

Endocrinología metabólica en la vaca lechera durante el período de transición y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica

A. Meikle¹, D. Cavestany¹, M. Carriquiry², ML Adrien¹, G. Rupprechter¹, G. Rovere², F. Peñagaricano², A. Mendoza¹, I. Pereira³, D Mattiauda², P. Chilbroste²

¹ *Facultad de Veterinaria.*

² *Agronomía, Universidad del Uruguay, Montevideo y Paysandú, Uruguay.*

³ *Profesión liberal, Florida, Uruguay.*

Resumen

La producción de leche se ha duplicado en las últimas décadas y concomitantemente el desempeño reproductivo ha disminuido. Las limitantes reproductivas son el reinicio de la ciclicidad ovárica luego del parto y la mortalidad embrionaria temprana. Esta revisión resume algunos trabajos realizados en los últimos 10 años respecto de los cambios metabólicos y endócrinos durante el periparto y su relación con el reinicio de la ciclicidad ovárica en vacas lecheras en nuestro país. Hemos caracterizado éstos cambios en vacas primíparas y multíparas durante el período de transición. Se realizaron estudios con dietas diferenciales en energía y proteína en el pre y postparto con el objetivo de modificar el comportamiento productivo y reproductivo, determinándose en ellos hormonas y metabolitos. Los autores concluyen que los indicadores endócrinos y metabólicos son buenas herramientas de diagnóstico que integran la memoria metabólica y el estado nutricional reciente, siendo esenciales para comprender como el eje reproductivo es informado respecto del balance energético negativo que ocurre en este periodo.

Desempeño reproductivo de la vaca lechera actual

La selección genética por producción de leche durante las últimas décadas ha sido asociada con una disminución de los indicadores reproductivos; la información es consistente en señalar tasas de preñez de entre un 20 a 30 % menores desde la década del '60 al presente en diferentes países (Roche y col., 2000; Lucy 2001; Royal y col., 2002). Esto se ha asociado con la introducción del Holando de alta producción en la producción lechera internacional. 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 tipo de biotipo de alta producción en combinación con cambios tecnológicos en los sistemas de producción permitió que la producción de leche se multiplicara por 2,6 veces entre 1980 y 2000 (MGAP, DIEA, 2003).

No poseemos estudios reproductivos como los mencionados como para señalar que los índices reproductivos en nuestro país han disminuido favorecidos por la fuerte presión genética a favor de la producción de leche y/o por la mejora productiva consecuencia de mejoras en el manejo nutricional. Sin embargo, estudios realizados considerando mas de 200 mil lactancias, reportan que el intervalo parto-concepción (IPC) fue de 131 días en el período de 1997-2001 y de 150 días entre 2001-2005 (Rovere y col. 2007). Estos datos y el intercambio entre técnicos y productores apoyan la idea de que nuestro país no escapa a esta situación: la causa de descarte más importante es que el animal no se preña.

Las características reproductivas son consideradas de baja heredabilidad (Wall y col., 2003). La fertilidad es un carácter complejo compuesto 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

últimas décadas (Dobson y col., 2007), lo que complica aún más la eficiencia reproductiva en los rodeos lecheros. A partir de las evidencias del deterioro de la capacidad reproductiva de la población lechera y a pesar de la dificultad de los registros y la baja heredabilidad de la fertilidad (Lawlor, 2006), desde fines de los noventa, la mayoría de los índices de selección utilizados en los programas de selección, en distintos países, comenzaron a incluir características reproductivas (www.interbull.org).

La primera limitante del logro reproductivo de una vaca lechera es que comience a ciclar luego del parto (intervalo parto a reinicio de la ciclicidad ovárica, **RO**), lo cual se puede determinar en forma precisa midiendo los niveles de progesterona en leche o sangre. Las estimaciones de heredabilidades de **RO** utilizando la medida de la progesterona en leche como indicador de reinicio de actividad luteal postparto han sido mayores a las estimaciones tradicionales, presentándose como una herramienta a considerar en el área de la mejora genética (Berglund, 2008). Basados en estas determinaciones, se reportan h^2 del 16 - 21 % y correlaciones genéticas importantes con características tradicionales de fertilidad (Royal *et al.*, 2002).

Recientemente hemos determinado progesterona en leche dos veces por semana durante los primeros 90 días postparto en aproximadamente 900 vacas lecheras de uno, dos y tres partos – hijas de 170 toros- en 7 tambos comerciales en diferentes regiones de nuestro país (datos aún no publicados). Mientras que en algunos tambos el promedio de **RO** fue de 25 a 30 días, en otros el promedio fue de 43 a 50 días. Tanto la condición corporal (**CC**) al parto como la pérdida de **CC** del parto a los 60 días afectaron el **RO**. Por último, se comprobó que el número de muestras con concentraciones luteales de progesterona en relación al total de muestras obtenidas en los primeros dos meses postparto impactan positiva y significativamente sobre los intervalos parto primer servicio (**IPS**) y a concepción (**IPC**). A modo de ejemplo, un animal que no reinició la ciclicidad ovárica durante este período presenta un alargamiento del **IPS** de 67 días frente a otro que presente todas sus muestras positivas a progesterona. Similares resultados se encontraron para el **IPC**, siendo la dife-

rencia menor (21 días), aunque en vacas de primer parto implicó un valor aproximado de 43 días. En vacas multiparas, vacas con intervalo entre partos largos presentaron **RO** más largas, sugiriendo repetibilidad en el comportamiento reproductivo. Los resultados preliminares obtenidos sostienen que la determinación de progesterona en leche puede ser un indicador a tener en cuenta no sólo para el mejoramiento genético, sino para la mejora del manejo reproductivo del rodeo.

Si bien la energía necesaria para los eventos reproductivos como ovulación, fertilización y mantenimiento temprano de la preñez es despreciable, están íntimamente asociados con el balance energético durante este período. El balance energético no sólo es el factor más crítico que afecta la eficiencia reproductiva sino que además afecta la salud animal y la producción de leche (Butler y col., 1981).

Período de transición: caracterización endócrina y metabólica de la vaca

La transición del estado preñada no lactante al no preñado lactante es un cambio dramático para la vaca, que debe adaptar su metabolismo durante las primeras semanas postparto a las fuertes exigencias que le demanda la producción y el cambio de régimen alimenticio acorde con su nuevo nivel de requerimientos (Drackley, 1999). Durante las últimas semanas de gestación la disminución (~30%) del consumo previo al parto (Grummer, 1995) promueve el balance energético negativo (**BEN**). 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 y esto es visible en la pérdida de **CC** (Chilliard, 1999). Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción de leche, evitar enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez (Grummer, 1995). El grado de utilización de nutrientes por parte de la glándula mamaria en vacas de alta producción es tal que Brown (1969) ha sugerido que la vaca debe ser concebida como un apéndice de la ubre y no viceversa. La severidad del **BEN** para cada vaca dependerá del potencial genético de pro-

ducción, de las reservas corporales, y de la capacidad ingesta de materia seca, siendo este último el factor más importante en determinar la magnitud del **BEN** (Ingvartsen y Andersen, 2000).

En particular en los sistemas de producción de leche pastoriles, las vacas no logran cosechar suficiente **MS** para sostener las altas producciones de leche para la que genéticamente tienen potencial (Kolver y Muller 1998; Chilbroste y col., 2010). En la generación del **BEN**, las vacas en pastoreo suman a sus requerimientos, la energía extra para cubrir las cuatro caminatas desde el potrero a la sala de ordeño. Esto da lugar a cuestionarse si el sistema productivo y la alimentación en particular especialmente en este período limitan o promueven la expresión del potencial genético de sus vacas.

Las variaciones en la ingesta, metabolismo y excreción durante este período pueden ser monitoreados por la concentración de algunos metabolitos en sangre. Al presente no hay un solo metabolito que pueda medirse que refleje directamente los cambios en el metabolismo o requerimientos nutricionales, por lo tanto se debe utilizar una combinación de éstos.

La gran movilización grasa que ocurre en pre y posparto temprano se acompaña de una pronunciada elevación de ácidos grasos no esterificados (**NEFA**). Este aumento de **NEFA** puede ser seguido de una producción aumentada de b-hidroxibutirato (**BHB**) el cual refleja la importante lipólisis y déficit energético. No solo los niveles de **NEFA** y **BHB** aumentaron en el periparto en vacas lecheras sobre pastoreo, sino que vacas con mayor **CC** movilizaron más **NEFA** que vacas con pobre **CC** en el preparto o al parto; ya sea **CC** inducida nutricionalmente (Adrien, 2010) o animales clasificados acorde a sus reservas corporales (Meikle y col., 2004; Cavestany y col, 2005; 2009, Pereira y col., 2010). Los altos niveles de **NEFA** al inicio de la lactancia se asociaron con una mayor abundancia de los transcritos en hígado de enzimas reguladoras de la β -oxidación (Carrquiry y col., 2010).

Los valores de albúmina y urea son buenos indicadores del nivel proteico de la alimentación. Vacas con dietas pobres en proteína compensan en parte el déficit a través de la movilización de sus reservas

corporales y la disminución de la eliminación renal de urea, lo que se refleja en pérdidas de peso, **CC** y disminución de la producción láctea (Whitaker y col., 1999). Por otro lado, el consumo diario de proteína está correlacionado positivamente con el consumo de **MS** que gradualmente se incrementa durante el posparto. Los resultados de los trabajos realizados en nuestro país son consistentes en señalar que los compuestos nitrogenados disminuyen alrededor del parto y están vinculados a la dieta de los animales (Cavestany y col., 2005, 2009; Meikle y col., 2006; Adrien y col., 2008, datos no publicados; 2010, Pereira y col., 2010).

La regulación que involucra la coordinación y orquestación de estos cambios en el metabolismo de los tejidos/órganos que asegura un flujo uniforme a la glándula mamaria y apoya la lactancia se define como teleoforesis u homeorhesis (Bauman y Currie, 1980). La hormona del crecimiento (**GH**), hormona teleoforética por excelencia, promueve el uso de estos nutrientes por la ubre, pues «apaga» el consumo del combustible esencial (glucosa) por los tejidos periféricos. Una estrategia utilizada por la vaca lechera de alta producción es desacoplar el eje somatotrófico, o sea, insensibilización hepática a la **GH** (menores concentraciones del receptor de **GH**, **GH-R**) que se traduce en menores concentraciones de su mediador, el factor insulina-simil I (**IGF-I**) (Kobayashi y col., 1999). Esto repercute en varios órganos y tejidos, pero se destaca que la falta de retroalimentación negativa sobre la **GH**, promueve una mayor concentración circulante de la misma y por tanto una mayor acción teleoforética. Asimismo, menores concentraciones de **IGF-I** favorecen el catabolismo periférico que soporta la lactancia.

La insulina juega un rol clave en la sensibilidad hepática a la **GH** y por lo tanto en el mecanismo de desacople (Kobayashi y col., 1999). Se encontraron concentraciones de insulina disminuidas alrededor del parto (Meikle y col., 2004) de acuerdo con reportes previos (Holtenius y col., 2003), y consistente con la reducción de la ingesta que caracteriza este período (Bertics y col., 1992). En algunos estudios (Meikle y col., 2004, Cavestany y col. 2009; Meikle y col. datos no publicados), las concentraciones de insulina se recuperaron totalmente al día 30 pospar-

to, en otros (Adrien 2010; Pereira y col., 2010) no lo hicieron durante el período experimental (45-60 días pp). El reestablecimiento del **BEN** con el comienzo del aumento de la ingesta, se asocia con el fin del desacople del eje somatotrófico. Existe evidencia de que las vacas de mayor potencial genético para producción de leche tienen mayores concentraciones de **GH** y menores de insulina e **IGF-I** (Gong y col., 2002). Asimismo, el eje **GH-IGF-I** depende del status metabólico. Las concentraciones de **IGF-I** en el periparto y lactación temprana fueron mayores en las vacas multíparas de CC mas alta inducida nutricionalmente desde los 3.5 meses preparto (Adrien, 2010). Estos mayores niveles de **IGF-I** circulante se asociaron a una mayor expresión del **GH-R** ARNm (Carrquiry y col., 2010).

Otras hormonas participan contribuyendo al ambiente endócrino favorable para la lactancia: vacas en **BEN** tienen niveles de hormonas tiroideas más bajos que facilitan que los tejidos periféricos adapten su metabolismo energético local a esta nueva condición catabólica (Capuco y col., 2001; Meikle y col., 2004). En la última década, la investigación sobre la regulación del consumo y metabolismo energético se ha centrado en el rol de la leptina, hormona determinada por primera vez en rumiantes en el año 2000 (Delavaud y col., 2000). Las concentraciones de leptina varían con cambios en el porcentaje de depósitos grasos y/o estado de reserva corporal (Delavaud y col., 2002; Meikle y col., 2004). Las vacas lecheras frecuentemente pierden más del 60 % de su grasa corporal en lactación temprana (Tamminga y col., 1997; Chilliard, 1999). En todos los estudios realizados (Meikle y col., 2004, 2006; Cavestany y col., 2005, 2009) se encontró que el contenido de leptina fue un buen indicador de grasa corporal en vacas lecheras en el periparto.

Impacto de la endocrinología metabólica sobre el eje reproductivo. Énfasis en memoria metabólica y manejo nutricional en el periparto

Los mecanismos fisiológicos de señales que informan al eje hipotálamo-hipófisis-ovárico del estado de balance energético del animal son complejos. Parte de esta confusión puede deberse a que los

efectos estáticos y dinámicos de la nutrición pueden provocar diferentes respuestas, a pesar de estar integrados en el producto reproductivo global. Los diseños difieren en el grado de reservas corporales (memoria metabólica), nivel de energía/proteína y fuente de la dieta, inclusión de nutrientes específicos, magnitud y duración del **BEN**, además de otros factores experimentales como raza, edad, momentos en los cuales se aplica tratamientos nutricionales respecto al período de transición y a la toma de observaciones. Esto obviamente dificulta la comparación de resultados y arrojar conclusiones prácticas de manejo; esto es especialmente relevante en estudios sobre pastoreo controlado, debido a que la mayor parte de la información proviene de sistemas de producción de leche de estabulación.

Muchos estudios han propuesto señales metabólicas tales como metabolitos sanguíneos (**NEFA**, glucosa) y hormonas metabólicas (insulina, leptina y el eje somatotrófico: **GH/IGF-I**) que se ven afectados por alteraciones en el metabolismo energético (Chilliard y col., 1998, Huszeniczka y col., 2005). Beam y Butler (1999) han reportado que la relación insulina/**GH/IGF-I** y el día del nadir de balance energético influyen el crecimiento folicular. Vacas con folículos dominantes ovulatorios y secretores activos de estradiol presentan mayores niveles circulantes de **IGF-I** e insulina en las primeras dos semanas postparto (Beam y Butler, 1997, 1998). Asimismo, vacas que ovulan la primera onda folicular tienen un crecimiento folicular mayor asociado a niveles más elevados de **IGF-I** (Cavestany y col., 2009).

En nuestro país, una mejor CC al parto (vacas clasificadas en <3 o 3) presentaron concentraciones de **IGF-I** más altas y un **RO** más corto (Meikle y col. 2004). Esto coincide con los resultados de Roberts y col. (1997) que indican que las concentraciones de **IGF-I** en el periparto fueron buenos indicadores de la capacidad de comenzar la ciclicidad postparto. En el experimento realizado para nuestros sistemas productivos el **RO** se retrasó en vacas primíparas (45 vs 21 días) y las reservas corporales impactaron en vacas primíparas con baja CC al parto (52.8 vs 37.4 días), lo que se reflejó en **IPS** e **IPC** más largos (Meikle y col. 2004). 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 endócrinas o al balance energético negativo debido a la baja ingesta, a la curva de lactación ascendente y/o a los requerimientos energéticos para continuar el desarrollo en las vaquillonas (ver abajo). Nuestros resultados (Meikle y col., 2004) no apoyan la teoría de que la leptina activa el eje hipotálamo-hipófisis-ovárico (Kadokawa y col., 2000), ya que a diferencia de las otras hormonas, la leptina permaneció baja hasta el día 60 posparto. La leptina tendría un rol permisivo sobre el eje reproductivo y consecuente RO: cuando aumenta por arriba de un nivel crítico en la vaca lechera facilita la ovulación posparto. Por otro lado, no sólo la concentración de la hormona y la sensibilidad del tejido a la misma (receptores) son importantes para el eje reproductivo, sino también la dinámica endócrina (forma de disminución de la concentración hormonal) puede ser leída por el sistema endócrino como una señal diferente. Éste y otros reportes (Gallo y col., 1996; Shrestha y col., 2005; Chagas y col., 2006; Patton y col., 2007) se basan en la clasificación de las vacas acorde al CC al parto o al inicio del período de transición; por lo tanto las respuestas reproductivas a la CC pueden ser el resultado de una capacidad diferencial del animal a enfrentar el BEN durante este periodo. Recientemente, Adrien (2010) demostró que una baja CC provocada nutricionalmente desde los 3.5 meses hasta el mes preparto prolongó el RO en vacas multiparas y primíparas: siendo 15 días más largo en vacas de baja CC (diferencia de 0.5 puntos de CC). En este estudio la RO se asoció con un ambiente endócrino (IGF-II/Insulina) más favorable durante el período preparto, pero no durante el posparto. Es de interés resaltar que el tratamiento también afectó la calidad de leche en términos de fracciones de ácidos grasos y caseínas (datos sin publicar).

En nuestro país, se han realizado numerosos trabajos de suplementación pre y posparto pero relativamente pocos trabajos incluyeron la determinación del RO y los perfiles endocrinos. Cavestany y col. (1999) suministrando una suplementación energética 3 semanas preparto, reportaron un RO 12 días más corto en el grupo suplementado. Suplementan-

do con dietas con diferentes niveles de proteína cruda tres semanas preparto no se encontraron diferencias en el RO de los distintos tratamientos (Meikle y col., 2005).

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

Por otra parte, la adición de la semilla de girasol a la dieta durante los primeros dos meses posparto promovió la ovulación en vacas primíparas, pero esto no se observó en vacas multiparas (Mendoza y col., 2008); confirmando una vez más la relevancia de la categoría animal en el desempeño reproductivo, incluso aún en respuesta a tratamientos nutricionales.

A tener en cuenta: Categoría animal

La categoría animal (primíparas vs secundíparas vs multiparas) fue un factor que en más de un trabajo 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 endócrinos (Meikle y col., 2004, 2006, 2008; Cavestany y col., 2005; Adrien, 2010). Recientemente, hemos observado 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 (Pereira y col., 2010). 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 (Remond y col., 1991).

Las vacas primíparas presentaron menores (Meikle y col., 2004) o similares (Adrien 2010) concentraciones de IGF-I que las vacas multiparas. Esto contrasta con los hallazgos de Wathes y col., (2003) en los cuales las concentraciones de IGF-I fueron más altas en animales jóvenes en acuerdo con el rol

estimulador del crecimiento en esta categoría. Varios son los factores que afectan el ambiente endocrino, y estas contradicciones pueden deberse a las diferencias en manejo animal, principalmente nutrición.

Varios estudios demostraron la relevancia de la categoría en determinar el **RO** (Meikle y col., 2004; 2005; Adrien, 2010), aunque algunos de los estudios no encontraron diferencias (Cavestany y col., 2009). En el seguimiento de 900 vacas en siete tambos comerciales (no publicado) la categoría, considerando el número de lactancia y la edad al parto, ha tenido un efecto significativo sobre **RO**. Los resultados muestran diferencias entre tambos, reflejo de distintos niveles de manejo alimenticio, donde los tambos que presentaron **RO** promedios cortos (menos de 40 días), no se aprecian diferencias entre categorías, mientras que en tambos con **RO** largos, las vacas de primer parto presentaron aprox. el doble de **RO** que las vacas de dos y tres partos. Además, la mayor parte (60 %) de las vacas de primer parto de los tambos con **RO** prolongadas, no habían ovulado al finalizar el ensayo (tres meses posparto).

Las vacas primíparas presentan mayor dificultad para recuperarse del **BEN**, reflejado esto a través del perfil metabólico y endócrino más desbalanceado que las multíparas, proceso probablemente agravado por el estrés que implica su primera lactancia. Esto puede ser el resultado de que estos animales están en desarrollo, aunque también bajo condiciones pastoriles, el efecto de dominancia por la disponibilidad de comida está presente (Grant y Albright, 2001). En estudios de dominancia se observó que las vacas primíparas aisladas presentaron una mayor posibilidad de acceso a la comida que las vacas primíparas mezcladas con multíparas, superándolas en producción de leche. Esto pudo haber afectado el **RO**, ya que las vacas aisladas tuvieron mayores niveles de **NEFA** (mayor movilización de reservas) y una **RO** más larga (35 vs 26 días) que vacas primíparas mezcladas con multíparas (Adrien y col., 2008, datos no publicados).

Implicancias y Perspectivas

El avance en conocimientos que integren aspectos productivos y reproductivos con los perfiles metabólicos y endócrinos podrá contribuir a una mejor

comprensión del metabolismo de la vaca lechera en el período de transición para identificar las limitantes de estos sistemas y poder desarrollar mejores estrategias de alimentación y manejo. Estos estudios han demostrado la importancia de la categoría: las vacas primíparas se recuperan con menor éxito del **BEN**. La dominancia de las vacas adultas sobre las vaquillonas en la competencia por la oferta de alimentación generalmente por debajo de los requerimientos, puede tener como consecuencia una alimentación insuficiente en cantidad y en calidad para esta categoría.

El uso de los perfiles metabólicos y endócrinos en conjunto con el examen del animal, análisis de la composición de la leche, alimentación, medio ambiente y personal a cargo constituye una herramienta importante para una completa metodología de trabajo para el diagnóstico del balance entre demanda y suministro de nutrientes en este período tan crítico para las vacas lecheras..

Referencias

- ADRIEN, L.; MEIKLE, A.; SOCA, P.; MATTIAUDA, D.; CHILIBROSTE, P. 2008. Sward allowance at early lactation of primiparous dairy cows: IV Body condition score and reproductive parameters. In: XXI International Grassland Congress 2008, Multifunctional Grassland in a Changing World.
- ADRIEN, M. L. 2010. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria.
- BAUMAN, D.E.; CURRIE, W.B. 1980. *J Dairy Sci* 63:1514-1529.
- BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. 1999. *J Reprod Fert Suppl* 54: 411-424.
- BERGLUND, B. 2008. *Reprod Dom Anim* 43 (Suppl 2): 89-95.
- BERTICS, S.J.; GRUMMER, R.R.; CADORNIGA-VALINO, C.; STODDARD, E.E. 1992. *J Dairy Sci* 75: 1914-1922.
- BUTLER, W.R.; EVERETT, R.W.; COPPOCK, C.E. 1981. *J Anim Sci* 53:3:742-748.
- CAPUCO, A.V.; WOOD, D.L.; ELSASSER, T.H.; KAHL, S.; ERDMANN, R.A.; VAN TASSELL, C.P.; LEFCOURT, A. PIPEROVA, L.S. 2001. *J Dairy Sci* 84:2430-2439.
- CARRIQUIRY, M.; ADRIEN, L.; ARTEGOITIA, V.; MATTIAUDA, D.; MEIKLE, A. 2010. *J Dairy Sci* 93 E-Suppl 1: 390.
- CAVESTANY, D.; KULCSÁR, M.; CRESPI, D.; CHILLIARD, Y.; LA MANNA, A.; BALOGH, O.; KERESZTES, M.; DELAUAUD, C.; HUSZENCZKA, G.; MEIKLE, A. 2009. *Reprod Dom Anim* 44: 663-671.
- CAVESTANY, D.; BLANC, J.E.; KULCSAR, M.; URIARTE, G.; CHILIBROSTE, P.; MEIKLE, A.; FEBEL, H.; FERRARIS, A.; KRALL, E. 2005. *J Vet Med A*. 52:1-7.
- CHAGAS, L.M.; RHODES, F.M.; BLACHE, D.; GORE, P.J.; MACDONALD, K.A.; VERKERK, G.A. 2006. *J Dairy Sci* 89: 1981-1989.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M. 1998. *Reprod Nutr Dev* 38 131-152.
- CHILLIARD, Y. 1999. Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. In: *Biology of Lactation*. Eds: Martinet, J., Houdebine, L.M., Head, H.H. Insem/INRA. Paris, France. pp. 503-552.

- CHILIBROSTE, P.; MATTIAUDA, D.; SOCA, P.; MEIKLE, A. 2008. Sward allowance at early lactation of primiparous dairy cows: I- Milk yield and composition. In: VIII International Rangeland Congress, China.
- CHILIBROSTE, P.; MEIKLE, A.; MATTIAUDA, D.; BENTANCUR, O.; SOCA, P. 2010. The american Holstein dairy cow during early lactation: grazer or browser? In: An overview of research and pastoral-based system in the Southern part of South America. Ed Machado C, Wade M, Cameiro Da Silva S, Agnusdei M, De Faccio Carvalho P, Morris S and Beskow W. First edition 2010: 154-167.
- DELAVAUD, C.; BOCQUIER, F.; CHILLIARD, Y.; KEISLER, D.H.; GERTLER, A.; KANN, G. 2000. *J Endocrinol* 165: 519-526.
- DOBSON, H.; WALKER, S.; MORRIS, M.; ROUTLY, J.; SMITH, R. 2007. *Proc Fertility in Dairy Cows-Bridging the Gaps*, Liverpool Hope University, Liverpool UK 4.
- DRACKLEY, J.K. 1999. *J Dairy Sci* 82: 2259-2273.
- GALLO, L.; CARNIER, P.; CASSANDRO, M.; MANTOVANI, R.; BAILONI, L.; CONTIERO, B.; BITTANTE, G. 1996. *J Dairy Sci*. 79: 1009-1015.
- GONG, J.G. 2002. *Dom. Anim. Endocrinol.* 23: 229-241.
- GRUMMER, R.R. 1995. *J Anim Sci*. 73: 2820-2833.
- GRANT, R. J.; ALBRIGHT, J. L. 2001. *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.): E156-E163.
- HOLTENIUS, K.; AGENÁS, S.; DELAVALD, C.; CHILLIARD, Y. 2003. *J Dairy Sci* 86: 883-891.
- INGVARTSEN, K.; ANDERSEN, J. 2000. *J Dairy Sci* 83: 1573-1597.
- HUSZENICZA, G.Y.; KULCSÁR, M.; KÁTAI, L.; BALOGH, O.; MEIKLE, A.; FÉBEL, H.; DELAVALD, C.; PÉCS, A.; FÖLDI, J.; CAVESTANY, D. CHILLIARD, Y.; FEKETE, S. 2004. *Proceedings 8th International Conference of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition* 17-37.
- KADOKAWA, H.; BLACHE, D.; YAMADA, Y.; MARTIN, G.B. 2000. *Reprod Fertil Dev* 12: 405-411.
- KOBAYASHI, Y.; BOYD, C.K.; BRACKEN, C.J.; LAMBERSON, W.R.; KEISLER, D.H.; LUCY, M.C. 1999. *Endocrinology* 140: 3947-3954.
- KOLVER, E.S.; MÜLLER, L.D. 1998. *J Dairy Sci* 81:1403-1411.
- LAWLOR, T.J.; MISZTAL, I.; TSURUTA, S.; HUANG, C. 2006. *Breeding Holsteins for different environments. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. August 2006. Belo Horizonte, Brazil.
- LUCY, M.C.J.; DAIRY, S.C.I. 2001, 84: 1277.
- MEIKLE, A.; KULCSAR, M.; CHILLIARD, Y.; FEBEL, H. *Reproduction*. 127: 727-737.
- MEIKLE, A.; CAVESTANY, D.; FERRARIS, A.; BLANC, E.J.; ELIZONDO, F.; CHILIBROSTE, P. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría 2005: p.226-227.
- MEIKLE, A.; MATTIAUDA, D.; SOCA, P.; BRUNI, M.; URIARTE, G.; ADRIEN, M.L.; CAVESTANY, D.; CHILIBROSTE, P. 2006. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. pp: 171-173.
- MEIKLE, A.; MATTIAUDA, D.; URIARTE, G.; ADRIEN, L.; CHILIBROSTE, P. 2008. Sward allowance at early lactation of primiparous dairy cows: III Metabolic profiles. In: VIII International Rangeland Congress, Multifunctional Grassland in a Changing World.
- MENDOZA, A.; LA MANNA, A.; CRESPI, D.; CROWE, M.A.; CAVESTANY, D. 2008. *Livest Sci* 119: 183-193.
- PATTON, J.; KENNY, D.A.; MCNAMARA, S.; MEE, J.F.; O'MARA, F.P.; DISKIN, M.G.; MURPHY, J.J. 2007. *J Dairy Sci* 90: 649-658.
- PEREIRA, I.; LABORDE, D.; CARRIQUIRY, M.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; MEIKLE, A. 2010. *Proc New Zeal Soc Anim Prod* 70: 311-315.
- RÉMOND, B.; CISSE, M.; OLLIER, A.; CHILLIARD, Y. 1991 *J Dairy Sci* 74 1370-1381.
- ROBERTS, A.J.; NUGENT, R.A.; KLINDT, J.; JENKINS, T.G. 1997. *J Anim Sci* 75: 1909-1917.
- ROCHE, J.F.; MACKEY, D.; DISKIN, M.D. 2000. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 703-712.
- ROYAL, M.D.; FLINT, A.P.F.; WOOLLIAMS, J.A. 2002. *J Dairy Sci* 85: 958-967.
- 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. (Memorias en edición CD)*.
- SHRESTHA, H.; NAKAO, T.; SUZUKI, T.; AKITA, M.; HIGAKI, T. 2005. *Theriogenology* 64: 855-866.
- TAMMING, S.; LUTEJN, P.A.; MEIJER, R.G.M. 1997. *Livest Prod Sci* 52: 31-38.
- WALL, E.; BROTHERSTONE, S.; WOOLLIAMS, J.A.; BANOS, G. COFFEY, M.P. 2003. *J Dairy Sci* 86: 4093-4102.
- WATHES, D.C.; TAYLOR, V.J.; CHENG, Z.; MANN, G.E. 2003. *Reproduction Suppl* 61: 219-237.
- WHITAKER, D.A.; GOODGER, W.J.; GARCIA, M.; PERERA, B.M.A.O; WITTEWER, F. 1999 *Prev Vet Med* 38 119-131.