

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**¿QUÉ RESULTADOS PRODUCTIVOS Y REPRODUCTIVOS SE ESPERAN DE
DOS ESTRATEGIAS ALIMENTARIAS EN LACTANCIA TEMPRANA DE VACAS
PRIMÍPARAS HOLANDO?**

Por

Eduardo Daniel DALMAO FAGUNDEZ

Gerard Gabriel OBERTI MASSA

Pablo Andrés PARODI THEXEIRA

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requerimientos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias (Orientación
Producción Animal).
MODALIDAD Ensayo Experimental.

MONTEVIDEO

URUGUAY

2016

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de Mesa:

Dra. Lourdes Adrien

Segundo Miembro (Tutor):

Dr. Jorge Gil

Tercer Miembro:

Dr. Eduardo Blanc

Co-tutor:

Ing. Agr. Mateo Ceriani

Fecha:

15/11/2016

Autores:

Eduardo Daniel Dalmao Fagúndez

Gerard Gabriel Oberti Massa

Pablo Andrés Parodi Thexeira

DEDICATORIA

Al finalizar esta etapa tan importante para nuestras vidas se nos hace necesario agradecer a las personas que nos han acompañado durante todo el proceso de formación, tanto a nivel personal como profesional. Apoyándonos en estos años de tanto sacrificio. Dedicamos a nuestros padres, hermanos y amigos, este trabajo y toda nuestra carrera. También damos gracias a todas las personas que nos han ayudado.

Estamos orgullosos de tener una familia la cual siempre nos alentaron a seguir, en nuestros momentos de caída siempre nos dieron esa fuerza para levantarnos. También a nuestra familia de la vida que son nuestros amigos, ellos siempre estaban para mandarnos buena onda y aliento para continuar. Hoy por hoy, podemos decir que estamos llegando a una primera meta profesional gracias a ellos.

A nuestros tutores, Jorge Gil (Jujo), Mateo Ceriani, por su gran apoyo, motivación para la elaboración de este trabajo.

Por último a profesores que colaboraron en nuestra tesis y apostaron a nuestro crecimiento como futuros profesionales.

AGRADECIMIENTOS

- A nuestros compañeros de trabajo de campo de este ensayo: Mateo Ceriani además de ser nuestro co-tutor y Alejandra Jasinsky por la confianza y el trabajo en equipo.
- Al Dr. Jorge Gil, por aceptar ser nuestro tutor y guiarnos en este trabajo.
- Al Ing. Agr. Pablo Chilibroste por ayudarnos con la estadística de este ensayo.
- A nuestra profesora Dra. Lourdes Adrien por brindarnos información valiosa.
- Al Ing. Agr. Diego Mattiauda por su colaboración.
- A funcionarios de la Estación Experimental Mario Cassinoni (EEMAC), especialmente a la sección tambo.
- A Luis Galetto, Martin González y Nelson Méndez, que fueron piezas claves para lograr este trabajo.
- A las Ings. Agrs. Ana Laura Astessiano y Mariana Carriquiry, por ayudarnos con los análisis de laboratorio.
- Al Dr. Marcelo Lust por los valiosos cálculos de resultados económicos.
- A Elena Casella por ayudarnos con la traducción a inglés.

Tabla de contenido

DEDICATORIA.....	3
AGRADECIMIENTOS	4
ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.	7
1. RESUMEN	8
2. SUMMARY	9
3. INTRODUCCIÓN	10
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
4.1. Estructura del rodeo lechero: características, importancia y cifras.	11
4.2 Vaca promedio del Uruguay.	12
4.3 Desempeño productivo y reproductivo de la vaca lechera actual.	12
4.4 Periodo de transición: Caracterización endócrina y metabólica de la vaca.....	14
4.5 Condición corporal.	14
4.6 Efecto de la alimentación sobre la composición de la leche.	15
4.7 Utilización de las sales aniónicas.	16
4.8 Suplementación de pastura con una DTM.	16
4.9 Efecto de los metabolitos sobre el eje reproductivo en el parto.	17
4.9.1 Leptina y su importancia.	18
4.10 Categoría animal.....	19
4.11 Manejo reproductivo y sincronización de celo.	19
4.11.1 Uso de progestágenos.	20
4.11.2 Empleo del estradiol.....	20
4.11.3 Aplicaciones de prostaglandinas.	21
4.11.4 Usos de Gonadotrofina coriónica equina (eCG).	21
5. HIPÓTESIS	22
6. OBJETIVOS	22
6.1 Objetivos Generales.....	22
6.2 Objetivos Particulares.	22
7. MATERIALES Y MÉTODOS	22
7.1 Ubicación y periodo experimental.	22
7.2 Animales.	23
7.3 Manejo de los animales en el parto.....	23

7.4 Asignación a los tratamientos.....	23
7.5 Tratamientos posparto.	24
7.6 Variables productivas registradas.	25
7.6.1 Evaluación del peso vivo y condición corporal.....	25
7.6.2 Consumo de alimento.	25
7.6.3 Producción y composición de leche.	25
7.6.4 Costos y margen de alimentación.	26
7.7 Variables reproductivas.....	26
7.8 Monitoreo de hormonas metabólicas.....	28
7.9 Análisis estadístico.....	28
8. RESULTADOS.....	29
8.1 Peso vivo durante el ensayo.	29
8.2 Condición corporal durante el ensayo.	29
8.3 Consumo de alimento promedio durante el posparto.	30
8.4 Producción de leche.....	31
8.5 Composición de leche.	32
8.6 Costo y margen de alimentación.	33
8.7 Variables reproductivas.....	33
8.8 Monitoreo de hormonas metabólicas.....	35
8.8.1 Insulina.....	35
8.8.2 Leptina.	36
9. DISCUSION	38
10. CONCLUSIONES.....	41
11. BIBLIOGRAFIA	42

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.

Cuadro I: Formulación dieta preparto.	23
Cuadro II: Formulación dieta posparto.	24
Cuadro III: Parámetros para evaluar el grado del tracto reproductivo posparto.	27
Cuadro IV: Consumo de alimento.....	30
Cuadro V. Composición promedio de leche (Grasa-Proteína-Lactosa).	32
Cuadro VI: Costo y margen de alimentación.	33
Cuadro VII. Porcentaje de ciclicidad confirmada por presencia de cuerpo lúteo y comportamiento estral.	35
Cuadro VIII. Resultados reproductivos.	35
Figura 1: Diagrama del ensayo.	25
Figura 2: Protocolo de sincronización de celo.	27
Figura 3: Evolución de peso vivo promedio.	29
Figura 4: Evolución de la condición corporal promedio.....	30
Figura 5. Producción promedio de leche.	31
Figura 6: Concentración de proteína (Pr), grasa (Gr) y lactosa (Lc)	32
Figura 7. Escore del tracto reproductivo.	34
Figura 8: Evolución de los niveles promedio de insulina.....	36
Figura 9: Dinámica de Leptina sérica posparto.....	37

1. RESUMEN

Se evaluó el efecto de dos estrategias de alimentación combinando el recurso pastura con dietas parcialmente mezclada (DPM + P, T1) o con una dieta totalmente 222mezclada (DTM, T2). Se utilizaron 18 vacas primíparas Holando durante 70 días posparto (DPP), en dos bloques según fecha de parto, peso vivo (PV) y condición corporal (CC). El ensayo tuvo un diseño de bloques completo al azar con dos tratamientos. Se midió la producción y composición de leche, la evolución de la CC y PV. Los animales del T1 (n=10) pastorearon una sesión diaria (7:30 a 13:30) en una pradera de segundo año (*Medicago sativa*), con una disponibilidad de forraje de 600 Kg MS/ha, medido por encima de 4 cm del suelo, para cubrir el 30% de los requerimientos de energía neta de lactación (ENL; NRC, 2001). Luego del ordeño de la tarde se ofreció la DPM para complementar el aporte de nutrientes y energía de las pasturas utilizando forrajes conservados (henilajes y/o ensilajes) y mezcla de alimentos concentrados. El T2 (n=8) tuvo acceso a una DTM *ad libitum* durante todo el día, renovando la mezcla luego del ordeño (8:00 AM). Ambas dietas ofertadas (T1 y T2) se ajustaron semanalmente en base al consumo individual, calculado por la diferencia (alimento ofrecido menos rechazado), para permitir un 10-15% remanente, y cubrir los requerimientos de nutrientes de mantenimiento y lactación (40Kg de leche al pico de producción) en una relación de ensilaje: concentrado de 40:60 (ENL; NRC, 2001). Se evaluaron el peso vivo (PV), la condición corporal (CC), consumo de alimento, producción (L) y composición de leche (grasa, proteína, lactosa), costo y margen de alimentación (U\$S/L), parámetros reproductivos (escore reproductivo posparto, ciclicidad ovárica, respuesta a la sincronización, preñez), y hormonas metabólicas (insulina, leptina). Luego de la primera semana posparto ambos tratamientos sufrieron pérdidas de CC y PV, el T2 en menor medida. La producción y composición de leche no fue afectada ($p>0,05$) según los tratamientos, aunque el T2 produjo más leche en promedio (T2 27,17L vs T1 25,97L; NS). Los resultados reproductivos no difirieron entre tratamientos posiblemente debido al número de animales involucrados; la manifestación de celos al protocolo de sincronización mostró 63% (5/8) de celos en el T2 vs 80% (8/10) en el T1. Concluimos que el uso de DTM minimiza la pérdida de PV y CC, y mejora el consumo de materia seca (CMS). El costo y margen de alimentación confirman que sigue siendo económicamente rentable la producción de leche en base a pasturas. Los sistemas de alimentación mixtos tipo DPM + P permitirían afrontar de mejor forma situaciones críticas como lo son las crisis forrajeras o el aumento de costos de insumos para la elaboración de las DTM. La decisión para implementar estas estrategias de alimentación va a depender de cada sistema productivo.

2. SUMMARY

The effect of two feeding strategies was evaluated combining the partially mixed pasture diet (DPM + P, T1) or total mixed diet (TMD T2). Eighteen primiparous Holstein cows were used for 70 days postpartum (DPP) in two blocks according to delivering date, live weight (LW) and body condition score (BC). Under a complete block design at random with two treatments. Milk yield and composition, the evolution of BC and LW were assessed. The T1 (n = 10) grazed a daily session (7:30 to 13:30) in a second-year meadow (*Medicago sativa*), with a forage availability of 600 Kg dry matter (DM)/ ha, 4 cm above the ground, covering 30% of the requirements of net lactation energy (ENL; NRC, 2001). After the afternoon milking, the DPM was offered to accomplish the supply of nutrients and energy of pastures using conserved forages (hay and/or silage) and mix of concentrated foodstuff. The T2 (n = 8) had access to a DTM *ad libitum* throughout the day, renewing the mixture after milking (8:00 AM). Both diets offered (T1 and T2) were adjusted weekly based on the individual consumption, calculated by the difference (offered minus refused food) to allow 10-15% remnant, so to meet the nutrient requirements for maintenance and lactation (40 Kg of milk production peak) in a silage:concentrate ratio of 40:60 (ENL; NRC, 2001). We assessed the following parameters: LW; BC; foodstuff consumption, milk yield and composition (fat, protein, lactose), costs and margin of food (U\$S/L), reproductive parameters (reproductive tract score, ovarian cyclicity, estrus behavior after synchronization, and pregnancy), and metabolic hormones (insulin and leptin). After the first week postpartum, both treatments drop LW and BC, T2 lesser than T1. Milk yield and composition did not differ ($p>0.05$), T2 produced more in average than T1 (27,17L vs 25,97L, NS). Reproductive performance did not differ between treatments probably due to the limited number of animals used; estrus behavior after a synchronizing protocol was 62 % (5/8) in T2 vs 80 % (8/10) in T1. It was possible to conclude that DTM minimize LW and, BC and improves DM consumption. Costs and margin of alimentation confirm the profitability of pasture based milk production. Combined productive systems might allow adaptations according to different situations about forage availability and concentrate stuff costs. The decision to implement these feeding strategies will depend on each production system.

3. INTRODUCCIÓN

Los sistemas lecheros en Uruguay presentan diversos desafíos en torno al sistema de producción pastoril. En la dimensión del sistema, la producción de materia seca (MS) no siempre coincide con la época de mayor demanda, exigiendo la utilización de tecnologías como el uso de reservas y concentrados. En la escala individual de la vaca, también hay un desfase entre los requerimientos y lo que el animal puede consumir, aunque los requerimientos sean cubiertos con la MS ofrecida; el animal debe adaptar cambios bruscos en la demanda a un ritmo diferente de su capacidad de adaptación a tales dietas (Chilibroste y Battezzore, 2014).

La suplementación de animales en pastoreo con dieta parcialmente mezclada (DPM) era una alternativa poco utilizada hasta el momento, pero en los últimos años hubo un creciente interés en el estudio de esta combinación de sistemas de alimentación. La suplementación de pasturas con DPM podría ayudar a tener buenos niveles de producción de leche y sólidos (García y Fulkerson, 2005), capitalizando los beneficios de una ración formulada y manteniendo las ventajas de la alimentación pastoril en cuanto a costos de producción (Wales et al., 2013) y calidad del producto final (Morales et al., 2010). Este sistema de alimentación combinando pasturas y DPM ya se observa en muchos establecimientos lecheros de la región. Por otro lado; los sistemas de alimentación que utilizan dieta totalmente mezclada (DTM) ofrecen la posibilidad de suministrar los alimentos en forma conjunta aportando un adecuado balance de nutrientes si esta es formulada con precisión (Bargo et al., 2002).

Con el uso de las DTM y DPM se podría tener un correcto manejo nutricional y conseguir mayor control y registro en cuanto al consumo individual y energía que aportan las dietas, para enfrentar de mejor forma los desafíos metabólicos que pasara el animal al parto.

Por razones fisiológicas, desde 20 días antes del parto hasta 20 luego del mismo, las vacas lecheras entran en un periodo de balance energético negativo (BEN), esto se debe a que al alto requerimiento para el desarrollo fetal se le suma un limitado consumo de alimento; y luego del parto la cantidad de energía requerida para la producción de leche excede la que la vaca puede consumir mientras no adapta su sistema digestivo a altas tasas de consumo de alimento (Meikle et al., 2004). El consumo de MS ha sido identificado como la principal limitante en la producción de leche de vacas de alta producción en sistemas pastoriles llegando en condiciones óptimas a consumos de 3,25 a 3,5 % del peso vivo (Kolver y Muller, 1998, Bargo et al., 2002). Esto es debido a restricciones de tipo físicas (digestión y pasaje de material por el tracto digestivo), por limitación de tiempo (para actividades de búsqueda, cosecha y rumia del forraje ingerido), y por la alta cantidad de agua ingerida junto a la pastura (Dillon, 2006 b).

En cuanto a la disminución del consumo de materia seca (CMS), se sabe que inicia tres semanas preparto y se hace muy evidente en la semana previa al parto en la

que la ingestión puede reducirse hasta un 30%. Una de las principales razones es que el útero grávido desplaza cranealmente al rumen disminuyendo su capacidad, luego del parto toma tiempo restablecer dicha función, impidiendo que los nutrientes provenientes del sistema digestivo sean acordes con los requerimientos. Esto origina una dependencia de las reservas corporales alcanzadas al parto, y del manejo alimentario en el posparto (Vazquez-Añón et al., 1994), provocando el BEN.

Este desbalance energético también predispone a patologías en el periodo de transición como el síndrome de vaca caída, retención de placenta, distocia, celos silentes, quistes ováricos, piómetra, infertilidad y metritis- endometritis entre otros (Gröhn y Rajala-Schultz, 2000). En cuanto a lo reproductivo, el anestro posparto también depende del balance energético (Lucy, 2001), principalmente en la vaca primípara como categoría más susceptible (Meikle et al, 2004).

La alimentación de una vaca lechera en periodo preparto y lactación juegan un papel importante en el futuro resultado productivo y reproductivo. La mayoría de los sistemas productivos del Uruguay son extensivos donde la base de la alimentación es dada por pastoreos, se hace difícil predecir la disponibilidad de nutrientes y consumo del mismo. En estas condiciones, los desplazamientos a la parcela de pastoreo implican gasto energético extra, proporcional a la distancia y características del camino a recorrer (barro, pendientes, etc.). Por otro lado, en sistemas intensivos -estabulados- la base de alimentación son los concentrados, el manejo de nutrientes y calidad del alimento pueden ser controladas y predecibles. Aun así, las pasturas siguen siendo el recurso más económico, y valorizan el estudio de combinación de estrategias para mejorar el beneficio productivo y reproductivo cuando se aplican solas o combinadas con sesiones de pastoreo.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. Estructura del rodeo lechero: características, importancia y cifras.

El año 2014 culminó con una producción láctea total de 2240 millones de litros. El ejercicio muestra un descenso en el número de productores lecheros que declaran tener actividad, tal como ocurrió en los últimos tres años consecutivos. Tomando de referencia el año 2013, se declararon 4439 establecimientos lecheros y en el año 2014 descendió a 4341. El área total manejada descendió un 2% en el mismo período, de 811 a 795 mil hectáreas, de las cuales un 58% fueron pasturas mejoradas. El volumen de leche cayó 100 millones de litros respecto al año 2013, aparentemente desestimulado por cambios en el precio de la leche (DIEA, 2015).

La composición del rodeo lechero (DIEA, 2015) indica que hay 772 mil cabezas de ganado lechero, con 424 mil vaca masa, de las cuales 297 mil son vacas en ordeño y 127 mil vacas secas, dando un 70% VO/VM.

A partir de datos de DIEA, 2016, hasta el año 2014 se ordeñó un rodeo promedio de 74 vacas en 198 hectáreas, lo que indica una disminución en la carga comparando con el ejercicio 2012-2013 en el cual se manejaban 78 vacas en 182 hectáreas. Los indicadores de productividad muestran que se producen 446 litros por ha, 20,6 litros por día por vaca en ordeño, 5285 por vaca masa (litros/año), y una relación vaca seca / vaca en ordeño de 0,43.

La producción de leche está basada en el uso intensivo de las pasturas con suplementaciones estratégicas de concentrados y el uso de ensilados. Actualmente, cerca del 58% (DIEA, 2016) de la superficie dedicada a la lechería cuenta con pasturas mejoradas. Esto permite obtener costos medios de producción por litro de leche. La producción se realiza en grandes espacios abiertos y en equilibrio con el ambiente. Está prohibido el uso de hormonas o cualquier otro tipo de promotores, lo que permite asegurar el carácter natural del producto obtenido.

4.2 Vaca promedio del Uruguay.

Cuando hablamos de “vaca promedio” no es la “mejor vaca” de los rodeos del Uruguay, tampoco la más frecuente, sino que es el resultado estadístico de un animal medio encontrado en el rodeo lechero comercial del país. Los datos de la vaca promedio (Mejoramiento lechero 2007-2011) indican que la edad en la cual se preñan los animales es a los 26,9 meses de nacidos y su primer parto se encuentra a los 35,9 meses. Los días de lactancia en promedio es de 1138 días, en los cuales produce un total de 22745 Kg de leche, correspondiendo a 769 Kg de grasa y 745 Kg de proteína. En promedio la vaca lechera se descarta a los 7 años de edad, habiendo estado en producción el 43% de su vida; el resto del tiempo se ocupó en su crianza y periodos de secado (Sotelo, 2012).

4.3 Desempeño productivo y reproductivo de la vaca lechera actual.

Las evaluaciones genéticas nacionales de la raza Holando indican que la genética del rodeo lechero uruguayo proviene predominantemente de América del Norte. La introducción de este biotipo de alta producción en combinación con cambios tecnológicos en los sistemas productivos permitió multiplicar la producción de leche comercial en diez años (2005-2014), de 1619 a 2240 millones litros/año (DIEA, 2016).

Obtener una cría sana por vaca por año, aprovechando sus picos de lactación y consiguiendo un intervalo interparto de un año es la meta deseada por los

productores (Morales y Cavestany, 2012). Datos nacionales señalan que el periodo interparto es de 16 meses (Sotelo, 2012), indicando que no se logran preñar las vacas antes de los 90 días posparto en contraposición con el objetivo de un parto por año. En esto se involucra la recuperación reproductiva (involución uterina y retorno de la actividad ovárica normal posparto), la severidad del BEN y la dificultad de contrarrestarlo.

Los índices reproductivos en nuestro país han disminuido, favorecidos por la fuerte presión genética a favor de la producción de leche. Considerando más de 200 mil lactancias Rovere et al. (2007) reportaron que el intervalo parto-concepción (IPC) es de 131 días en el periodo 1997-2001 y de 150 días en el 2001-2005. Sotelo (2012), con la misma base de análisis, reporta un IPC promedio de 175 días entre el 2007-2011.

Las características reproductivas son consideradas de baja heredabilidad (Wall et al., 2003). La fertilidad es un carácter complejo de varios sub-caracteres y los registros reproductivos no son llevados de forma precisa en los tambos. Además, el porcentaje de detección de celos ha bajado en las última décadas (Dobson et al., 2007) lo que complica aún más la eficiencia reproductiva de los rodeos lecheros.

La primera limitante del logro reproductivo de una vaca lechera es que comience a ciclar luego del parto [reinicio de la ciclicidad ovárica (RO)], lo cual se puede determinar en forma precisa midiendo los niveles de progesterona en leche o sangre. Para que el celo se manifieste, además de tener niveles significativos de estradiol, es necesario un “primer” de progesterona (en niveles plasmáticos superiores a 1ng/ml) porque de lo contrario ocurriría una ovulación silente (Gatica, 1993). Las estimaciones de heredabilidad de RO utilizando la medida de la progesterona en leche como indicador de reinicio de actividad luteal posparto han sido mayores a las estimaciones tradicionales, presentándose como una herramienta a considerar en el área de la mejora genética (Berglund, 2008); se reportan h^2 del 16-21 % y correlaciones genéticas importantes con características tradicionales de fertilidad (Royal et al., 2002).

En Uruguay, Cavestany et al. (2009) suplementaron con concentrado energético desde la tercera semana preparto, y reportaron un RO de 12 días más corto en el grupo suplementado vs no suplementado. Por otro lado (Meikle et al., 2011) suplementando con dietas de diferentes niveles de proteínas crudas tres semanas preparto no se encontraron diferencias en el RO de los distintos tratamientos. Estos trabajos jerarquizan el rol de la energía en el RO.

Ofertas de forraje diferenciales (5 a 30 Kg de materia seca/vaca/día) provocaron no sólo niveles de producción de leche diferenciales (Chilibroste et al., 2008), sino CC distintas durante los primeros dos meses posparto (Meikle et al., 2004). Los tratamientos afectaron el diámetro del folículo mayor, ya que las vacas de baja oferta de forraje tenían diámetros menores (Adrien et al., 2008). La CC estuvo correlacionada negativamente con los días al RO.

4.4 Periodo de transición: Caracterización endócrina y metabólica de la vaca.

Grummer (1995), define el periodo de transición desde las 3 semanas preparto hasta las 3 semanas posparto, como un periodo con marcados cambios en el estado endocrino preparando el parto y lactogénesis. Estos cambios son muy dramáticos para la vaca que debe adaptar su metabolismo a las fuertes exigencias que le demanda la producción creciente y el cambio del régimen alimenticio acorde con su nuevo nivel de requerimiento. Durante las últimas 3 semanas de gestación la disminución del consumo (30%) previo al parto promueve el BEN.

La severidad del BEN para cada vaca dependerá del potencial genético de producción, de las reservas corporales, y de la capacidad de ingesta de MS, siendo este último el factor más importante en determinar la magnitud del BEN (Invgartsen y Andersen, 2000).

El balance energético es el periodo que se caracteriza por la movilización de la grasa que se refleja en una elevación de las concentraciones circulantes de los ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Burke y Roche. 2007), que se acompaña a menudo con un aumento de la producción de β -hidroxibutirato (BHB) (Whitaker et al., 1999, citado por: Adrien, 2010).

Al inicio de la lactancia, la cantidad de energía requerida para mantener la producción de leche supera la de la ingesta y la vaca debe movilizar nutrientes de las reservas corporales, que se visibiliza en la pérdida de CC (Chilliard et al., 1999). De la prontitud con que la vaca resuelva este proceso dependerá la producción de leche, disminuir el riesgo de enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez (Grummer, 1995).

4.5 Condición corporal.

La condición corporal es una herramienta útil para medir de forma indirecta las reservas corporales y poder así predecir la evolución del balance energético de los animales. Puede evaluarse utilizando diferentes escalas de CC (Edmonson et al., 1989; cartillas de ELANCO® según Ferguson et al., 1994 y Wildman et al., 1982; Krall y Bonnacarrere, 1997).

Cuidar la CC y el manejo alimentario preparto es una buena medida para disminuir el periodo crítico de BEN. La CC y el peso corporal al parto tienen una relación directa en el comportamiento reproductivo y en la variación del peso posparto (Blutler, 2006). Las vacas con score de CC al parto extremas, ya sea baja (<3) o alta (>4) CC en la escala de 1-5 (Edmonson et al., 1989) presentan un comportamiento reproductivo inferior, en relación con el reinicio de la actividad ovárica cíclica, estros

silenciosos y tasa de concepción posparto. De igual forma, las hembras que presentan baja CC al parto, tienen pocas pérdidas de peso cuando la nutrición posparto es adecuada. Las vacas gordas al momento del parto presentan pérdidas de peso más altas. La CC al parto óptima se encuentra entre 3,5 - 3,75. Las reservas corporales disminuyen al inicio de la lactancia, aumentando a mediados y al final de esta, cuando la alimentación es adecuada (Maza et al., 2001). Vacas subnutridas al parto con menos reservas corporales posparto, disminuyen la grasa en leche, sin un efecto en la producción de proteína y CMS. Esto se agudiza en sistemas pastoriles, en donde las vacas no logran cosechar suficiente MS para sostener las altas producciones de leche a las que genéticamente tienen potencial (Kolver y Muller, 1998; Chilbroste et al., 2012).

4.6 Efecto de la alimentación sobre la composición de la leche.

La composición de la leche es un factor que determina su valor nutricional y calidad industrial, y afecta directamente la rentabilidad y competitividad de los sistemas de producción de leche. La nutrición, y el manejo de los rodeos lecheros produce cambios observables a cortos plazos en la composición de la leche, mientras que el mejoramiento genético del rodeo tiene efecto positivo sobre la concentración de sólidos lácteos, pero su efecto se observa a largo plazo (Dillon et al., 2006 a).

La nutrición constituye la vía más efectiva y rápida para alterar la composición química de la leche. Desde hace mucho tiempo se conoce que cambiando la relación entre forraje y concentrado de la dieta puede variar la concentración de grasa butirosa en un rango tan amplio como de un 2% a un 4% (Gallardo, 2006); en contraste el contenido de proteína puede variar aproximadamente 0,6 unidades porcentuales (Grant, 1980). Bajos contenidos de fibra efectiva en la dieta ocasionan una disminución en la concentración de grasa en la leche (Zebeli et al., 2008); la causa de esta disminución está dada por la inadecuada producción de ácido acético y butírico en el rumen para la síntesis de grasa (Jenkins y McGuire, 2006). Sin embargo, dietas con alto contenido de fibra reducen el CMS, disminuyendo la producción de leche (Yang y Beauchemin, 2007).

Grant (1980) evaluó los cambios en el contenido de proteína y grasa de la leche de vacas alimentadas con forraje y concentrados, y encontró que el contenido de grasa fue 0,2% más alto con dietas de 60% de pradera comparado con 40%; sin embargo el contenido de proteína sólo disminuyó 0,1% cuando se utilizó 60% de pradera.

Los cambios de la cantidad de proteína cruda (PC) en la dieta en rangos normales (17 a 17,5%), o las fuentes de proteínas utilizadas no afectan el porcentaje de grasa en la leche; sin embargo una cantidad insuficiente de proteínas degradable en el rumen produce una disminución en la concentración de grasa láctea a causa de la reducción del amonio ruminal, el cual estimula el crecimiento de los

microorganismos que digieren la fibra y producen los sustratos para la síntesis de grasa y proteína láctea (Jenkins y McGuire, 2006).

Olmos y Broderick (2006) estudiaron el efecto que tiene la concentración de PC en la dieta sobre la producción y composición de la leche. Evaluaron 5 dietas con diferentes niveles de PC (13,5; 15; 16,5; 17,9 y 19,4%) y encontraron que aunque el rango entre los contenidos de las dietas es muy amplio, no tuvo efectos significativos sobre la concentración de proteína láctea, pero encontraron diferencias en la concentración de grasa cuando la dieta tuvo 17,9% de PC, siendo la mejor (3,47%).

4.7 Utilización de las sales aniónicas.

La paresia puerperal hipocalcémica o fiebre de leche es una enfermedad metabólica que en su forma clásica afecta a la vaca con insuficiente movilización de calcio entre las 24 horas previas al parto y 72 horas posparto. Es una de las patologías metabólicas más frecuente en vacas lecheras aunque la incidencia varía mucho según los rebaños. Existen diferentes medidas profilácticas empleadas para reducir su incidencia, especialmente la manipulación de la dieta, en la que los cambios en el diferencial catión-anión (DCAD) han obtenido buenos resultados. Las dos ecuaciones que se emplean con mayor frecuencia en el cálculo del DCAD son las siguientes:

$$\text{DCAD} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{-2}) \text{ mEq/KgMS (Block, 1984).}$$

$$\text{DCAD} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+ + 0.15 \text{ Ca}^{+2} + 0.15 \text{ Mg}^{+2}) - (\text{Cl}^- + 0.6 \text{ SO}_4^{-2} + 0.5 \text{ P}^{-2}) \text{ mEq/KgMS (Goff y Horst, 2003).}$$

La administración de las sales aniónicas tiene como objetivo conseguir una ración de preparto con un DCAD entre -50 y -150 mEq/KgMS. La administración de una ración suplementada con sales aniónicas tiene un efecto beneficioso sobre la homeostasis cálcica en el periparto. Este hecho se traduce en la reducción del número de casos de fiebre de leche e hipocalcemia subclínica. Además, se han detectado mejorías sustanciales en la eficiencia reproductiva ya que incrementó en un 17% la tasa de concepción y disminuyó hasta 14 días el período de espera voluntario (PEV). Las sales aniónicas no tienen ningún efecto sobre la incidencia de otras patologías del posparto, tales como, desplazamiento de abomaso, mastitis, metritis y retención de placenta (Espino et al., 2004).

4.8 Suplementación de pastura con una DTM.

Las DTM son un sistema de alimentación donde los forrajes y alimentos concentrados son completamente mezclados, y de esta forma son ofrecidos a los

animales. Los sistemas de alimentación tipo DTM, son cada vez más comunes en los tambos de nuestro país. En algunas ocasiones se utilizan como sustitutos del pastoreo en épocas de crisis forrajeras, pero también se utilizan como complementos de las pasturas, cuando la cantidad de estas últimas es limitada. Habitualmente estas raciones son formuladas cubriendo los requerimientos totales para todos los nutrientes (Pomiés, 2014).

4.9 Efecto de los metabolitos sobre el eje reproductivo en el periparto.

Las variaciones en la ingesta, metabolismo y excreción durante este periodo pueden ser monitoreados por la concentración de algunos metabolitos en sangre. La gran movilización grasa, produce una reorientación del metabolismo y del flujo de nutrientes entre los tejidos, en base a una reorganización hormonal, con el objetivo de privilegiar una función fisiológica dada, a lo que es llamada teleforesis u homeorhesis (Bauman y Currie., 1980).

El pre y posparto temprano se acompaña de una pronunciada elevación de NEFA, y puede ser seguido de una producción aumentada de BHB el cual refleja la importancia de la lipólisis y déficit energético. Los altos valores de BHB están asociados con grados severos de BEN. En vacas en lactación, el nivel óptimo de BHB en sangre es por debajo de 1,0 mmol/L, valores por debajo de 0,6 mmol/L indican una situación moderada de pérdida de CC, entre 0,6 y 1,0 es una tasa de movilización aceptable dependiendo de la etapa de lactación. Cerca de 1,0 mmol/L la salud y la productividad se ve afectada y en vacas con cetosis los valores probables se acercan a 2,0 mmol/L (Cavestany et al., 2006).

Los niveles de NEFA y BHB aumentaron en el periparto en vacas lecheras sobre pastoreo; vacas con mayor CC movilizaron más NEFA que vacas con pobre CC en el preparto o al parto (Meikle et al., 2004; Cavestany et al., 2005; 2009, Pereira et al., 2010). Adrien (2010) demostró que una baja CC inducida nutricionalmente desde los 3,5 meses hasta 1 mes preparto prolongó el RO en vacas multíparas y primíparas en 15 días más para vacas de baja CC (diferencia de 0.5 puntos de CC). En este estudio el RO se asoció con un ambiente endócrino (IGF-I/Insulina) más favorable durante el período preparto, pero no durante el posparto.

Vacas en mejor CC al parto (≥ 3) presentaron concentraciones de IGF-I más alta y un RO más corto. Es interesante resaltar que las vacas multíparas con baja CC al parto (<3) reiniciaron su actividad cíclica antes que las vacas primíparas con alta CC al parto (>3) y esto puede deberse a los patrones de las señales endocrinas o al BEN debido a la baja ingesta, a la curva de lactación ascendente y/o a los requerimientos energéticos para continuar el desarrollo en vaquillonas (Meikle et al., 2004).

Alteraciones en el metabolismo energético, afectan algunos metabolitos sanguíneos (NEFA, glucosa) y hormonas metabólicas (insulina, leptina y el eje GH/IGF-I) (Chilliard et al., 1998). Normalmente la Hormona del crecimiento (GH) se une en el hígado a los receptores de somatotropina (rGH), desencadenando la producción de factores de crecimiento tipo insulina (IGF-1), que a su vez regulan la secreción hipofisaria de GH por mecanismo de feedback sobre el eje hipotálamo-hipófisis. En los 2 o 3 días previos al parto se produce una disminución marcada de la actividad de los (rGH), que permanecen bajo durante 5-7 días posparto y se recuperan lentamente durante la segunda semana de lactancia (periodo de resistencia a la GH). La baja actividad de rGH en hígado disminuye la producción de IGF-1, disminuye la regulación negativa de la STH en hipotálamo-hipófisis; y consecuentemente aumenta la GH en forma importante (desacople del eje GH) (Baeck, 2012). La insulina juega un rol clave en la sensibilidad hepática a la GH y por lo tanto en el mecanismo de desacople (Kobayashi et al., 1999). Las consecuencias del aumento de GH son una mayor gluconeogénesis hepática y un importante incremento de la lipólisis y movilización del tejido adiposo. Concomitantemente los niveles de insulina caen en forma importante durante el periparto por los bajos niveles de glucosa. Esto colabora con mantener inhibidos a los receptores de GH en el hígado y estimula la actividad de los receptores de GH en el tejido adiposo. La respuesta combinada de la GH y baja insulina es una activa movilización grasa del tejido adiposo en forma de NEFA, que inundan la sangre y el hígado, para ser combustible energético (Baeck, 2012).

La insulina representa una fuerte señal que afecta la liberación de LH (Schillo, 1992) y concentraciones periféricas de esta hormona están directamente relacionadas a nivel de consumo de alimento en rumiantes (Bassett et al., 1971). Se ha reportado que la baja concentración de insulina posparto suprime la secreción de GnRH y por ende la liberación de LH (Hess et al., 2005), afectando negativamente el desempeño reproductivo. Bean y Butler (1999) reportaron que la relación insulina/GH/IGF-I y el día del nadir del balance energético influyen el crecimiento folicular.

4.9.1 Leptina y su importancia.

La leptina es una proteína plasmática sintetizada y excretada mayoritariamente por el tejido adiposo (Delavaud et al., 2002); se relaciona con el control hipotalámico de la homeostasis del cuerpo, como una señal aferente acerca de las reservas de grasa del cuerpo y como un regulador eferente del apetito y expedición de energía. La concentración de esta hormona en el plasma en vaca Holando durante el parto y en la lactación temprana, es más elevado en vacas con mayor condición corporal (Meikle et al., 2004). Sin embargo en vacas preñadas (Wetterman, 2013) la concentración de esta hormona está influenciada por el consumo, pero no por las reservas grasas. La leptina circulante provoca una sensación de saciedad a largo

plazo, actuando como regulador de consumo. En la regulación de la leptina un primer candidato es la insulina; jugando un papel crónico (horas). La leptina ha sido implicada en la resistencia a la insulina por su acción de atenuarla, la cual afecta directamente el metabolismo y función de los tejidos periféricos. La hiperinsulinemia incrementa los niveles de leptina (Houseknecht et al., 1998). Los glucocorticoides son también potentes reguladores de leptina.

Según Hess (2005), habría una relación entre la leptina con la expresión del celo, ya que se han observado mayores concentraciones de esta hormona asociados a intervalos más cortos entre el parto y el primer celo visto.

4.10 Categoría animal.

La categoría animal (primípara vs multíparas) es un factor que demostró ser más importante que los tratamientos nutricionales. En varios trabajos se encontró una pérdida más abrupta en la CC en vacas primíparas y en general se encontró un mayor desequilibrio en los perfiles metabólicos y endocrinos (Meikle et al., 2004; Cavestany et al., 2005; Adrien, 2010). Recientemente (Pereira et al., 2010) observó que vacas de dos partos incluso con menores producciones de leche que vacas de tres partos, presentan una CC y un ambiente metabólico más desfavorable. Esto puede deberse a las necesidades aumentadas para el crecimiento en animales jóvenes simultáneamente con las demandas de la lactación y una menor capacidad de ingesta como fue descrito previamente (Rémond et al., 1991).

Las vacas primíparas presentaron menores (Meikle et al., 2004) o similares (Adrien, 2010) concentraciones de IGF-I que las multíparas. Esto contrasta con los hallazgos de Wathes et al., (2003) en que las concentraciones de IGF-I fueron más altas en animales jóvenes en acuerdo con el rol estimulador del crecimiento en esta categoría. Estas contradicciones pueden deberse a las diferencias en el manejo animal, principalmente nutrición, y a la edad de esta categoría. Las vacas primíparas presentan mayor dificultad para recuperarse del BEN, reflejado a través de un perfil metabólico y endócrino más desbalanceado que en las multíparas, proceso probablemente agravado por el stress que implica su primera lactancia. Este puede ser el resultado de que estos animales están en desarrollo, pero también bajo condiciones del efecto de dominancia por la disponibilidad de comida típicas del sistema pastoril (Grant y Albright, 2001).

4.11 Manejo reproductivo y sincronización de celo.

Como forma de mitigar la merma reproductiva por la menor expresión y detección de celos, se han desarrollado tecnologías que tienden a incrementar la eficiencia

reproductiva e impulsan el mejoramiento genético. El control hormonal del ciclo y la sincronización de celos, potencian la inseminación artificial con otras tecnologías como la transferencia de embriones, o el uso de semen sexado para la mejora genética. También permite concentrar el manejo reproductivo preñando la mayor cantidad posible de vacas en una ventana de tiempo reducida, racionalizando el trabajo (Charmandarian et al., 2013).

Bajo condiciones normales, una vaca posee el potencial de ovular poco tiempo después del parto (Wiltbank et al., 2002). Sin embargo, el ganado lechero bajo condiciones de pastoreo con frecuencia posee una alta incidencia de anestro posparto que prolonga el intervalo hasta la concepción como consecuencia, afectando de manera negativa su desempeño reproductivo (Cavalieri et al., 2006, Lucy et al., 2004).

4.11.1 Uso de progestágenos.

El uso de dispositivos intravaginales bovino impregnadas con progesterona sintética (DIB), influyen sobre la dinámica folicular. A pocos minutos de la introducción del dispositivo se producen niveles supraluteales de progesterona (> 1 ng/mL) provocando la regresión del folículo dominante, esto asociado al benzoato de estradiol (BE) inician una nueva onda folicular. La regresión folicular provoca el cese de los productos sintetizados por el folículo (estrógenos e inhibina), desbloqueando el feedback negativo que estas producen sobre el hipotálamo para la liberación de FSH. El aumento de la FSH es responsable del comienzo de la emergencia de la siguiente onda folicular. La extracción del dispositivo asociado a una PGF2a reduce la progesterona a niveles subluteales (< 1 ng/ml) e induce el incremento de la frecuencia de pulsos de LH, con el crecimiento concomitante del folículo dominante; las concentraciones elevadas de estradiol provocan el celo e inducen finalmente el pico de LH requerido para la ovulación (Bo, 2002).

4.11.2 Empleo del estradiol.

El uso del benzoato de estradiol (BE, derivado sintético del 17β Estradiol), optimiza los resultados reproductivos de los tratamientos con progesterona en bovinos. La inyección de BE al momento de la aplicación del progestágeno, si hubiera folículo dominante promueve su atresia, e induce una nueva onda folicular en promedio de 3 a 4 días después. La aplicación de dosis menores de BE (0,5 mg) a las 24 horas de la extracción del DIB, produce el pico preovulatorio de LH a través del feedback positivo sobre el GnRH y LH, provocando una ovulación a las 70 horas de extraído el DIB. De esta manera, se sincronizan las ovulaciones y se pueden realizar la IATF a

las 52-56 horas del retiro del dispositivo. Adicionalmente, el tratamiento descrito permite inducir actividad sexual cíclica en animales en anestro (Veiga et al., 2011).

4.11.3 Aplicaciones de prostaglandinas.

La PGF₂ α resulta una excelente herramienta para el uso en un protocolo de sincronización en vacas, su principal función es lisis el cuerpo lúteo (CL) funcional y estructuralmente (Hafez, 2007). Para ser efectiva, el CL debe ser sensible a la misma; dicha sensibilidad va de los 7 a 17 días del ciclo estral. El tratamiento con PGF₂ α no es efectivo en los primeros 4 - 5 días del ciclo estral; mientras que en los días 5 y 9 pueden llevar a una luteólisis parcial y entre el día 11 y 15 del comienzo da los mejores resultados (Odde, 1990). El CL es una glándula temporal presente durante el diestro y la gestación, ésta completa su desarrollo el séptimo día después del celo. Su estructura está constituida por dos tipos de células, las luteales pequeñas derivadas de la teca interna y las grandes de la granulosa (Wiltbank, 1994).

4.11.4 Usos de Gonadotropina coriónica equina (eCG).

En medicina veterinaria esta hormona ha sido ampliamente estudiada, se ha visto que a diferencia de en los equinos, la eCG administradas en otras especies tiene una actividad tipo LH y FSH y como consecuencia tiene una gran afinidad por ambos tipos de receptores en los ovarios, siendo dominantes las acciones de la FSH (Hafez, 2007). La vida media de la eCG genera un efecto de larga duración sobre los receptores de las células de la granulosa y de la teca, estimulando la secreción de esteroides gonadales. La doble actividad tipo FSH y LH estimula el desarrollo de los folículos de tamaño medio a grande e induce la ovulación del folículo dominante presente en el momento del tratamiento, siendo su efecto dosis dependiente (mayor respuesta ovárica con dosis elevadas) (De Rensis y López-Gatius, 2014).

5. HIPÓTESIS

La estrategia de alimentación combinada de pastoreo y encierro con dietas parcialmente mezcladas equipara el desempeño productivo y reproductivo de vacas Holando de primera lactancia, alimentadas en encierro con dietas totalmente mezcladas.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivos Generales.

Comparar el efecto del manejo en base a DTM vs DPM + P en vacas primíparas Holando y su efecto sobre la producción y reproducción en el posparto.

6.2 Objetivos Particulares.

Estudiar el efecto de dos estrategias de alimentación (DTM vs DPM + P) sobre la producción y composición de la leche, CC y PV.

Evaluar la eficiencia productiva de ambas estrategias de manejo (costos de alimentación y margen de alimentación por litro).

Evaluar la recuperación reproductiva (involución uterina, actividad ovárica y respuesta a la sincronización estral) en ambos grupos de vacas.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Ubicación y periodo experimental.

El ensayo se llevó a cabo en la “Estación Experimental Mario A. Cassinoni” (EEMAC), Ruta 3, Km 363, Facultad de Agronomía, Departamento de Paysandú (S – 32.38° W – 58.05°). Se realizó en el marco del proyecto de “Estrategias de intensificación para sistemas de producción de leche competitivos y sostenibles” (Expediente CEUA N°: 021130-001914-15).

La duración del ensayo fue de 90 días, abarcando el periodo comprendido entre el 19 de Febrero y el 19 de Mayo del año 2015.

7.2 Animales.

Para el ensayo se utilizaron 18 vacas primíparas Holando de parto otoñal (Marzo-Abril), bloqueadas por fecha de parto, PV y CC. Se agruparon según fecha de parto en dos grupos. Grupo 1: fecha promedio de parto 10 de Marzo de 2015; grupo 2: fecha promedio de parto 25 de Marzo. El periodo de pariciones se extendió desde el 7 de Marzo al 12 de Abril de 2015. Se contaban inicialmente con un total de 24 vacas; tres para cada tratamiento como reserva.

7.3 Manejo de los animales en el parto.

El manejo de los animales durante el parto (desde los 45 días a los 21 días parto) fue en un único grupo, alimentadas con una dieta en base a pradera de segundo año, calidad media a alta y una asignación acorde al balance energético del grupo. A los 21 días parto se encerraron los animales alimentándolos con una mezcla de ensilaje de maíz y balanceado comercial (ver cuadro I) para cumplir con una dieta aniónica conforme a ese periodo (en todos los casos se incluyeron minerales y aditivos para cubrir el requerimiento). La administración de sales aniónicas en la ración periparto, 3 semanas antes del parto, tuvo el objetivo de lograr una DCAD que oscile entre los -50 y -150 mEq/Kg MS (-5 a -15 mEq/100 g MS) para generar un estado de "acidosis metabólica" capaz de prevenir la hipocalcemia (Espino et al., 2004).

Cuadro I: Formulación dieta parto (21 días parto).

Alimento	KgBF/vaca/día
Ensilaje de Maíz	17
Heno de moha	2
Raicilla	2,5
Urea	0,04
Insalmix VM50®	0,04
Ración Parto Ombú	2,5
TOTAL	24,1
MS	52%

7.4 Asignación a los tratamientos.

A los animales se les asignó un tratamiento según peso vivo, condición corporal y fecha probable parto.

7.5 Tratamientos posparto.

Luego del parto las vacas se manejaron diferencialmente en dos tratamientos:

Tratamiento 1 (T1): DPM + P (n=10), luego del ordeño (AM) los animales se llevaban a pastorear en pradera de segundo año de alfalfa en una sesión diaria de acceso a la pastura (7:30 a 13:30), con una disponibilidad de forraje de 600 Kg MS/ha, por encima de 4 cm del suelo asegurando 20 KgMS/vaca/día lo que cubrió el 30% de los requerimientos de energía neta de lactación (ENL; NRC, 2001). El consumo de MS de alfalfa se estimó utilizando planilla lechera (CONAPROLE, 2008), tomando en cuenta el consumo de DPM, además el PV, producción y contenido graso en leche y la pérdida de PV. La planilla lechera indica que los animales del T1 consumieron 3,02 KgMS/vaca/día de Alfalfa (Marzo-Abril). La DPM se ofreció luego del ordeño de la tarde, en comederos dispuestos en corrales individuales con agua *ad-libitum*, formulada (ver cuadro II) para complementar el aporte de nutrientes y energía de la pastura, utilizando forrajes conservados (henilajes y/o ensilajes) y mezcla de alimentos concentrados. La cantidad de alimento ofertada se ajustó semanalmente para permitir un 10 a 15% de rechazo (calculado por la diferencia de alimento ofrecido y rechazado), formulada para cubrir los requerimientos de mantenimiento y lactación (40 Kg de leche al pico de producción) con una relación ensilaje: concentrado de 40:60 (ENL; NRC, 2001). El consumo de MS total del T1 fue de 18,52 KgMS/vaca/día.

Tratamiento 2 (T2): DTM (n=8), los animales permanecieron durante todo el día en corrales individuales, el alimento fue ofrecido una vez al día (8 AM) en comederos individuales con agua *ad-libitum*. La cantidad de alimento ofertada se ajustó semanalmente para permitir un 10 a 15% de rechazo. Se formuló (ver cuadro II) para cubrir los requerimientos de nutrientes, mantenimiento y lactación (40 Kg de leche al pico de producción) con una relación ensilaje: concentrado de 40:60 (ENL; NRC, 2001). El consumo total para el T2 fue de 20 KgMS/vaca/día.

Cuadro II: Formulación dieta posparto totalmente mezclada ofrecido, además de 3 Kg/vaca de ración de lecheras en el tambo en cada ordeño.

Alimentación	% en base fresca
Ensilaje de maíz	68
Henolaje de alfalfa	13
Grano de sorgo	16
Ración lecheras (15%)	3

7.6 Variables productivas registradas.

Se realizaron mediciones de producción diaria y composición de leche semanal (ver figura 1).

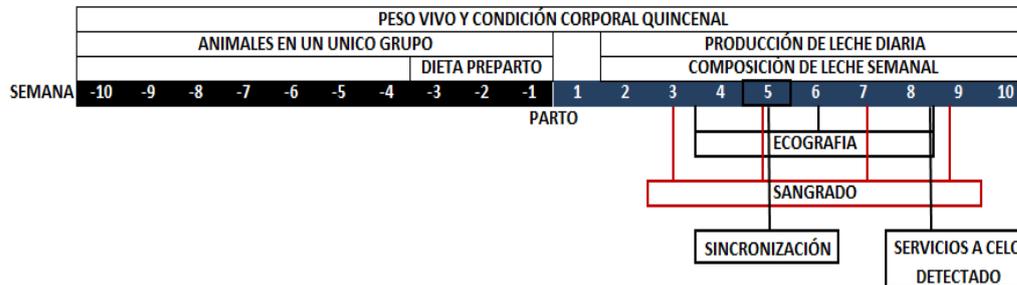


Figura 1: Diagrama del ensayo.

7.6.1 Evaluación del peso vivo y condición corporal.

Durante el periodo experimental se registró desde los 80 días preparto quincenalmente PV y CC en ambos tratamientos, las mediciones siempre fueron tomadas por la misma persona y para la CC se utilizó la escala de 1-5 (1 flaca -5 gorda) (Edmonson, 1989).

7.6.2 Consumo de alimento.

El CMS total en comedero de la DTM se determinó por la diferencia entre la MS ofrecida menos la rechazada. El CMS total de DPM se determinó por la diferencia entre la MS ofrecida menos la rechazada, además lo consumido en el pastoreo de Alfalfa estimado utilizando planilla lechera (CONAPROLE, 2008).

7.6.3 Producción y composición de leche.

Se registró diariamente desde los 15 DPP a los 70 DPP la producción de leche para ambos tratamientos tanto para el ordeño matutino como vespertino, utilizando medidores de leche comerciales. La composición de grasa-proteína-lactosa se

evaluó semanalmente. Para evaluar la composición de leche se tomo muestras individuales de ambos ordeños en frascos de 100 ml con conservante (2 gotas de Lactopol®) guardando la muestra en heladera. Luego de obtenidas las muestras se homogeneizaron en baño de agua a una temperatura de 37 °C durante 10 minutos y se realizaron alícuotas representativas de la producción registrada en cada ordeño, completando un “plock” con 35 ml de leche. Para la determinación se utilizaron los siguientes equipos analizadores de leche: Bentley FTS y LactoScope (FTRI) ubicados en la Cooperativa COLAVECO en Parque el Retiro, Nueva Helvecia, Colonia. Bentley 2000 posee filtros ópticos interferenciales y el Lactoscope (Delta) trabaja por un interferograma transformado de Fourier.

7.6.4 Costos y margen de alimentación.

Se calcularon los costos y márgenes de alimentación para ambos tratamientos. Para calcular el costo de alimentación del T1, se tomo en cuenta el consumo de DPM (ver cuadro III), por el costos de elaboración de la misma, además se estimó el consumo de MS de Alfalfa (Marzo-Abril) mediante el uso de planillas electrónicas según Acosta y Cavassa (CONAPROLE, 2008), por el costo de producción de un Kg de MS de Alfalfa estimado a Marzo 2015. El costo de alimentación del T2 se tomo en cuenta el consumo de DTM (ver cuadro III), por el costo del elaboración de la misma. Para ambos tratamientos se calculo el costo de alimentación para producir un litro de leche.

Los márgenes de alimentación por vaca día se calcularon restando el ingreso por venta de leche por vaca menos el costo de alimentación/vaca/día. Por último se calculo el margen de alimentación por litro de leche producida por día, donde se restó el precio de litro de leche [Marzo, 2015 (US\$ 0,235)] menos el costo de producción de un litro de leche.

7.7 Variables reproductivas.

Se realizaron tres instancias de ecografías (5,5 MHz; CUS 3000V, China) y palpación rectal a los 29 (evaluar ciclicidad de los animales), 34 (observar el estado del aparato reproductor previo a la sincronización de celo) y 55 (visualizar respuesta a la sincronización de celo) DPP promedio. La información brindada por las ecografías, fue calificado en base al score del tracto reproductivo posparto (ganado de carne) reportado por Schwalbach et al (2000).

Cuadro III: Parámetros para evaluar el grado del tracto reproductivo posparto según Schwalbach et. al. (2000).

RTS	Vulva y Vagina	Cérvix	Útero	Ovarios
1	-Descargas purulentas	-Pélvico	-No completo involución	-Inactivos
	-Mucosas pálidas	-No completo involución -Severa fibrosis	-Asimétrico -Contenido	-Pequeños y planos -Ausencia de estructuras
2	-Vaginitis	-Pélvico	-No completo involución	-Inactivos
		-No completo involución -Fibrosis	-Asimétrico -Contenido -Sin tono	-No totalmente planos -Ausencia de estructuras
3	-Mucosas pálidas, secas y rosadas	-Pélvico	-No completo involución	-Redondeados -Desarrollo folicular pequeño (< 5mm)
		-Completo involución	-Casi simétrico -Sin contenido -Sin tono	-Desarrollo folicular pequeño (< 10mm) -Posiblemente presencia de CL
4	-Normal -Mucosas rosadas y húmedas	-Pélvico	-Completo involución	-Un ovario activo Desarrollo folicular (>10mm)
		-Normal	-Simétrico -Sin contenido -Tono	-Posiblemente presencia de CL
5	-Normal -Mucosas rosadas y húmedas	-Pélvico	-Completo involución	-Ambos ovarios activos Desarrollo folicular (>10mm)
		-Normal	-Simétrico -Sin contenido -Excelente tono	-Presencia de CL

Se evaluó la respuesta a un protocolo de sincronización (ver figura 2) a los 38 ± 12 DPP, registrando comportamiento estral y confirmación de la ovulación 7 días luego del ciclo inducido. Dicha sincronización fue sólo para observar la respuesta al mismo y no recibió servicio por estar fuera de la temporada de servicios del tambo.

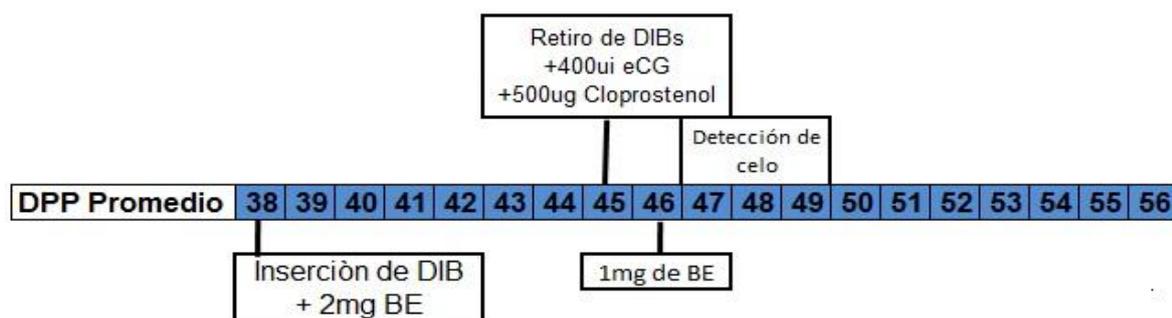


Figura 2: Protocolo de sincronización de celo realizado en vacas primíparas Holando.

Luego de la sincronización y al inicio de la temporada de servicios, 40 días después de la sincronización, se dieron dos oportunidades de servicio artificial con detección de celo a todas las vacas y se registraron número de servicios, servicios por concepción, y porcentaje de preñez en cada uno de los dos tratamientos alimenticios estudiados.

7.8 Monitoreo de hormonas metabólicas.

Como forma de monitorear la función metabólica, a las 3, 5, 7 y 9 semanas posparto, se tomaron muestras de sangre por punción de la vena coccígea media (Vacutainer BT) temprano en la mañana después del ordeño y antes del acceso al alimento, para analizar los niveles de Insulina y Leptina. La concentración de Insulina fue medida por el Test de Inmunoradiometria utilizando Kits comercial INS-IRMA; DIA Source Immune Assays S.A.. Mientras que para la concentración de Leptina se utilizó Radioinmuno ensayo de fase liquida (RIA), utilizando Kits comerciales de Multi-Species Leptin Kits(RIA kits, Millipore, USA).

7.9 Análisis estadístico.

La información productiva se analizó con un modelo lineal mixto para medidas repetidas en el tiempo. El modelo incluyó el efecto fijo del tratamiento, 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. Las medias se compararon por el test de Tukey, considerando un efecto como significativo cuando $p < 0,05$ y tendencias con valores de $p > 0,05$ y $< 0,1$. Las variables reproductivas se analizaron siguiendo un modelo general lineal mixto para medidas repetidas (SAS, 2010), considerando en el modelo el efecto fijo del tratamiento y período.

8. RESULTADOS

8.1 Peso vivo durante el ensayo.

Se aprecia en la figura 3, que al parto los pesos promedio de ambos tratamientos eran semejantes (T1 $525 \pm 26,6$ Kg vs T2 $536 \pm 25,5$ Kg). A partir de la primera semana posparto ambos tratamientos comenzaron a perder PV. Los animales del T1 fueron los que presentaron mayores pérdidas de PV posparto, aunque no significativa ($p > 0,05$). Luego de los 23 DPP el T2 deja de perder PV, mientras que el T1 lo hace a partir de los 38 DPP, sin diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$). El único efecto significativo en el PV son los días posparto.

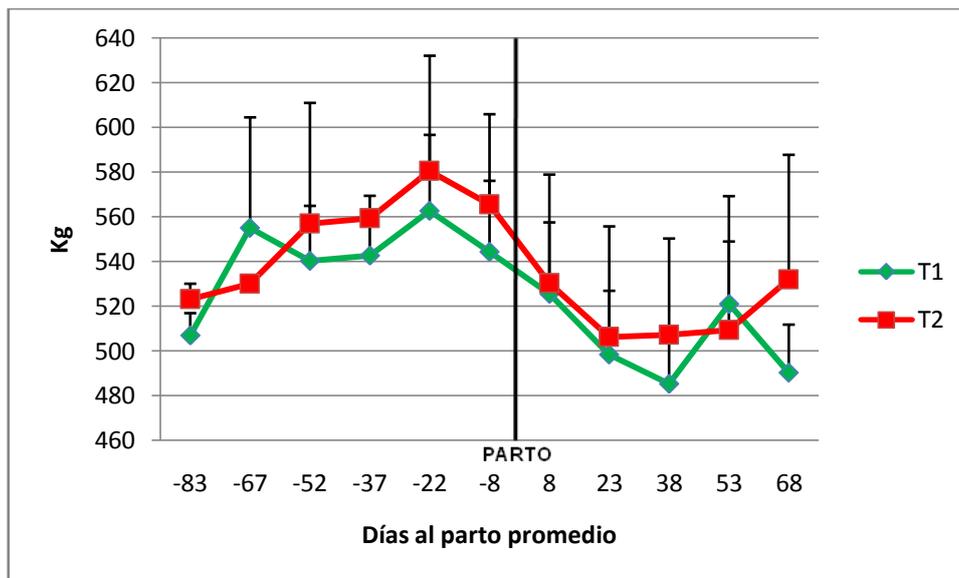


Figura 3: Evolución de peso vivo promedio en vacas primíparas Holando, en dos estrategias de alimentación. Línea verde (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas), línea roja (T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

8.2 Condición corporal durante el ensayo.

En la figura 4 se observa que la CC en ambos tratamientos se mantuvo similar durante el preparto. Luego del parto se destaca una pérdida de CC para ambos tratamientos. Luego de los 23 DPP, las vacas del T2 lograron contrarrestar antes la pérdida de CC. Los animales T1 fueron los que presentaron mayor pérdida de CC, siendo aun mas grande esta diferencia a partir del día 23 posparto. De todos modos la diferencia de CC durante el periodo del ensayo entre el T2 ($3,13 \pm 0,19$) y T1 ($3,04 \pm 0,27$) no fueron significativas ($p > 0,05$).

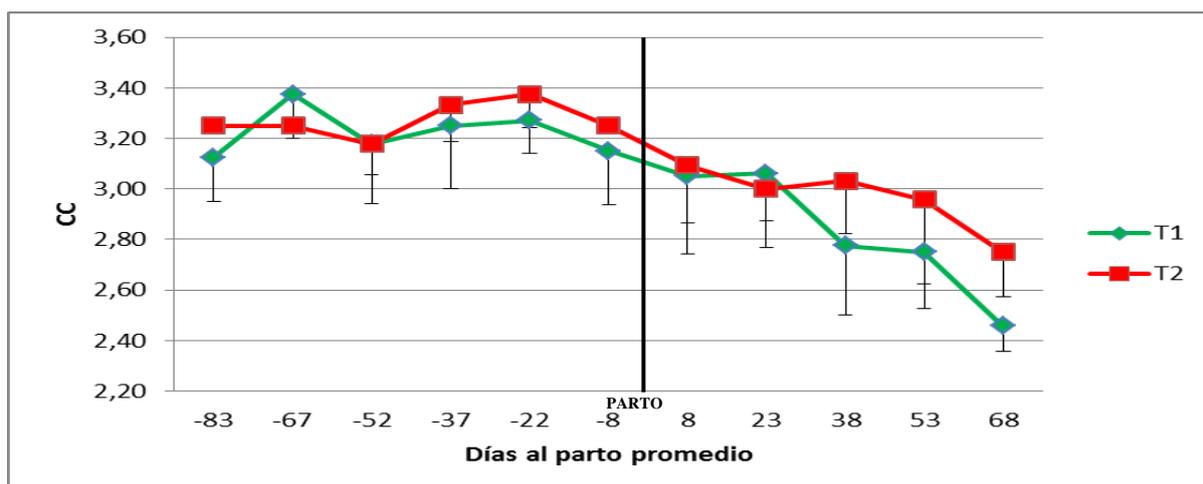


Figura 4: Evolución de la condición corporal promedio en vacas primíparas Holando, en dos estrategias de alimentación. Línea verde (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas); línea roja (T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

8.3 Consumo de alimento promedio durante el posparto.

Durante los 70 DPP el T1 consumió de DPM MS: 15,50 Kg/vaca/día, para completar los requerimientos consumieron MS: 3,02 Kg/vaca/día de Alfalfa, la suma DPM + P en MS: 18,52 Kg/vaca/día. Por otro lado el T2 consumió de DTM en MS: 20 Kg/vaca/día.

Cuadro IV: Consumo de alimento promedio durante todo el posparto para ambos tratamientos en vacas primíparas Holando. Celdas verde (T1= DPM + P: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas), celdas roja (T2= DTM: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

Insumos	% MS	T1		T2	
		Kg/día (MF)	Kg/día (MS)	Kg/día (MF)	Kg/día (MS)
Ensilaje de Maíz	29,45	15,54	4,58	23,00	6,77
Henolaje de Alfalfa	62	2,94	1,82	4,30	2,67
Sorgo grano seco	88	3,51	3,09	5,00	4,40
Ración lechera 15% "El Ombú"	88	0,83	0,73	1,00	0,88
Ración lechera 15% "El Ombú" en sala	88	6	5,28	6,00	5,28
Consumo total DTM				39,30	20
Consumo total DPM		28,82	15,50		
Pastura de Alfalfa	18,20	16,60	3,02		
Consumo total DPM+P		45,42	18,52		

MF= Materia Fresca
MS= Materia Seca

El consumo de MS de Alfalfa se estimó utilizando planilla lechera (CONAPROLE, 2008); según los requerimientos (producción y contenido graso de leche, número y días de lactancias, PV y pérdida de PV) promedios de los animales del T1.

8.4 Producción de leche.

La figura 5 muestra la producción de leche promedio por tratamiento según DPP. Se eliminó la producción de la primera semana posparto ya que en este período para algunas vacas se contaba con pocos registros, lo que afectaba el análisis estadístico. Durante las 10 semanas posparto, la producción de leche no fue significativamente diferente entre tratamientos, aunque el T2 produjo más que el T1 ($27,17 \pm 2,43$ vs $25,97 \pm 2,45$ L/vaca/d, $p > 0,05$, respectivamente). Puntualmente en diferentes momentos del ensayo si hubieron diferencias; a los 15, 35 y 42 DPP la diferencia en producción de leche tendió a ser significativa ($p = 0,057$; $0,056$; $0,058$ respectivamente) entre tratamientos. A los 48 DPP la producción de leche fue mayor en T2 que T1 ($29,58 \pm 0,8$ vs $26,68 \pm 0,7$, diferencia significativa $p < 0,001$, respectivamente). De igual forma, se observó (figura 5) que la curva de producción del T2 tuvo más oscilaciones comparado con la curva del T1. A partir de los 55 DPP hasta finalizado el ensayo, la producción de ambos tratamientos se igualan, manteniendo diferencias no significativas ($p > 0,05$).

Para producir un litro de leche los animales del T1 debieron consumir $0,71$ KgMS, mientras que para los animales de T2 $0,74$ KgMS.

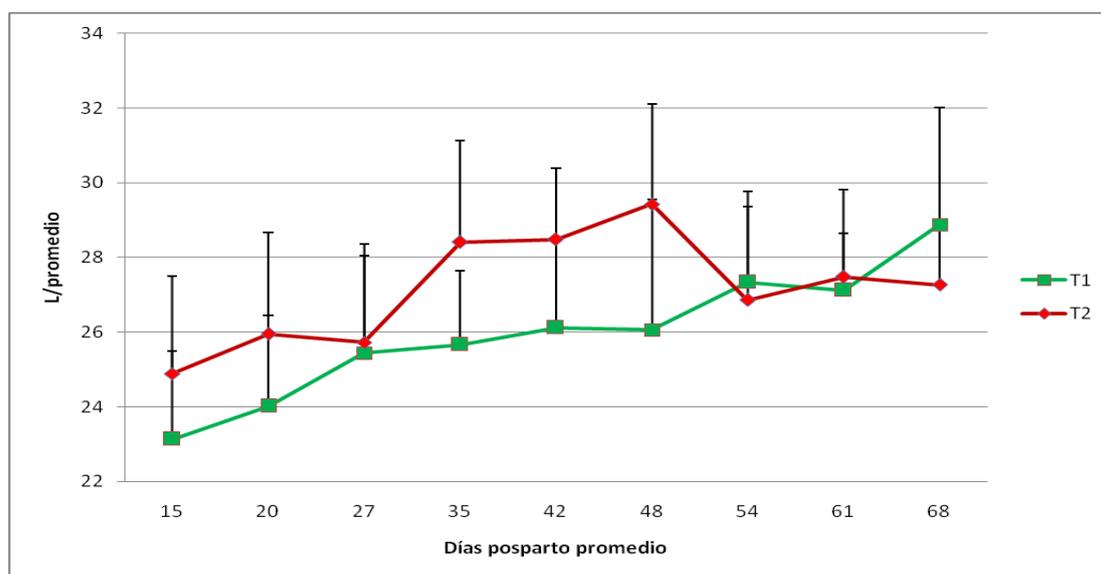


Figura 5. Producción promedio de leche en vacas primíparas Holando, en dos estrategias de alimentación. Línea verde (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas), línea roja (T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

8.5 Composición de leche.

Los porcentajes promedios de grasa, proteína y lactosa durante las 10 semanas posparto se muestran en la figura 6. Aunque no significativa la diferencia, el T1 produjo un poco más porcentaje de proteína durante todo el ensayo ($p>0,05$).

El T2 produjo más grasa durante todo el ensayo, pero a los 25 y 64 DPP el T1 logro superarlo. Al inicio de la lactación la grasa para ambos tratamientos describe una curva descendente, luego de los 30 DPP comienza a aumentar su concentración. La lactosa para T1 y T2 se mantiene en un nivel prácticamente constante durante toda la lactancia. Ninguna de las diferencias antes descriptas para grasa y lactosa fueron significativas ($p>0,05$).

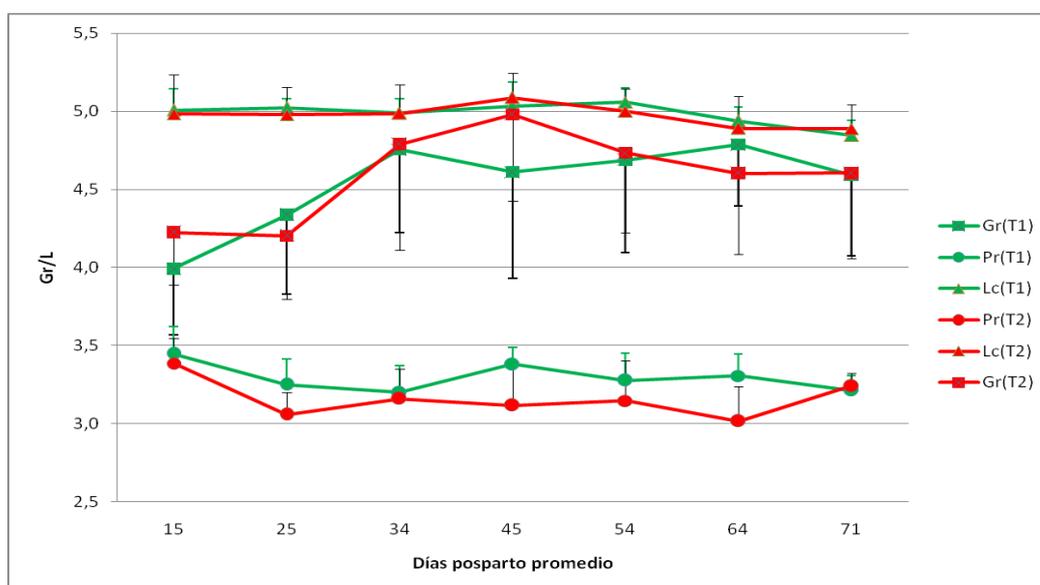


Figura 6: Concentración de proteína (Pr), grasa (Gr) y lactosa (Lc) durante las 10 semanas posparto para las dos estrategias de alimentación en vacas primíparas Holando. Líneas verde (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas), líneas rojas (T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

Cuadro V. Composición promedio de leche (Grasa-Proteína-Lactosa) durante el ensayo para las dos estrategias de alimentación en vacas primíparas Holando (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas) vs (T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

	GRASA (%)	PROTEINA (%)	LACTOSA (%)
T1	4,537	3,295	4,984
T2	4,590	3,160	4,984

El T1 produjo menos litros de leche (figura 5) y mayores porcentajes de proteína (cuadro V) durante el ensayo, mientras que el T2 logro mayor producción de leche y concentraciones de grasa, aun así las diferencias no fueron significativas ($p>0,05$). El pico de grasa, proteína y lactosa en ambos tratamientos lo consiguieron a los 45 DPP sin diferencias entre tratamientos, para luego mantenerse en niveles estables.

8.6 Costo y margen de alimentación.

En el cuadro VI se observa que el ingreso por venta de leche es mayor para el T2 (6,38 U\$/vaca/día) vs T1 (6,10 U\$/vaca/día), considerando que el valor del litro de leche (Marzo 2015) fue U\$ 0,235; y las producciones para el T1 y T2 fueron: 25,97 vs 27,17 L/vaca/día respetivamente.

Para el T1 el costo de alimentación/vaca/día fue de U\$ 2,79, mientras que para el T2 fue U\$ 3,35. Para producir un litro de leche el costo de alimentación fue para el T1: U\$ 0,11 vs T2 U\$ 0,12 y el margen de alimentación por litro de leche producida fue de U\$ 0,13 en T1 y U\$ 0,11 para el T2.

Cuadro VI: Costo y margen de alimentación para ambos tratamientos en vacas primíparas Holando. Celdas verde (T1= DPM + P: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas), celdas roja (T2= DTM: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

	T1	T2
Producción promedio/vaca/día	25,97	27,17
Precio litro de leche (U\$)	0,235	0,235
Ingreso por venta de producto U\$/día	6,10	6,38
Costo de alimentación/vaca/día (U\$)	2,79	3,35
Costo alimentación(U\$) / L	0,11	0,12
Margen de alimentación/vaca/día (U\$)	3,31	3,03
Margen de alimentación/lit/día (U\$)	0,13	0,11

8.7 Variables reproductivas.

La figura 7 muestra la evolución del score del tracto reproductivo posparto (Schwalbach, 2000), separado por grupos según DPP, en promedio los animales del grupo 1 (G1) parieron 15 días antes que el grupo 2 (G2). Si se observa la dinámica del G1, la totalidad de los animales del T1 hasta los 34 DDP promedio se

encontraban con un escore de 5, a los 55 DPP promedio el escore desciende por constatar una vaca con quiste folicular. Por otro lado, el T2 comenzó con niveles inferiores de escore debido a que había un animal con metritis clínica (con corrimiento fétido). A partir de los 34 DPP promedio se logró mejorar el escore debido a una efectiva respuesta al tratamiento aplicado (Ceftiofur, 2,2 mg/Kg/PV IM cada 24 horas por 4 días) para la metritis. En cuanto a la dinámica del escore reproductivo de los animales del G2, ambos tratamientos se comportaron de forma similar, comenzaron con scores entorno al 4, a partir de los 34 DPP promedio mejoran sus escores, correlativamente a los DPP.

Es de destacar que los escores para el G2 fueron inferiores que a los G1 debido a que los animales presentaban 15 DPP promedios menos.

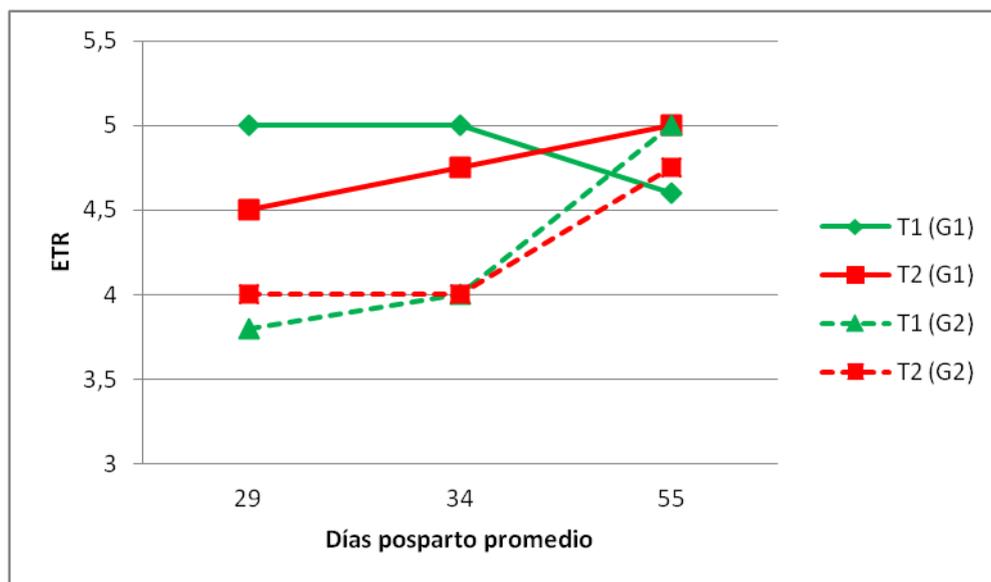


Figura 7. Escore del tracto reproductivo (Schwalbachet al, 2000) de vacas Holando de primera lactancia en dos tratamientos nutricionales (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas vs T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

En cuanto a la ciclicidad confirmada por presencia de cuerpo lúteo y comportamiento estral (cuadro VII), el T1 tuvo más vacas acumuladas ciclando durante todo el ensayo comparado con el T2, de todos modos estas diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$).

Cuadro VII. Porcentaje de ciclicidad confirmada por presencia de cuerpo lúteo y comportamiento estral, en vacas primípara Holando con dos tratamientos nutricionales (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas vs T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

Días Posparto	T1	T2
29	80% (8/10)	63% (5/8)
34	90% (9/10)	75% (6/8)
55	100% (10/10)	100% (8/8)

A los 38 DPP promedio se implementó un protocolo de sincronización de celo para observar la respuesta de los animales. Para la visualización de celo se utilizó el método de parches colocados al retiro del DIB. Del T2 presentaron celo el 63% (5/8) y en T1 el 80% (8/10).

Luego de la sincronización y al inicio de la temporada de servicios, se dieron dos oportunidades de servicio artificial con detección de celo a todas las vacas y se registraron número de servicios, servicios por concepción, y porcentaje de preñez en cada uno de los dos tratamientos alimenticios estudiados.

El porcentaje de preñez del T2 fue de 63% (5/8) vs 40% (4/10) en las del T1. Para preñar un animal del T2 se requirió 2,4 servicios por concepción vs 3,3 para los animales del T1.

Cuadro VIII. Resultados reproductivos en vacas primípara Holando en dos tratamientos nutricionales (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas vs T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

	Días posparto-Inseminación artificial	Servicios totales	Servicios Promedios	Servicios por Concepción	%Preñez	%Vacías
T1	92	13	1,3	3,3	40	60
T2	95	12	1,5	2,4	63	37

8.8 Monitoreo de hormonas metabólicas.

8.8.1 Insulina.

La figura 8 muestra la evolución de los niveles de insulina para los diferentes tratamientos alimenticios posparto. Durante todo el posparto del ensayo, el T1 muestra en promedio mayor concentración de insulina. Aunque no significativa la diferencia en el posparto temprano, el nivel de insulina para el T2 fue inicialmente más alto que para el T1, pero esta situación se revierte a los 30 DPP

aproximadamente, donde el T1 mostro mayores niveles. Estas diferencias no fueron significativas ($p>0,05$). A los 40 DPP los niveles de insulina para ambos tratamientos tienden a igualarse permaneciendo casi constantes hasta el fin del ensayo (diferencias no significativas ($p>0,05$)).

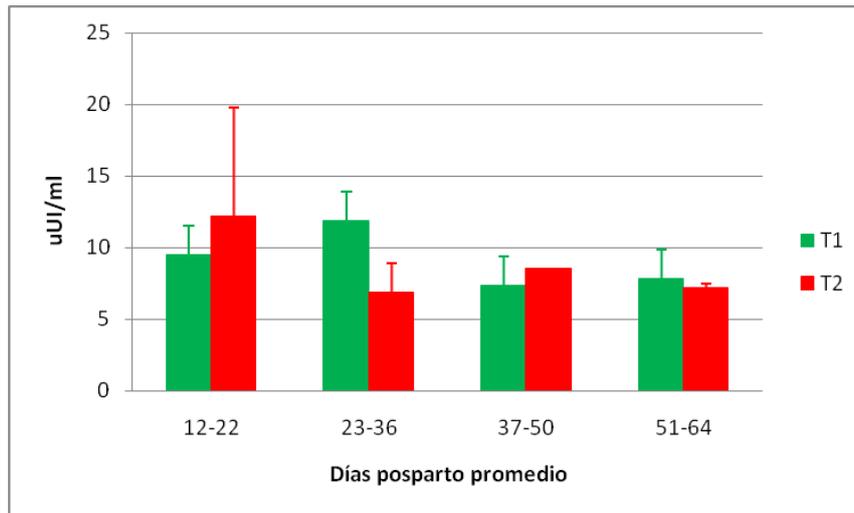


Figura 8: Evolución de los niveles promedio de insulina en vacas primíparas Holando, en dos estrategias de alimentación. Barras verde (T1: pastoreo AM +dietas parcialmente mezcladas), barras roja (T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

8.8.2 Leptina.

La dinámica de leptina se muestra en la figura 9. A medida que avanzan los DPP el nivel de leptina fue incrementando gradualmente en ambos tratamientos. El T2 durante la mayoría del posparto mantuvo niveles ligeramente superiores de leptina, aun así estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p>0,05$).

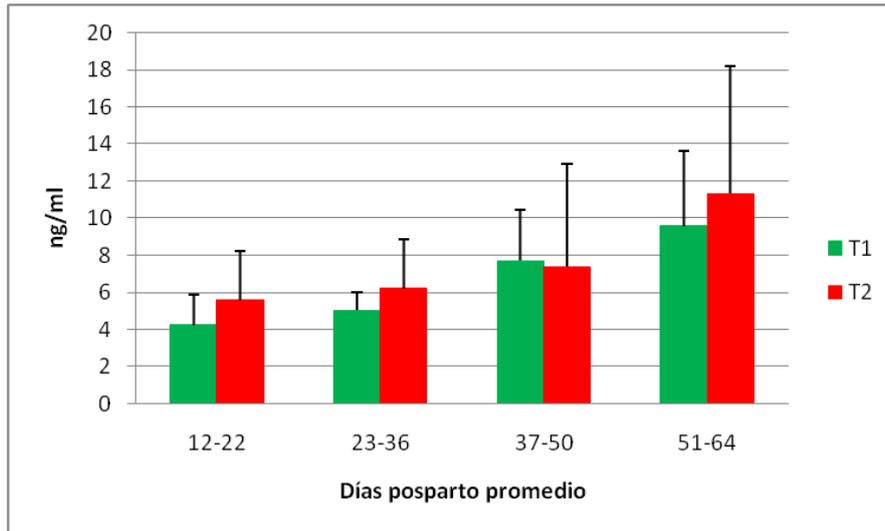


Figura 9: Dinámica de Leptina sérica posparto en vacas Holando de primera lactancia, en dos tratamientos nutricionales (T1: pastoreo AM + dietas parcialmente mezcladas; T2: exclusivamente dieta totalmente mezclada *ad libitum* en corral).

9. DISCUSION

Con respecto al PV y CC preparto para ambos tratamientos, se puede atribuir a que mientras los animales se encontraban en el preparto tuvieron incremento de ambas variables, donde solo requerían energía para mantenimiento y desarrollo fetal. Los animales permanecían en un corral con una dieta aniónica conforme a sus requerimientos para dicho periodo, a lo que no tenían gastos adicionales de energía en búsqueda y recolección del alimento. Como era de esperar, tres semanas previas al parto comienza el período de transición metabólica, en que el balance energético resulta negativo por la falta de capacidad de ingesta de alimentos acorde a la demanda. Dicho BEN se agudiza luego del parto con el inicio de la lactancia, y ambos tratamientos pierden PV y CC. La pérdida de peso inmediata luego del parto se corresponde al ternero y sus anexos (placenta y líquido amniótico). Además inicia un fuerte proceso de movilización de reservas corporales para satisfacer la demanda de la glándula mamaria. Al movilizar sus reservas, los animales bajan de peso y CC para satisfacer la producción de calostro y leche. Este BEN se extiende hasta las tres semanas posparto en que la producción de leche se incrementa aumentando la pérdida de reservas corporales para mantener la producción de leche (Meikle et al., 2004; Chilliard et al., 1999). La CC puede ser de gran utilidad para medir de forma indirecta el BEN de los animales y sus reservas corporales (Grummer, 2004). Teniendo en cuenta que se trata de vacas primíparas, a las causas anteriores de pérdida de CC posparto se le suma un porcentaje de energía que los animales deben destinar para su desarrollo corporal (Meikle et al., 2004).

En el ensayo se observó que el T2 pudo contrarrestar antes y de mejor forma la pérdida de PV, aunque las diferencias no fueron significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos. Esto puede explicarse a que estos animales tuvieron un gasto menor de energía en desplazamientos (700 metros de diferencia entre tratamientos por día) y en la cosecha de la pastura en la pradera, además un mayor CMS. La situación fue la opuesta para los animales del T1 que si debían gastar energía extra para la búsqueda y cosecha de pastura más los desplazamientos desde y hacia la pradera. Resultados similares observaron otros investigadores (Kolver y Muller, 1998).

Durante el ensayo se visualizó el incremento progresivo del consumo en el posparto temprano, causado por la recuperación de la capacidad ruminal y la adaptación ruminal a la nueva dieta posparto. Por otro lado se observó el límite de consumo, ya que los animales del T2 tenían alimento *ad libitum*, llegando al máximo consumo de 20 Kg de alimento en MS, mientras que para el T1 fue de 18,52 KgMS. La diferencia en el CMS entre ambos tratamientos puede estar dada a que la DTM contiene mayores carbohidratos de fácil digestión permitiendo un mayor CMS por día (Fajardo, 2013).

La producción promedio de leche durante el período experimental mostro una diferencia no significativa a favor del T2 de 4,6 % respecto al T1 ($27,17 \pm 2,45$ vs

25,97 ± 2,43 L/vaca/d, $p > 0,05$, respectivamente). La falta de significancia estadística puede ser debida a la cantidad de animales en cada tratamiento, y el T2 alimentadas en base a la DTM con consiguieron expresar productivamente la mayor cantidad de almidón y una mayor producción de leche (Cooke y Bernard, 2005), aunque tuvieron mayor CMS. Además el gasto de energía en caminatas y la actividad del pastoreo no afecta cuándo son alimentadas con DTM en confinamiento. En el T1, el potencial de producción de leche no se explota completamente cuando se utilizan sólo pasturas (Kolver y Muller, 1998; Kolver, 2003), especialmente en la lactancia temprana (Morales et al., 2010); ese gasto energético posiblemente en nuestro ensayo se pudo compensar aproximándose al tratamiento sólo con DTM.

En cuanto a la composición de la leche producida (grasa, proteína y lactosa), se destaca que la proteína del T1 fue levemente mayor (no significativa, $p > 0,05$) comparado con el T2. Olmos y Broderick (2006) realizaron un trabajo donde indican que cambiando los niveles de PC en la dieta, no se obtienen efectos significativos sobre la concentración de proteína láctea. Por otro lado, la concentración de grasa fue superior para el T2 (no significativa, $p > 0,05$); según los trabajos de Jenkins y McGuire (2006) y Gallardo (2006), indican que cambiando la relación entre forraje y concentrado en la dieta se puede variar la concentración de ácido acético y butírico en el rumen para la síntesis de grasa en un rango tan amplio como de 2% a 4%. Por último, la concentración de proteína, grasa y lactosa del T1 fue similar al T2 (no significativo, $p > 0,05$).

En los sistemas lecheros, el ingreso por producción de leche está estrechamente vinculado con la optimización de la producción en base a pasto. Esto se comprobó en el ensayo, ya que el costo de producción por litro de leche es menor en los sistemas de producción que incluyen pastoreo (T1 0,11 vs T2 0,12 U\$S), dando mejores márgenes económicos (T1 0,13 vs T2 0,11 U\$S/L), ya que las pasturas resultan ser el alimento más económico aportando los nutrientes necesarios para la producción de leche. Esto márgenes económicos son discutibles dependiendo de cada sistemas de producción y grado de tecnificación, además de variables externas como inclemencias climáticas o precios de insumos para formular las correspondientes dietas.

Los parámetros reproductivos evaluados en este ensayo fueron, la recuperación posparto del aparato reproductor a través del score de Schwalbach et al., (2000), el reinicio de la ciclicidad posparto y la respuesta a un protocolo de sincronización de celo, en términos de manifestación de celos y ovulación. Drackley (1999) constata que es necesario contar con un gran número de vacas para poder reportar datos significativos sobre los parámetros reproductivos discretos; también que trabajando con vacas en transición, los desórdenes hormonales y de salud que existe en este periodo influyen en el resultado reproductivo final. En el ensayo las variables reproductivas no fueron diferentes entre tratamientos ($p > 0,05$), y la falta de significancia puede deberse al escaso número de animales por tratamiento. Las vacas del T1 presentaron una mayor ciclicidad durante el ensayo, por otro lado si se

observa el score de tracto reproductivo, el T1 comenzó con valores superiores respecto al T2, esto se lo atribuimos a que un animal del T2 en la primera evaluación reproductiva presentó metritis clínica, bajando el score promedio del T2.

De la respuesta al protocolo de sincronización se destaca que, el 80% (8/10) de los animales del T1 manifestaron conducta de celo mientras que el 63% (5/8) de los animales del T2 lo hizo. Vale destacar que los animales del T2 por permanecer en confinamiento no tuvieron las mismas posibilidades de interactuar con el resto de los animales para expresar el celo (tiempo de interacción previo al ordeño). Una posible explicación en las diferencias de los parámetros reproductivos podría ser que los animales del T1 presentaron niveles de insulina levemente superiores a los 30 DPP, permitiendo una mejor función gonadotropa que ayudó a retomar antes la ciclicidad, logrando un RO más precoz con mejores respuesta a la sincronización.

Baeck (2012) estudió que el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) es un indicador del estado energético y juega un rol importante en el control del metabolismo y la reproducción. Durante los días previos al parto se desencadenan una serie de cambios hormonales que reorientan la partición de nutrientes para proveer a la ubre de altas cantidades de glucosa. Otros cambios hormonales se producen para la síntesis de leche involucrando a hormonas como a la GH, sus receptores, IGF-1, y a la insulina entre otros. En los 2 o 3 días previo al parto se produce una disminución marcada de la actividad de los receptores hepáticos de GH, que permanecen bajo durante los 7 a 10 días y se recuperan lentamente durante la segunda semana de lactancia (periodo de resistencia a la GH), se asocian altos niveles de insulina y bajos de GH. Lo antes dicho se vio reflejado en el ensayo, ya que en los primeros DPP se registró altas concentraciones de insulina para luego ir disminuyendo. Al bajar la insulina se ve estimulada la unión GH con su receptor en el hígado. La respuesta combinada de alta GH y baja insulina es una activa movilización de grasa del tejido adiposo en forma de NEFA. Se puede concluir que según la figura 8 donde muestra los niveles de insulina posparto, los animales del T1 hasta los 22 DPP, movilizaron más energía por presentar menores niveles de insulina, luego de los 23 DPP esta situación se revierte y el T2 presenta menores niveles de insulina tendiendo a movilizar más reservas.

En el caso de la leptina, ésta es sintetizada por el tejido adiposo y se relaciona con el control hipotalámico de la homeostasis del cuerpo, mandando señales aferentes sobre las reservas de grasa del cuerpo y regulando el apetito (Meikle et al., 2004). Posiblemente los animales del T2 se encontraban más saciados que los animales del T1. Por otro lado, la leptina cumple la función de ser antagonista de la insulina (Houseknecht et al, 1998), esto se comprueba comparando las figuras 8 y 9, donde se aprecia que al aumentar la concentración de leptina disminuye la de insulina.

En el ensayo, previo a la implementación de un protocolo de sincronización, se observó la expresión de celo. En el T2 se visualizaron 4 celos vistos vs 1 celo del T1; si lo antes dicho se asocia con los niveles de leptina el T2 obtuvo concentraciones

levemente mayores, lo que se podría asemejar a los resultados obtenidos por Hess (2005), el cual demostró que hay una relación directa entre elevados niveles de leptina y la expresión de celo.

10. CONCLUSIONES

El uso de DPM permitió alcanzar la producción del grupo DTM, aunque no equiparó el mayor CMS del DTM durante el periodo experimental. La producción de leche no tuvo diferencias marcadas hasta los 48 DPP, y luego se igualan hasta finalizar el ensayo.

El cálculo del costo y margen por alimentación reafirma que sigue siendo económicamente rentable la producción de leche en base a pasturas, con mejores márgenes económicos. Los sistemas de alimentación mixtos tipo DPM + P permiten afrontar de mejor forma situaciones críticas como lo son las crisis forrajeras o el aumento de costos de insumos para la elaboración de las DTM. La decisión para implementar estas estrategias de alimentación va a depender de cada sistema productivo.

De las variables reproductivas estudiadas, la que más se destacó fue la respuesta al protocolo de sincronización de celo, siendo mayor para el T1 respecto a T2. Si bien en este ensayo tuvimos un número limitado de animales, estas diferencias en porcentajes llaman la atención y sugieren realizar nuevos trabajos con más vacas para confirmar tales diferencias.

11. BIBLIOGRAFIA

- 1) Acosta, Y.; Ricardo Cavassa (2008). *Planilla LECHERAS*. Disponible en: www.eleche.com.uy/files/planilla-lechera-w-2008?es. Fecha de consulta: 4 de Octubre de 2016.
- 2) Adrien, L.; Meikle, A.; Soca, P.; Mattiauda, D.; Chilbroste, P. (2008). *Sward allowance at early lactation of primiparous dairy cows: IV Body condition score and reproductive parameters*. XXI International Grassland Congress 2008, Multifunctional Grassland in a Changing World, p. 486.
- 3) Adrien, L. (2010). *Regulación nutricional del estado corporal al inicio del periodo de transición en vacas lecheras en condiciones de pastoreo*. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, total de páginas 73.
- 4) Baeck, J. (2012). *Transición de la vaca lechera. Nuevos criterios nutricionales que desafían nuestros paradigmas*. VI Congreso de conservación de forrajes y nutrición, 25 y 26 de Octubre 2012. Mendoza – República Argentina, p. 1 – 11.
- 5) Bargo, F.; Muller, L.; Varga, G.; Delahoy, J.; Cassidy, T. (2002). *Ruminal digestion and fermentation of high-producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations*. Journal of Dairy Science. 85: 2964-2973.
- 6) Bassett, J.; Weston, R.; Hogan, J. (1971). *Dietary regulation of plasma insulin and growth hormone concentration in sheep*. Australian Journal of Biology Science. 24:321-330.
- 7) Bauman, D.; Currie, W. (1980). *Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis*. Journal of Dairy Science 63:1514-1529.
- 8) Beam, S.; Butler, W. (1999). *Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows*. Journal Reprod. Fert. Suppl. 54: 411-424.
- 9) Berglund, B. (2008). *Genetic improvement of dairy cow reproductive performance*. Reprod. Dom. Anim. 43 (Suppl 2): 89–95.
- 10) Block, E. (1984). *Manipulating dietary anions and cations for prepartum dairy cows to reduce incidence of milk fever*. Journal of Dairy Science. 67: 2939-2948.
- 11) Bo, G.; Cutaia, L.; Tríbulo, R. (2002). *Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina*. Taurus 4(14):10-21.
- 12) Burke, C.; Roche, R. (2007). *Effects of pasture feeding during the periparturient period on postpartum anovulation in grazed dairy cows*. Journal of Dairy Science. 90: 4304-4312.
- 13) Butler, R. (2006). *Relationship of negative energy balance with fertility*. Advances in Dairy Technology. 17: 35 - 46.
- 14) Cavalieri, J.; Hepworth, G.; Fitzpatrick, L.; Shepard, R.; Macmillan, K. (2006). *Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows*. Teriogenology 65: 45-64.

- 15) Cavestany, D.; Blanc, J.; Kulcsar, M.; Uriarte, G.; Chilibroste, P.; Meikle, A.; Febel, H.; Ferraris, A.; Krall, E. (2005). *Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: Metabolic profiles*. Journal Vet Med A. 52:1-7.
- 16) Cavestany, D.; La Manna, A.; Mendoza, A. F.; Albanell, F.; Belassi, S.; Olariaga, F.; Pérez, M.; Silva, A. (2006). *Efecto de diferentes dietas durante el periodo de transición (PT) sobre la producción y calidad de leche y en inicio de la actividad ovárica de vacas lecheras de pastoreo*. INIA Serie de actividades de difusión. N° 455, p. 9-16.
- 17) Cavestany, D.; Kulcsár, M.; Crespi, D.; Chilliard, Y.; Lamanna, A.; Balogh, O.; Keresztes, M.; Delavaud, C.; Huszenicza, G.; Meikle, A. (2009). *Effect of prepartum energetic supplementation on productive and reproductive characteristics, metabolic and hormonal profiles in dairy cows under grazing conditions*. Reprod Dom Anim 44: 663-671.
- 18) Charmandarian, A. (2013). *Manejo reproductivo en el tambo*. Producir XXI, Bs. As., 21 (262): 32-38.
- 19) Chilibroste, P y Battezzato, G. (2014). *Proyecto producción competitiva*. Montevideo, CONAPROLE, p. 31.
- 20) Chilibroste, P.; Mattiauda, D.; Soca, P.; Meikle, A. (2008). *Sward allowance at early lactation of primiparous dairy cows: I- Milk yield and composition*. VIII International Rangeland Congress, China, p. 491.
- 21) Chilibroste, P.; Soca, P.; Mattiauda, D. (2012). *Estrategias de alimentación en sistemas de producción de leche de base pastoril*. Pasturas 2012: Hacia una ganadería competitiva y sustentable. Revista Cangue. Disponible en: www.eemac.edu.uy/cangue/joomdocs/cangue032_chilibroste.pdf. Fecha de consulta: 15 de Febrero de 2016.
- 22) Chilliard, Y. (1999). *Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal*. En: Martinet, J.; Houdebine, L., Head, H. H.(ed) Biology of Lactation. Paris, INRA. p. 503-552. Disponible en: <http://prodinra.inra.fr/record/67646>. Fecha de consulta 8 de Agosto de 2016.
- 23) Chilliard, Y.; Bocquier, F.; Doreau, M. (1998). *Digestive and metabolic adaptations of ruminants to under nutrition, and consequences on reproduction*. Reprod Nutr Dev 38: 131-152.
- 24) Cooke, K.; Bernard, J. (2005). *Effect of length of cut and kernel processing on use of corn silage by lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science 88:310-316.
- 25) De Rensis, F.; López-Gatius, F. (2014). *Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review*. Reproduction in Domestic Animals 49: 177-182.
- 26) Delavaud, C.; Ferlay, A.; Faulconnier, Y.; Bocquier, F.; Kann, G.; Chilliard, Y. (2002). *Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level and meal intake*. Journal of Animal Science 80:1317-1328.
- 27) Dillon, P.; Berry, D.; Evans, R.; Buckley, F.; Horan, B. (2006 a). *Consequences of genetic selection for increased milk production in European seasonal pasture based systems of milk production*. Livestock Science, 99: 141-158.

- 28) Dillon, P. (2006 b). *Achieving high dry-matter intake from pasture with grazing dairy cows*. En: Elgersma, A., Tamminga, S. Fresh herbage for dairy cattle Springer Dordrecht, The Netherlands, p. 1-26.
- 29) Dobson, H.; Walker, S.; Morris, M.; Routly, J.; Smith, R. (2007). *Why is it getting more difficult to successfully artificially inseminate dairy cows?* Proc Fertility. En: Dairy Cows-Bridging the Gaps, Liverpool Hope University, Liverpool UK 4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2854809/> . Fecha de consulta 2 de Marzo de 2016.
- 30) Drackley, J. (1999). *Biology of dairy cow during the transition period: the final frontier?* Journal of Dairy Science 82:2259-2273.
- 31) Edmonson, A.; Lean, I.; Weaver, L.; Farver, T.; Webster, G. (1989). *A body condition scoring chart for Holstein dairy cows*. Journal of Dairy Science 72: 68-79.
- 32) Espino, L.; Suárez, M.; Santamarina, G.; Goicoa, A.; Fidalgo, L. (2004). *Utilización de las sales aniónicas en la prevención de la paresia puerperal hipocalcémica*. Arch. Med. Vet., 36(1): 7-13.
- 33) Fajardo, M (2013). *Integración de pastura y dietas totalmente mezcladas en la alimentación de vacas Holando a inicio de lactancia*. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias opción Ciencias Animales. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. 64 p.
- 34) Ferguson, J.; Galligan, D.; Thomsen, N. (1994). *Principal descriptors of body condition score in Holstein cows*. Journal of Dairy Science. 77:2695-2703.
- 35) Gallardo, M. (2006). *Alimentación y composición química de la leche*. E.E.A. INTA Rafaela. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar. Fecha de consulta 2 de Marzo de 2016.
- 36) García, S.; Fulkerson, W. (2005). *Opportunities for future Australian dairy systems a review*. Aust. J. Exp. Agric. 45: 1041-1055.
- 37) Gatica, R. (1993). *Causas, incidencia, control y tratamiento de Anestro*. XXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay. pp: C1-C24.
- 38) Goff, J; Horst, R. (2003). *Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcaemia (Milk fever) - the DCAD theory in principal and practice*. Act Vet Scand. 97: 51-56.
- 39) Grant, D. (1980). *Changes of protein composition of milk by ratio of roughage to concentrate*. Journal of Dairy Science, 63: 765-761.
- 40) Grant, R.; Albright, J. (2001). *Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle*. Journal of Dairy Science. 84 (E. Suppl.): E156-E163.
- 41) Grummer, R. (1995). *Impact of changes in organic nutrient metabolism feeding the transition dairy cow*. Journal of Animal Science. 73: 2820-2833.
- 42) Grummer, R.; Mashek, D.; Hayirli, A. (2004). *Dry matter intake and energy balance in the transition period*. Vet. Clin. N. A Food Anim. Pract. 20: 447-470.
- 43) Gröhn, Y. y Rajala-Schultz, P. (2000). *Epidemiology of reproductive performance in dairy cows*. Anim. Repro. of Sci. 60-61:605-614.

- 44) Hafez, E...; Jainudeen, M.; Rosnina, Y. (2007). *Hormonas factores de crecimiento y reproducción*. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. Mc Grawhill. México DF; 33-55. Total de paginas 519.
- 45) Hess B.; Lake S.; Scholljegerdes E.; Weston T.; Nayigihugu V.; Molle J. y Moss, G. (2005). *Nutritional controls of beef cows reproduction*. Journal of Animal Science. 83:E90-106.
- 46) Houseknecht, K.; Portocarrero, C. (1998). *Leptin and its receptors: regulators of whole body energy homeostasis*. Domestic Animal Endocrinology. 15 (6): 457-475.
- 47) Ingvartsen, K.; Andersen, J. (2000). *Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals*. Journal of Dairy Science 83:1573–1597.
- 48) Jenkins, T.; McGuire, M. (2006). *Major advances in nutrition: impact on milk composition*. Journal of Dairy Science, 89: 1302-1310.
- 49) Kobayashi, Y.; Boyd, C.; Bracken, C.; Lamberson, W.; Keisler, D.; Lucy, M. (1999). *Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor I**. Endocrinology 140: 3947-3954.
- 50) Kolver, E.; Müller, L. (1998). *Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration*. Journal of Dairy Science 81:1403-1411.
- 51) Kolver, E. (2003). *Nutritional limitations to increased production on pasture based systems*. Proc. Nut. Soc. 62: 291-300.
- 52) Krall, E.; Bonnacarrere, L. (1997). *Relación entre el estado corporal y la producción de leche y su composición*. Revista Cangué (EEMAC). N°11: 2-6.
- 53) Lucy, M. (2001). *Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?* Journal of Dairy Science. 84: 1277-1293.
- 54) Lucy, M.; McDougall, S.; Nation, D. (2004). *The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture based management systems*. Anim. Reprod. Sci 82-83, 495-512, 2004.
- 55) Maza, A.; Salgado, R. y Vergara, O. (2001). *Efecto de la condición corporal al parto sobre el comportamiento reproductivo y variación de peso corporal posparto de vaca mestizas lecheras*. Revista. MVZ-CORDOBA, 6 (2), 75-80.
- 56) Meikle, A.; Kulcsar, M.; Chillard, Y.; Febel, H. ;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.
- 57) Meikle, A.; Cavestany, D.; Carriquiry, M.; Adrien, M.; Ruprecht, G; Rovere, G.; Peñagaricano, F; Mendoza, A.; Pereira, I.; Mattiauda, D.; Chilibroste, P. (2011). *Endocrinología metabólica en la vaca lechera durante el período de transición y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica*. Agrociencia 14(3):89-95. Disponible en: <http://www.spluy.com/publicaciones.html> . Fecha de consulta 8 de Octubre de 2015.

- 58) Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca DIEA (2015). *Anuario Estadístico agropecuario*. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2015,O,es,0>. Fecha de consulta 2 de Marzo 2016.
- 59) Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca DIEA. (2016). *Estadística del sector lácteo 2014*, N° 332. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-ipr-produccion-animal-lecheria,O,es,0>. Fecha de consulta 2 de Marzo del 2016.
- 60) Morales, A.; Soldado, A.; Gonzalez, A.; Martínez, F.; Domínguez-Vara. I.; de la Roza-Delgado, B.; Vicente, F. (2010). *Improving the fatty acid profile of dairy cow milk by combining grazing with feeding of total mixed ration*. Journal of Dairy Res. 77: 225-230.
- 61) Morales J.; Cavestany D. (2012). *Anestro posparto en vacas lecheras: tratamientos hormonales*. Veterinaria (Montevideo) 48 (188) 3-11.
- 62) Odde, K. (1990). *A review of synchronization of estrus in postpartum cattle*. Journal of Animal Science. 68, 817-830.
- 63) Olmos, J.; Broderick, G. (2006). *Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows*. Journal of Dairy Science, 89, 1704-1712.
- 64) Pereira, I.; Laborde, D.; Carriquiry, M.; López-Villalobos, N.; Meikle, A. (2010). *Blood metabolic profiles in Uruguayan Holstein and Uruguayan Holstein x New Zealand Holstein-Friesian dairy cow*. Proc New Zeal Soc Anim Prod 70: 311-315.
- 65) Pomiés, N. (2014). *Combinación de diferentes niveles de forraje fresco y ración totalmente mezclada en dietas de vacas lecheras: Efecto sobre el aprovechamiento digestivo*. Tesis de Maestría en Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Total de paginas 46.
- 66) Rémond, B.; Cisse, M.; Ollier, A.; Chilliard, Y. (1991). *Slow release somatotropin. in dairy helpers and cows fed two levels of energy concentrate. 1. Performance and body condition*. Journal of Dairy Science 74: 1370-1381.
- 67) Rovere, G.; Sotelo, F.; Valena, J.; Slavica, J. (2007). *Mejoramiento Lechero y el monitoreo reproductivo de los tambos uruguayos*. IX Congreso Holstein de las Américas – Colonia, Uruguay. Abril 2007. CD ROM.
- 68) Royal, M.; Flint, A.; Woolliams, J. (2002). *Genetic and phenotypic relationships among endocrine and traditional fertility traits and production traits in holsteinfriesian dairy cows*. Journal of Dairy Science 85: 958–967.
- 69) SAS v. 9.1.3 (2010). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- 70) Schwalbach, L.; Greyling, J.; Taylor, G. (2000). *Postpartum reproductive tract score in beef cows- a proposed method*. South African Journal of Animal Science, 30 (suppl 1): 120-121.
- 71) Schillo, K. (1992). *Effects of dietary energy on control of luteinizing hormonal secretion in cattle and sheep*. Journal of Animal Science 70: 1271-1282.
- 72) Sotelo, F. (2012). *La vaca lechera promedio del quinquenio 2007-2011*. Informe de Primavera 2012, el comportamiento productivo y reproductivo de la vaca promedio de mejoramiento lechero. Disponible en:

http://www.mejoramientolechero.org.uy/pdf/a_vacarom07-11.pdf. Fecha de consulta 3 de Marzo 2015.

- 73) Vazquez-Añon, M.; Betrics, S.; Luck, M.; Grummer, R. (1994). *Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows*. Journal of Dairy Science. 77: 1521-1528.
- 74) Veiga, P.; Montiel, J.; Chayer, R.; Uslenghi, G.; Callejas, S. (2011). *Effect of different esters of estradiol used to synchronize ovulation on pregnancy rate to FTAI En: Angus heifers*. Universidad de Buenos Aires, Argentina. In Vet 13(2): 39-45.
- 75) Wales, W.; Marret, L.; Greenwood, J.; Wright, M.; Thornhill, J.; Jacobs, J.; Ho, C.; Auldish, M. (2013). *Use of partial mixed rations in pasture based dairying in temperature regions of Australia*. Anim. Prod. Sci. 53: 1167-1178.
- 76) Wall, E.; Brotherstone, S.; Woolliams, J.; Banos, G.; Coffey, M. (2003). *Genetic evaluation of fertility using direct and correlated traits*. Journal of Dairy Science 86: 4093–4102.
- 77) Wathes, D.; Taylor, V.; Cheng, Z.; Mann, G. (2003). *Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows*. Reproduction (Suppl 61): 219–237.
- 78) Wetterman, R. (2013). *Nutritional influence on reproduction of beef cows*. Serie tecnica INIA. 208:247-264.
- 79) Whitaker, D.; Goodger, W.; Garcia, M.; Perera, B.; Wittwer, F. (1999). *Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms*. Preventive Veterinary Medicine. 38 (2-3):119- 131.
- 80) Wildman, E.; Jones, G.; Wagner, P.; Bowman, R.; Trout, H.; Lesch, T. (1982). *A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production variables in high-producing Holstein dairy cattle*. Journal of Dairy Science. 65: 495.
- 81) Wiltbank, M. (1994). *Cell types and hormonal mechanisms associated with mid-cycle corpus luteum function*. Journal of Animal Science; 72:1873-1883.
- 82) Wiltbank, M.; Gumen, A.; Sartori, R. (2002). *Physiological classification of anovulatory conditions in cattle*. Theriogenology 57: 21-52.
- 83) Yang, W.; Beauchemin, K. (2007). *Altering physically effective fiber intake through forage proportion and particle length: Digestion and milk production*. Journal of Dairy Science, 90, 3410-3421.
- 84) Zebeli, Q.; Dijkstra, J.; Tafaj, M.; Steingass, H.; Ametaj, B.; Drochner, W. (2008). *Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet*. Journal of Dairy Science, 91: 2046-2066.