16. Block E. (2004). Fatty acids for dairy cows: more than just calories. En: Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop. Research, Development and Technical Service. The Arm and Hammer Animal Nutrition Group. Church and Dwight Co., Inc. pp 33-44
17. Block SS, Butler WR, Ehrhardt RA, Bell AW, Van Amburgh ME, Boisclair YR. (2001). Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J Endocrinol*; 171:339-348
18. Bodeen G, Cheung P, Stein TP, Kresge K, Mozzoli M. (2002). FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 283:12-19
19. Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D. (2001). Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*; 55:1323-1340
20. Bottger JD, Hess BW, Alexander BM, Hixon DL, Woodard LF, Funston RN, Hallford DM, Moss GE. (2002). Effects of supplementation with high linoleic or oleic cracked safflower seeds on postpartum reproduction and calf performance of primiparous beef heifers. *J Anim Sci*; 80:2023-2030
21. Breukink HJ, Wensing TH. (1998). Pathophysiology of the liver in high yielding dairy cows and its consequences for health and production. *The Bovine Practitioner*; 32:74-78
22. Burns PD, Spitzer JC, Henricks DM. (1997). Effect of dietary energy restriction on follicular development and luteal function in non lactating beef cows. *J Anim Sci*; 75:1078-1086
23. Butler WR. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*; 60-61:449-457
24. Butler WR. (2003). Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Prod Sci*; 83:211-218
25. Butler WR, Smith RD. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 72:767-783
26. 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
27. Butler WR, Calaman JJ, Beam SW. (1996). Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J Anim Sci*; 74:858-865
28. Butler ST, Pelton SH, Butler WR. (2004). Insulin increases 17 β -estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. *Reproduction*; 127:537-545
29. Canfield RW, Butler WR. (1990). Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol*; 7:323-330
30. Canfield RW, Sniffen CJ, Butler WR. (1990). Effect of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J Dairy Sci*; 73:2342-2349
31. Carroll DJ, Jerred MJ, Grummer RR, Combs DK, Pierson RA, Hauser ER. (1990). Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on plasma progesterone, energy balance, and reproductive traits of dairy cattle. *J Dairy Sci*; 73:2855-2863
32. Cavestany D, Galina CS. (2001a). Evaluation of an artificial insemination programme in a seasonal breeding dairy system through milk progesterone. *Reprod Dom Anim*; 36:79-84
33. Cavestany D, Galina CS. (2001b). Factors affecting the reproductive efficiency of artificial insemination programmes in a seasonal breeding pasture-based dairy system with the aid of milk progesterone. *Reprod Dom Anim*; 36:85-89
34. Cavestany D, Viñoles C, Galina A. (1996). Resultados de Ensayos de Reproducción. Año 1994. En: Jornadas de Producción Animal. Lechería y Pasturas. Serie de Actividades de Difusión N° 100. INIA La Estanzuela.

35. Cavestany D, Galina CS, Viñoles C. (2001). Efecto de las características del reinicio de la actividad ovárica posparto en la eficiencia reproductiva de vacas Holstein en pastoreo. *Archivos de Medicina Veterinaria (Chile)*; 33:217-226
36. Cavestany D, Blanc JE, Kulcsar M, Uriarte G, Chilbroste P, Meikle A, Febel H, Ferraris A, Krall E. (2005). Metabolic profiles of the transition dairy cow under a pasture-based milk production system. *J Vet Med A*; 52:1-7
37. Challis JRG. (1980). Endocrinology of late pregnancy and parturition. *Int Rev Physiol*; 22:277-324
38. Chase CC, Kirby CJ, Hammond AC, Olson TA, Lucy MC. (1998). Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. *J Anim Sci*; 76:212-219
39. Cheng Z, Robinson RS, Pushpakumara PGA, Mansbridge RJ, Wathes DC. (2001). Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on uterine prostaglandin synthesis in the cow. *J Endocrinol*; 171:463-473
40. Chilbroste P, Ibarra D, Zibil S, Laborde D. (2002). CONAPROLE, Proyecto: "Alimentación-Reproducción, 2002": Informe final.
41. Chilliard Y, Ferlay A, Mansbridge RM, Doreau M. (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, *trans* and conjugated fatty acids. *Ann Zootec*; 49:181-205
42. Choi BR, Palmquist DL, Allen MS. (1996). Effects of endogenous cholecystokinin (CCK) on feed intake, plasma insulin, pancreatic polypeptide (PP) and metabolite levels in heifers fed fat. *J Dairy Sci*; 79 (Suppl.1):169 (Abstr)
43. Church DC. (1976). Digestive physiology and nutrition of ruminants. Vol 1. 2ª Ed. Digestive Physiology. Metropolitan Printing Co, Portland, OR, USA.
44. Coppock CE, Wilks DL. (1991). Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. *J Anim Sci*; 69:3826-3837
45. Cox J. (1999). Avances en el control de la reproducción en vacas lecheras de alta producción. En: V Jornadas Chilenas de Buiatría. Osorno, Chile. pp 31-49
46. Crampton EW, Donefer E, Lloyd LE (1960). A nutritive value index for forages. *J Anim Sci*; 19:538-544
47. 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 para el obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.
48. Crowe MA, Padmanabhan V, Mihm M, Beitins IZ, Roche JF. (1998). Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. *Biol Reprod*; 58:1445-1450
49. Cummins KA, Sartin JL. (1987). Responses of insulin, glucagon, and growth hormone to intravenous glucose challenge in cows fed high fat diets. *J Dairy Sci*; 70:277-283
50. D'Ercole AJ, Ye P, Calikoglu AS, Gutierrez-Ospina G. (1996). The role of the insulin-like growth factors in the central nervous system. *Mol Neurobiol*; 13:227-255
51. Darwash AO, Lamming GE, Woolliams JA. (1997). The phenotypic association between the interval to postpartum ovulation and traditional measures of fertility in dairy cattle. *Anim Sci*; 65:9-16

52. Darwash AO, Lamming GE, Woolliams JA. (1999). The potential for identifying hereditary endocrine parameters associated with fertility in postpartum dairy cows. *Anim Sci*; 68:333-347
53. De Fries CA, Neuendorff DA, Randel RD. (1998). Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. *J Anim Sci*; 76:864-870
54. Demeyer D, Doreau M. (1999). Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *Proc Nutrition Soc*; 58:593-607
55. Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. (1999). En: IX International symposium: Fertility in the high-producing dairy cow. 20 a 22 de setiembre, Galway, Ireland. pp 19
56. Diskin MG, Mackey DR, Roche JF, Sreenan JM. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci*; 78:345-370
57. Doreau M, Chilliard Y. (1997). Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *Br J Nutr*; 78 (Suppl.1):15-35
58. 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
59. Ernst O. (2004). Uso del suelo en los tambos relevados. Proyecto: "Interacción alimentación-reproducción" Informe final 2003. CONAPROLE. Área Producción lechera y RR.CC. pp 1-52
60. Espey LL. (1980). Ovulation as an inflammatory reaction: a hypothesis. *Biol Reprod*; 22:73-106
61. Ferguson JD, Sklan D, Chalupa WV, Kronfeld DS. (1990). Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. *J Dairy Sci*; 73:2864-2879
62. Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. (2004). Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*; 82-83:109-126
63. Friggens NC, Ingvarsen KL, Emmans GC. (2004). Prediction of body lipid change in pregnancy and lactation. *J Dairy Sci*; 87:988-1000
64. Funston RN. (2004). Fat supplementation and reproduction in beef females. *J Anim Sci*; 82 (E.Suppl):154-161
65. Funston RN, Roberts AJ, Hixon DL, Hallford DM, Sanson DW, Moss GE. (1995). Effect of acute glucose antagonism on hypophyseal hormones and concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding proteins in serum, anterior pituitary and hypothalamus of ewes. *Biol Reprod*; 52:1179-1186
66. Gagliostro GA. (2003). Semilla de girasol: una herramienta nutricional para valorizar la calidad de la grasa butirosa. En: Anexo al Cuadernillo Informativo N° 4, abril 2003, ASAGIR. pp 6. Disponible en: <http://www.asagir.org.ar> Acceso el 07/02/06
67. Gagliostro G, Chilliard Y. (1991). Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation dairy cows. 2. Voluntary intake, milk production and composition. *J Dairy Sci*; 74:499-509
68. García-Bojalil CM, Staples CR, Risco CA, Savio JD, Thatcher WW. (1998). Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive and reproductive responses. *J Dairy Sci*; 81:1374-1385
69. Ghergariu S, Rowlands GJ, Pop A, Danielescu N, Moldovan NA. (1984). A comparative study of metabolic profiles obtained in dairy herds in Romania. *Br Vet J*; 140:600-608
70. Ginger R, Faisser D, Busato A, Blum J, Kupfer U. (1997). Blood parameters during early lactation and their relationship to ovarian function in dairy cows. *Reprod Domest Anim*; 32:313-319

71. Gong, JG. (2002). Influence of metabolic hormones and nutrition on ovarian follicle development in cattle: practical implications. *Domest Anim Endocrinol*; 23:229-241
72. Gong, JG, Bramley T, Webb R (1993). The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J Reprod Fertil*; 97:247-254
73. Gong JG, Lee WJ, Garnsworthy PC, Webb R. (2002). The effect of dietary induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction*; 123:419-427
74. Grummer, RR. (1991). Effect of feed on the composition of milk fat. *J Dairy Sci*; 74:3244-3257
75. Grummer RR, Carroll DJ. (1988). A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *J Anim Sci*; 66:3160-3173
76. Grummer RR, Carroll DJ. (1991). Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J Anim Sci*; 69:3838-3852
77. Grummer RR, Hoffman PC, Luck ML, Bertics SJ. (1995). Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. *J Dairy Sci*; 78:172-180
78. Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet Clin North Am; Food Anim Pract*; 20:447-470
79. Guilbault LA, Thacher WW, Drost M, Hopkins SM. (1984). Source of F series prostaglandins during the early postpartum period in cattle. *Biol Reprod*; 31:879-887
80. Gulati SK, Scott TW, Ashes JR. (1997). In vitro assessment of fat supplements for ruminants. *Anim Feed Sci Technol*; 64:127-132
81. Gutierrez CG, Campbell BK, Webb R. (1997). Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics. *Biol Reprod*; 56:608-616
82. Harrison JH, McNamara JP, Kincaid RL. (1995). Production responses in lactating dairy cattle fed rations high in fat. *J Dairy Sci*; 78:181-193
83. Hawkins DE, Niswender KD, Oss GM, Moeller CL, Odde KG, Sawyer HR, Niswender GD. (1995). An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J Anim Sci*; 73:541-545
84. Henderson C. (1973). The effect of fatty acids on pure cultures on rumen bacteria. *J Agric Sci*; 81:107-112
85. Hightshoe RB, Cochran RC, Corah LR, Kiracofe GH, Harmon DL, Perry RC. (1991). Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. *J Anim Sci*; 69:4097-4103
86. Howard JJ, Scott RG, Britt JH. (1990). Associations among progesterone, estradiol-17 β , and prostaglandin in cattle treated with hCG, during diestrus to extend corpus luteum function. *Prostaglandins*; 40:51-70
87. Howlett CM, Vanzant ES, Anderson LH, Burris WR, Fieser BG, Bapst RF. (2003). Effect of supplemental nutrient source on heifer growth and reproductive performance and on utilization of corn silage-based diets by beef steers. *J Anim Sci*; 81:2367-2378
88. I'Anson H, Foster DL, Foxcroft GR, Booth PJ. (1991). *Nutrition and Reproduction*. Oxford Rev Reprod Biol; 13:239-311
89. Ibarra, D. (2002). Indicadores reproductivos en la cuenca lechera de CONAPROLE en los servicios de otoño de 2001. En: 30^a Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, 12-15 de Junio de 2002; pp 256-258

90. Ibarra D. (2005). ¿Qué pasó en el 2004 con la reproducción? Algunos puntos para mejorar. Jornada para veterinarios. Teatro Macció, 12 de agosto, 2005. San José, Uruguay. pp 17
91. Ingvartsen KL, Andersen JB. (2000). Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. *J Dairy Sci*; 83:1573-1597
92. Ingvartsen KL, Friggens N, Faverdin P. (1999). En: *Metabolic Stress in Dairy Cows*. Oldham JD, Simm G, Groen AF y col. (Eds). BSAS Occasional. Publications 24. Edinburgh, pp 37
93. Jenkins TC. (1993). Lipid metabolism in the rumen. *J Dairy Sci*; 76:3851-3863
94. Jerred MJ, Carroll DJ, Combs DK, Grummer RR. (1990). Effects of fat supplementation and immature alfalfa to concentrate ratio on lactation performance of dairy cows. *J Dairy Sci*; 73:2842-2854
95. Johnson MS, Wegner TN, Ray DE. (1987). Effect of the elevating serum lipids on luteinizing hormone response to gonadotropin releasing hormone challenge in energy deficient anestrous heifers. *Theriogenology*; 27:421-426
96. Jorritsma R, Groot MW, Vos PL, Kruip TA, Wensing T, Noordhuizen JP. (2003). Acute fasting in heifers as a model for assessing the relationship between plasma and follicular fluid NEFA concentrations. *Theriogenology*; 60:132-141
97. Journet M, Chilliard Y. (1985). Influence de l'alimentation sur la composition du lait. 1. Taux. butyreux, facteurs généraux. *Bull. Tech. CRZV Theix INRA* ; 60:13-23
98. Kaduce TL, Spector AA, Bar RS. (1982). Linoleic acid metabolism and prostaglandin production by cultured bovine pulmonary artery endothelial cells. *Atherosclerosis*; 2:380-389
99. Knickerbocker JJ, Thatcher WW, Foster DB, Wolfenson D, Bartol FF, Caton D. (1986). Uterine prostaglandin and blood flow responses to estradiol-17 β in cyclic cattle. *Prostaglandins*; 31:757-776
100. Lamming GE, Royal MD. (2001). Ovarian hormone patterns and subfertility in dairy cows. *Occ. Publ. Br. Soc. Anim Sci* 26 (vol 1); 105-118
101. Lamming GE, Darwash AO, Wathes DC, Ball PJ. (1998). The fertility of dairy cattle in the UK: Current status and future research. *J Royal Agric Soc England*; 159:82-93
102. Lammoglia MA, Williard ST, Oldham JR, Randel RD. (1996). Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and on hormonal, cholesterol, triglycerides, follicular patterns and postpartum reproduction in Brahman cows. *J Anim Sci*; 63:562-569
103. Lammoglia MA, Williard ST, Hallford DM, Randel RD. (1997). Effects of dietary fat on follicular development and circulating concentrations of lipids, insulin, progesterone, estradiol 17 β , 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 α and growth hormone in estrous cyclic Brahman cows. *J Anim Sci*; 75:1591-1600
104. Liefers SC, Veerkamp RF, te Pas MFW, Delavaud C, Chilliard Y, van der Lende T. (2003). Leptin concentrations in relation o energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows. *J Dairy Sci*; 86:799-807
105. Littell, R.C., Henry, P.R., Ammerman, C.B. 1998. Statistical analysis of repeated measures using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 1998 76: 1216-1231.
106. Longo KM, Sun Y, Gore AC. (1998). Insulin like-growth factor-I effects on gonadotropin releasing hormone biosynthesis in GT1-7 cells. *Endocrinology*; 139:1125-1132
107. López H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC. (2005). Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 88:2783-2793
108. Lucy MC. (2000). Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci*; 83:1635-1647

109. Lucy MC. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci*; 84:1277-1293
110. Lucy MC. (2002). Improving reproduction in postpartum dairy cows: potential application of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and somatotropin. Disponible en: <http://animal.cals.arizona.edu/azdp/papers/2002/lucy.pdf> Acceso el 04/11/06
111. Lucy MC. (2003). Mechanisms linking nutrition and reproduction in postpartum cows. *Reproduction Suppl*; 61:415-427
112. Lucy MC, Gross TS, Thatcher WW. (1990). Effect of intravenous infusion of soybean oil emulsion on plasma concentration of 15-keto-13,14dihydro-prostaglandin F2-alpha and ovarian function in cyclic Holstein heifers. En: *Livestock Reproduction in Latin America*. Vienna, Austria. International Atomic Energy Agency. pp 119-132
113. Lucy MC, De La Sota RL, Staples CR, Thatcher WW. (1991a). Effect of dietary calcium salts of long chain fatty acids (CaLCFA), energy intake, and lactation on ovarian follicular dynamics in Holstein dairy cows. *J Anim Sci* 69 (Suppl.1); 451 (Abstr)
114. Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW, Bolt DJ. (1991b). Effects of feeding calcium soaps to early postpartum dairy cows on plasma prostaglandin F2 α , LH and follicular growth. *J Dairy Sci*; 74:483-489
115. Lucy MC, Berk J, Staples CR, Head HH, Sota RLD, Thatcher WW. (1992a). Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor-I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period. *Reprod Nutr Dev*; 32:331-341
116. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De la Sota RL, Thatcher WW. (1992b). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J Anim Sci*; 70:3615-3626
117. Lucy MC, de la Sota RL, Staples CR, Thatcher WW. (1993). Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (sometribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. *J Dairy Sci*; 76:1014-1027
118. Lucy MC, McDougall S, Nation DP. (2004). The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management. *Anim Reprod Sci*; 82-83:495-512
119. Mamluk R, Greber Y, Meidan R. (1999). Hormonal regulation of messenger ribonucleic acid expression for steroidogenic factor-I, steroidogenic acute regulatory protein, and cytochrome P 540 side-chain cleavage in bovine luteal cells. *Biol Reprod*; 60:628-634
120. Mansbridge RJ, Blake JS. (1997). Nutritional factors affecting the fatty acid composition of bovine milk. *Brit J Nutr*; 78 (Suppl.1):37-47
121. Martínez AL, Sánchez JF. (1999). Alimentación y Reproducción en vacas lecheras. *Mundo Ganadero* N° 11, mayo de 1999. Disponible en: <http://www.eumedia.es /articulos /artm.ganadero.htm> Acceso el 19/02/06
122. Mattos R, Staples CR, Thatcher WW. (2000). Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Rev Reprod*; 5:38-45
123. Mattos R, Staples CR, Williams J, Amoroch A, McGuire MA, Thatcher WW. (2002). Uterine, ovarian, and production responses of lactating dairy cows to increasing dietary concentrations of menhaden fish meal. *J Dairy Sci*; 85:755-764
124. 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
125. McGuffey RK, Schingoethe DJ. (1982). Whole sunflower seeds for high producing dairy cows. *J Dairy Sci*; 65:1479-1483

126. McGuire MA, Dwyer DA, Harrell RJ, Bauman DE. (1995). Insulin regulates insulin-like growth factors and some of their binding proteins in lactating cows. *Anim J Physiol Endocrinol Metab*; 269:E723-E730
127. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*; 127:727-737
128. Meikle A, Cavestany D, Ferraris A, Blanc JE, Elizondo F, Chilibroste P. (2005). Efecto de la alimentación durante el período de transición sobre la primera ovulación posparto de vacas primíparas y múltiparas. En: 33ª Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, 9 al 11 de Junio de 2005; pp 226-227
129. Miettinen PA. (1990). Metabolic balance and reproductive performance in finish dairy cows. *J Vet Med Series A*; 37:417-424
130. Moore JH, Christie WW. (1979). Lipid metabolism in the mammary gland of the ruminant animals. *Progr Lipid Res*; 17:347-395
131. Morgan AR, Williams GL. (1989). Effect of body condition and postpartum dietary lipid intake on lipid metabolism and GnRH-induced luteal function in postpartum beef cows. *J Anim Sci*; 67 (Suppl.2):60 (Abstr)
132. Murphy LJ, Bell GI, Friesen HG. (1987). Tissue distribution of insulin-like growth factor-I and II messenger ribonucleic acid in the adult rat. *Endocrinology*; 120:1279-1282
133. National Research Council. (2001). Nutrient requirements of dairy cattle. 7ª Ed National Academy Press, Washington, DC, USA pp 381
134. Nielsen MO, Riis PM. (1993). Somatotropin, insulin-like growth factor-I and the mammary gland in regulation of nutrient and energy metabolism during early lactation. *Acta Vet Scand Suppl*; 89:47-54
135. Nishimura K, Shimizu S, Urata H, Aoyama Y, Kojima T, Matta M, Kawabata Y, Uchiyama M, Sakuragi K, Ohnishi Y. (2000). The relationship between serum insulin-like growth factor-I and changes in body weight in early-lactating cows. *J Vet Epidemiol*; 2:89-96
136. Niswender GD, Nett TM. (1994). Corpus luteum and its control in infraprimate species. En: *The Physiology of Reproduction*. 2ª Ed Knobil E, Neill JD. (Eds). Raven Press, Ltd. New York, NY. pp 781
137. Noble RC. (1978). Digestion, absorption and transport of lipids in ruminant animals. *Progr Lipid Res*; 17:55-91
138. Oldick BS, Staples CR, Thatcher WW, Gyawu P. (1997). Abomasal infusion of glucose and fat effect on digestion, production, ovarian and uterine function of cows. *J Dairy Sci*; 80:1315-1328
139. Oleggini G. (2002). Informe Técnico de primavera. Disponible en: <http://www.fagro.edu.uy/~zootecnia/documentos/informe%20tecnico.pdf> Acceso el: 19/08/06
140. Ortiz V, Gómez Cabrera A, Mena A. (1998). Utilización de la semilla de girasol (normal y alta en ácido oleico) en la alimentación de vacas lecheras. *Invest Agr Prod Sanidad Anim*; 13 (1,2 y 3):5-12
141. Overton MW. (2006). Retorno económico de una performance reproductiva mejorada en ganado lechero. En: 34ª Jornadas Uruguayas de Buiatría, 8 al 10 de Junio, 2006. pp 25-29
142. Overton TR, Waldron MR. (2004). Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. *J Dairy Sci*; 87:105-119
143. Palmquist DL, Jenkins TC. (1980). Fat in lactation rations: review. *J Dairy Sci*; 63 (1):1-14
144. Palmquist DL, Moser EA. (1981). Dietary fat effects on blood insulin, glucose utilization, and milk protein content of lactating cows. *J Dairy Sci*; 64:1664-1670

145. Parodi PW. (1999). Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *J Dairy Sci*; 82:1339-1349
146. Petit HV. (2002). Effects of fatty acids on reproduction in the dairy cow: the good and the bad. Disponible en: http://www.dsmnutrafacts.com/pnw_02/PNW_02_11.pdf Acceso el: 15/02/07
147. Petit HV, Germiquet C, Lebel D. (2004). Effect of feeding whole, unprocessed sunflower seeds and flaxseed on milk production, milk composition, and prostaglandin secretion in dairy cows. *J Dairy Sci*; 87 (11): 3889-3898
148. Poretsky L, Kalin MF. (1987). The gonadotropic function of insulin. *Endocrine Reviews*; 8:132-141
149. Pryce JE, Royal MD, Garnsorthy PC, Mao IL. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Prod Sci*; 86:125-135
150. Rafalowski W, Park CS. (1982). Whole sunflower seeds as a fat supplement for lactating cows. *J Dairy Sci*; 65:1484-1492
151. Richards MW, Wettemann RP, Schoenemann HM. (1989). Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. *J Anim Sci*; 67:1520-1526
152. Robinson RS, Pushpakumara PGA, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DRE, Wathes DC. (2002). Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. *Reproduction*; 124: 119-131
153. Roche JF. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*; 96:282-296
154. Roche JF, Diskin MG. (2005a). Efecto de la nutrición sobre la eficiencia reproductiva de los bovinos. En: 33ª Jornadas Uruguayas de Buiatría, 9 al 11 Junio 2005, pp 21-26
155. Roche JF, Diskin MG. (2005b). Inducción hormonal de la ovulación y sincronización del celo en bovinos. En: 33ª Jornadas Uruguayas de Buiatría, 9 al 11 Junio 2005, pp 27-32
156. Roche JF, Mackey D, Diskin MD. (2000). Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci*; 60-61:703-712
157. Romo GA, Casper DP, Erdman RA, Teter BB. (1996). Abomasal infusion of *cis* or *trans* fatty acids isomers and energy metabolism of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*; 79:2005-2015
158. Ronge H, Blum J. (1989). Insulin like-growth factor-I responses to recombinant bovine growth hormone during feed restriction in heifers. *Acta Endocrinol (Copenh)*; 120:735-744
159. Royal MD, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Woolliams JA, Lamming GE. (2000). Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim Sci*; 70:487-502
160. Rutter LM, Sponek R, Manns JG. (1989). Serum concentrations of IGF-I in postpartum beef cows. *J Anim Sci*; 67:2060-2066
161. Ryan DP, Spoon RA, Williams GL. (1992). Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. *J Anim Sci*; 70:3505-3513
162. Ryan DP, Bao B, Griffith MK, Williams GL. (1995). Metabolic and luteal sequelae to heightened dietary fat intake in undernourished, anestrus beef cows induced to ovulate. *J Anim Sci*; 73:2086-2093
163. Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. (1990). Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J Reprod Fertil*; 88:569-579

164. Schingoethe DJ, Casper DP. (1991). Total lactational response to added fat during early lactation. *J Dairy Sci*; 74:2617-2622
165. Schingoethe DJ, Brouk MJ, Lightfield KD, Baer RJ. (1996). Lactational responses of dairy cows fed unsaturated fat from extruded soybeans or sunflower seeds. *J. Dairy Sci*; 79 (7):1244-1249
166. Schwartz MW, Woods SC, Porte DJ, Seeley RJ, Baskin DG. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*; 404:661-671
167. Sklan D, Moallem U, Folman Y. (1991). Effect of feeding calcium soaps of fatty acids on production and reproductive responses in high producing lactating cows. *J Dairy Sci*; 74:510-517
168. Sklan D, Kaim M, Moallem U, Folman Y. (1994). Effect of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones and fertility in first parity and older cows. *J Dairy Sci*; 77:1652-1660
169. Snijders SE, Dillon P, O'Farrell KJ, Diskin M, Wylie AR, O'Callahan D, Rath M, Boland MP. (2001). Genetic merit for milk production and reproductive success in dairy cows. *Anim Reprod Sci*; 65:17-31
170. Son J, Grant RJ, Larson LL. (1996). Effects of tallow and escape protein on lactational and reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci*; 79:822-830
171. Spicer LJ, Echternkamp SE. (1995). The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domest Anim Endocrinol*; 12:223-245
172. Spicer LJ, Tucker WB, Adams GD. (1990). Insulin-like growth factor-I in dairy cows: Relationships among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behaviour; *J Dairy Sci* 73:929-937
173. Spicer LJ, Enright WJ, Murphy MG, Roche JF. (1991). Effect of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor-I in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers. *Domest Anim Endocrinol*; 8:431-437
174. Spicer L, Alpizar JE, Echternkamp SE. (1993). Effects of insulin, insulin-like growth factor-I and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor-I production in vitro. *J Anim Sci*; 71:1232-1241
175. Stagg K, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. (1995). Follicular development in long term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. *Anim Reprod Sci*; 38:49-61
176. Stanko RL, Fajersson P, Carver LA, Williams GL. (1997). Follicular growth and metabolic changes in beef heifers fed incremental amounts of polyunsaturated fat. *J Anim Sci*; 75 (Suppl.1):223 (Abstr)
177. Staples CR, Thatcher WW. (2001). Nutrient influences on reproduction of dairy cows. Disponible en: <http://www.txanc.org/proceedings/2001/NutrientReproductionDairyCows.pdf> Acceso el: 27/01/07
178. 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
179. Staples CR, Burke JM, Thatcher WW. (1998). Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci*; 81:856-871
180. Staples CR, Wiltbank MC, Grummer RR, Guenther J, Sartori R, Díaz FJ, Bertics S, Mattos R, Thatcher WW. (2000). Effect of long chain fatty acids on lactation performance and reproductive tissues of Holstein cows. *J Dairy Sci*; 83 (Suppl.1); 278 (Abstr)

181. Stewart RE, Spicer LJ, Hamilton TD, Keefer BE. (1995). Effects on insulin-like growth factor-I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor-I and luteinizing hormone. *J Anim Sci*; 73:3719-3731
182. Talavera F, Park CS, Williams GL. (1985). Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol and ovarian function in Holstein heifers. *J Anim Sci*; 60:1045-1051
183. Tannenbaum GS. (1983). Insulin like growth factors: a role in growth hormone negative feedback and body weight regulation via brain. *Science*; 220:77-79
184. Taylor VJ, Cheng Z, Pushpakumara PGA, Beever DE, Wathes DC. (2004). Relationships between the plasma concentrations of insulin-like growth factor-I in dairy cows and their fertility and milk yield. *Vet Record*; 155:583-588
185. Thatcher WW, Wilcox CJ. (1973). Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J Dairy Sci*; 56:608-610.
186. Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP. (1994). Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J Anim Sci* 72 (Suppl.3):16-30
187. Thatcher WW, Bilby T, Staples CR, MacLaren L, Santos J. (2004). Effects of polyunsaturated fatty acids on reproductive processes in dairy cattle. En: Proc. Southwest Nutr & Managmt Conf, Bioproducts, Inc. Pre-conference Symposium. Phoenix, AZ, 26 de febrero, 2004. pp 1-28
188. Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JE. (2006). Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*; 65:30-44
189. Thissen JP, Ketelslegers JM, Underwood LE. (1994). Nutritional regulation of insulin-like growth factors. *Endocr Rev*; 15:80-101
190. Thomas MG, Williams GL. (1996). Metabolic hormone secretion and FSH-induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated or polyunsaturated fatty acids. *Theriogenology*; 45:451-458
191. Thomas MG, Bao B, Williams GL. (1997). Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. *J Anim Sci*; 75:2512-2519
192. Van Houten M, Posner BI, Kopriwa BM, Brawer JR. (1979). Insulin-binding sites in the rat brain: in vivo localization to the circumventricular organs by quantitative radioautography. *Endocrinology*; 105:666-673
193. Van Saun RJ. (2000). Blood Profiles as Indicators of Nutritional Status. En: 18th Annual Western Canadian Dairy Seminar. Red Deer, Alberta, Canada, 7 al 10 de marzo, 2000.
194. Vandehaar MJ, Sharma BK, Fogwell RL. (1995). Effect of dietary energy restriction on the expression of insulin-like growth factor-I in liver and corpus luteum of heifers. *J Dairy Sci*; 78:832-841
195. Vasconcelos JLM, Sartori R, Oliveira N, Guenther JN, Wiltbank MC. (1998)..Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*; 56:307-314.
196. Wallach EE, Bronson R, Hamada Y, Wright KH, Stersens VG. (1975). Effectiveness of prostaglandin F2 α in restoration of hMG-hCG induced ovulation in indomethacin treated rhesus monkeys. *Prostaglandins*; 10:129-138
197. Wathes DC, Taylor VJ, Cheng Z. (2001). Metabolic interactions with fertility. *Cattle Practice*; 9:291-296

198. Wattiaux MA, Grummer RR. (2000). Lipid metabolism in dairy cows. En: Nutrition and Feeding. Chapter 4. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. Univ. Wisconsin, Madison.
199. Webb R, Gong JG, Law AS, Rusbridge SM. (1992). Control of ovarian function in cattle. *J Reprod Fertil Suppl*; 45:141-156
200. Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG y col. (1999). En: Metabolic Stress in Dairy Cows. Oldham JD, Simm G, Groen AF y col. (Eds). BSAS Occ. Publication N°24, Edinburgh, pp 99
201. Wehrman ME, Welsh TH, Williams GL. (1991). Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics, and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biol Reprod*; 45:514-522
202. Westwood CT, Lean J, Garuin JK. (2002). Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: a multivariate description. *J Dairy Sci*; 85:3225-3237
203. Whitaker DA. (2004). Metabolic profiles. En: Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of cattle. Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG. (Eds). 2ª Ed. Oxford, Blackwell Science; pp 804-817
204. Williams GL (1989). Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *J Anim Sci*; 67:785-793
205. Williams GL, Stanko RL. (1999). Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. *Proc ASAS*, 1999.
206. Williams LM, Kelly D, Hannah LT, Morgan PJ. (1995). Localization of (¹²⁵I) IGF-I binding on the ovine pars tuberalis. *J Neuroendocrinol*; 7:931-938
207. Williams SA, Blache D, Martin GB, Foot R, Blackberry MA, Scaramuzzi RJ. (2001). Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction*; 122:947-956
208. Williams GL, Amsalden M, García MR, Stanko RL, Nizielski SE, Morrison CD, Keisler DH. (2002). Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domest Anim Endocrinol*; 23:339-349
209. Wittwer F. (2000). Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos. En: Perfil metabólico em Ruminantes: Seu uso em nutrição e doenças nutricionais. González FHD, Barcellos J, Ospina Patiño H, Ribeiro LA. (Eds). Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; pp 9-22
210. Wittwer F, Bohmwald H, Contreras P, Phil M, Filoza J. (1987). Análisis de los resultados de perfiles metabólicos obtenidos en rebaños lecheros en Chile. *Arch Med Vet (Chile)*; 19:35-45
211. Wrenn TR, Weyant JR, Wood DL, Bitman J, Rawlings RM, Lyon K. (1976). Increasing polyunsaturation of milk fats by feeding formaldehyde protected sunflower-soybean supplement. *J Dairy Sci*; 59:627-635
212. Yoshimura Y, Iwashita M, Karube M, Oda T, Akiba M, Shiokawa S, Ando M, Yoshinaga A, Nakamura Y. (1994). Growth hormone stimulates follicular development by stimulating ovarian production of insulin-like growth factor-I. *Endocrinology*; 135:887-894
213. Zhen S, Sakaria M, Wolfe A, Radovick S. (1997). Regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene expression by insulin-like growth factor-I in cultured GnRH-expressing neuronal cell line. *Mol Endocrinol*; 11:1145-1155
214. Zulu VC, Sawamukai Y, Nakada K, Nakao T, Tanaka Y, Moriyoshi M. (2001). Characterization of peripheral insulin-like growth factor-I in dairy cow spontaneously developing ovarian cysts early postpartum. *Biotechnol Agron Soc Environ*; 5:39 (Abstr)

215. Zulu VC, Nakao T, Sawamukai Y. (2002). Insulin-like growth factor-I as a possible hormonal mediator of nutritional regulation of reproduction in cattle. *J Vet Med Sci*; 64:657-665
216. Zurek E, Foxcroft GR, Kenelly JJ. (1995). Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci*; 78:1909-1920