



**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL MAIZ POR GLICEROL CRUDO SOBRE
EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO Y REPRODUCTIVO DE VACAS HOLANDO
EN LACTANCIA TEMPRANA**

Por

**Mario CHIOSSONI BRITO
Lucas ANTONACCIO PECCOVICH
Bernardo LATEULADE DE LEON**

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

Modalidad: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2015**

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa: Dra. Lourdes Adrien

Segundo Miembro: Dr. José Eduardo Blanc / Dr. Roque Almeida

Tercer Miembro: Dr. Jorge Gil/Ing. Agr. Ma. de los Ángeles Bruni

Fecha: 23 de Diciembre de 2015

Autores: Br. Mario Chiossoni

Br. Lucas Antonaccio

Br. Bernardo Lateulade

AGRADECIMIENTOS

Nos gustaría agradecerle esta tesis a Jorge Gil nuestro tutor por su apoyo y dedicación ya que fueron muy importantes para la realización de este trabajo. A nuestra cotutora María de los Ángeles Bruni por sus aportes y apoyo. También a los responsables y encargados del tambo de la EEMAC en general por su colaboración con el ensayo de campo. Agradecerle a Facultad de Veterinaria y a todos los profesores por nuestra formación como profesionales, a las funcionarias de biblioteca y bedelías por brindarnos su tiempo. A nuestros amigos y compañeros de carrera por los momentos compartidos. Por último, queremos dedicarles este trabajo y agradecerles a nuestras familias por darnos la oportunidad de formarnos como personas y estudiar, por apoyarnos en los momentos difíciles y buenos de la carrera.

TABLA DE CONTENIDO**Páginas**

Página de aprobación.....	2
Agradecimientos.....	3
Lista de cuadros y figuras.....	5
Lista de abreviaturas.....	6
1. RESUMEN.....	7
2. SUMMARY.....	7
3. INTRODUCCIÓN.....	8
3.1-Revision bibliográfica.....	8
3.1.1-Lechería comercial en Uruguay.....	8
3.1.2-La vaca lechera en transición.....	10
3.1.2.1-Periodo de transición.....	10
3.1.2.2-Endocrinología metabólica.....	11
3.1.2.3-Reproducción de la vaca lechera en transición.....	12
3.1.3-Fuentes de energía en la alimentación de vacas lecheras, en sistemas de producción de leche.....	14
3.1.3.1-Energía a partir de forrajes.....	15
3.1.3.2-Concentrados ricos en almidón.....	15
3.1.3.3-Glicerol.....	16
3.1.3.3.1-Valor nutritivo del glicerol.....	17
3.1.3.3.2-Metabolización del glicerol.....	19
3.1.3.3.3-Glicerol en la alimentación de rumiantes.....	20
3.1.4-Respuesta a la suplementación en la lactancia temprana.....	22
3.1.4.1- Efectos sobre el consumo de alimentos.....	22
3.1.4.2- Efecto sobre la producción y composición de leche.....	23
3.1.5-Síntesis.....	24
4-HIPÓTESIS.....	25
5-OBJETIVOS.....	25
5.1-Objetivo general.....	25
5.2-Objetivos específicos.....	25
6-MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
6.1-Muestreo, determinaciones y cálculos.....	27
6.2-Análisis estadístico.....	28
7-RESULTADOS.....	28
7.1-Producción y Composición de leche.....	28
7.1.1-Producción de leche.....	28
7.1.2-Composición de la leche.....	29
7.2-Peso vivo y Condición Corporal.....	30
7.2.1-Condición corporal (CC).....	30
7.2.2-Peso vivo (PV).....	31
7.3-Evaluación de involución uterina y actividad cíclica.....	32
8-DISCUSIÓN.....	32
9-CONCLUSIONES.....	34
10-BIBLIOGRAFÍA.....	35

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro N° 1 Establecimiento y superficie de la lechería comercial del Uruguay	3
Cuadro N° 2 Principales indicadores productivos y técnicos de la producción lechera	3
Cuadro N° 3 Lechería comercial en Uruguay, superficie total y uso del suelo	4
Cuadro N° 4 Composición promedio de algunos suplementos en Uruguay	11
Cuadro N° 5 Composición del glicerol dependiendo de la pureza	14
Cuadro N° 6 Composición porcentual de los concentrados (A y B)	23
Cuadro N° 7 Efectos productivos de la sustitución del maíz (TC) por glicerol (TG) en la dieta totalmente mezclada (TMR) en vacas Holando en lactancia temprana (60 días)	27
Cuadro N° 8 Se muestran los efectos de la SDL, tratamiento y su interacción sobre la CC y PV	27
Cuadro N° 9 Numero de vacas según estructuras ováricas presentes al momento de cada examen reproductivo	29
Figura N° 1 Balance energético de animales lactando y evolución de su condición corporal	10
Figura N° 2 Efecto de la suplementación sobre el consumo	19
Figura N° 3 Diagrama del experimento	24
Figura N° 4 Evolución de la producción de leche	26
Figura N° 5 Evolución de la condición corporal	28
Figura N° 6 Evolución del peso vivo	29

LISTA DE ABRAVIATURAS

AGNE-Ácido graso no esterificado.
AGV-Ácidos grasos volátiles.
ALC-Ácido linoleico conjugado.
AP-Anestro profundo.
AS-Anestro superficial.
BEN-Balance energético negativo.
BHB-β –hidroxibutirato.
CC-Condición corporal.
Ci-Ciclado.
CL-Control lechero
CL-Control lechero.
CMS-Consumo de materia seca.
CNF-Carbohidratos no fibrosos.
ECO-Ecografía.
EEM-Error estándar de la media.
EM-Energía metabólica.
FDA-Food and Drug Administration.
FP-Fecha de parto.
GH-Hormona de crecimiento.
IGF-I-Factor de crecimiento insulina tipo 1.
IPC-Intervalo parto-concepción.
LCG-Leche corregida por grasa
LH-Hormona leutinizante.
MJ-Mega joule.
MS-Materia seca.
NDT-Nutrientes digestibles totales.
NI-número de lactancia.
NS-No significativo.
PL-Producción de leche.
PL-Producción de leche.
PO-Patología ovárica.
PP-Post parto.
P-Probabilidad.
PUFA-Ácidos grasos polinsaturados.
PU-Patología uterina.
PV-Peso vivo.
RO-Reinicio de la actividad ovárica.
SDL-Semana de lactación.
T*SDL-Interacción tratamiento semana de lactancia.
TC-Tratamiento Control.
TG-Tratamiento Glicerol.
TRM-Ración totalmente mezclada.
%MS-Porcentaje de materia seca.
%PB-Porcentaje de proteína bruta.

1-RESUMEN

Dado el reciente aumento en la producción de biodiesel junto con la gran cantidad de su residuo disponible el glicerol, este surge como una posible alternativa en la alimentación animal. El objetivo de esta tesis fue evaluar el efecto del glicerol crudo en sustitución del maíz sobre los parámetros productivos y reproductivos post-parto en vacas lecheras. Se utilizaron 20 vacas al inicio de lactancia con una dieta en base a pasturas (40%), ensilaje de sorgo (30%) y concentrado (30%), las cuales se asignaron a dos tratamientos nutricionales, el grupo control (TC) con concentrado A (6.31 kg con maíz) y el grupo tratado (TG) alimentado con el concentrado B (ídem a A) con 3 kg de glicerol crudo en sustitución del maíz. Como resultado en los tratamientos aplicados no se encontraron diferencias significativas en producción de leche (PL), composición de leche (CL), grasa (kg), proteína (% y Kg), lactosa (% y Kg), peso vivo (PV) y condición corporal (CC). Si obtuvimos valores significativos para grasa (%) (3.66 vs 3.36%) y nitrógeno ureico (mg/dl) (20.70 vs 17.88 mg/dl). Con respecto a los parámetros reproductivos tampoco se hallaron diferencias significativas entre tratamientos. Llegamos así a la conclusión que el glicerol crudo es un alimento, capaz de igualar la performance de las vacas lecheras de alta producción que incluyen al maíz como principal fuente energética en su dieta.

2-SUMMARY

Given the recent increase in the production of biodiesel and the availability of considerable amounts of its by-product glycerol, it emerges as a possible alternative in animal feeding. Thus the aim of this thesis was to evaluate the effect of crude glycerol in place of corn on postpartum dairy cows productive and reproductive parameters. Twenty cows in early lactation with a pasture based diet (40%) plus partial mixed ration (30% sorghum silage and 30%concentrate), were used. The cows were assigned to two groups: the control (CT) fed Concentrate A (with 6.31 kg of corn) and glycerol (TG) fed with Concentrate B (similar to A, with 3 kg of crude glycerol in place of corn). The results found no significant differences in milk production (PL), milk composition (CL), fat (kg), protein (% and kg), lactose (% and kg) body weight (BW) and body condition (CC). There were significant differences for fat (3.66 vs 3.36%) and urea nitrogen (20.70 vs 17.88 mg/dl). Regarding reproductive parameters, there were no significant differences between treatments. We concluded that the crude glycerol is a foodstuff able to replace corn without affecting the performance of high producing dairy cows as the main energy source in their diet.

3-INTRODUCCIÓN

En los sistemas lecheros del Uruguay la dieta principal está constituida por pasturas plurianuales y/o verdes estacionales. Este tipo de alimentación con cambios en calidad y/o cantidad hacen que tanto la producción como la composición de leche se vean afectadas. Además debido a que nuestras vacas tienen un potencial genético de producción muy alto, sus requerimientos no pueden ser cubiertos por completo si pensamos en solo alimentarlas con forraje generándose desbalances nutricionales a lo largo de su lactancia (Chilibroste y col, 2010).

A su vez el precio de la leche se fija de acuerdo a su composición, grasa y proteína, y su calidad higiénica y sanitaria. Para contrarrestar las disminuciones en la producción, mejorar la calidad y el balance energético se buscan alternativas de suplementación energética (Long y col, 2004).

La expansión de la industria de los biocombustibles tanto a nivel nacional como internacional provee de nuevos posibles alimentos energéticos para los rumiantes. En la actualidad ALUR produce 50.000 toneladas de biodiesel que genera gran cantidad de su residuo el glicerol.

Normalmente la producción de glicerol excede la capacidad de procesamiento de las industrias química y farmacéutica (Thompson y col, 2006) generando un excedente en el mercado. El glicerol es un subproducto con un nivel energético similar a la harina de maíz (Donkin y col, 2009).

De acuerdo con la FDA el glicerol es un ingrediente seguro para ser utilizado en rumiantes.

El mismo comienza a ser utilizado como tratamiento de algunas patologías como cetosis por Johnson, (1954), Fisher y col, (1971) y más recientemente por Goff y col, (2001). También ha sido utilizado como suplemento de la dieta de vacas de transición en diferentes niveles que van desde 0.25 (Chung y col, 2007) hasta 0.86 kg/d (DeFrain y col, 2004). Otros estudios indican la posibilidad de utilizar hasta un 15% de glicerol en sustitución del maíz en la dieta (Donkin y col, 2009). Ensayos utilizando niveles superiores de glicerol en sustitución del maíz no han sido realizados.

Este estudio busca responder si la sustitución total del maíz en el concentrado por glicerol mejora o sostiene el desempeño productivo y reproductivo de las vacas en periodo de transición.

3. 1-REVISION BIBLIOGRÁFICA

3. 1. 1- LECHERÍA COMERCIAL EN URUGUAY

En nuestro país, por tratarse de un sistema pecuario de base pastoril, la producción de leche acompaña la producción estacional de las pasturas dándose en primavera el pico máximo. Por esta razón, los sistemas de producción de leche exhiben un desbalance estructural entre oferta y demanda de nutrientes. Este desbalance se intenta corregir con reservas forrajeras y concentrados, derivando en sistemas con

niveles crecientes de complejidad operativa, requerimientos de infraestructura y fundamentalmente de precisión en el manejo de los recursos alimenticios. El uso intensivo de pasturas mejoradas con concentrados y ensilados fueron uno de los factores claves que permitió el salto productivo en los últimos 15 años (DIEA, 2014).

En los siguientes cuadros (1 ,2 y 3) se presentan datos demográficos y productivos de la lechería en Uruguay.

Cuadro N°1: Establecimientos y superficie de la lechería comercial del Uruguay (DIEA, 2014).

LECHERÍA COMERCIAL	
*Producción de leche comercial:	2.338 millones de litros
*Remisión de leche a plantas:	2.018 millones de litros
*Establecimientos lecheros:	4.439 establecimientos
*Establecimientos que remiten:	2.995 establecimientos
*Superficie de praderas nuevas:	88 mil hectáreas
*Total de pastura mejoradas:(1)	57% del área lechera
*Total de animales lecheros:	782 mil cabezas

(1): incluye praderas permanentes, campos mejorados y forrajeras anuales.

Cuadro N°2: Principales indicadores productivos y técnicos de la producción lechera (DIEA, 2014).

Indicadores productivos y técnicos.	2010/11	2011/12	2012/13
*Producción de leche comercial (millones de litros/año)	2.057	2.177	2.339
*Superficie total de tambos(miles de ha)	850	817	811
*Número de tambos totales(miles)	4.4	4.3	4.4
Pasturas mejoradas/total(%)(1)	57	57	57
Indicadores productivos:(2)			
-vaca masa/total (%)	57	58	57
-vaca en ordeño/vaca masa (%)	72	73	74
-litros anuales/vaca masa	4.358	4.857	4.387
Indicadores de actividad:			
-Número de remitentes	3.218	3.119	2.995
-Total remitido (millones de litros/año)	1.843	1.936	2.018

(1): Praderas artificiales, campo natural mejorado, fertilizado y forrajeras anuales.

(2): Vaca masa = vaca ordeño + vaca secas + vaquillonas entoradas.

Se observa del cuadro N°2 que aunque el número de remitentes ha disminuido junto con la superficie explotada, el volumen de producción presenta un crecimiento sostenido, demostrando un sistema en constante intensificación.

3. 1. 2-LA VACA LECHERA EN TRANSICIÓN

3. 1. 2. 1-Periodo de transición

El periodo de transición es considerado como aquel que transcurre desde tres semanas antes del parto hasta tres o cuatro semanas después del parto. Durante el parto se producen modificaciones importantes en el estado endócrino de las vacas que las preparan para el parto y la lactogénesis (Calsamiglia, 2005).

Durante esta etapa el animal debe adaptarse a las nuevas condiciones metabólicas y fisiológicas que le exigen el pasar del estado de preñez a término sin producir leche a un estado de no preñez produciendo grandes cantidades de leche, esto genera un stress metabólico debido a que el consumo no compensa en el inicio de la lactancia los requerimientos de mantenimiento y producción. Por ejemplo el peso corporal tiene una caída en las primeras semanas de lactancia con gran movilización de tejidos corporales para cumplir con la gran demanda energética. El consumo de materia seca (MS) se encuentra reducido y debe crecer nuevamente debido a que durante la gestación el útero va ocupando progresivamente el espacio del rumen. Generalmente se produce un fracaso del proceso de adaptación que puede generar alteraciones productivas y patológicas que se conocen como enfermedades del periparto, entre las que se incluyen la cetosis, el desplazamiento de abomaso, la retención de placenta, la mastitis, la reducción de la producción y los problemas reproductivos (Calsamiglia, 2005).

El balance energético es el resultado de la diferencia entre las necesidades del animal y los aportes alimentarios. Durante las 2-4 últimas semanas de gestación hay un aumento sustancial de las necesidades alimenticias debido al desarrollo fetal y a las necesidades de síntesis de calostro. Esta situación se acompaña de la disminución en el consumo de MS. Estas dos circunstancias son, con frecuencia, responsables de un balance energético negativo (BEN) que se inicia unas semanas antes del parto (Calsamiglia, 2005; Meikle y col, 2012).

El insuficiente aporte energético lleva a la vaca a una disminución de los niveles de glucosa e insulina en sangre que produce una movilización de grasa que resulta en un aumento en los ácidos grasos no esterificados (AGNE) en sangre que son utilizados por el hígado. Estos ácidos grasos se utilizan como fuente de energía, pero cuando la movilización de los AGNE es excesiva, se saturan las vías de metabolización de lípidos y se generan vías hepáticas alternativas, entre las que se tiene la formación y exportación de cuerpos cetónicos y la formación y almacenamiento hepático de triglicéridos predisponiendo al desarrollo del síndrome cetosis hígado graso (Calsamiglia, 2005).

Las necesidades proteicas para la gestación son poco importantes hasta los dos últimos meses de gestación cuando pasan a tener una importancia mucho mayor. Los requerimientos de proteína aumentan debido a que el feto tiene un crecimiento exponencial y además la ubre debe comenzar a sintetizar calostro. Si existen desbalances proteicos en este periodo se deberán principalmente a una disminución del consumo de MS en las semanas previas al parto. Los efectos del balance proteico negativo (BPN) se manifiestan en el post parto, cuya capacidad de movilizar proteína es mucho más limitada que la de movilizar energía y pueden agotarse antes o al inicio de la lactación. Una vez agotada las reservas proteicas la falta de proteína limita la producción de leche y las síntesis de inmunoglobulinas por lo que la competencia inmunitaria se ve comprometida. Como resultado de esto aparecerán más patologías post parto y producciones limitadas (Garmedia, 2005).

3. 1. 2. 2-Endocrinología metabólica

La variación en la CC que ocurre en el pre y posparto temprano en vacas a pastoreo se acompaña de una pronunciada elevación de AGNE (Adrien y col, 2012). A este aumento le sigue frecuentemente un aumento del β –hidroxibutirato (BHB) el cual refleja la importante movilización grasa y déficit energético que frecuentemente se mantiene elevado posiblemente debido a la hidroxilación ruminal del butirato (Meikle y col, 2004).

Las vacas primíparas comparadas con las múltiparas pierden mayor CC (Adrien y col, 2012) esto a su vez se acompaña de una disminución en las concentraciones de leptina lo cual tiene sentido ya que ésta es sintetizada por los adipocitos y varía con cambios en el porcentaje de depósitos grasos (Delavaud y col, 2000). Es común que las vacas en lactancia temprana pierdan más del 60 % de grasa (Tamminga y col, 1997).

Al aumentar la leptina el consumo se ve resentido por esto la tasa metabólica se torna mayor por lo que se sugiere que esta disminución es estratégica para estimular el consumo de la vaca lechera posparto y para disminuir el consumo periférico de nutrientes (disminución de la tasa metabólica para redirigir nutrientes hacia la glándula mamaria). Las hormonas tiroideas (T3, T4) disminuyen drásticamente antes del parto y las concentraciones observadas durante el posparto no se recuperan comparativamente con las del preparto (Adrien y col, 2012 citado por Meikle y col, 2012).

Con respecto a las sustancias nitrogenadas también disminuyen alrededor del parto y son vinculadas con la dieta (Adrien y col, 2012). Cuando las vacas son alimentadas con alimentos pobres en proteína el déficit se compensa a expensas de la movilización de las reservas corporales conjuntamente con una disminución de la excreción de urea, todo esto se ve reflejado en una pérdida de la CC y de una reducción en la producción de leche. Por otro lado, el aumento de proteína plasmática durante el posparto está correlacionado positivamente con el consumo de MS que gradualmente se incrementa durante el posparto.

Las concentraciones de insulina y el factor de crecimiento insulina tipo 1 (IGF-I) están disminuidas alrededor del parto (Meikle y col, 2004; Astessiano y col, 2012), lo cual no es llamativo si consideramos la reducción de la ingesta y el BEN el cual caracteriza este periodo. Estos datos son consistentes con el conocimiento generado respecto a la partición de nutrientes del período de transición de la vaca lechera. La hormona del crecimiento (GH) promueve el uso de estos nutrientes por la ubre, ya que anula el consumo de glucosa por parte de los tejidos periféricos. Asimismo, menores concentraciones de IGF-I e insulina favorecen el catabolismo periférico que soporta a la lactancia.

Por otro lado, la insulina y el IGF-I son hormonas muy relacionadas con la reproducción ya que están implicadas en el desarrollo folicular y el reinicio de la actividad ovárica luego del parto. Una mejor CC al parto está directamente relacionada con niveles más altos de IGF-1 y anestros más cortos Meikle y col (2004). “La relación insulina/GH/IGF-I y el punto de inflexión de balance energético influyen el crecimiento folicular y primera ovulación posparto” (Beam y col, 1999). “La salida del BEN se refleja en el aumento de insulina e IGF-I, y se asocia con el aumento progresivo de la ingesta y con el fin del desacople del eje somatotrófico” (Meikle y col, 2004).

La inmunodeficiencia que caracteriza el periodo de transición se puede observar en la disminución marcada de las globulinas y está asociada al aumento de las patologías de tipo infecciosas en especial las reproductivas, mamarias y podales (Blowey, 2005 citado por Meikle y col, 2012).

Como ya se comentó anteriormente las vacas primíparas tienen una mayor dificultad para reponerse del BEN, presentando así un perfil metabólico y endócrino más desbalanceado y peores indicadores reproductivos que las multíparas (Adrien y col, 2012), posiblemente por ser su primera lactancia también exista un estrés que agrave este proceso. Esto puede ser el resultado de que estos animales están en desarrollo, aunque también bajo condiciones pastoriles junto a vacas adultas, “el efecto de dominancia por la comida está afectando la recuperación de ésta categoría” (Grant y col, 2001; Chilibroste y col, 2012).

Varios experimentos han mostrado que vacas con mayor CC, movilizan más reservas y presentan mayores concentraciones de AGNE que vacas con pobre CC en el preparto o al parto (Adrien y col, 2012).

En nuestro país se han realizado numerosos trabajos de suplementación pre y posparto. Ofertas de forraje diferenciales (7, 5, 15 y 30 kg de materia seca (MS)/vaca/día) y ración totalmente mezclada (TMR) proporcionada ad libitum provocaron niveles de producción de leche y CC acorde a la oferta de nutrientes (Chilibroste y col, 2012).

3. 1. 2. 3 -Reproducción de la vaca lechera en transición

Las características reproductivas son consideradas de baja heredabilidad (Bauman y col, 2006), y la fertilidad se reconoce como un carácter complejo de evaluar compuesto por varios sub-caracteres con el problema que los registros reproductivos

no son llevados de forma precisa en los tambos, pero si se reconoce que el porcentaje de detección de celos ha bajado en las últimas décadas (Dobson y col, 2007), dificultando mejorar la eficiencia reproductiva en los rodeos lecheros. Luego de comprobarse el deterioro de la capacidad reproductiva de la población lechera y a pesar de la dificultad de los registros y la baja heredabilidad de la fertilidad (Lawlor, 2006), desde fines de los noventa, se comenzó a incluir rutinariamente en los programas de selección las características reproductivas (Dobson y col, 2007).

Durante el puerperio ocurren mecanismos de defensa uterina, cambios histológicos, ciclo de loquios, reducción del cérvix, regresión uterina y reinicio de ciclicidad ovárica (Arthur, 1996). El desafío en el logro reproductivo de la vaca lechera es la recuperación del normal estado de pre-gestación de útero y anexos (Arthur, 1996) y reinicio de la actividad ovárica (intervalo parto a reinicio de la ciclicidad ovárica, RO). El reinicio se puede determinar en forma precisa midiendo los niveles de progesterona en leche o sangre, y podrá estimarse la heredabilidad de RO utilizando la progesterona en leche como indicador de actividad luteal posparto (Royal y col, 2002). Durante el puerperio, el riesgo de enfermedad metabólica es concomitante con la dilatación del período de recuperación; existe asociación entre algunas enfermedades como la hipocalcemia, distocia y retención de membranas fetales al parto con las infecciones uterinas (Youngquist y Shore, 1997).

Los eventos reproductivos como ovulación, fertilización y mantenimiento temprano de la preñez, están íntimamente asociados con el balance energético durante este período. Además de afectar la eficiencia reproductiva, afecta la salud animal y la producción de leche (Butler y col, 1981).

Las vacas lecheras presentan un potencial genético que seguramente no pueda ser alcanzado en sistemas netamente pastoriles ya que luego de cierto límite de Kg de MS el consumo no puede ser aumentado y la energía requerida no es alcanzada (Chilibroste y col, 2012). Eso es comprobado por investigaciones nacionales donde analizando las curvas de lactancia se observa que los animales no alcanzan su potencial productivo, seguramente en respuesta a desbalances entre requerimientos-oferta de nutrientes y ambiente productivo (Chilibroste y col, 2012).

Para obtener una lactación rentable debemos obtener terneros a intervalos regulares (Royal y col, 2002) y el intervalo parto concepción es quien lo determina. El aumento productivo ha provocado una disminución de los indicadores reproductivos; la información es consistente en señalar tasas de preñez de entre un 20 a 30 % menores desde la década del '60 al presente en diferentes países y mayores problemas reproductivos y sanitarios (Royal y col, 2002).

La evaluación de información nacional (Rovere y col, 2006) de 200 mil lactancias revelan que, el intervalo parto-concepción (IPC) aumentó de 131 a 150 días entre el período 1997-2001 y 2001-2005. Por lo tanto se puede asegurar que la situación nacional actual no escapa a la del Holando a nivel mundial. El síndrome de subfertilidad surge de la interacción del sistema de manejo, el biotipo y los procesos metabólicos que subyacen en ese aumento de la producción (Ferraro col, 2009). Los tambos han aumentado significativamente su escala y nivel de producción pero

también esto trae aparejado un aumento de los factores de riesgo que determinan patologías (Meikle y col, 2012).

El conflicto en el desempeño productivo vs el reproductivo está en gran parte condicionado por el manejo diferencial en el que se puede incidir especialmente durante el período de transición. A la alta demanda metabólica por producción de leche se le suma la disminución (30%) del consumo previo al parto (Grummer, 1995) que promueve la movilización de reservas corporales para compensar el BEN. Los cambios que ocurren durante este período están directamente relacionados a los procesos de adaptación del sistema digestivo y a la alimentación que recibirán luego del parto. Los cambios en el metabolismo de los tejidos/órganos del cuerpo necesarios para apoyar una función fisiológica específica (Bauman y col, 1980), aseguran la uniformidad del flujo de nutrientes en apoyo de la lactancia. Esta partición de nutrientes es comandada por señales hormonales que en conjunto con los perfiles metabólicos pueden ser utilizados como herramientas predictivas del estado de salud de rodeo. En ese estado fisiológico las vacas lecheras de alta producción tienen una utilización de nutrientes por parte de la glándula mamaria superior a la del resto del cuerpo. Este tiempo de sub-alimentación experimentado por los animales al inicio de la lactancia no solo afecta la magnitud de la respuesta residual de producción en toda la lactancia, sino que agrava el desempeño reproductivo. Es en este período que se concentran las enfermedades metabólicas o tecnopatías de la producción de leche actual. Del equilibrio y la prontitud con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción de leche, evitar enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez (Grummer, 1995).

3. 1. 3-FUENTES DE ENERGÍA EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE

La energía es el principal nutriente que necesita el ganado adulto. Una ingesta de energía insuficiente tiene un efecto negativo en la actividad productiva y reproductiva de la vaca. La actividad cíclica y recuperación reproductiva posparto está asociada con el balance energético, que está relacionada con la condición nutricional y la concentración de insulina en sangre. Por lo tanto dietas que generan mayores concentraciones plasmáticas de insulina y glucosa pueden mejorar la condición endocrina y metabólica de las vacas (Santos, 2007).

Muchas alternativas se han propuesto para aumentar la ingesta de energía durante la lactancia temprana. La utilización de forrajes de alta calidad, el aumento de la relación concentrado: forraje o la adición de alimentos densos como las grasas a la dieta son algunas de las formas más comunes de mejorar la ingesta de energía de las vacas (Santos, 2007).

En sistemas pastoriles con fluctuaciones importantes cuantitativas y cualitativas de producción de materia seca a lo largo del año, es imposible pensar en una correcta alimentación de vacas lecheras sin la utilización de concentrados. En ese contexto

debemos conocer cuáles son las alternativas disponibles en nuestro medio con el potencial de cubrir estas fluctuaciones.

En la siguiente figura se muestran la relación entre la energía requerida y la ingerida. Esto es de crucial importancia porque nos indica en cuales periodos es donde hacemos uso de los concentrados energéticos para tratar de disminuir al mínimo el BEN.

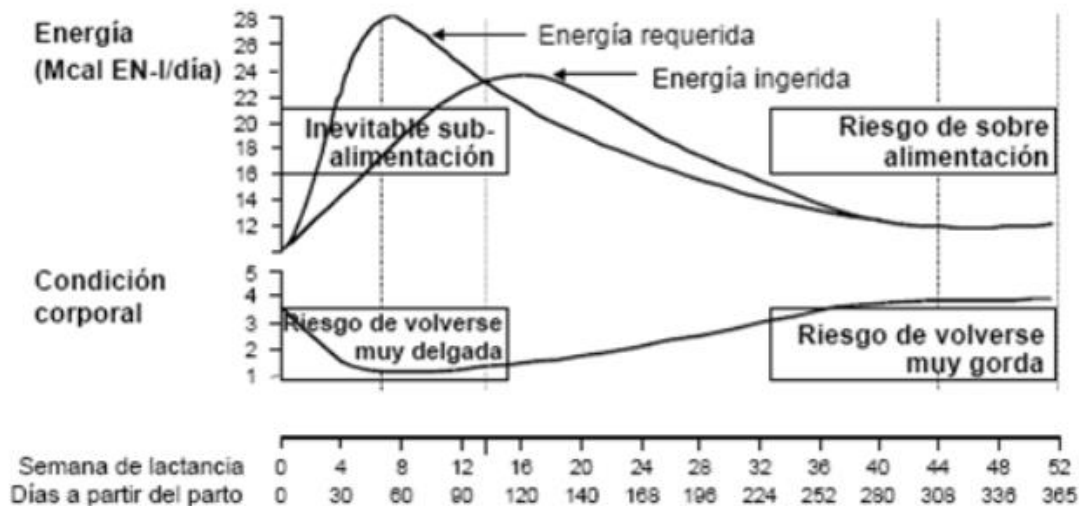


Figura N°.1. Balance energético de animales lactando y evolución de su condición corporal (Combs y Wattiaux, 2000).

3. 1. 3. 1-Energía a partir de forrajes

La utilización de forrajes en la alimentación de vacas lecheras permite la utilización de un alimento de bajo costo por Kg de MS. No obstante tiene una fuerte estacionalidad en su producción, frecuentes desbalances entre energía y proteína, escasos niveles de fibra efectiva en otoño e invierno predisponiendo patologías como acidosis y meteorismo (Durán, 2008).

El consumo de MS y la producción de leche están directamente relacionados a la calidad de la dieta. Las medidas importantes de calidad de una pastura para los rumiantes son: en primer lugar la digestibilidad, y en segundo, el contenido de energía bruta de la MS. Como la variación de energía bruta del forraje es pequeña la digestibilidad es el determinante principal del valor del alimento para el animal (Raymond, 1969 tomado de Langer, 1970).

3. 1. 3. 2-Concentrados ricos en almidón

Los concentrados energéticos más comúnmente utilizados en la alimentación de rumiantes son los cereales (maíz, sorgo, avena, trigo, cebada), los afrechillos (de trigo y arroz), la melaza y las raciones balanceadas comerciales. Suelen tener concentraciones energéticas elevadas y bajo a moderado nivel de proteína (Cuadro N°4; Mieres, 2004).

Cuadro N°4. Composición promedio de algunos suplementos en Uruguay (adaptado de Mieres, 2004).

Alimento	MS %	PB %	NDT (%)	EM (Mcal)
Maíz	88	9.2	90	3.26
Sorgo	90	8.6	90	3.27
Avena	90	12.9	74	2.69
Trigo	89	14.8	89	3.22
Cebada	90	11.8	86	3.12
Afrechillo de trigo	89	17.2	79	2.86
Afrechillo de arroz	89	15.2	83	3.00
Heno pradera	83	10.1	44	1.60
Heno alfalfa	87	18.8	64	2.32

% MS: Porcentaje de materia seca, %PB: Porcentaje de proteína bruta, %NDT: nutrientes digestibles totales, EM: energía metabólica.

Los efectos de la suplementación con concentrados sobre la composición y la producción de leche, dependerá de la cantidad suplementada, del tipo de concentrado utilizado, de la forma de suministro, y de las características de la dieta base a suplementar (Rearte, 1992).

La ingesta de energía aumenta en proporción directa con el aumento de grano en la dieta hasta el 55 al 60 % de la MS. Las dietas con más del 60 % de concentrado y poco contenido de fibra se relacionan con una mayor osmolaridad, menor pH y mayor concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) en el rumen y en el sistema portal, además de una disminución en el consumo de MS (Santos, 2007).

Las dietas con mayores cantidades de concentrado tienen un mayor contenido de carbohidratos no fibrosos (CNF). El almidón es el CNF más importante en las dietas para animales de alta producción. La degradación del almidón en el rumen aumenta la proporción de propionato en relación con otros AGV y mejora la síntesis de glucosa en el hígado. Tanto la glucosa como el propionato son secretagogos de insulina y las dietas con almidón degradable en el rumen aumentan la producción de glucosa desde el hígado y las concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina (Santos, 2007).

Los carbohidratos no estructurales presentes en los concentrados energéticos promueven la producción de propiónico en el rumen, mientras que los carbohidratos fibrosos estimulan la producción de acético y butírico. Además los carbohidratos no

estructurales se dice que rinden más AGV porque son fermentados con mayor velocidad y en forma completa. Así la alimentación con concentrados, debido principalmente a una disminución del pH del fluido ruminal y a un cambio en las condiciones de fermentación, deriva en un aumento de la producción de propiónico en detrimento de acético y butírico (Rearte, 1992).

Consecuentemente, la suplementación con concentrados energéticos genera un cambio en las concentraciones de los distintos precursores, tanto lipogénicos como glucogénicos, lo que deriva en un aumento en el volumen de leche producido a raíz de que la síntesis de glucosa a partir del propiónico como principal precursor. Por otro lado ocurre un descenso en la síntesis de grasa a causa de una baja en la disponibilidad de precursores lipogénicos, más específicamente acético y butírico (Rearte, 1992).

Las modificaciones del contenido de proteína láctea, son mucho menores a las del contenido graso, ya que la síntesis proteica está muy ligada al código genético, y si falta cualquier aminoácido se detiene. A pesar de que la variación de los niveles de proteína en leche sea poco significativa, dietas con valores energéticos altos (inclusión de concentrados energéticos), debido a un aumento del propiónico, la neoglucogenesis a partir de aminoácidos disminuye. Esto determina que la captación de los mismos a nivel de la glándula mamaria sea mayor, y por ende se favorece la síntesis de proteínas lácteas (Rearte, 1992). La urea en leche también es un indicador del balance energético proteico, dietas altas en energía frecuentemente disminuyen su concentración (Acosta y col, 2002).

El maíz ha sido el concentrado energético por excelencia utilizado en la producción animal, principalmente en la lechería. La suplementación con energía como la del maíz es uno de los más utilizados para la alimentación de vacas lecheras en pastoreo, que provee energía extra e incrementa el consumo total de MS comparado con sistemas basados sólo en praderas (Delaho y col, 2003).

3. 1. 3. 3-Glicerol

El glicerol también conocido como glicerina (propano-1, 2, 3-triol) es un compuesto orgánico que pertenece a la función alcohol, líquido a temperatura ambiente (25 ° C), viscoso, incoloro, inodoro, higroscópico de sabor dulce. Por definición es un alcohol azucarado. Por su propiedad humectante, contenido energético y un índice elevado de solubilidad en agua es ampliamente utilizado en las industrias farmacéuticas, cosméticas y alimenticias (Donkin y col, 2007).

Es un subproducto de la trans-esterificación del aceite en la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos, en la producción de biodiesel y es subproducto principal del proceso de la fermentación del etanol (Donkin y col, 2009). Aproximadamente 0.92 kilogramos de glicerol crudo se producen cada 10 litros de biodiesel producido (Donkin y col, 2007). El uso de glicerol en la formulación de dietas despierta interés inmediato para obtener un producto rico en energía y alta eficiencia de utilización por los animales (Silva y col, 2014).

Nuestro país ha comenzado a producir biodiesel; en la actualidad ALUR produce unas 50.000 Toneladas/año de biodiesel que son suministradas a ANCAP, permitiendo una mezcla del 7% con el gasoil que se comercializa en el país. Actualmente Alur exporta glicerina a diferentes destinos (Corea, Alemania), así como se destina para el mercado local para la fabricación de producto de diversos usos aplicados a la industria animal (Iriñiz y col, 2015).

3. 1. 3. 3. 1-Valor nutritivo del glicerol

El glicerol es un importante componente estructural de los triglicéridos y fosfolípidos. La propiedad glucogénica del glicerol está bien establecida (Cori y Shine, citados por Wang y col, 2009). Estudios de digestibilidad realizados in vivo demuestran que la energía neta de lactación varía cuando ésta es acompañada de mayores o menores proporciones de concentrados de almidón entre 1.98 y 2.27 Mcal por Kg. de glicerol respectivamente (Schröder y col, 1999).

DeFrain y col (2004) reportaron 1.91 Mcal/Kg de energía neta de lactación cuando alimentó vacas en lactancia temprana. Parte de la incertidumbre de asignar un valor energético al glicerol se debe al efecto del impacto potencial de los diferentes niveles de glicerol que han sido utilizados en la alimentación de rumiantes y de las interacciones con otros componentes de la ración. El valor energético del glicerol es aproximadamente igual al valor energético del almidón del maíz (Donkin y col, 2007).

De acuerdo a lo observado en el cuadro N°5 el glicerol suele ser clasificado de acuerdo a su pureza, en general el glicerol crudo tiene un 80 % de pureza, el glicerol técnico tiene una pureza que excede el 90% y el glicerol farmacéutico una pureza mayor al 99. 7%(Vicente y col, 2010).

Cuadro N°5: Composición del glicerol, dependiendo de la pureza (Hippen y col, 2008).

	Pureza del Glicerol		
	Baja	Media	Alta
Agua %	26.8	1.1	2.5
	Composición de MS %		
Glicerol	63.3	85.3	99.8
Extracto etéreo	0.71	0.44	n. a.
P	1.05	2.36	n. a.
K	2.20	2.33	n. a.
Na	0.11	0.09	n. a.
Pb	0.0003	0.0002	n. a.
Metanol	26.7	0.04	n. a.

Los niveles de metanol en glicerol crudo son una preocupación y deberían estar por debajo de 0.5 %. Una carta de reglamentación expedido por la Food and Drug

Administration indica que los niveles de metanol superiores a 0.015%, podrían ser considerados no aptos para la alimentación animal (Donkin y col, 2007). Cabe destacar que el metanol es tóxico y puede generar problemas renales y cegueras, pero es metabolizado por bacterias ruminales y transformado a metano (Drackley, 2007). De todas maneras hoy en día el glicerol es reconocido como un alimento seguro para la alimentación animal (Donkin y col, 2007).

El glicerol derivado de la industria del biodiesel contiene sal en su composición, con valores máximos de 11.5 %. Las sales nombradas están constituidas por potasio, sodio y fósforo. El potasio oscila entre 2.2 y 2.3 % en materia seca y el de fósforo entre 1.05 y 2.36% (Drackley, 2007). El sodio se encuentra en muy bajos porcentajes entre 0.09 y 0.11% (Schröder y col, 1999).

3. 1. 3. 3. 2-Metabolización del glicerol

En el proceso de fermentación a nivel ruminal el glicerol se reduce a ácidos grasos volátiles. Los primeros estudios de la fermentación del glicerol indicaron que éste fue fermentado casi enteramente a propiónico (Johns y col, y Garton y col, citados por Donkin y col, 2007).

Trabajos posteriores indican con variaciones, un incremento en el ácido acético y ácido propiónico o un aumento de ácido propiónico y ácido butírico (revisado por Donkin y col, 2007).

Khalili y col (1997) encontraron que dietas con glicerol modificaron el tipo de fermentación ruminal, la proporción molar de acético disminuyó, y las proporciones de propiónico, butírico y valerato aumentaron. Según Ferraro y col (2009), la fermentación del glicerol provocó una reducción del acético, un leve aumento en el propiónico y un incremento en la cantidad de butírico.

En estudios *in-vitro*, la fermentación del glicerol usando como inóculo fluidos del rumen de las vacas adaptadas a la alimentación con glicerol, indicaron producción creciente de propiónico y de butírico a expensas del acético (Rémond y col, 1993). Según Hippen y col (2008), resultados de estudios de la fermentación *in vitro* e *in vivo*, indican que el glicerol es rápidamente fermentable y dependiendo de cuál sea la dieta de las vacas, aumentará propiónico y butírico en líquido ruminal. La alimentación con glicerol no afectó la digestibilidad de la dieta, pero disminuyó la relación acético/propiónico. También se notaron aumentos de la concentración ruminal de butirato y estimula la ingesta de agua. Estos cambios podrían ser beneficiosos para la vaca lechera porque: 1) el aumento de propiónico ruminal hace aumentar la oferta de este sustrato de la gluconeogénesis en el hígado, 2) el aumento de butírico ruminal favorecería el crecimiento del tejido epitelial ruminal y quizás el aumento de la absorción de nutrientes a nivel ruminal y finalmente 3) la mayor ingesta de agua determinaría en una mayor disponibilidad de agua a nivel de glándula mamaria satisfaciendo la demanda necesaria para la síntesis de leche.

El glicerol se puede convertir en glucosa en el hígado y los riñones proporcionando energía para el metabolismo celular (Krebs y col, 1966; citado por Wang y col, 2009). El destino del glicerol una vez absorbido es el hígado, ahí es metabolizado mediante la enzima glicerol quinasa (Lin, citado por Donkin y col, 2007).

Según estudios *in vitro* (Rémond y col, 1993), la desaparición del glicerol del rumen podría ser de 0.52 a 0.62 grs. /hora.

3. 1. 3. 3. 3-Glicerol en la alimentación de rumiantes

El uso de glicerol en rumiantes no es nuevo, ya en 1954 se reportó su uso para el tratamiento de cetosis (Jhonson y col, 1954) citado por Donkin y col (2007). Más tarde en 1970 se confirmó el poder terapéutico del glicerol y el propilenglicol para el tratamiento de la cetosis (Fisher y col, citado por Donkin y col, 2007).

Más recientemente se ha expuesto el valor del glicerol como un suplemento preventivo de problemas metabólicos. Osman y col, (2008) lo utilizó para prevenir el síndrome de hígado graso en vacas de alta producción en periodo de transición. Goff y col, (2001; citado por Donkin y col, 2007) utilizaron hasta 3 litros en el tratamiento y prevención de vacas con cetosis, Defrain y col (2004) utilizó 850 gr/d en vacas en transición.

Fisher y col, (1973) utilizaron vacas holando en lactancia temprana durante 8 semanas para evaluar los efectos de la suplementación del glicerol en el consumo, producción y composición de la leche, e incidencia de cetosis. La dieta control consistió en una mezcla de forrajes (75 % ensilaje de maíz) ad libitum, más un concentrado sin aditivos (mezcla de grano de maíz y grano de avena más harina de soja). Los niveles de glicerol suplementados fueron de 3% (174gr/d) y 6% (371gr/d). Los resultados indicaron que no hubo diferencias significativas en el consumo de materia seca, en la producción de leche y en la composición de la misma. Pero que las vacas alimentadas con 371 gr/d de glicerol durante las primeras 8 semanas de lactancia perdían menos PV que las alimentadas con 174 gr/d o las del control.

Khalili (1997) suplementó vacas lecheras primíparas en mitad de lactancia con 151gr/d de glicerol, resultando que no hubo diferencias significativas en el consumo de materia seca (CMS) a causa del glicerol, ni tampoco en producción de leche.

Schröder y col (1999) alimentaron ganado lechero con dietas conteniendo 10 % de glicerol reemplazando la mitad del almidón en la dieta, con el objetivo de evaluar el potencial del glicerol en dietas para rumiantes. Llegaron a la conclusión que el glicerol de diferentes purezas puede reemplazar al almidón de rápida fermentación en dietas para rumiantes, hasta en un 10% de la materia seca de la dieta, sin afectar negativamente el consumo, la digestibilidad ruminal, la síntesis microbiana a nivel ruminal ni la digestibilidades de los nutrientes en todo el tracto digestivo.

Por su parte, DeFrain y col (2004) utilizaron el glicerol para alimentar vacas lecheras en transición como un suplemento energético. Los resultados indican que vacas alimentadas con glicerol en el parto consumieron aproximadamente 17% menos de materia seca que el grupo sin glicerol, pero no hubo diferencias de consumo en el postparto. La producción de leche tampoco presentó diferencias entre tratamientos.

Respecto de la composición de la leche, la grasa y concentración urea en leche disminuyeron a medida que aumentaba la dosis de glicerol. En relación al PV y CC no hubieron diferencias significativas entre tratamientos.

Bodarski y col, (2005) alimentaron vacas lecheras en lactancia temprana desde 3 semanas antes del parto hasta 70 días post-parto con 300 y 500ml de glicerol con el objetivo de estudiar el efecto de éste en los parámetros productivos de las vacas. Los tratamientos con glicerina consumieron 2 Kg más de MS post parto comparados con el control sin glicerina. Este mayor consumo de los tratamientos con glicerol produjo que las vacas tuvieran mayor CC al final del período de evaluación que el control, pese a que la producción de leche aumentó 14.6 y 12.5 % (300 vs 500 ml de glicerol, respectivamente).

Ogborn y col (2006) utilizaron glicerina como suplemento energético y no como un ingrediente importante de la dieta, para evaluar la performance y metabolismo de vacas holando múltiparas durante el período de transición. Los resultados mostraron una tendencia opuesta al estudio anterior, en que el glicerol (504 gr/d) deprimió el CMS en el posparto, sin diferencias significativas en producción ni composición de la leche.

Chung y col (2007), en vacas al inicio de la lactancia suplementadas con glicerina seca (equivalente a 162.5gr/d de glicerol puro) por 3 semanas, no observaron diferencias significativas en el CMS, en la producción ni composición de leche, apenas una tendencia a la baja para la grasa.

Wang y col (2009) tampoco obtuvieron diferencias en CMS ni en producción de leche, con una disminución lineal del contenido de proteína y una tendencia a menos grasa en leche con el agregado de glicerol. A su vez las vacas alimentadas con glicerol tendían a incrementar el PV a tasas mayores en relación al control, con un 7 % más de glucosa en sangre que las vacas control.

Donkin y col (2009) suplementaron vacas Holando con glicerol durante 56 días (dosis de 0, 5, 10 y 15 % del total de MS), y observó que el CMS en el tratamiento con 15 % de glicerol se redujo durante los primeros 7 días del experimento y luego recuperó en nivel de consumo los siguientes días, sugiriendo que para la dosis del 15 % de glicerol lo mejor sería alcanzarlo gradualmente. Tampoco hubo diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la producción de leche, y en composición encontraron que la urea en leche disminuyó a medida que aumentaba la dosis de glicerol.

Lounglawan y col (2011) utilizaron 150 y 300 gr/d para evaluar el desempeño productivo, y no obtuvieron diferencias significativas en CMS ni en producción de leche. En relación a la composición, observaron que la proporción de grasa de la leche tendió a disminuir con el aumento de glicerol en la dieta.

En vacas Holando múltiparas alimentadas con glicerol al 11.5 y 10.8% de la materia seca de la ración desde 28 días preparto hasta 56 días post-parto, no observaron diferencias significativas en el CMS, ni en producción y composición de la leche entre los tratamientos (Carvalho y col, 2011).

Con respecto a lo relacionado con la reproducción lógicamente siendo el glicerol un compuesto con capacidad de mejorar el balance energético este sería capaz de mejorar o sostener indicadores reproductivos. Cabe citar de la bibliografía a (Vispo y col, 2014) donde suplementando vacas de carne con glicerol lograron una involución uterina más rápida. (Ortega y col, 2010) evaluó como afecta el uso de glicerol el porcentaje de concepción luego de la inseminación en vacas holando concluyendo que la administración de glicerol durante los primeros seis días pos-inseminación mejoran este parámetro.

3. 1. 4-RESPUESTA A LA SUPLEMENTACIÓN EN LA LACTANCIA TEMPRANA

La productividad de los bovinos está determinado por el CMS, por la cantidad de nutrientes digeribles que contiene la misma y de la eficiencia con que estos son transformados en el producto. También hay otros factores que afectan el consumo voluntario, como la asignación por ha, disponibilidad y calidad del forraje (Rearte y col, 1989).

3. 1. 4. 1-Efectos sobre el consumo de alimentos

La respuesta que tengamos mediante la incorporación de suplementos a la dieta depende de varios factores como lo es el momento de la lactancia, la longitud del periodo de alimentación, el potencial de producción de las vacas entre otros (Broster y col, 1979). La distribución temporal del suplemento administrado en más de dos comidas por día puede estimular el consumo de energía y por lo tanto mejorar la producción (Broster, 1979).

La suplementación con granos de rumiantes en pastoreo puede tener diversos comportamientos en cuanto al consumo, afectándolo tanto negativa como positivamente (Dixon y col, 1999).

La interacción del suplemento con el consumo voluntario puede ser de adición, sustitución, adición y sustitución, adición con estímulo y sustitución con depresión (Ver figura N° 2). En el efecto de adición no varía el consumo de forraje, y el suplemento se suma al CMS total. En el efecto de sustitución, el consumo de forraje disminuye en la misma proporción que el consumo de concentrado, consumiendo finalmente el mismo volumen de MS total. Si el consumo de forraje disminuye pero el consumo total de MS aumenta es cuando se observa el efecto de adición-sustitución. Existen 2 situaciones más, la adición con estímulo y la sustitución con depresión, en la adición con estímulo el suplemento causa un aumento de la ingestión de forraje, incrementando el total de MS consumida y en la segunda el consumo de forraje se reduce disminuyendo la ingestión total de MS (Lange, 1980).

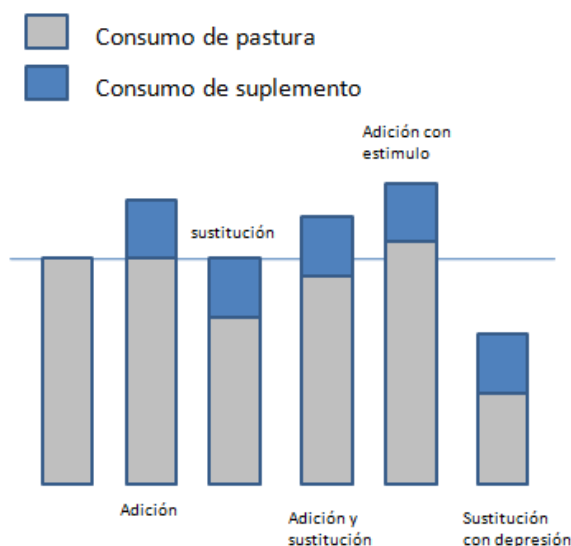


Figura N°2. Efecto de la suplementación sobre el consumo (tomado de Lange, 1980).

La respuesta que se puede esperar a la suplementación con energía depende de los tipos de carbohidratos y granos suministrados, el maíz es uno de los más utilizados para la alimentación de vacas a pastoreo, porque provee de energía extra e incrementa el consumo total de MS comparado con sistemas basados sólo en praderas (Delahoy y col, 2003).

Debido a que en el inicio de la lactancia el apetito por parte de la vaca está disminuido debería administrarse suplementos que contengan buena densidad de energía, lo que puede traer una disminución del consumo de forraje (Broster y col, 1979).

3. 1. 4. 2-Efecto sobre la producción y composición de leche

Durante el comienzo de la lactancia es difícil satisfacer los requerimientos, ya que el pico de producción se da 4-6 semanas después del parto y el mayor consumo de alimento se alcanza a las 8-10 semanas después del parto (Broster y col, 1979).

La rutina de alimentación puede afectar la producción de leche. Al cambiarla de 2 a 4 comidas por día, se aumentó el nivel de alimentación sobre el mantenimiento de 4.6 a 5.1 MJ de EM por Kg de leche corregida por grasa (LCG), se incrementó 1.5 Kg por día en vacas que producían más de 30 Kg de leche por día, también tuvo un efecto residual en la última parte de la lactancia, en cambio otro experimento que se aplicó un aumento similar en el nivel de alimentación aumentando la cantidad de concentrado sin cambiar la rutina de alimentación no obtuvieron respuesta en la producción de leche (Broster y col, 1979).

Incrementos en el nivel de concentrado de un nivel estándar de alimentación a uno alto, no dio ninguna respuesta extra en la producción, más bien la producción fue

más baja pudiéndose deber a una relación forraje: concentrado desfavorable (Broster y col, 1979).

Los concentrados energéticos y la presencia de los carbohidratos no estructurales en los mismos promueven la producción de ácido propiónico en el rumen. En cambio los carbohidratos fibrosos estimulan la producción de acético y butírico. La suplementación con concentrados causa una disminución del pH del fluido ruminal y un cambio en la fermentación ruminal que deriva en un aumento de la producción de propiónico en detrimento de acético y butírico (Rearte, 1992).

Por lo mencionado anteriormente los concentrados energéticos generan cambios en la concentración de distintos precursores lipogénicos como glucogénicos, lo que trae aparejado un aumento en el volumen de leche consecuencia del aumento de propiónico que aumenta la síntesis de glucosa. La lactosa al estar estrechamente relacionada con el volumen de leche producido su concentración se mantiene prácticamente incambiada.

3. 1. 5-SINTESIS

Se cuentan con más de 60 años de investigación acerca del glicerol. Los experimentos realizados han tenido diferentes enfoques, los primeros fueron dirigidos a la utilización del glicerol como fuente energética para el tratamiento de las enfermedades derivadas del periodo de transición como lo es la cetosis. Más en la actualidad, conforme aumentaba la industria de los biocombustibles y la necesidad de sustituir al maíz en las dietas, se comenzó a mirar al glicerol como un posible ingrediente en dietas de vacas lecheras.

En los distintos experimentos revisados, el glicerol fue administrado a razón del 5% y 15% del total de la materia seca de la dieta, donde a partir de estos valores se ha llegado a concluir que el glicerol es un ingrediente apropiado para sustituir al grano de maíz en dietas para vacas lecheras en lactancia, ya que no hay efectos nocivos importantes en el consumo de alimento, producción de leche y composición de la misma.

La mayoría de los experimentos que revisamos, usaron el glicerol como aditivo o en sustitución parcial de granos, y la mayoría de ellos realizados en vacas en estabulación. Este estudio plantea utilizar vacas en pastoreo y evaluar la sustitución total de la energía que aporta el maíz en el concentrado por glicerol.

4-HIPÓTESIS

El glicerol crudo como sustituto del maíz en la dieta de vacas lecheras permite igualar el desempeño productivo (producción y composición de leche) y reproductivo (recuperación reproductiva y actividad ovárica).

5-OBJETIVOS

5. 1-OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del glicerol crudo en sustitución total del grano de maíz en el concentrado sobre los parámetros productivos y la involución uterina de vacas lecheras en lactancia temprana en pastoreo.

5. 2-OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudiar el efecto del glicerol crudo sobre los parámetros productivos (Peso vivo, condición corporal, producción y composición láctea).

Evaluar el proceso de involución uterina y estructuras ováricas presentes en los animales, sometidos a los diferentes tratamientos.

6-MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó desde el 27 de agosto al 27 de octubre de 2012.

Animales:

Se utilizaron 20 vacas Holando pertenecientes al rodeo de la EEMAC (4 primíparas y 16 multíparas). Los animales se distribuyeron en dos grupos homogéneos según lactancia, CC parto (3.04 ± 0.26) e inicio del ensayo (3.17 ± 1.42), y PV parto (687.87 ± 102.26 kg). La fecha promedio de partos fue el 17 de setiembre (± 9.5 días). El protocolo experimental fue evaluado y aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de Uruguay (CHEA – Udelar).

Tratamientos y diseño experimental:

El diseño experimental fue de bloques al azar.

Se asignaron los animales a dos grupos de manejo alimenticio balanceados por número de lactancia (NL), fecha de parto (FP), peso vivo (PV) y CC (Edmonson y col., 1989), de la siguiente forma:

- TC (control, n=10): pastoreo con una oferta diaria/vaca de 60 kg MS (determinada al ras del suelo), y alimentación en encierro con 5.84 Kg de MS de ensilaje de sorgo planta entera y 6.31 kg de MS concentrado A (con maíz).
- TG (glicerol, n=10): el mismo manejo que en TC, con la diferencia de 4.48 Kg de MS de concentrado B (libre de maíz) y 3 kg de glicerol crudo (76.5 % de pureza).

Los tratamientos fueron formulados para que ambas dietas fueran iso-energéticas.

La pastura ofrecida (grupos TC y TG en la misma parcela) y el ensilaje utilizado fue el mismo para ambos tratamientos.

La composición del concentrado A y B, se muestra en el cuadro siguiente.

Cuadro N°6. Composición porcentual de los concentrados (A y B) utilizados (Colonia el Ombú).

Ingredientes	Concentrado A	Concentrado B
1)Maíz grano	38.7	0
2)Glicerol	0	38.7**
3)Trigo	12.86	12.9
4)Exp. Soja	25.82	25.8
5)Cáscara Soja	19.39	19.3
6) Sal Común	0.61	0.6
7) CaCo3	0.61	0.6
8)Fosfato bi Ca	0.61	0.6
9)Oxido Mg	0.2	0.2
10)Bicarbonato Na	0.92	0.92
11)INSALMIX 50	0.31	0.31

** Dada su densidad y pureza corresponde a 40.31 ml/100 g de glicerol.

El experimento tuvo dos periodos:

- **Pre-experimental:** comprendió los 10 días posparto como el período de adaptación de los animales a las dietas experimentales. A medida que los animales parían, pasaban al mismo sistema de alimentación con 40% de pastura, y la dieta parcialmente mezclada (DPM) con 30% ensilaje y 30% concentrado (50:50 de Concentrado A y concentrado B). Las condiciones de alimentación eran las mismas para todos los animales, pastoreaban con una asignación por vaca de 60 kg MS/vaca (disponibilidad al ras del suelo). En este periodo se realizaron determinaciones de producción y composición de la leche, PV y CC, las que fueron utilizadas como covariable para el análisis estadístico del período experimental propiamente dicho.

- **Experimental:** A los 10 días de paridas cada vaca pasaba a los tratamientos propuestos según previa asignación de los animales. La DPM (ensilaje de sorgo y concentrado A o B) se ofrecía en encierro matutino, y la mezcla de los componentes se realizaba en el mixer previo limpieza del mismo. Los encierros individuales disponían de agua, sombra y comederos.

Rutina de alimentación:

Ambos grupos luego del ordeño de la mañana eran alojados en los corrales ofreciéndoles el ensilaje y el concentrado A o B (con el glicerol) según el tratamiento que correspondía. Se alojaban individualmente hasta el ordeño de la tarde. Luego del ordeño PM eran llevadas a la pastura de segundo año compuesta por festuca (*Festuca arudinacea*) y trébol blanco (*Trifolium repens*) donde los dos grupos pastoreaban hasta el siguiente ordeño (matutino del siguiente día) en una misma parcela con una oferta de 60 Kg/MS/animal/día.

6. 1-MUESTREO, DETERMINACIONES Y CÁLCULOS

Determinaciones:

En la figura n°3 se muestra en forma esquemática las determinaciones realizadas en sus respectivas frecuencias.

Producción de leche. Se medía diariamente en cada ordeño con controladores de línea (Waikato, mkw milk meter®).

Composición de la leche. Semanalmente se tomaron muestras individuales compuestas con ambos ordeños. Fueron colectadas del medidor de leche y enviadas al laboratorio (Colaveco, NH, Colonia) para la determinación de composición (grasa, proteína, lactosa, urea; MilkoScan FT2®).

Peso vivo y condición corporal. Los animales se pesaron cada 14 días luego del ordeño matutino, sin ayuno previo y la CC se determinó semanalmente. La CC fue determinada por el mismo observador empleando la escala de 5 puntos propuesta por (Edmonson y col, 1989).

Examen reproductivo. Se realizaron dos exámenes reproductivos completos (externo e interno, inspección-palpación y ecografía) a los días 25 y 42 postparto, registrando de acuerdo a Le Blanc y col (2002), grado de involución uterina (posición y tamaño del cérvix y útero), estatus de ciclicidad según las estructuras ováricas (tipo y tamaño en mm), y condiciones patológicas (quistes, etc). Luego de identificar las estructuras ováricas, las vacas se clasificaron en: anestro profundo (AP), anestro superficial (AS), ciclando (Ci), patología uterina (PU), y patología ovárica (PO). Los criterios utilizados para la clasificación son los descriptos por (Spicer & Echternkamp, 1986; Martin et al., 1992; Wiltbank et al., 2002). Se definió "involución uterina" como el regreso del útero a su posición, tamaño y consistencia pre-gestacional (Arthur, 1996).

período pre-experimental			período experimental								
PARTO											
0	7	10	14	21	25	28	35	42	49	56	60
PV	CC-CL		PV-CC-CL	CC-CL	ECO	CC-CL-PV	CC-CL	ECO	CC-CL-PV	CC-CL	

Figura N°3: Diagrama del experimento. Línea del tiempo en la que se representan las diferentes actividades a realizar durante el período pre-experimental (10 días de adaptación a la dieta del experimento) y el experimental (de tratamientos por 50 días más). PL (producción de leche) diaria, CC semanal, CL (control lechero) semanal, PV (peso vivo) quincenal, ECO (examen reproductivo)- días 25 y 42 post parto.

6. 2-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información productiva se analizó con un modelo lineal mixto de medidas repetidas en el tiempo, con el uso del procedimiento MIXED de SAS 9. 2 (2010). El modelo incluyó como efectos fijos tratamientos, semana de lactancia y la interacción semana de lactancia x tratamiento y el bloque como efecto aleatorio. La unidad experimental sobre la que se realizaron las medidas repetidas fue la vaca. La estructura de covarianzas fue de primer orden heterogénea y auto-regresiva (Kenward-Roger). Las medias se compararon usando la prueba de Tukey, considerando un efecto como significativo cuando $P < 0.05$ y tendencias con valores de $P > 0.05$ y < 0.1 . Los resultados se presentan como las mínimas cuadrado de medias \pm desvío estándar.

Las variables reproductivas se compararon en cada momento de evaluación por el test de chi cuadrado corregido por Fisher-Yates.

7-RESULTADOS

7. 1-Producción y Composición de leche

7. 1. 1-Producción de leche

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos TC y TG (28.69 vs 27.28 l/día) para las variables LCG ($P=0.47$). No se obtuvieron diferencias significativas entre TC y TG sobre la PL (31.72 vs 30.08l/día) con una ($P=0.19$). Hubo un efecto ($P<0.05$) de la fecha de muestreo en la semana 4 y 8 (Figura N°4).

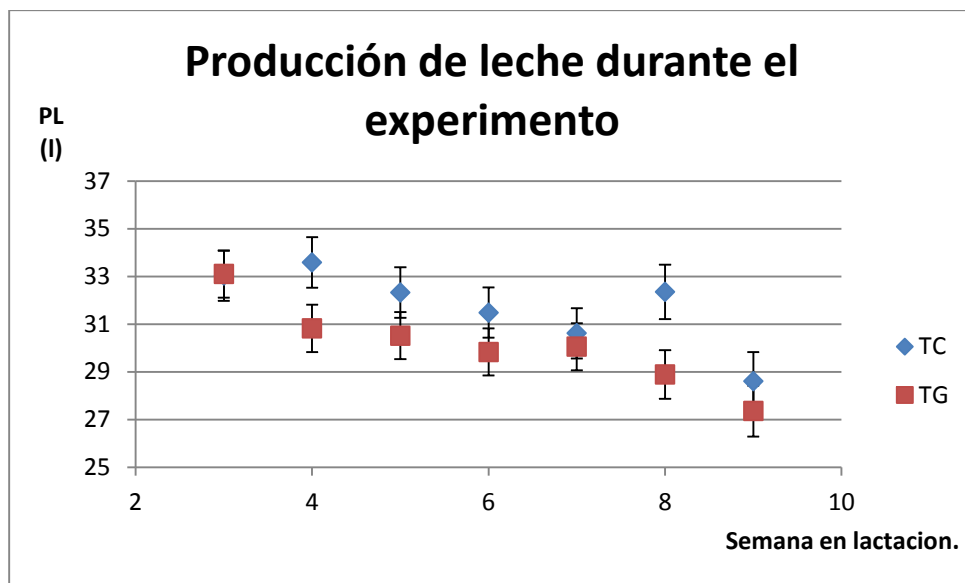


Figura N°4. Evolución de la producción de leche (PL, l) desde la segunda hasta la novena semana posparto (PP) para los tratamientos TC y TG. Aunque se observan diferencias entre los tratamientos para las semanas 4 y 8, estas diferencias no son significativas ($P=0.82$ y 0.60) respectivamente.

7. 1. 2-Composición de la leche:

En el Cuadro N° 7 se enumeran los datos de composición y producción láctea con sus respectivos valores estadísticos.

La producción de grasa fue 1.08 vs 1.01 kg y no hubo diferencias significativas entre TC y TG ($P=0.14$). Sin embargo, si fue diferente el porcentaje de grasa entre TC y TG (3.66 vs 3.36%, $P=0.03$, respectivamente).

La producción de proteína no fue diferente (0.93 vs 0.91 kg para TC y TG, respectivamente) entre tratamientos ($P=0.68$). No se vieron diferencias significativas entre TC y TG (3.13 vs 3.02%) para el porcentaje de proteína ($P=0.20$).

No hubo diferencias significativas entre TC y TG (1.3 vs 1.47kg, respectivamente) para producción de lactosa ($P=0.57$). Tampoco fue diferente (4.85 vs 4.87%, TC y TG respectivamente) el % de lactosa ($P=0.66$).

El nitrógeno ureico fue de 20.70 vs 17.88mg/dl, siendo diferente para ambos tratamientos TC y TG ($P=0.0001$).

Con respecto a la semana de lactación (SDL) todas las variables estudiadas son significativas menos el porcentaje de lactosa que es no significativo ($P=0.43$).

Cuadro N°7: Efectos productivos de la sustitución del maíz (TC) por glicerol (TG) en la dieta totalmente mezclada (TRM) de vacas Holando en lactancia temprana (60 días).

	TC	TG	EEM	P	SDL	T*SDL
PL(l/día)	31.72	30.08	0.85	0.19	0.0001	0.10
LCG(l/día)	28.69	27.28	0.78	0.47	0.0001	0.66
Grasa (%)	3.66	3.36	0.09	0.03	0.008	0.14
Grasa (Kg)	1.08	1.01	0.03	0.14	0.0001	0.67
Proteína (%)	3.13	3.02	0.06	0.20	0.004	0.24
Proteínas (Kg)	0.93	0.91	0.03	0.68	0.003	0.51
Lactosa (%)	4.85	4.87	0.04	0.66	0.43	0.44
Lactosa(Kg)	1.43	1.47	0.04	0.57	0.001	0.54
Nitrógeno ureico en leche (mg/dl)	20.70	17.88	0.55	0.0001	0.04	0.15

PL: Producción de leche; LCG: leche corregida por grasa; EEM: error estándar de la media; P: probabilidad; SDL: semana de lactancia; T*SDL: interacción tratamiento*semana de lactancia.

7. 2-Peso vivo y Condición Corporal:

Los resultados se muestran en el Cuadro N°8.

Cuadro N°8. Se muestran los efectos de la SDL, tratamiento y su interacción sobre la CC y PV.

	TC	TG	EEM	P	SDL	T*SDL
CC	2.708	2.644	0.09242	0.5924	0.0001	0.0793
PV	574.47	562.12	18.6411	0.5156	0.007	0.4646

CC: condición corporal; PV: peso vivo, TC: tratamiento control; TG: tratamiento glicerol; EEM: error estándar de la media; P: probabilidad; SDL: semana de lactancia; T*SDL: interacción tratamiento*semana de lactancia.

7. 2. 1-Condición corporal (CC)

No hubo efecto del tratamiento sobre la CC (P=0.5924). En los dos tratamientos durante el periodo de lactancia el descenso fue de 0.4 puntos desde la semana 2 hasta la semana 9 PP (P= 0.0001; Figura 5).

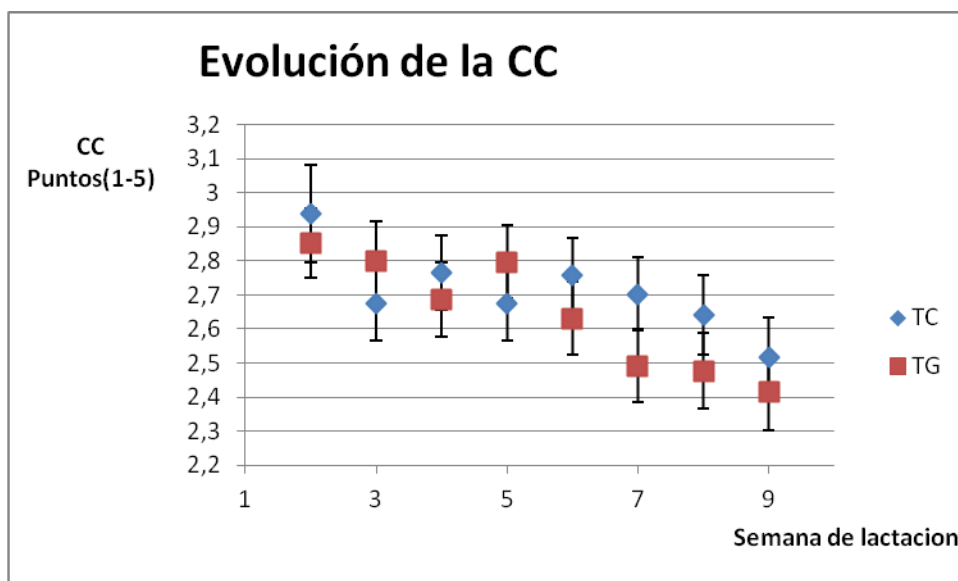


Figura N°5. Evolucion de la condicion corporal desde la segunda semana postparto hasta la novena semana postparto para los tratamientos TC y TG.

7. 2. 2-Peso vivo (PV)

No hubo efecto significativo del tratamiento sobre el PV ($P=0.5156$).

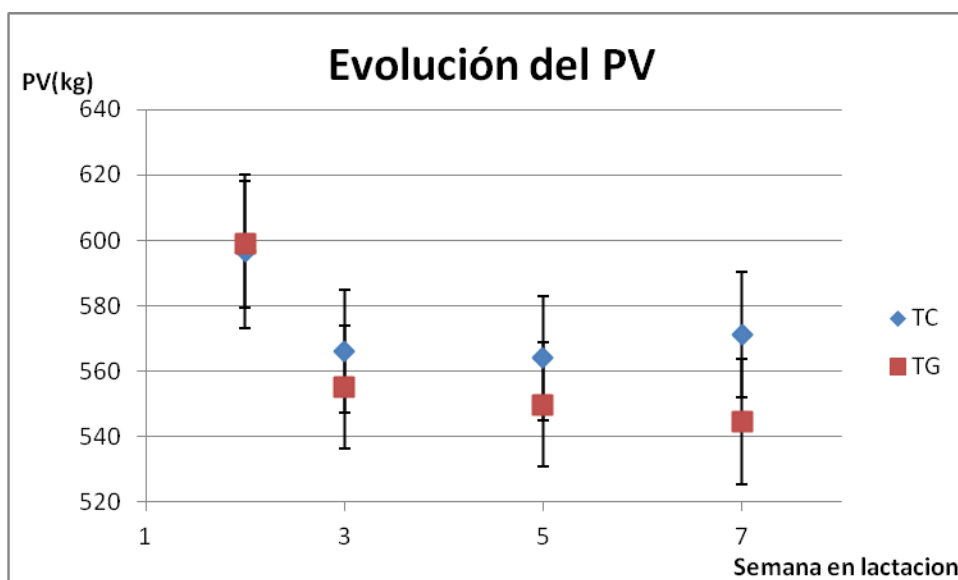


Figura N°6. Evolucion del peso vivo desde la segunda semana postparto hasta la septima semana postparto para los tratamientos TC y TG. En los dos tratamientos se observa una disminucion del peso vivo ($P=0.007$).

7. 3-Evaluacion de involución uterina y actividad cíclica:

En ambas evaluaciones se encontró que todas las vacas estaban clínicamente en estado de involución uterina (útero pélvico y sin contenido).

Las estructuras ováricas encontradas en ambas ecografías se presentan en el Cuadro N°9. La cantidad de vacas que calificaron como ciclando al segundo examen reproductivo fue significativamente mayor en el TG comparado con TC ($P < 0.05$).

Cuadro N°9: Número de vacas según su condición reproductiva al momento de cada evaluación.

	1° ECO (24 DPP)					2° ECO (41 DPP)				
	AP	AS	Ci	PU	PO	AP	AS	Ci	PU	PO
TC (n/total)	2/10	3/10	3/10	0/10	2/10	2/10	2/10	5/10 ^a	0/10	1/10
TG (n/total)	1/10	2/10	7/10	0/10	0/10	0/10	1/10	9/10 ^b	0/10	0/10

Tratamiento control (TC), Tratamiento Glicerol (TG), Anestro profundo (AP), Anestro superficial(AS), Ciclando (Ci), Patología uterina (PU), Patología ovárica (PO). (Spicer & Echterkamp, 1986; Martin et al., 1992; Wiltbank et al., 2002). Los literales en 2° ECO (41 DPP) denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

El estado de ciclicidad en ambos grupos no fue diferente en ninguna de las dos observaciones ($P > 0,05$).

8-DISCUSIÓN

Como indican los datos obtenidos de producción de leche no se observaron diferencias significativas comparando los dos tratamientos lo que concuerda con lo expuesto por otros autores DeFrain y col, (2004); Chung y col, (2007); Donkin y col, (2009); Wang y col, (2009); Carvalho y col, (2011); Harzia y col, (2013); Wilbert y col, (2013). Es importante recalcar que ninguno de estos autores realizo los experimentos con animales a pastoreo y también que a diferencia de este experimento ninguno sustituyo el 100% del maíz de la dieta por glicerol. DeFrain y col, (2004); Donkin y col, (2009) no usaron el glicerol como suplemento si no en sustitución de un % variable del maíz.

A su vez, dichos resultados contrastan con lo expuesto por Lomander y col, (2012) que reporto un aumento significativo en la producción de leche cuando suplemento animales a pastoreo con 450 g de glicerol líquido. Al igual que Bodarski y col, (2005) quien suplemento con glicerol a una dosis de 300 y 500 ml/día incrementando la producción de leche en 14.6 y 12.5 % respectivamente.

Esto podría ser explicado por la suplementación con concentrados energéticos como el glicerol que genera un cambio en las concentraciones de los distintos precursores, tanto lipogénicos como glucogénicos, el efecto propiogénico del glicerol deriva en un aumento en el volumen de leche producido a raíz de una mayor síntesis de glucosa este efecto propiogénico parece ser mayor que el del maíz. Pero por otro lado ocurre

un descenso en la síntesis de grasa a causa de una baja en la disponibilidad de precursores lipogénicos, más específicamente acético y butírico.

Cuando se realiza la evaluación de la leche corregida por grasa, con el fin de comparar con mayor precisión la producción entre los tratamientos, se ve que tampoco se generan diferencias significativas entre grupos, lo cual coincide con los resultados obtenidos por DeFrain y col, (2004); Chung y col, (2007); Donkin y col, (2009); Carvalho y col, (2011); Wilbert y col. (2013). Esos estudios tampoco coinciden con lo reportado por Lomander y col, (2012) quien indica que la producción de leche corregida por grasa puede aumentar debido a que lograría una mejora en el status metabólico.

En lo que respecta a composición láctea, la proteína (kg y %) tampoco fue significativa la diferencia entre grupos, lo cual concuerda con otros estudios DeFrain y col, (2004); Chung y col, (2007); Donkin y col, (2009); Carvalho y col, (2011) pero difiere con lo expuesto por Wilbert y col, (2013); Harzia y col, (2013); Bodarski y col, (2005) quienes encontraron un aumento en los niveles de proteína. El aumento en la proteína de la leche podría explicarse por una posible salida más rápida de proteína microbiana del rumen (Pathak, 2008), con su consiguiente aumento de la disponibilidad para la producción de aminoácidos, que puede ser convertida en proteína de la leche. Otra explicación es que debido a un aumento del propiónico, la neoglucogenesis a partir de aminoácidos disminuye. Esto determina que la captación de los mismos a nivel de la glándula mamaria sea mayor, y por ende se favorece la síntesis de proteínas lácteas (Rearte, 1992). Wang y col, (2009) encontró tendencias a la baja a medida que aumentaban los días en lactancia.

La producción de grasa (kg) no tuvo diferencias significativas, lo que concuerda con lo expuesto por DeFrain y col, (2004); Chung y col, (2007); Donkin y col, (2009); Carvalho y col, (2011); Wilbert y col, (2013); Harzia y col, (2013). Wang y col encontraron una tendencia ($P = 0.06$) a la baja. En lo que respecta al % de grasa se observó una diferencia significativa a la baja para el grupo con glicerol; si bien alguna bibliografía no destaca variaciones con respecto a este parámetro DeFrain y col, (2004); Chung y col, (2007); Donkin y col, (2009); Carvalho y col, (2011); Harzia y col, (2013); Wilbert y col, (2013), un estudio también encuentran tendencias a la baja (Chung, 2007) justificándolo por el aumento relativo de la lactosa que arrastraría más agua produciendo un efecto dilución. Éste no fue nuestro caso en que la producción de lactosa fue levemente mayor (NS) sin un efecto en los litros producidos.

La producción total y porcentual de lactosa no difirió significativamente entre tratamientos lo cual concuerda con varios estudios DeFrain y col, (2004); Chung y col, (2007); Donkin y col, (2009); Wang y col, (2009); Carvalho y col, (2011); Wilbert y col, (2013) pero difiere con lo expuesto por Harzia y col, (2013), esto es explicado por Rigout y col, (2003) el cual comenta que hay un aumento de glucosa circulante que

será tomada por la ubre para la síntesis de lactosa y proporcionar suficiente energía para la síntesis de grasa.

Por otra parte los resultados de nitrógeno ureico en leche fueron significativamente más bajos en las vacas alimentadas con glicerol; como en otros parámetros, esto concuerda con algunos trabajos DeFrain y col, (2004); Donkin y col, (2009), pero difiere con los reportes de Chung y col, (2007); Carvalho y col. (2011); Harzia y col, (2013) donde los valores no fueron significativos. Se aclara que en estos experimentos la manera de administrar el glicerol fue como suplemento y no en sustitución del maíz.

La disminución del nitrógeno ureico sugiere una mayor eficiencia en el uso del nitrógeno; de todas maneras deberá atribuirse al metabolismo post-ruminal ya que el glicerol no aumenta la cantidad de proteína microbiana (Kijora y col, 1998 citado por Donkin y col, 2009).

Para PV y CC no hubo diferencias significativas en coincidencia con lo expuesto por Chung y col, (2007); Carvalho y col, (2011). Otros trabajos usando niveles crecientes en el % de glicerol consiguen aumentos en el PV (Bodarski y col, 2005; Donkin y col, 2009), pero en nuestro trabajo con niveles constantes de glicerol y equivalentes al aporte energético del maíz del grupo control no modifica éstos parámetros. Es probable que la calidad genética del modelo lechero animal utilizado en los diversos trabajos tenga un rol importante, donde la mejor genética lechera respondería con más producción antes de dirigir energía a reservas corporales.

En las variables reproductivas no se observaron diferencias significativas entre tratamientos a excepción de las vacas ciclando al segundo examen reproductivo. Aunque una de las variables fue significativamente diferente entre tratamientos, es claro que el número de animales para el registro de variables categóricas debe ser mayor al utilizado en este ensayo. Es posible especular que la sustitución del maíz por glicerol en el alimento, con un balance igual en energía, no se debería esperar grandes diferencias tal como se observó en las variables productivas. Hay referencias que permiten afirmar que el glicerol por su poder neoglucogénico estimularía el incremento de insulina circulante que podría tener un impacto favorable sobre la reproducción (Ortega, 2010), en las que suministro de glicerol durante los primeros seis días posteriores a la inseminación aumentó el porcentaje de concepción.

9-CONCLUSIONES

Se confirma la hipótesis de que es posible utilizar glicerol como una alternativa energética en sustitución de maíz para la alimentación de vacas lecheras, sin alterar el comportamiento productivo y reproductivo.

Se puede asegurar que en el período evaluado, la sustitución del maíz por glicerol no generó diferencias en la producción (litros totales, grasa, proteína, y lactosa) y no

afectó el PV ni la CC. Si bien no aumentó la producción, tampoco hubo una depresión de la misma, lo cual es importante porque el glicerol podría ser utilizado para alimentación de vacas lecheras en lactancia temprana manteniendo las expectativas productivas.

Los resultados reproductivos podrían favorecerse incluyendo glicerol, aunque sería indicado repetir el experimento con un suficiente número de animales para fortalecer el valor estadístico.

10-BIBLIOGRAFÍA

1. Acosta YM, Delucchi MI. (2002). Determinación de urea en leche. INIA. Documentos Online - N°: 053 - 1.6.2002. Disponible en : [http://www.inia.uy/Paginas/SearchResults.aspx#Default={\"k\": \"resultblocksena bled Determinación de urea en leche\"}](http://www.inia.uy/Paginas/SearchResults.aspx#Default={\). Fecha de consulta: 6/10/2015.
2. Adrien I, Meikle A, Soca P, Mattiauda D, Chilibroste P, 2008. Sward allowance at early lactation of primiparous dairy cows: iv body condition score and reproductive parameters. In: xxi international grassland congress (2008), multifunctional grassland in a changing world Beijing Japon. Disponible en: <http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2009/20093262149.pdf>. Fecha de consulta: 6/10/2015.
3. Adrien ML, Mattiauda DA, Artegoitia V, Carriquiry M, Motta G, Bentancur O, Meikle A.(2012). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal* ,6(2): 292-9.
4. Artegoitia V, Meikle A, Olazábal L, Damián JP, Adrien ML, Mattiauda D, Bermudez J, Torre A, Carriquiry M. (2012). Caseins and fatty acid fractions in milk are affected by parity and nutritional regulated body condition store at the beginning of the transition period in dairy cows under grazing conditions. *Spermoiva* 2013; 3(2): 150 – 153.
5. Artur GH, Noakes DE, Pearson H, Parkinson TJ, (1996): *Veterinary Reproduction and Obtetrics*. W.B.Saunders Company Ltd. Pp. 389-396.
6. Astessiano AL, Chilibroste P, Fajardo M, Laporta J, Gil J, Mattiauda D, Meikle A, Carriquiry M.(2012). Hepatic expression of GH-IGF axis genes in Holstein cows with different nutritional managements during early lactation. Joint Annual Meeting.
7. Bauman DE, Currie WB. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci* 63:1514-1529.

8. Bauman DE, Mather IH, Wall RJ, Lock AL. (2006). Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J. Dairy Sci.* 89:1235–1243
9. Beam SW, Butler WR. (1999). Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reproduction Fertility Supplement* 54: 411-424.
10. Blowey RW. (2005). Factors associated with lameness in dairy cattle. *Farm Animal Practice*, 27: 154 -162
11. Bodarski R, Wertelecki T, Bommer F, Gosiewski S. (2005). The changes of metabolic status and lactation performance in Dairy Cows under feeding TMR with glycerin (glycerol) supplement at periparturient period. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Animal Husbandry*.8: 1-9.
12. Broster WH, Sudan H. (1979). Estrategias de alimentación para vacas lecheras de alta producción. Mexico, Ed. AGT, 813 p.
13. Butler W, Everett R, Coppock C. (1981). The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci* 53-3:742-748.
14. Calsamiglia S. (2005). Nuevos avances en el manejo y alimentación de la vaca durante el parto. XVI Curso de Especialización FEDNA. Universidad Autónoma de Barcelona. Disponible en: <http://www.fvet.edu.uy/sites/default/files/bovinos/Lectura%20alimentacion%20de%20la%20vaca%20en%20parto%20Calsamiglia,2000%20bovinos%20OPA.pdf>. Fecha de consulta: 27/10/2015.
15. Carvalho E. R., Schmelz-Roberts N. S, White H. M, Doane P. H, Donkin S. S.(2011) Replacing corn with glycerol in diets for transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94: 908–916.
16. Chilibroste P, Mattiauda D, Soca P, Bentancour O, Meikle A.(2012). Effect of herbage allowance on grazing behaviour and productive performance of early lactation primiparous Holstein cows. *Animal Feeding Science and Technology*. 173: 201–209.
17. Chilibroste P, Soca P, Mattiauda D.(2012). Estrategias de alimentación en Sistemas de Producción de Leche de base pastoril. Pasturas-Hacia una ganadería competitiva y sustentable-Jornada técnica-Unidad Integrada Balcarce-INTA-Balcarce-Argentina- .91-100 p.
18. Chilibroste, P., Meikle, A., Mattiauda, D.A., Bentancur, O. y Soca, P. (2010). The American Holstein Dairy Cow During Early Lactation: Grazer or Browser? In: An overview of research and pastoral-based system in the Southern part of South America. Ed. Machado, C., Wade, M. Carneiro Da Silva, S., Agnusdei, M., De Faccio Carvalho, P., Morris, S. and Beskow, W. First Edition. Tandil: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, 2010. 154-167 p.

19. Chung YH, Rico DE, Martinez CM, Cassidy TW, Noirot V, Ames A, Varga GA. (2007). Effects of feeding dry glycerin to early postpartum Holstein dairy cows on lactational performance and metabolic profiles. *J Dairy Sci* 90: 5682-5691.
20. Combs D, Wattiaux M. (2000). *Formulación de dietas para ganado lechero; con énfasis en pastoreo.* (en línea).s.l., Departamento de Ciencia Lechera. Disponible en: http://www.babcock.wisc.edu/downloads/wde/form_diets.es.pdf. Fecha de consulta: 26/10/2015.
21. DeFrain JM, Hippen AR, Kalscheur KF, Jardon PW. (2004). Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance *J Dairy Sci* 87: 4195-4206.
22. Delahoy JE, Muller LD, Bargof F, Cassidy TW, Holden LA .(2003). Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.* 86: 906-915.
23. Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, Keisler DH, Gertler A, Kann G. (2000). Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J Endocrinol* 165: 519–526.
24. DIEA Anuario (2014) Disponible en :<http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2014,O,es,0,>. Fecha de consulta 23/6/2015.
25. Dixon RM, Stockdale CR. (1999). Associative effects between forages and granis: consequences for feed utilization. *Aust. J. Agric. Res.* 50: 757-773.
26. Dobson H, Walker S, Morris M, Routly J, Smith R. (2007). The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reprod. Domest. Anim.* 42: 17–23.
27. Donkin S, Doane P. (2007). Glicerol as a feed ingredient in dairy rations. Tri-state dairy nutrition conference Indiana, USA, 97-103 p.
28. Donkin SS, Koser SL, White HM, Doane PH, Cecava MJ. (2009). Feeding value of glycerol as a replacement for corn grain in rations fed to lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 92: 5111-5119.
29. Drackley JK. (2007). Opportunities for Glycerol Use in Dairy Diets. Department of Animal Sciences University of Illinois at Urbana-Champaign. Disponible en : <http://livestocktrail.illinois.edu/uploads/dairynet/papers/2007%20dd%20Glycerin.pdf>: Fecha de consulta: 20/10/2015.
30. Durán H. (2008). Rotaciones forrajeras para producción de leche. Como incrementar la producción de leche en invierno. INIA La Estanzuela, Uruguay. Serie Actividades de difusión N° 529: 5-8.

31. Edmonson A.J, Lean I.J, Weaver L.D, Farver V, Webster G. (1989). A body condition scoring chart for holstein dairy cows, *J. Dairy Sci.* 72: 68-78.
32. Ferraro SM, Mendoza GD, Miranda LA, Gutiérrez CG. (2009). In vitro gas production and ruminal fermentation of glycerol, propylene glycol and molasses. *Animal Feed Science and Technology.* 154: 112–118.
33. Fisher LJ, Erfle JD, Lodge G, Sauer FD. (1973). Effects of propylene glycol as glycerol supplementation of the diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketosis. *Canadian Journal of Animal Science.* 53 (2): 289-296.
34. Garmedia J .(2005). Suplementación estratégica de vacas de doble propósito alrededor del parto. IX Seminario de Pastos y Forrajes. Facultad de Ciencias veterinarias, UCV, Maracay. Venezuela. Disponible en http://www.avpa.ula.ve/eventos/ix_seminario_pastosyforraje/Conferencias/C8-JulioGarmedia.pdf. Fecha de consulta: 27/10/2015.
35. Goff JP, Horst RL. (2001). Oral glycerol as an aid in the treatment of ketosis/fatty liver complex. *J. Dairy Sci.* 84: 153.
36. Grant RJ, Albright JL. (2001). Effect of Animal Grouping on Feeding Behavior and Intake of Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 84: 156-163.
37. Grummer RR. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J Anim Sci.* 73: 2820-2833.
38. Harzia, Kilk K, Ariko T, Kass M, Soomets U, Kaartl JT (2013). Crude glycerol as glycogenic precursor in feed; effects on milk coagulation properties and metabolic profiles of dairy cows . *Journal of Dairy Research* 80: 190–196.
39. Hippen R, Jeffrey M, DeFrain, Peter L. Linke Dairy Science Department, South Dakota State University Zinpro Performance Minerals. Glycerol and Other Energy Sources for Metabolism and Production of Transition Dairy Cows. January 29-30, (2008) • Florida Ruminant Nutrition Symposium. Disponible en : <http://dairy.ifas.ufl.edu/rns/2008/Hippen.pdf>, Fecha de consulta 02/09/2015.
40. Iriñiz J, Elias A, Galindo J, Rodríguez D, Michelena JB, Chilbroste P. 2015. Efecto del NUTRIBIOL GL en el comportamiento productivo de terneras sobre campo natural en invierno. Disponible en: http://www.alur.com.uy/articulos/2012/afiche-7_jornada-alpa-25-10-11.pd. Fecha de consulta 29/6/2015.
41. Khalill H, Varvikko T, Toivonen V (1997). The effects of added glycerol or unprotected free fatty acids or a combination of the two on silage intake, milk production, rumen fermentation and diet digestibility in cows given grass silage based diets. *Agricultural Food Science in Finland*, 6: 349-362.
42. Lange A. (1980). Suplementación de pasturas para la producción de carnes. AACREA, Colección Investigación Aplicada. 74 p.

43. Langer RH. (1970). Las pasturas y sus plantas. Hemisferio sur. Nueva Zelanda. 214 p.
44. Lawlor TJ, Misztal I, Tsuruta S, Huang C. (2006). Breeding Holsteins for different environments. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. August. Belo Horizonte, Brazil. Lucy MCJ. Dairy, S. C. I. 84: 1277.
45. LeBlanc SJ, Duffield TF, K.E. Leslie, K.G. Bateman, G.P. Keefe, J.S. Walton, W.H. Johnson, (2002). Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. J. Dairy Sci, 85:9, 2223–2236.
46. Lomander H, Frössling J, Ingvarsen KL, Gustafsson H, Svensson C. (2012). Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation—Effects on metabolic status, body condition, and milk yield. J. Dairy Sci. 95: 2397–2408.
47. Long FG, Neumann M, Schaffner AE, Torterolo JP. (2004). Efecto del nivel de inclusión de brote de malta en dietas basadas en pastoreo y suplementación energética, sobre la producción y composición de la leche de vacas holando en inicio de lactancia. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 137p.
48. Lounglawan P, Lounglawan W, Wisitiporn S. (2011). Effects of feeding glycerol to lactating dairy cows on milk production and composition. World Academy of Science, Engineering and Technology. 80: 481-483.
49. Martin, L.C.; Brfnkst, J.S.; Bourdont, R.M. (1992). Genetic effects on heifer puberty and subsequent reproduction. Journal of Animal Science. 70: 4006-4017.
50. Meikle A, Adrien ML, Mattiauda DA, Chilbroste P. (2012). Effect of sward condition on metabolic endocrinology during the early postpartum period in primiparous grazing dairy cows and its association with productive and reproductive performance. Animal Feeding Science and Technology. 186: 139–147
51. Meikle A, Cavestany D, Ferraris A, Blanc EJ, Elizondo F, Chilbroste P. (2005). Efecto del manejo de la alimentación durante el período de transición sobre la primera ovulación posparto en vacas primíparas y multíparas. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, 226-227 p.
52. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilbroste P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. Reproduction. 127: 727-737.
53. Mieres, J. M., Assandri, L., Cúneo, M. (2004). Tablas de valor nutritivo de alimentos. Guía para alimentación de rumiantes. INIA La Estanzuela. Serie técnica N° 142: 13-66.

54. Ogborn KL. (2006). Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of Dairy Cows during the transition period. Thesis Degree of Master of Science. New York City, USA. Cornell University.90 p.
55. Ortega. (2010). La administración oral de glicerol después de la inseminación incrementa el porcentaje de concepción en vacas Holstein Tec Pecu Mex: 48: 69-74.
56. Osman MA, Allen PS, Mehya NA, Bobe G, Coetzee JF, Koehler KJ, Beitz DC. (2008). Acute metabolic responses of postpartal dairy cows to subcutaneous glucagon injections, oral glycerol or both. J. Dairy Sci.91: 3311–3322.
57. Pathak AK. (2008). Various factors affecting microbial protein synthesis in the rumen. Veterinary World 1: 186–189.
58. Rearte DH. (1992). Alimentación y composición de la leche en los sistemas pastoriles. Balcarce, Cerbas/INTA.94 p.
59. Rémond B, Cisse M, Ollier A, Chilliard Y. (1991). Slow release somatotropin in dairy heifers and cows fed two levels of energy concentrate. J Dairy Sci 74: 1370–1381.
60. Rigout S, Hurtaud C, Lemosquet S, Bach A, Rulquin H .(2003).Lactationaleffect of propionic acid and duodenal glucose in cows. Journal of Dairy Science 86: 243–253.
61. Rovere, G (2006) Mejoramiento Genético: ¿qué debemos empezar a desarrollar hoy para dar respuestas en el mediano plazo? Revista El Tambo Nº 156. Octubre 2006.43 a 45 p.
62. Royal MD, Flint APF, Woolliams JA. (2002). Genetic and phenotypic relationships among endocrine and traditional fertility traits and production traits in Holstein-Friesian dairy cows. J Dairy Sci 85: 958–967.
63. Santos. 2007. Factores nutricionales que afectan la reproducción en ganado lechero, Universidad de California, Tulare, USA. VII Simposio internacional de reproducción animal. Disponible en http://www.iracbiogen.com.ar/admin/biblioteca/documentos/resumen_simposio_2007.pdf. Fecha de consulta 25/3/2015.
64. Schröder A, Südekum KH. (1999). Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. In: New Horizons for an Old Crop (1999, Camberra, Australia).92 (2): 698–707.
65. Silva, Lopes E, Andrade EF, Sousa RV, Zangeronimo MG, Pereira LJ. (2014). Use of biodiesel co-products (Glycerol) as alternative sources of energy in animal nutrition: a systematic review.Arch/Med/Vet 46: 111-120.
66. Spicer, L.J.; Echterkamp, S.E. (1986) Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: a review. Journal of Animal Science, 62: 428-451.

67. Tamminga S, Luteijn PA, Meijer RGM. (1997). Changes in composition and energy content of live weight loss in dairy cows with time after parturition. *Livest Prod Sci* 52: 31-38.
68. Thompson JC, He BB. (2006). Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. *Appl.Eng. Agric.* 22:261–265.
69. Vicente G, Melero JA, Morales G, Paniagua M, Martín E. (2010). Acetalisation of bio-glycerol with acetone to produce solketalover sulfonic mesostructured silicas. *Green Chem* 12: 899-907.
70. Vispo PE, Prieto PN, Stahringer RC. (2014). Involución uterina en vacas primíparas con suplementación de glicerol en una ración conteniendo pulpa de citrus. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/involucion-uterina-y-actividad-ovarica-postarto-en-vacas-primiparas-suplementadas-con-glicerol-en-una-ration-conteniendo-pulpa-de-citrus>. Fecha de consulta 20/12/2015 INTA Provincia del Chaco Argentina.
71. Wang C, Liu Q, Yang WZ, Huo WJ, Dong KH, Huang YX, Yang XM, He DC. (2009). Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*.151: 12-20.
72. Wilbert CA, Prates ÊR, Barcellos JO, Schafhäuser J. (2013). Crude glycerin as an alternative energy feedstuff for dairy Cows. *Animal Feed Science and Technology*183:116– 123.
73. Wiltbank, M.C.; Gtimen, A.; Sartori, R. (2002) Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. 57: 21-52.
74. Youngquist. RS, Dalm Shore M. (1997). Postpartum Uterine Infections. En: *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. Saunders Company Lte. Ed 1 : 335-339