

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA  
FACULTAD DE VETERINARIA**

**DINÁMICA FOLICULAR EN VACAS NODRIZAS SOMETIDAS  
A CONDICIONES NUTRICIONALES Y DE MANEJO DEL TERNERO  
DIFERENTES. FACTORES DE EXPLOTACIÓN ASOCIADOS  
A LA DURACIÓN DEL ANESTRO POSTPARTO.**



**M. ALBINA SANZ PASCUA  
Zaragoza, Junio 2000**

**Servicio de Investigación Agroalimentaria  
Diputación General de Aragón**

**Universidad de Zaragoza**

**Facultad de Veterinaria**

---

**Dinámica folicular en vacas nodrizas sometidas a condiciones nutricionales y de manejo del ternero diferentes. Factores de explotación asociados a la duración del anestro postparto.**

---

**Memoria presentada por  
M. ALBINA SANZ PASCUA  
para optar al Grado de Doctor**

**Zaragoza, Junio 2000**

**Servicio de Investigación Agroalimentaria  
Diputación General de Aragón**

RICARDO REVILLA DELGADO, Doctor en Veterinaria e Investigador del Servicio de Investigación Agraria de la Diputación General de Aragón

CERTIFICA: que la presente Memoria “Dinámica folicular en vacas nodrizas sometidas a condiciones nutricionales y de manejo del ternero diferentes. Factores de explotación asociados a la duración del anestro postparto”, elaborada por la Licenciada en Veterinaria ALBINA SANZ PASCUA, ha sido realizada bajo mi dirección y reúne las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Para que conste, firmo la presente en Zaragoza a veintiuno de Junio de dos mil.

Fdo.: Ricardo Revilla Delgado

ISIDRO SIERRA ALFRANCA, Doctor en Veterinaria y Catedrático de Producción Animal del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza

CERTIFICA: que la presente Memoria “Dinámica folicular en vacas nodrizas sometidas a condiciones nutricionales y de manejo del ternero diferentes. Factores de explotación asociados a la duración del anestro postparto”, elaborada por la Licenciada en Veterinaria Dña. ALBINA SANZ PASCUA, ha sido realizada bajo la dirección del Dr. RICARDO REVILLA DELGADO y reúne las condiciones exigidas para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Para que conste, firmo la presente en Zaragoza a veintiuno de Junio de dos mil.

Fdo.: Isidro Sierra Alfranca

Quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas e instituciones que han contribuido a la realización de este trabajo:

A Ricardo Revilla, por su constante dirección e infinita paciencia durante la realización de esta Tesis Doctoral, así como por todos los consejos recibidos en estos años y su imprescindible sentido del humor.

A Isabel, Dani, Ramón y Alberto, mis compañeros de andanzas, fundamentalmente, por su amistad, y, por supuesto, porque sin su ayuda e instrucciones este trabajo hubiera sido mucho más duro.

Al personal laboral de la Garcipollera, Ángel, José Manuel, Javier, Miguel Ángel, Javier y Carlos, y del SIA, especialmente a Fidel, Ramiro, Pepe Jaime, Fernando y Elías, por su eficaz seguimiento técnico de los ensayos y por hacer tan llevadero el periodo experimental de esta Tesis Doctoral. A los habitantes y ex-habitantes de Bescós, por su cálida compañía.

Al Servicio de Investigación Agroalimentaria de la DGA, en cuyas instalaciones se ha realizado este trabajo. Y a Manolé, por confiarnos sus vacas.

A todo el personal de la Unidad de Tecnología en Producción Animal del SIA que de una u otra manera han contribuido en la elaboración de este trabajo, a Piluca, por instruirme en los análisis laboratoriales, y sobre todo a los buenos amigos que me he ido encontrando a lo largo de estos años en el SIA.

A todos mis amigos, a mis chicas de oro, a la cuadrilla de Basauri, a la *pensión Conchita* y moradores, a Jara y Cia, ..., por su aliento constante; y a todos los que, probablemente, haya olvidado, pero sabrán perdonarme.

A Celia, Rafa, Juancar y Javi, por estar *ahí* siempre, y a Emilio, por su pasión por la vida.

A todas las vacas que han participado, con o sin su consentimiento, en las experiencias.

A todos, muchas gracias.

Esta Tesis Doctoral se ha realizado gracias a la financiación de los siguientes organismos:

- Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco (Beca predoctoral).
- Departamento de Agricultura y Medio Ambiente del Gobierno de Aragón (Proyecto de Ganadería de Montaña nº 100).
- Unión Europea (Proyectos CE DG VI-8001 CT 90.0002, CE DG VI-1124, INTERREG II).
- Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (Proyecto SC94-072).
- Departamento de Agricultura y Medio Ambiente del Gobierno de Aragón (Beca adscrita al Servicio de Investigación Agroalimentaria de la DGA).

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	1
<b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	
2.1. Regulación del ciclo ovárico .....	5
2.2. Métodos de estudio de la dinámica folicular .....	6
2.3. Dinámica de la población folicular .....	9
2.3.1. Foliculogénesis .....	9
2.3.2. Regulación hormonal del crecimiento folicular .....	11
2.4. Reinicio de la ciclicidad después del parto .....	15
2.4.1. Dinámica folicular en el periodo postparto y factores de crecimiento asociados .....	15
2.4.2. Regulación hormonal en el periodo postparto .....	17
2.4.3. Incidencia de ciclos cortos en el periodo postparto .....	22
2.4.4. Factores que afectan a la duración del anestro postparto .....	23
2.4.4.1. Alimentación .....	23
a) Nivel de alimentación recibido antes del parto .....	24
b) Nivel de alimentación recibido después del parto .....	25
c) Mecanismos de acción de la nutrición sobre la función reproductiva .....	27
2.4.4.2. Crianza del ternero .....	36
a) Frecuencia e intensidad de amamantamiento .....	36
b) Mecanismos de acción de la crianza del ternero sobre la función reproductiva .....	37
c) Reducción del anestro postparto mediante el manejo del ternero .....	41
2.4.4.3. Raza / Aptitud .....	42
2.4.4.4. Época de parto / Fotoperiodo .....	43
2.4.4.5. Otros .....	46
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	
3.1. Finca experimental .....	51
3.2. Animales .....	51
3.3. Manejo general de los animales .....	53
3.4. Manejo alimenticio en estabulación .....	55
3.5. Controles .....	56
3.5.1. Parámetros productivos .....	56
3.5.2. Parámetros reproductivos .....	59

**PARTE I.**

**DINÁMICA FOLICULAR EN VACAS NODRIZAS SOMETIDAS A CONDICIONES NUTRICIONALES Y DE MANEJO DEL TERNERO DIFERENTES**

**ENSAYO A**

A.1. Objetivo .....	63
A.2. Material y métodos .....	63
A.2.1. Diseño experimental .....	63
A.2.2. Controles .....	65
A.2.3. Análisis estadístico .....	66
A.3. Resultados .....	67
A.3.1. Rendimientos productivos de los animales y perfiles metabólicos .....	67
A.3.2. Dinámica folicular .....	74
A.3.3. Duración del anestro postparto y niveles de LH .....	75

**ENSAYO B**

B.1. Objetivo .....	81
B.2. Material y métodos .....	81
B.2.1. Diseño experimental .....	81
B.2.2. Controles .....	82
B.2.3. Análisis estadístico .....	82
B.3. Resultados .....	83
B.3.1. Rendimientos productivos de los animales .....	83
B.3.2. Rendimiento reproductivo de las vacas .....	85

**ENSAYO C**

C.1. Objetivo .....	87
C.2. Material y métodos .....	87
C.2.1. Diseño experimental .....	87
C.2.2. Controles .....	88
C.2.3. Análisis estadístico .....	89
C.3. Resultados .....	90
C.3.1. Rendimientos productivos de los animales .....	90
C.3.2. Dinámica folicular .....	95
C.3.2.1. Características de la primera ola folicular postparto .....	95
C.3.2.2. Reinicio de la actividad ovárica postparto .....	96
C.3.2.3. Características de las olas foliculares en el periodo postparto .....	98
C.3.3. Duración del anestro postparto .....	100



**ENSAYO D**

D.1. Objetivo .....	103
D.2. Material y métodos .....	103
D.2.1. Diseño experimental .....	103
D.2.2. Controles .....	103
D.2.3. Análisis estadístico .....	104
D.3. Resultados .....	105
D.3.1. Rendimientos productivos de los animales .....	105
D.3.2. Dinámica folicular .....	108
D.3.2.1. Reinicio de la actividad ovárica postparto .....	108
D.3.2.2. Características de las olas foliculares en el periodo postparto .....	111
D.3.3. Duración del anestro postparto .....	113

**DISCUSIÓN I**

I.1. NIVELES DE ALIMENTACIÓN PREPARTO Y POSTPARTO .....	115
I.1.1. Rendimientos productivos de los animales .....	115
I.1.2. Evolución de los perfiles metabólicos y de la GH durante el periodo postparto .....	121
I.1.2.1. Efecto de la alimentación sobre los perfiles metabólicos de las vacas .....	121
I.1.2.2. Efecto de la alimentación sobre los niveles de GH de las vacas .....	125
I.1.3. Evolución de los niveles de LH .....	126
I.1.4. Dinámica folicular .....	128
I.1.5. Duración del anestro postparto .....	132
I.2. MANEJO DEL TERNERO .....	135
I.2.1. Rendimientos productivos de los animales .....	136
I.2.2. Niveles de LH y crecimiento folicular .....	137
I.2.3. Duración del anestro postparto .....	139
I.3. RAZA .....	142
I.3.1. Diferencias raciales en los rendimientos productivos de los animales .....	143
I.3.2. Parámetros reproductivos de ambas razas .....	144

**PARTE II.**

**FACTORES DE EXPLOTACIÓN ASOCIADOS A LA DURACIÓN DEL ANESTRO POSTPARTO Y TIPOLOGÍA DE VACAS IDENTIFICADA MEDIANTE ANÁLISIS MULTIVARIANTES**

**ENSAYO E**

E.1. Objetivo .....	149
E.2. Material y métodos .....	149
E.2.1. Análisis estadístico multivariante .....	149
E.2.1.1. Análisis Factorial de Correspondencias Múltiples (AFCM) .....	149
E.2.1.2. Análisis Cluster (Clasificación Jerárquica Ascendente) .....	151
E.2.2. Variables utilizadas en el estudio .....	152
E.2.3. Estudio de las relaciones entre las variables mediante AFCM .....	155
E.2.4. Identificación de la tipología de vacas mediante Análisis Cluster .....	158
E.3. Resultados .....	160
E.3.1. Ejes asociados a la función reproductiva .....	160
E.3.2. Características de los tipos de vacas identificados .....	162
E.3.3. Evolución de la duración del anestro postparto en vacas nodrizas .....	170

**DISCUSIÓN II.**

II.1. CONSIDERACIONES SOBRE LA METODOLOGÍA UTILIZADA PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN .....	173
II.2. FACTORES DE EXPLOTACIÓN ASOCIADOS A LA DURACIÓN DEL APP .....	174
II.3. TIPOS DE VACAS IDENTIFICADOS .....	178

<b>CONCLUSIONES</b> .....	183
---------------------------	-----

<b>RESUMEN</b> .....	187
----------------------	-----

<b>SUMMARY</b> .....	189
----------------------	-----

<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	191
---------------------------	-----

## ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 3.1.** Pluviometría y temperaturas medias registradas en Bescós de la Garcipollera entre los años 1987 y 1996.
- Tabla A1.** Protocolo experimental del ensayo A.
- Tabla A2.** Composición de los alimentos ofrecidos en el periodo postparto.
- Tabla A3.** Efecto de los niveles de alimentación y la manipulación del ternero sobre los rendimientos productivos de las vacas durante los tres primeros meses de lactación.
- Tabla A4.** Valores medios de los ordeños mecánicos y las dobles pesadas de los terneros (D.P.T.) realizados la 3<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup> semanas después del parto.
- Tabla A5.** Efectos de la alimentación y del manejo aplicado al ternero sobre las concentraciones medias de los metabolitos.
- Tabla A6.** Perfiles de GH el día 29 pp en función de las dietas preparto y postparto.
- Tabla A7.** Características de la primera ola ovulatoria o, en su caso, de la última ola detectada antes del día 90 pp.
- Tabla A8.** Comparación de la última ola no ovulatoria y de la 1<sup>a</sup> ola ovulatoria o, en su caso, de las dos últimas olas no ovulatorias detectadas antes del día 90 pp.
- Tabla A9.** Reactivación ovárica postparto y niveles medios de LH en función de la alimentación recibida antes y después del parto.
- Tabla A10.** Duración del app y secreción de LH en función de la nutrición y del manejo del ternero.
- Tabla A11.** Efecto de la separación y el aislamiento del ternero realizados el día 30 pp sobre la secreción de LH.
- Tabla A12.** Proporción de vacas cíclicas el día 50 pp y duración del app, en función de la alimentación recibida antes del parto y del manejo del ternero.
- Tabla B1.** Características de los alimentos utilizados en la experiencia.
- Tabla B2.** Rendimientos productivos de los animales en función del manejo aplicado al ternero durante la crianza.
- Tabla B3.** Rendimiento reproductivo de las vacas en función del manejo del ternero.
- Tabla C1.** Protocolo experimental del ensayo C.
- Tabla C2.** Composición de las mezclas completas utilizadas en el ensayo.
- Tabla C3.** Rendimientos productivos de los animales en función de la alimentación.
- Tabla C4.** Rendimientos productivos de los animales sometidos al nivel bajo preparto, en función del manejo del ternero y de la alimentación postparto.
- Tabla C5.** Producción y composición de la leche durante la lactación.
- Tabla C6.** Efecto de la alimentación sobre la 1<sup>a</sup> ola folicular detectada en el postparto.
- Tabla C7.** Influencia de la alimentación sobre las características de la reactivación ovárica postparto.
- Tabla C8.** Efecto de la separación del ternero a partir del día 45 pp y de la alimentación postparto sobre la reanudación de la ciclicidad ovárica, en vacas sometidas a un nivel restrictivo durante la gestación.

- Tabla C9.** Efecto de la alimentación y del número de ola sobre las propiedades de las olas foliculares.
- Tabla C10.** Caracterización de las olas foliculares ovulatorias y no ovulatorias.
- Tabla C11.** Duración del app en función de los niveles de alimentación.
- Tabla C12.** Efecto de la restricción del acceso del ternero a la madre el día 45 pp y de la nutrición postparto sobre la duración del app, en vacas subnutridas durante los últimos 4 meses de gestación.
- Tabla D1.** Rendimientos productivos de los animales en función de la raza y del acceso del ternero a la vaca durante la crianza.
- Tabla D2.** Producción y composición medias de la leche en función de la raza y del manejo del ternero.
- Tabla D3.** Características del reinicio de la ciclicidad ovárica postparto en función de la raza y del manejo del ternero.
- Tabla D4.** Efecto de la raza, del manejo del ternero y del número de ola sobre las propiedades de las olas foliculares.
- Tabla D5.** Caracterización de las olas foliculares en función del número de ola.
- Tabla D6.** Duración del app en función de la raza y el manejo del ternero.
- Tabla I1.** Síntesis de los resultados productivos de los ensayos A, B, C y D, y duración del anestro postparto en función de la alimentación y del manejo del ternero.
- Tabla E1.** Variables de partida utilizadas en los Análisis Factoriales de Correspondencias Múltiples (AFCM).
- Tabla E2.** Transformación en clases de las variables activas utilizadas en los AFCM.
- Tabla E3.** Transformación en clases de las variables suplementarias.
- Tabla E4.** Indicadores estadísticos del Análisis Cluster.
- Tabla E5.** Porcentajes de inercia (coordenadas) explicados por las variables y sus categorías en los cuatro primeros ejes obtenidos en el AFCM. Categorías suplementarias más relevantes en cada eje.
- Tabla E6.** Características de los grupos de vacas identificados mediante análisis Cluster.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 2.1.** Modelo de los niveles hormonales y la dinámica folicular bovina en función de que los ciclos presenten dos o tres olas foliculares (líneas discontinuas) (Adams y Pierson, 1995).
- Figura 2.2.** Hipótesis de los mecanismos celulares existentes en la granulosa antes (célula de la izquierda) y después (célula de la derecha) de la selección del FD (Wiltbank, 1999b).
- Figura 2.3.** Regulación que ejerce la GH sobre las actividades endocrinas, paracrinas y autocrinas del IGF-I (McGuire et al., 1992; citado en Hossner et al., 1997).
- Figura 2.4.** Posible regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, en una situación de subnutrición en el ganado vacuno (Wiltbank, 1999a).
- Figura 3.1.** Manejo general de las vacas con partos en otoño.
- Figura 3.2.** Manejo general de las vacas con partos en primavera.
- Figura 3.3.** Imágenes ecográficas de la evolución de las estructuras presentes en los ovarios izquierdo y derecho.
- Figura A1.** Esquema de la 1ª ola folicular detectada después del día 21 pp (estimada como la 4ª ola folicular), en el que se indica el inicio de la restricción y aislamiento del ternero, así como los dos días de control de LH (LH1 y LH2).
- Figura A2.** Evolución de los pesos de vacas y terneros durante los tres primeros meses postparto.
- Figura A3.** Controles lecheros de las vacas realizados durante la fase experimental, expresados en función de los niveles alimenticios aplicados.
- Figura A4.** Concentraciones medias semanales de los metabolitos durante las 14 semanas siguientes al parto, acompañadas de sus respectivas líneas de tendencia.
- Figura A5.** Respuesta hormonal a la manipulación del ternero en función de la nutrición.
- Figura B1.** Evolución de los pesos de vacas y terneros durante los tres primeros meses de lactación en función del manejo del ternero.
- Figura C1.** Pesos de las vacas y los terneros durante los tres primeros meses de lactación.
- Figura C2.** Evolución de la condición corporal de las vacas antes y después del parto.
- Figura C3.** Evolución de la producción y la composición lechera durante la fase experimental, en función de los niveles de alimentación recibidos antes y después del parto.
- Figura D1.** Evolución de los pesos de vacas y terneros en función de la raza y del manejo del ternero.
- Figura D2.** Producción lechera de las vacas y contenido graso de la leche en función de la raza y del manejo aplicado al ternero durante la crianza.
- Figura D3.** Modelos de reactivación ovárica postparto.
- Figura D4.** Evolución del diámetro máximo del FD y de la velocidad de crecimiento en función del número de ola folicular.
- Figura E1.** Representación esquemática de los pasos de la metodología empleada.
- Figura E2.** Representación de las clases de las variables activas sobre los ejes 1 y 2, junto con los centros de gravedad de los grupos de vacas identificados.

**Figura E3.** Representación de las clases de las variables activas y de los centros de gravedad de los grupos de vacas identificados sobre los ejes 1 y 3.

**Figura E4.** Representación de los centros de gravedad de los grupos resultantes del Análisis Cluster sobre las tres primeras dimensiones obtenidas en el AFCM .

**Figura E5.** Representación gráfica de las vacas (n=549) que constituyeron cada uno de los grupos sobre los dos primeros ejes del AFCM.

**Figura E6.** Relación de la duración del app con la variación de peso preparto, en función del manejo del ternero y de la edad de la vaca. Representación de los centros de gravedad de los grupos de vacas identificados mediante Análisis Cluster.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	hormona adenocorticotropa	kg	kilogramo(s)
AFCM	análisis factorial de correspondencias múltiples	kJ	kilojulio(s)
AGNE	ácidos grasos no esterificados	l	litro(s)
AL	acceso libre	LH	hormona luteinizante
AMPc	adenosín-monofosfato cíclico	LHRH	hormona liberadora de LH
app	anestro postparto	m	metro(s)
AR	acceso restringido	msnm	metro(s) sobre el nivel del mar
ARNm	ácido ribonucleico mensajero	m <sup>2</sup>	metro(s) cuadrado(s)
ATP	adenosín-trifosfato	MHz	megahertzio(s)
BE	balance energético	MJ	megajulio(s)
CC	condición corporal	ml	mililitro(s)
CL	cuerpo lúteo	mm	milímetro(s)
d	día(s)	MND	materia nitrogenada digestible
DH	deshidratado	MO	materia orgánica
DMOiv	digestibilidad de la materia orgánica <i>in vitro</i>	MS	materia seca
dpp	días postparto	n	número de datos
D.P.T.	doble pesada del ternero	ng	nanogramo(s)
e.s.	error standard	NS	no significativo
e.s.d.	error standard de la diferencia	°C	grado(s) centígrado(s)
EM	energía metabolizable	p	probabilidad de error
EOP	péptido opioideo endógeno	P <sub>4</sub>	progesterona
et al.	<i>et alii</i> (y otros)	PB	proteína bruta
FAD	fibra ácido-detergente	PDle	proteína digestible en el intestino cuando el nitrógeno no es limitante
FB	fibra bruta	PDIn	proteína digestible en el intestino cuando la energía no es limitante
FD	folículo dominante	p.e.	por ejemplo
FND	fibra neutro-detergente	PGF <sub>2α</sub>	prostaglandina F <sub>2α</sub>
FSH	hormona folículo estimulante	PLB	producción bruta de leche
g	gramo(s)	PLS	producción standard de leche (4% grasa)
GH	hormona del crecimiento	pp	postparto
GMD	ganancia media diaria	PV	peso vivo
GMDT	ganancia media diaria del ternero	PV <sup>0.75</sup>	peso vivo metabólico
GnRH	hormona liberadora de gonadotropinas	r	coeficiente de correlación
h	hora(s)	R <sup>2</sup>	coeficiente de determinación
Hz	herzio(s)	RIA	radioinmunoanálisis
IGF	factor de crecimiento tipo insulina	rpm	revolución(es) por minuto
IGF-BP	proteína de unión del IGF	sem	semana(s)

<i>Sign.</i>	significación
SNC	sistema nervioso central
T <sup>a</sup>	temperatura
UI	unidad(es) internacional(es)
vs.	<i>versus</i> (frente a)
$\chi^2$	chi cuadrado
∅	diámetro



## ***1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS***

---

La base de la explotación de los rebaños de vacas nodrizas en las áreas de montaña es el aprovechamiento de los amplios recursos pastorales que poseen. La disponibilidad de esos recursos se caracteriza por una marcada estacionalidad debida a las peculiaridades climáticas de estas regiones y a su estructura física, así como a la utilización tradicional del territorio (Balent, 1987). En este contexto, la vaca estará sometida a lo largo del año a diferentes niveles de alimentación, con periodos de subnutrición correspondientes a la estabulación invernal y otros teóricamente compensatorios que se corresponden con los periodos de pastoreo, desencadenando importantes variaciones en su peso vivo y sus reservas corporales (Casasús, 1998).

Estos periodos de subnutrición que sufren las vacas pueden ser necesarios desde el punto de vista de la rentabilidad de la explotación; sin embargo, pondrán en peligro la consecución del objetivo de las explotaciones de vacas nodrizas, que es la obtención de un parto por vaca y año, objetivo muy condicionado a la duración del anestro postparto (app).

La duración de este periodo de inactividad ovárica postparto está en función de una gran cantidad de factores, aunque los más importantes en las vacas nodrizas y que serán objeto de estudio principal en esta Memoria son la alimentación y la permanencia continua del ternero con la madre (Short et al., 1990). A pesar de que las repercusiones de la restricción alimenticia sobre la función reproductiva son bien conocidas, los componentes específicos de la modulación de las relaciones nutrición-reproducción no están en la actualidad suficientemente identificados.

Por otra parte, la paulatina adaptación de las explotaciones de montaña a condiciones cada vez más extensivas (p.e. pastoreo invernal) podría contemplar la reducción de los elevados costes de alimentación invernal. Sin embargo, impedirá la aplicación del manejo del ternero utilizado en numerosas zonas de montaña como el Pirineo y durante la estabulación invernal, que consiste en mantener al ternero separado de su madre permitiéndole lactar durante uno o dos cortos periodos diarios (Sierra, 1973; Revilla, 1987). Estas condiciones extensivas conducirán a una permanencia continua del ternero con la madre, cuyas repercusiones pueden ser muy negativas en el rendimiento reproductivo de los rebaños de vacas nodrizas.

Otros factores ligados al manejo juegan también un importante papel en la regulación de la reproducción del ganado vacuno, de entre ellos, la raza y la época de parto (De Kruif, 1978; Osoro, 1986; Short et al., 1990; Revilla, 1997), a pesar de que su efecto no pueda ser siempre considerado de manera independiente, existiendo numerosas interacciones con otros factores y principalmente con la alimentación y con el manejo del ternero.

Desde hace 15 años diversos trabajos desarrollados por este equipo, inscritos en el estudio de los sistemas de explotación del ganado vacuno de carne en zonas de montaña y la caracterización desde un punto de vista productivo y reproductivo las principales razas de ganado vacuno existentes en el Pirineo Oscense, han detectado diferencias reproductivas en función de la raza, la época de parto o la edad de las vacas, que han sido más o menos marcadas en los distintos ensayos.

La comparación racial se ha realizado entre animales de raza Parda Alpina, considerada como propia por los ganaderos de múltiples zonas españolas pese a su origen foráneo y caracterizada por su elevado potencial lechero, y la Pirenaica, exponente de las poblaciones locales españolas adaptadas a las condiciones duras que impone la montaña y distinguida por su orientación "ambiental" y menor nivel de producción lechera.

Los trabajos llevados a cabo por nuestro equipo han evidenciado diferencias raciales notables en aspectos como la aparición de la pubertad (Olleta et al., 1992 y 1993) y la producción de leche y el crecimiento de los terneros (Blasco et al., 1992; Villalba et al., 1997a). En otros trabajos se han descrito diferencias raciales relativas a la adaptación a las condiciones extensivas de explotación (García-Belenguer et al., 1996 a y b) o a determinados aspectos comportamentales ligados al manejo (Palacio et al., 1996 y 1997). En relación al rendimiento reproductivo, las diferencias observadas entre las razas consideradas han resultado incluso de signo opuesto en determinadas ocasiones (Blasco, 1991; San Juan, 1993).

Aunque en general, en las condiciones de explotación del Pirineo, no se han detectado efectos de la estación de parto sobre la reproducción (Revilla et al., 1992; Revilla, 1997), algunos trabajos han evidenciado diferencias estacionales en relación a la duración del anestro postparto. Sin embargo, estas diferencias se han atribuido en parte a factores de manejo ligados a la estación. Se ha observado con frecuencia que la capacidad de recuperar el peso perdido en lactación durante la estación de pastoreo depende de la época de parto, siendo mayor en el caso de las vacas que paren en otoño frente a las que lo hacen en la

primavera, ya que estas últimas deben compatibilizar la recuperación de peso con la crianza del ternero (Blasco, 1991; Revilla et al., 1991; Casasús et al., 1999).

En estas condiciones, nos hemos planteado el estudio de la influencia de los factores de manejo sobre la reproducción del ganado vacuno tanto a nivel de ensayos concretos, profundizando en los mecanismos de acción de factores específicos, como en un análisis global que determine la influencia del conjunto de factores sobre la duración del anestro postparto, estableciendo finalmente una tipología de vacas en función de sus características productivas y reproductivas.

A lo largo de las dos últimas décadas, la utilización de una técnica no invasiva como es la ecografía ha permitido estudiar el desarrollo folicular, abriendo un importante campo a la investigación al facilitar el conocimiento de las estructuras ováricas en tiempo real y sin necesidad de manipulación. En este trabajo se analizarán las repercusiones de varios factores de explotación sobre la población folicular de las vacas durante los periodos anovulatorios en las condiciones de explotación del Pirineo, de cara a establecer los mecanismos endocrinos que controlan el intervalo que transcurre del parto a la primera ovulación y cómo estos mecanismos son influidos por la alimentación, el manejo del ternero o la raza.

Para realizar el estudio del efecto del conjunto de factores de explotación se utilizará una metodología adecuada para el tratamiento estadístico de grandes matrices de datos, debido a la gran cantidad de posible factores relacionados con la reactivación ovárica postparto, así como a sus complejas interacciones.

Finalmente, estos trabajos permitirán establecer de unas pautas de manejo que deberán desarrollarse en función del sistema de explotación, con el propósito de asegurar el equilibrio perseguido entre la reducción de costes de alimentación y el rendimiento reproductivo de las vacas nodrizas. Pese a que la información disponible hasta el momento relativa a las razas explotadas en el Pirineo oscense es extensa, era necesario realizar un análisis más amplio y consistente de determinados aspectos tratados hasta el momento de manera parcial.

En este contexto, los objetivos de esta Memoria son los siguientes:

1.- Caracterizar la dinámica folicular ovárica de las vacas nodrizas sometidas a diferentes niveles de alimentación preparto y postparto.

2.- Determinar la influencia del manejo del ternero sobre la población folicular y la duración del anestro postparto.

3.- Analizar las diferencias en el crecimiento folicular ovárico de dos razas de vacas nodrizas sometidas a diferentes manejos del ternero.

4.- Establecer una tipología de vacas atendiendo a sus características productivas y reproductivas.

## ***2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA***

---

La reproducción en la hembra es un proceso complejo que a lo largo de la vida va a estar sometido a una serie de cambios, a los que deberá adaptarse a través de diversas interacciones neurales, endocrinas y metabólicas en el animal, que van a ser las responsables del control y la regulación de la función reproductiva.

## 2.1. REGULACIÓN DEL CICLO OVÁRICO

En los mamíferos la actividad sexual es la última en instaurarse en el transcurso del desarrollo, precisando de numerosos fenómenos fisiológicos que van a conducir a la pubertad. A partir de ahí, las hembras desarrollan su capacidad de producir y liberar gametos femeninos funcionales de forma cíclica coincidiendo con los periodos de receptividad sexual. Estos ciclos tienen lugar a lo largo de toda la vida reproductiva del animal y, en el caso de la vaca, se establecen cada 21 días, interrumpiéndose únicamente durante los periodos de anestro propios de esta especie.

Durante el ciclo ovárico de la vaca se distinguen dos periodos, folicular y luteínico. En la fase folicular se producen el crecimiento y la maduración folicular previos al celo y la ovulación, y dura aproximadamente 5-6 días. A continuación aparece la fase luteínica, caracterizada por la formación y actividad progesterónica del cuerpo lúteo (CL), con una duración de unos 15-16 días.

Un complejo sistema en el que participan hormonas procedentes del hipotálamo, la hipófisis, el ovario y el útero será el encargado de establecer el control endocrino de la ovulación.

La duración de los ciclos ováricos está regulada por la progesterona ( $P_4$ ) que secreta el CL. Este CL se forma después de la ovulación, a partir de la luteinización de las células de la teca y de la granulosa del folículo que ha ovulado, y comienza a producir progesterona, cuya concentración va aumentando gradualmente después de la ovulación hasta que alcanza un nivel máximo entre los días 9 y 11 del ciclo ovárico (siendo el día 0 el día de estro o celo). Esta hormona inhibe la secreción de GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) de la eminencia media del hipotálamo (Kawate et al., 1994).

Por su parte, la GnRH liberada llega vía sanguínea a la hipófisis anterior (adenohipófisis) donde induce la secreción de las gonadotropinas LH (hormona luteinizante) y FSH (hormona folículo estimulante), que a su vez controlarán mediante un mecanismo de feed-back corto la actividad del hipotálamo.

La liberación de LH es pulsátil, de forma que cada pulso de GnRH induce un pulso de LH (Moenter et al., 1991). Durante la fase luteal del ciclo estral la concentración media de LH es baja debido al feed-back negativo que la progesterona ejerce sobre la GnRH, reduciéndose la frecuencia de pulsos de LH (Ireland y Roche, 1982), hasta alcanzar la pulsatilidad mínima el día 6 del ciclo.

La descarga de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) del útero los días 16-18 del ciclo estral, inducida a su vez por la oxitocina que segregan la hipófisis posterior (neurohipófisis) y el cuerpo lúteo (Donaldson, 1969), provoca la destrucción del CL (Domínguez et al., 1996). Después de esta luteolisis desciende bruscamente el nivel de progesterona y permanece así durante la fase folicular, permitiendo el aumento de la concentración y la frecuencia de pulsos de LH (Rahe et al., 1980).

En esta fase aumenta el número de receptores para LH en el folículo dominante (FD) presente en el ovario, estimulándose la secrección de estrógenos e inhibina; el incremento en las concentraciones de  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) induce un aumento de la frecuencia de pulsos de GnRH y finalmente un pico de GnRH (Moenter et al., 1991), que a su vez activa la liberación de gonadotropinas, provocando la descarga preovulatoria de LH y FSH (Kesner et al., 1982), y probablemente la descarga postovulatoria de FSH. Los síntomas de celo que presenta la vaca están provocados por el aumento de los niveles plasmáticos de  $17\beta$ -estradiol en ausencia de progesterona, produciéndose la ovulación alrededor de 28 horas después del inicio del pico preovulatorio de LH.

A diferencia de la concentración basal que presenta la LH a lo largo de la fase luteal, la FSH aumenta secuencialmente cada 7-10 días, asociándose a la emergencia de nuevas oleadas de crecimiento folicular en el ganado vacuno (Adams et al., 1992), y probablemente también en la oveja (Schrick et al., 1993).

Por tanto, parece que la progesterona es el mayor regulador de la frecuencia de pulsos LH, mientras que el estradiol y el balance activina:inhibina regulan los niveles de FSH durante el ciclo estral de los rumiantes.

## **2.2. MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA DINÁMICA FOLICULAR**

Se han utilizado diversos métodos para conocer la evolución de los folículos ováricos durante el ciclo estral, tanto sus variaciones estructurales como morfológicas; de todos ellos



destacan la palpación rectal, las técnicas histológicas, los análisis endocrinológicos, la observación directa (laparotomía y laparoscopia) y la ecografía.

La **palpación rectal** es la técnica más práctica y económica para valorar el tamaño, la forma y el diámetro de los ovarios; así mismo, permite detectar la presencia de folículos y CL de diversos tamaños (Carruthers y Hafs, 1980; Webb et al., 1980; Hussein et al., 1992), aunque es la menos precisa de las técnicas citadas.

Rajakoski (1960) realizó un estudio del ciclo completo de la vaca mediante **técnicas histológicas**. La observación al microscopio de cortes histológicos realizados a partir de un ovario extraído mediante laparotomía o postmortem también permite conocer el número y el diámetro de los folículos ováricos, así como su morfología.

La valoración de los **niveles hormonales** que coinciden con las distintas fases foliculares se ha utilizado igualmente para estudiar la dinámica folicular. En la especie bovina, la concentración plasmática de  $17\beta$ -estradiol es un buen indicador indirecto de la actividad de los folículos presentes en el ovario (Dieleman et al., 1986), puesto que existe una gran relación entre el tamaño de un folículo y su grado de maduración y de producción de esteroides (Savio et al., 1990b).

Puesto que tanto la LH como la FSH actúan sobre el desarrollo folicular, el análisis de sus niveles plasmáticos también se ha empleado para estudiar la población folicular. Como hemos visto antes, la aparición de una nueva ola de crecimiento folicular, en el caso del ganado vacuno, está precedida por un aumento un día antes de los niveles de FSH, mientras que el proceso de selección de un folículo coincide con una caída en las concentraciones de esta hormona (Adams et al., 1993).

El estudio de la concentración de receptores para LH y FSH presentes en los folículos podría ser otra opción viable. El número de receptores de LH en las células de la granulosa permanece bajo durante la fase luteal, presentando un aumento brusco después de la luteolisis, y regresando posteriormente (Ireland y Roche, 1983); por el contrario, no se han descrito variaciones importantes en la cantidad de receptores para FSH en la granulosa (Staigmiller y England, 1982).

La observación directa del ovario mediante **laparotomía** o **laparoscopia** permite registrar el diámetro de los folículos mayores de 2 mm, aunque estos métodos tienen diversos inconvenientes, como son la poca fiabilidad de la medida debido al grado variable de inclusión

del folículo en el ovario, la dificultad en su realización diaria, ya que podría alterar el ciclo sexual (Roche, 1975), o la necesidad de anestesiarse a las vacas para su realización.

La utilización de las técnicas basadas en el uso de **ultrasonidos** permiten una observación no invasiva del ovario, tanto externa como internamente, en tiempo real y sin necesidad de manipularlo (Pierson y Ginther, 1987). Su empleo en medicina reproductiva se introdujo a finales de los años 50, aunque los primeros diagnósticos de gestación mediante ecografía en el ganado vacuno se iniciaron en los años 80 (Chaffaux et al., 1982). En los últimos años, varios trabajos han utilizado los métodos ultrasonográficos para describir el desarrollo folicular (Savio et al., 1988; Murphy et al., 1990; Dimmick et al., 1991).

La ecografía es una técnica de diagnóstico por imagen que se basa en la emisión de ultrasonidos y en la recepción de ecos. La sonda transdutora contiene una serie de cristales piezoeléctricos capaces de vibrar al ser estimulados eléctricamente y emitir ondas sonoras no perceptibles para el oído humano, ya que son de una frecuencia de vibración superior a 20.000 Hz. La reflexión de los ultrasonidos en los diferentes tejidos produce unos ecos que de nuevo son recogidos por el transductor, donde someten a los cristales a una vibración que produce unas cargas eléctricas que son representadas en el monitor como puntos de brillo, convertidas en imágenes a tiempo real (Pierson y Adams, 1995).

Las sondas transductoras son, principalmente, de 3.5, 5 ó 7.5 MHz, de manera que a mayor frecuencia mejor resolución aunque menor penetración, y viceversa.

En función de la cantidad de ecos que producen, los tejidos pueden clasificarse como hiperecogénicos, anecogénicos o hipoecogénicos, mostrándose en el monitor de color blanco, negro o más o menos oscuro, respectivamente (González de Bulnes et al., 1999). Un folículo ovárico se visualiza como una estructura redondeada anecogénica (Figura 4.3.) debido a la presencia de líquido folicular, con diámetros de 2 a 20 mm aproximadamente, y un CL da lugar a una imagen hipoecogénica, ligeramente oscura, redondeada y con un diámetro de 15 a 30 mm, que con frecuencia presenta una zona anecogénica en el centro que se corresponde con una cavidad con líquido, probablemente, folicular (Kastelic et al., 1990).

En la especie bovina la ecografía por vía transrectal con sondas de alta frecuencia ha permitido la observación de las estructuras ováricas, con coeficientes de correlaciones entre la ecografía y el registro postmortem realizado a las 4 horas de la ecografía del 80 al 92% para folículos menores de 11 mm y del 97% para los mayores folículos (Pierson y Ginther, 1988a).

En un reciente trabajo, McDougall y Rhodes (1999) analizaron la correlación existente entre los resultados de la detección del CL mediante 3 métodos (palpación rectal, análisis de los niveles de progesterona plasmática y ultrasonidos), indicando que el índice kappa de correlación (de 0 a 1) de la ecografía con el nivel de progesterona ( $\text{kappa}=0.74$ ) fue mayor al obtenido entre la ecografía y la palpación rectal ( $\text{kappa}=0.67$ ), afirmando que la ecografía fue el mejor método para examinar vacas que no presentaban estro. Además, el estudio ecográfico permitió detectar el CL cuatro días antes de lo que lo hizo el análisis de progesterona.

Por tanto, la ecografía es una técnica de fácil aplicación y gran fiabilidad para estudiar el desarrollo folicular, presentando una serie de ventajas importantes respecto de las otras técnicas descritas.

## **2.3. DINÁMICA DE LA POBLACIÓN FOLICULAR**

### **2.3.1. Foliculogénesis**

La foliculogénesis es una serie coordinada de eventos fisiológicos que se desarrollan tanto en las células germinales como en las células somáticas, y que engloban el crecimiento, la diferenciación, la maduración y, por último, la degeneración u ovulación del folículo.

Este proceso se inicia en la fase fetal, de forma que a mitad de la gestación el ovario del feto bovino ya contiene su dotación completa de folículos primordiales. Un folículo primordial está formado por un oocito, sin zona pelúcida, detenido en la profase de la primera división meiótica, y que se rodea de una capa de células epiteliales planas precursoras de la granulosa (Erickson, 1978); en el caso de los rumiantes, el número de folículos primordiales oscila entre 50.000 y 500.000.

A lo largo de la vida, los folículos abandonan de un modo continuo y gradual este conjunto de folículos primordiales en reposo y comienzan a sufrir un lento desarrollo hasta alcanzar el estadio de folículo antral. Las fases iniciales de crecimiento folicular ya comienzan antes del nacimiento y son independientes de las gonadotropinas hipofisarias (Scaramuzzi et al., 1993), puesto que los folículos aún no son sensibles a estas hormonas. Se desconoce en la actualidad el mecanismo fisiológico por el que un folículo primordial inicia su crecimiento (Hirshfield, 1994), barajándose la hipótesis de que éste sea un acontecimiento pre-programado e independiente de efectos locales o sistémicos.

El folículo primario contiene un oocito que ha reanudado la meiosis (Hisaw, 1974), rodeado de la zona pelúcida y de las células de la granulosa organizadas en epitelio cúbico, estando todo ello influido por el estradiol (Hisaw, 1974) y la testosterona (Schreiber et al., 1976).

Las últimas etapas de crecimiento folicular, desde que miden 3 mm hasta que alcanzan la ovulación o atresia, requieren de 7 a 8 días, y dependen en gran medida de las hormonas gonadotrópicas. En las células de la granulosa comienza la expresión de genes específicos que codifican proteínas específicas, entre ellas los receptores para la FSH, receptores que van a mantener su actividad durante todo el desarrollo del folículo secundario (Erickson, 1978). La unión de la FSH a sus receptores desencadena la síntesis de AMPc, que a su vez estimula la división de las células de la granulosa hasta formar 3-4 capas, de manera que el tamaño del folículo aumenta enormemente (Cahill y Mauleon, 1981), y también activa el sistema aromatasas, iniciándose la producción de estradiol.

En las etapas de crecimiento folicular y maduración final se produce un cambio en la respuesta al AMPc en el folículo: mientras que en los pequeños folículos antrales estimula la proliferación de las células de la granulosa, en los folículos preovulatorios activa la diferenciación de las células de la granulosa y la esteroidogénesis (Jolly et al., 1994). Durante la selección del futuro FD, éste adquiere receptores para LH en las células de la granulosa; a partir de ese momento, la LH es capaz de estimular el sistema aromatasas en el FD, produciéndose gran cantidad de estradiol y causando el descenso de los niveles de FSH y la atresia de los pequeños folículos aún dependientes de la FSH (Jolly et al., 1994; Xu et al., 1995).

El proceso completo desde que un folículo es activado hasta que alcanza su tamaño ovulatorio conlleva aproximadamente 60 días (Lussier et al., 1987).

Una vez iniciado el crecimiento, un folículo puede sufrir dos destinos, ovulación o atresia, siendo ésta última la más frecuente. En su revisión, Wiltbank (1999a) hace referencia a un sencillo cálculo realizado por Erickson en 1966, que concluye que menos del 0.1% de los oocitos llegarán a ovular, dándose el mayor porcentaje de atresias foliculares en las últimas fases de crecimiento, cuando un FD es seleccionado de entre la cohorte de folículos de la misma ola folicular.

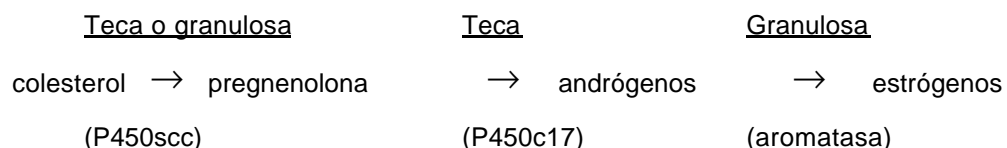
### 2.3.2. Regulación hormonal del crecimiento folicular

Un análisis conjunto de los estudios histológicos realizados por Rajakoski (1960) y de los trabajos de observación directa de Matton et al. (1981) sugirió la existencia de, al menos, dos fases de folículos antrales a lo largo del ciclo estral del ganado vacuno. La primera se desarrollaba al inicio del diestro, entre los días 6 y 12 del ciclo, observándose el crecimiento de un folículo hasta alcanzar el tamaño ovulatorio y seguidamente su atresia; en la segunda fase (día 18-21), el crecimiento de un folículo se prolongaba desde la luteolisis hasta el estro y finalmente ovulaba (Roche y Boland, 1991).

En 1987, Ireland y Roche definieron la existencia de tres periodos de crecimiento de FD durante el ciclo estral, en cada uno de los que, a su vez, se distinguieron tres fases: selección, dominancia y atresia u ovulación. La introducción de las técnicas ecográficas en el estudio de la dinámica folicular permitió confirmar la existencia de dos (Pierson y Ginther, 1988b) o tres olas de crecimiento folicular a lo largo del ciclo estral de las novillas, distinguiéndose en cada ola un folículo que alcanza una situación de dominancia, y regresando el resto de folículos subordinados (Savio et al., 1988).

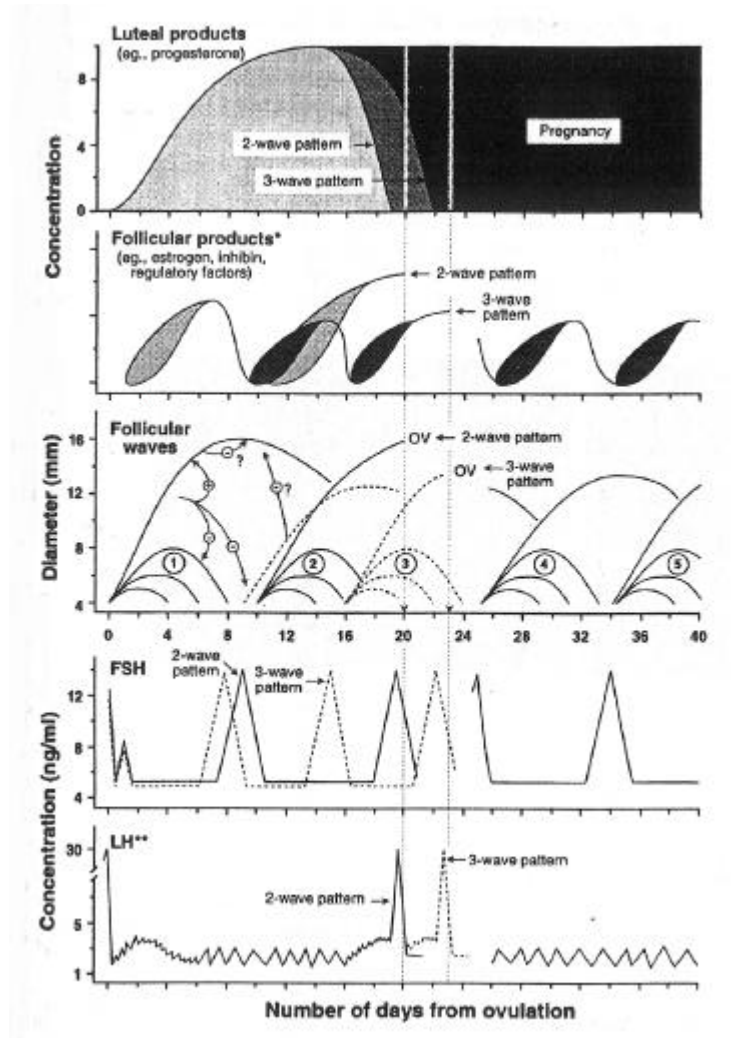
El aumento cíclico de la secreción de FSH, responsable de la emergencia de una nueva ola folicular y de la selección del nuevo FD (Adams et al., 1992), podría deberse a la caída de las concentraciones de factores inhibidores (estradiol, inhibina, u otras proteínas) producidos por el FD de la ola anterior (Ginther et al., 1996).

Las células de la granulosa tienen receptores específicos a los que se une la FSH, estimulando la producción de AMPc que, a su vez, inducirá la expresión de la enzima aromatasa y la producción de estradiol. En el siguiente esquema se muestra la acción conjunta de las células de la teca y de la granulosa en la producción de estradiol y las enzimas que actúan en cada paso (Wiltbank, 1999b):



En la Figura 2.1. se muestra un esquema de la dinámica folicular y de la evolución de las hormonas implicadas en la regulación del crecimiento folicular durante el ciclo ovárico en el ganado vacuno.

**Figura 2.1.** Modelo de los niveles hormonales y la dinámica folicular bovina en función de que los ciclos ováricos presenten dos o tres olas foliculares (líneas discontinuas) (Adams y Pierson, 1995).

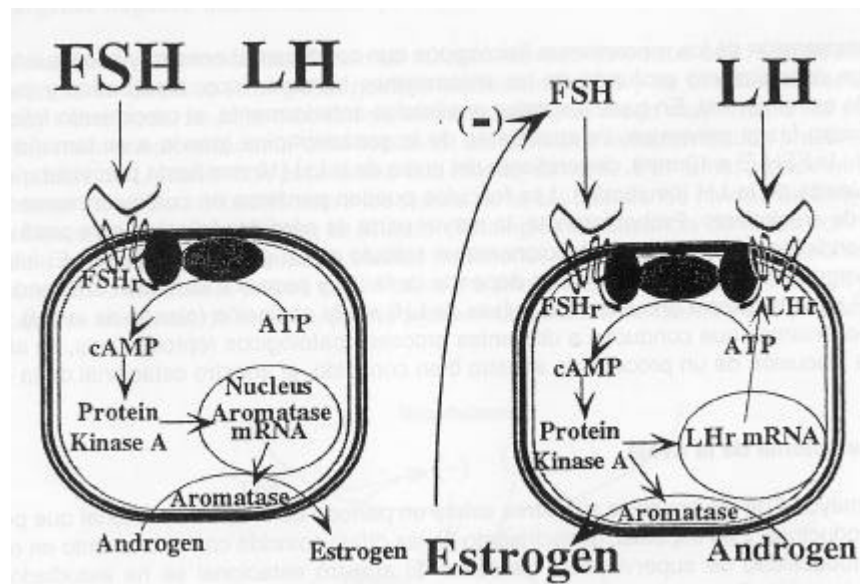


Cuando el mayor folículo de la ola alcanza 8.5 mm de diámetro, comienza a reducirse la velocidad de crecimiento del resto de folículos pertenecientes a la misma cohorte; este momento se ha denominado “desviación” (Ginther et al., 1996 y 1997), y recientemente se ha observado que sucede en menos de 8 horas (Ginther et al., 1999). Después de la desviación, el folículo mayor se denomina *dominante*, y el resto de folículos, *subordinados*.

Existen evidencias de que todos los folículos tienen receptores para la FSH (Tisdall et al., 1995); sin embargo, Jolly et al. (1994) observaron que la LH sólo estimulaba la producción de AMPc en células de la granulosa de los folículos de más de 9 mm, sugiriendo lo que han confirmado estudios posteriores: las células de la granulosa del FD comienzan a expresar

receptores para la LH en el momento de la selección (Xu et al., 1995; Bodensteiner et al., 1996). Wiltbank (1999b) resume los mecanismos celulares que permiten la selección del FD en un hipotético esquema, representado en la siguiente figura:

**Figura 2.2.** Hipótesis de los mecanismos celulares existentes en la granulosa antes (célula de la izquierda) y después (célula de la derecha) de la selección del FD (Wiltbank, 1999b).



Después de la selección, la LH es capaz de estimular el sistema aromatasa en el FD, aumentándose en gran medida los niveles de estradiol en plasma. Este aumento del estradiol junto con el balance activina-inhibina deben ser los responsables de regular los niveles de FSH mediante un feed-back negativo. Para Adams et al. (1993), la reducción en la concentración de FSH debida al aumento del estradiol es, probablemente, la que permite la selección de un FD.

En esta situación de baja concentración de FSH, el folículo seleccionado continúa su desarrollo mientras que el resto de folículos de la cohorte detienen su crecimiento, así como la producción de estradiol. En este momento, el IGF-I (factor de crecimiento tipo insulina I) y las activinas producidas por el FD probablemente estimulan la actividad aromatasa, sensible a la FSH y la LH al mismo tiempo, manteniendo así la capacidad de producir estradiol y la fase de dominancia del folículo (Badinga et al., 1992).

Por tanto, es preciso que se den varios acontecimientos fisiológicos para que el FD alcance la ovulación: aumento de la frecuencia de pulsos de LH, inducción de receptores para la LH en

la granulosa e incremento en la producción y respuesta al AMPc necesarios para la maduración final del FD.

El FD que se desarrolla en presencia de un CL evoluciona hacia la atresia, ya que la progesterona secretada por el CL está inhibiendo la liberación de LH, y por tanto la concentración de LH no es suficiente para estimular la maduración final y la ovulación (Roche y Boland, 1991; Savio et al., 1993). Un pulso de LH cada 23 horas supone la pérdida de dominancia, que también se asocia con la pérdida de receptores para FSH y LH y, en consecuencia, la reducción de la producción de estradiol. La pérdida de dominancia también coincide con la emergencia de una nueva ola folicular que, de nuevo, es precedida por un aumento transitorio de FSH (Ginther et al., 1989a).

Sin embargo, el FD presente en el momento de la luteolisis se ve influido por el aumento en la pulsatilidad de LH que se produce con la caída de los niveles de progesterona, por lo que podría alcanzar la ovulación.

También favorecen la atresia de un folículo el aumento de las proteínas de unión del IGF-I (IGF-BP), que actúan bloqueando el estímulo del IGF-I sobre la actividad aromatasa y el cambio en la producción de los distintos tipos de inhibinas en el líquido folicular (Ireland et al., 1994). En un estudio reciente sobre los factores de crecimiento intrafoliculares, Mihn et al. (1999) observaron que el folículo de la cohorte de la 1ª ola folicular con menor concentración de IGF-BP4 fue seleccionado posteriormente como FD, por tanto, las variaciones de este factor deben tener un papel importante en el proceso de selección del FD en el ganado vacuno.

Se han detectado olas de crecimiento folicular en diversas condiciones fisiológicas. En experiencias realizadas con terneras prepúberes de dos (Evans et al., 1994) u ocho (Adams et al., 1994) meses de edad se observaron olas foliculares de 7-8 días de duración. También se han descrito olas foliculares cada 10-12 días durante las primeras fases de gestación (Ginther et al., 1989b; Savio et al., 1990b), así como durante un estado de inactividad ovárica como es el anestro postparto de las vacas nodrizas (Dimmick et al., 1991; Rhodes et al., 1995).



## 2.4. REINICIO DE LA CICLICIDAD DESPUÉS DEL PARTO

Después del parto, la vaca sufre un periodo de inactividad sexual, denominado anestro postparto (app), en el que se reajustarán los mecanismos hormonales desencadenados para el mantenimiento de la gestación, que finalizará al reiniciarse la actividad ovárica cíclica normal. La duración de este periodo es muy variable, desde 2-3 semanas hasta varios meses, estando sujeta a la interacción de múltiples factores. La eficiencia reproductiva de las vacas nodrizas depende necesariamente de que exista la ovulación de un oocito que sea capaz de ser fecundado y se establezca la gestación, proceso que será inviable si en la época concreta de cubriciones la vaca continúa anéstrica, de ahí la importancia de conocer los mecanismos fisiológicos que impiden el reinicio de la actividad ovárica después del parto.

### 2.4.1. Dinámica folicular en el periodo postparto y factores de crecimiento asociados

La población folicular existente en el periodo postparto ya se estudió mediante palpación rectal, detectándose folículos ováricos cuatro días después del parto, que incrementaban su tamaño linealmente a medida que avanzaba el postparto (Kesler et al., 1980). Braden et al. (1986) realizaron un estudio del desarrollo folicular mediante la recogida de ovarios al sacrificio los días 1, 15, 30 y 45 pp en vacas nodrizas, no encontrando ningún folículo mayor de 5 mm en el día 1, pero sí en el resto de muestreos. Otros autores han confirmado la existencia de desarrollo folicular durante el periodo anovulatorio postparto (Dimmick et al., 1991; Rhodes et al., 1995). Estos resultados inducen a pensar que la capacidad ovárica tampoco es un factor limitante en el postparto temprano.

El estudio de la dinámica folicular en el periodo postparto del vacuno de leche mostró un patrón de sucesivos crecimientos y regresiones de folículos de menos de 8 mm hasta la detección del 1<sup>er</sup> FD el día 12 pp, que presentó una tasa de crecimiento de 1-3 mm al día (Savio et al., 1990a), observándose de 2 a 5 folículos (3-5 mm) diariamente. En este trabajo, el 74% de los primeros FD (14/19) alcanzaron la ovulación, indicando que el reinicio del crecimiento folicular y la ovulación son tempranos en el periodo postparto de las vacas de leche con un estado de carnes moderado.

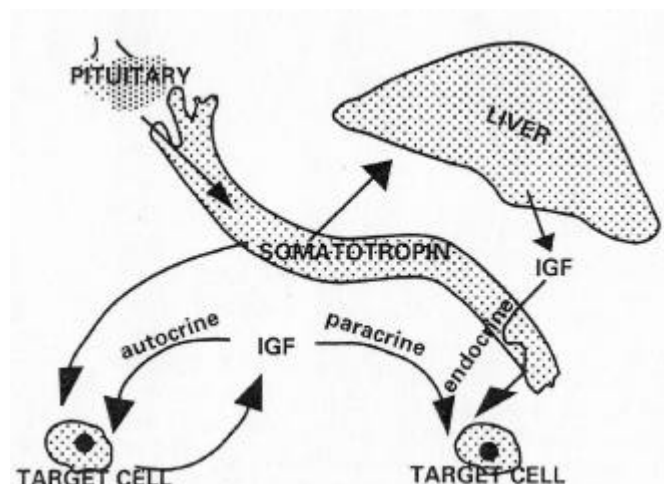
A diferencia de lo anterior, en un trabajo realizado con vacas nodrizas, Murphy et al. (1990) indicaron que la incidencia de ovulación del primer FD postparto fue del 11% (2/18), a pesar de que el primer FD se detectó 10 días después del parto; a este FD le siguió una sucesión de

varios periodos de crecimiento y regresión de FD (3.2 olas foliculares) antes de detectar la primera ovulación ( $35.9 \pm 3.3$  días).

Por tanto, el prolongado app que suelen presentar las vacas nodrizas se debe al fallo en la ovulación de un FD, más que a la falta de desarrollo de FD, como consecuencia de la insuficiente liberación pulsátil de LH, que conduce a una baja producción de andrógenos foliculares (Fortune, 1986) y un inadecuado feed-back positivo del estradiol ovárico para inducir la descarga preovulatoria de LH (Peters et al., 1985).

Una de las acciones de la **hormona del crecimiento** (GH) es a nivel ovárico, puesto que la administración de GH estimula el crecimiento folicular (Lucy et al., 1993). La unión de la GH a sus receptores induce la producción de IGF-I, que a su vez actúa de mediador de la acción de la GH en los rumiantes (Hossner et al., 1997). La GH ejerce su acción tanto a nivel sistémico como a nivel local (ovario) (Figura 2.3.), dándose en las vacas la mayor producción de IGF-I en el hígado, y, en menor proporción, en las células de la granulosa, que también tienen capacidad de producir IGF-I (Spicer y Echternkamp, 1995); de todos modos, el IGF-I localizado en el fluido folicular tiene su origen predominantemente del IGF-I hepático (Leeuwenberg et al., 1996).

**Figura 2.3.** Regulación que ejerce la GH sobre las actividades endocrinas, paracrinas y autocrinas del IGF-I (McGuire et al., 1992; citado en Hossner et al., 1997).



El **IGF-I** tiene un papel fundamental en el desarrollo folicular y luteal ovárico del ganado bovino (Adashi et al., 1985; Perks et al, 1999), induciendo en la granulosa un aumento en la sensibilidad de la enzima aromatas a la acción de la FSH y la LH, un aumento de receptores para las gonadotropinas y, evidentemente, un estímulo de la esteroidogénesis (Adashi et al., 1985; McArdle y Holtorf, 1989). Tanto la insulina como el IGF-I son capaces de estimular la

esteroidogénesis in vitro en cultivos de células foliculares (Spicer et al., 1993) en sinergia con la FSH.

Existen unas proteínas específicas de unión para el IGF-I (IGF-BP), seis de las cuales ya han sido identificadas (Jones y Clemmons, 1995), responsables del transporte y de la disponibilidad de este factor de crecimiento en sus receptores específicos, que están implicadas en diversos aspectos del crecimiento y de la diferenciación folicular (Spicer y Echtenkamp, 1995), habiéndoles asignado tanto funciones estimulantes como inhibitoras.

#### 2.4.2. Regulación hormonal en el periodo postparto

Al final de la gestación se incrementa progresivamente la concentración de estrógenos placentarios circulantes, alcanzando un nivel máximo 24-48 horas antes del parto (Smith et al., 1973). Estos niveles de estrógenos inhiben la síntesis de gonadotropinas hipofisarias, aunque este feed-back negativo desaparece bruscamente después del parto, permitiendo de nuevo la síntesis y secreción, principalmente, de LH y el reinicio de la ciclicidad.

En las fases tempranas del periodo postparto, el contenido de **GnRH** hipotalámico es mayor en vacas anéstricas que en vacas cíclicas, sugiriendo que la secreción de GnRH puede estar inhibida durante el postparto, lo que conduciría a un incremento en los almacenes de GnRH (Braden et al., 1983).

Moss y Nett (1980), comprobando la sensibilidad de la hipófisis a diversas dosis de GnRH durante el postparto, observaron que la dosis de GnRH que provocó la máxima secreción de LH fue similar a lo largo del postparto, indicando que aparentemente la sensibilidad hipofisaria a la GnRH no está reducida después del parto. Además, estos mismos autores encontraron que el número de receptores hipofisarios para la GnRH eran ya altos los días 5 y 10 pp (Moss et al., 1985).

Por ello, se podría afirmar que, durante el periodo postparto, el hipotálamo contiene suficientes cantidades de GnRH para estimular la adenohipófisis (Nett, 1987), no siendo motivo del alargamiento del app.

La concentración plasmática de **LH** es baja durante las etapas finales de la gestación y durante las primeras fases del postparto, aumentando progresivamente al ir avanzando éste (Moss et al., 1985; Stagg et al., 1998). Debido a que esta hormona se libera de forma pulsátil y que tiene una vida media muy corta en el ganado vacuno, para caracterizar los cambios de esta hormona es preciso realizar una frecuencia de muestreo de sangre cada pocos minutos y

durante varias horas, que va a permitir conocer la frecuencia y la amplitud de los pulsos, la concentración basal, así como el pico preovulatorio de LH (Peters y Lamming, 1984).

En vacas de leche, 1.5-2.5 pulsos por hora conducen a la atresia del FD, mientras que 3.5-4.5 pulsos por hora inducen la ovulación, de lo que se deduce que el reinicio de la ciclicidad después del parto va a depender necesariamente de que exista una pulsatilidad de LH adecuada.

Por tanto, la adenohipófisis no es capaz responder al estímulo de GnRH debido a que la cantidad de LH sintetizada y almacenada en la hipófisis es muy baja en el momento del parto, aumentando progresivamente hasta alcanzar niveles similares a los de las vacas cíclicas en torno al día 30 pp (Moss et al., 1985).

Nett (1987) propone la existencia de dos fases en la recuperación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. La primera dura de 2 a 5 semanas después del parto y se caracteriza por la existencia de descargas de GnRH de baja frecuencia que inducen la síntesis de LH, aunque no son suficientes para estimular la secreción de LH y la maduración folicular, siendo esta fase, aparentemente, independiente del estímulo del amamantamiento o de factores ambientales. En la segunda fase, que se puede prolongar del día 30 al 150 pp, aumenta la liberación de LH hasta que alcanza la amplitud y frecuencia de pulsos suficientes para estimular el crecimiento folicular y la producción de estradiol. Los pequeños aumentos de estradiol en cortos periodos ejercen un feed-back positivo, al contrario de la retro-acción negativa que ejercen las elevadas concentraciones de estradiol presentes durante la gestación. Aumenta la sensibilidad del hipotálamo y la hipófisis al feed-back positivo del estradiol, estimulando la liberación de GnRH y LH, la maduración folicular y la ovulación. Esta segunda fase condicionaría la duración del app, estando sujeta a la acción de factores ambientales y de manejo, entre los que destacarían el amamantamiento y la nutrición.

Los **estrógenos** actuarían sobre la regulación de la secreción de gonadotropinas a nivel de la hipófisis más que en el hipotálamo, ya que no modifican la frecuencia de pulsos de LH y sí la amplitud y los niveles basales (Schallenberger et al., 1982). La concentración de receptores hipofisarios para el estradiol es mayor el día 15 que el día 1 pp, sugiriendo un aumento de la sensibilidad hipofisaria al estradiol y, por tanto, un incremento en la síntesis de LH (Cermak et al., 1982). La elevación en las concentraciones séricas de estradiol produce un aumento en la liberación y síntesis de LH, mediante un feed-back positivo (Peters, 1984a), e inversamente, la LH estimula la secreción de estradiol por parte de los folículos (Peters y Perera, 1989).

Aunque existen diversos trabajos que correlacionan los niveles de **FSH** y la duración del app, ya sea negativa (Peters y Lamming, 1986) o positivamente (Gauthier et al., 1982), la mayoría de los autores no consideran que la secreción de FSH sea un factor limitante en el reinicio de la ciclicidad después del parto. En el postparto temprano la concentración de FSH en plasma es baja, aunque su recuperación se produce antes de lo que lo hace la concentración de LH (Schallenberger, 1985), presentando niveles normales muy tempranamente en el postparto, lo que permite el inicio del crecimiento folicular.

Debido a la rápida metabolización que sufre la **PGF<sub>2</sub>α** en los pulmones se tiende a estudiar la evolución de su metabolito estable, la PGFM (15-ceto-13,14 dihidroprostaglandina F<sub>2</sub>α). La PGFM aumenta bruscamente 24-48 horas antes del parto y comienza a disminuir una semana después del mismo (Slama et al., 1991), relacionándose la liberación de PGF<sub>2</sub>α con el proceso de involución uterina, y asociándose mayores concentraciones postparto de PGFM con tasas más rápidas de recuperación del útero (Thatcher et al., 1982).

Existe una sincronización de los pulsos de PGF<sub>2</sub>α y los de **oxitocina** en el ganado vacuno (Vighio y Liptrap, 1986; Cooper et al., 1991). La oxitocina estimula la secreción de PGF<sub>2</sub>α en el útero (Homanics y Silvia, 1988) y, a su vez, la PGF<sub>2</sub>α induce la liberación de oxitocina en el ovario (Lamsa et al., 1989). Este feed-back positivo confirma la acción sinérgica entre la PGF<sub>2</sub>α y la oxitocina, regulando esta última la amplitud de pulsos de PGF<sub>2</sub>α para completar la regresión luteal (Flint et al., 1990; Kotwica et al., 1998).

Sin embargo, la PGF<sub>2</sub>α y la oxitocina no parecen guardar relación con la duración del app, sino que intervendrían de forma importante en la posterior caracterización de los ciclos estrales en normales, medios o largos.

En la regulación hormonal del periodo postparto también podrían estar implicados los péptidos opioideos endógenos, la prolactina o los corticoides.

La administración de análogos naturales (morfina) o sintéticos, así como de antagonistas (naloxona) de los **péptidos opioideos endógenos** (EOP) ha confirmado el papel inhibitor de los EOP sobre la secreción de gonadotropinas en diversas especies, entre ellas las ovejas (Ebling et al., 1989), los cerdos (De Rensis et al., 1993), las vacas de leche (Ahmadzadeh et

al., 1998) y las vacas nodrizas (Whisnant et al., 1986a; Whisnant et al., 1986b; Williams, 1990). Sin embargo, no parece que modulen la secreción de FSH (Wood et al., 1987).

La administración de naloxona incrementó la concentración de LH durante el periodo postparto en vacas nodrizas (Whisnant et al., 1986a; Gregg et al., 1986), sugiriendo un papel del sistema opioideo en el app, aunque su efecto disminuye con el tiempo transcurrido tras el parto, y también con la dosis administrada; si durante el postparto temprano se aumenta la dosis de naloxona puede inducir la misma liberación de LH que una dosis menor en fases más avanzadas del postparto (Whisnant et al., 1986b), lo que indicaría que la acción inhibitoria es más intensa en el postparto temprano, quizá porque los niveles de EOP son menores en fases avanzadas del postparto.

El grado de regulación del sistema opioideo sobre la secreción de LH varía en función de las especies, estando modulada además por factores como la edad, la estación, el sexo o el estado reproductivo (Brooks et al., 1986).

Diversos trabajos han sugerido la participación de los EOP como mediadores de la acción de los esteroides ováricos sobre la secreción de GnRH/LH, mediante un mecanismo esteroide-dependiente, lo que explicaría la mayor liberación de LH tras la administración de naloxona en la fase del ciclo estral que presenta mayores concentraciones de esteroides, la fase folicular, o el bloqueo de la secreción de LH en respuesta al estradiol al administrar un agonista opioideo (Nanda et al., 1991). En el caso de los bóvidos, los EOP actúan a nivel hipotalámico, inhibiendo la secreción de GnRH, concretamente sobre receptores específicos localizados en el área preóptica y la eminencia media del cerebro (Leshin et al., 1991).

Sin embargo, los resultados obtenidos a partir de la administración de agonistas o antagonistas de los EOP deben interpretarse con cautela por diversas razones:

a) Los tres grupos principales de EOP, encefalinas,  $\beta$ -endorfinas y dinorfinas, presentan diferentes distribuciones regionales y afinidad similar por, al menos, cinco receptores ( $\mu$ ,  $\theta$ ,  $\kappa$ ,  $\sigma$ ,  $\epsilon$ ), aunque el grado de inhibición del sistema opioideo depende del péptido que actúe y, por supuesto, del tipo de receptor sobre el que ejerza su acción (Cosgrove et al., 1993).

b) Para que los tratamientos administrados alcancen su punto de acción es preciso que superen la barrera hematoencefálica, de ahí la necesidad de emplear dosis muy elevadas, que, con frecuencia, van a desencadenar repercusiones clínicas y, tal vez, acciones en puntos distintos al requerido (Peters y Lamming, 1990).

La participación de los EOP en la inhibición de la liberación de LH durante el postparto parece ser un efecto inducido o al menos aumentado por la crianza del ternero (Riskind et al., 1984; Whisnant et al., 1986c), como veremos posteriormente.

La **prolactina** tiene un papel fundamental en el complejo hormonal responsable de la mamogénesis/lactogénesis en la vaca. La concentración de prolactina al final de la gestación es muy baja, aumenta de manera considerable después del parto manteniéndose así el primer mes postparto, y después disminuye progresivamente, aunque con grandes fluctuaciones (Lamming et al., 1981). Sin embargo, la utilización de inhibidores de prolactina (Montgomery, 1982) o la inyección de prolactina a vacas de carne ovariectomizadas (Forrest et al., 1980) no alteraron la liberación pulsátil de LH, ni la reactivación ovárica postparto, lo que ha llevado a pensar que la prolactina no juega ningún papel en la regulación de la LH en el ganado vacuno.

Los niveles de **corticoides** sufren una brusca elevación previa al parto, debido al incremento de su síntesis por las glándulas adrenales fetales, señalando el final de la gestación (Adams y Wagner, 1970). El eje hipotálamo-pituitaria-adrenocortical (HPA) es, además, un sistema regulador neuroendocrino fundamental para la adaptación de los animales a los cambios externos.

Los corticoides pueden actuar sobre la función reproductiva a nivel hipofisario reduciendo la amplitud de los pulsos de LH, así como su nivel basal (Li y Wagner, 1983; Schallenberger, 1985), y a nivel gonádico inhibiendo la acción de la LH. Además, se ha descrito una reducción de sus niveles a medida que progresa el postparto (Stahringer et al., 1994).

Durante el periodo de app de las ovejas se ha demostrado que la **ACTH** inhibe la respuesta de LH a la GnRH (Phogat et al., 1997) y suprime el pico de LH inducido por el estradiol (Dobson et al., 1988), aunque estos últimos autores afirmaron que la acción de la ACTH sobre la reproducción no se ejercía a través del cortisol. Corroborando este resultado, Phogat et al. (1999) concluyen que la ACTH retrasa el pico de LH a través de un efecto directo, al menos en parte, sobre la hipófisis.

Spicer et al. (1986), sin embargo, no observaron diferencias significativas en los niveles de cortisol de vacas cíclicas y anéstricas, indicando que los corticoides, aparentemente, tampoco están directamente implicados en el reinicio de la ciclicidad del ganado vacuno.

### 2.4.3. Incidencia de ciclos cortos en el periodo postparto

La primera ovulación rara vez va acompañada de signos manifiestos de celo, y a menudo le sigue un ciclo de duración corta (8-12 días) debido a la regresión temprana del CL inducida probablemente por la liberación prematura de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , provocando que la fase luteínica sea anormalmente corta.

La frecuencia de aparición de estos ciclos cortos es muy variable, por ejemplo, Bloomfield et al. (1986) encontraron un 34% de reactivaciones con ciclo corto, Blasco y Revilla (1992) un 53.1%, San Juan et al. (1994c) citan un 35.7% y Stagg et al. (1995) observan un 82% de ciclos cortos, siendo la primera referencia de vacas de leche y las tres últimas de vacas nodrizas. Los ciclos cortos son una característica propia de las reactivaciones ováricas que se producen tempranamente en el postparto (Short et al., 1990; Blasco, 1991; San Juan, 1993), pudiendo presentarse también en los ciclos siguientes aunque con menor frecuencia (Eger et al., 1988).

Los ciclos de corta duración se han asociado a niveles bajos de estradiol circulante durante el estro (Copelin et al., 1988), lo que justificaría la frecuente falta de receptividad sexual asociada a este tipo de ciclos.

Se han apuntado diversas causas que pueden desencadenar los ciclos cortos, como son las características de los propios folículos (Perry et al., 1991a), la pérdida de capacidad de secretar progesterona por parte del CL (Manns et al., 1983) o la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  por parte del útero en relación con el proceso de involución uterina (Copelin et al., 1989).

Ottobre et al. (1984) indicaron que el estradiol procedente del folículo preovulatorio induciría la síntesis de receptores para la progesterona en el útero, necesarios para establecer la dominancia de la progesterona en el útero después de la ovulación; por tanto, los niveles escasos de estradiol previos a los ciclos cortos podrían alterar la síntesis adecuada de tales receptores, permitiendo la síntesis prematura de receptores uterinos para la oxitocina, y desencadenando la sinergia luteolítica de la oxitocina y la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  antes de lo normal (Zollers et al., 1993). Estos mismos autores confirmaron que la cantidad de receptores para la oxitocina en el endometrio de las vacas que presentaban ciclos cortos fue mayor a la observada en vacas con ciclos normales.

Por otra parte, el éxito de un pre-tratamiento con progestágenos para reducir el porcentaje de ciclos cortos (Ramirez-Godinez et al., 1981; Breuel et al., 1993; Mackey et al., 1997a) ha llevado a pensar que el significado de la vida tan corta del primer CL postparto debe estar relacionado con la necesidad de una exposición anterior ("priming") a la progesterona para



preparar al folículo, capacitándolo para formar un CL funcional completo o para regular el momento de la liberación de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  endógena del útero (Short et al., 1990; Dimmick et al., 1991). El primer folículo ovulatorio se puede detectar el día 9 pp, periodo en que aún existe suficiente progesterona remanente de la gestación que permite que la función luteal sea normal después de la primera ovulación, resultando en un ciclo ovárico normal (Savio et al., 1990b), mientras que la existencia de varias olas de FD previas a la primera ovulación (Stagg et al., 1995) resultaría en una insuficiente exposición previa de progesterona y una mayor incidencia de ciclos cortos.

Como resumen, en relación al reinicio de la ciclicidad ovárica de las vacas nodrizas, podemos señalar que la falta de ovulación que se produce durante el periodo postparto se debe a una insuficiente pulsatilidad de LH para estimular el crecimiento folicular y la maduración final, más que a una falta de desarrollo folicular. Por tanto, el reinicio de la ciclicidad después del parto va a depender fundamentalmente de que aumente la secreción de GnRH hipotalámica, estimulando así la liberación pulsátil de LH, que previamente ha debido recuperar sus almacenes hipofisarios. Cualquier factor que inhiba la frecuencia de pulsos de GnRH/LH alargará inevitablemente la duración del app. En este sentido, los EOP posiblemente intervengan en el retraso de la actividad ovárica postparto, esencialmente, a través de la supresión que ejercen en la liberación de LH, estando muy vinculados estos péptidos al estímulo provocado por la permanencia del ternero con la madre.

#### **2.4.4. Factores que afectan a la duración del anestro postparto**

##### **2.4.4.1. Alimentación**

En los sistemas de explotación de vacas nodrizas basados en el aprovechamiento de los recursos naturales la alimentación es un factor fundamental en la determinación de la duración del app, así como de la fertilidad del rebaño. El desequilibrio estacional en la oferta de forrajes, característico de los sistemas extensivos de producción, permite a las vacas acumular reservas corporales durante las épocas de alimentación abundante y movilizarlas cuando la escasez de alimentos no permite el mantenimiento de los niveles nutricionales adecuados.

Aunque la subnutrición afecta a todos los factores nutricionales (energía, proteína, vitaminas, minerales, ...), en el caso de las vacas nodrizas hace referencia principalmente al aspecto energético, puesto que es el que más influye en la reactivación ovárica postparto.

Los niveles bajos de energía y/o las pérdidas de estado corporal de las vacas se han asociado a la reducción de la secreción de gonadotropinas en el postparto. Como consecuencia, han sido numerosos los trabajos encaminados a profundizar en los mecanismos endocrinos por los que la alimentación modula los niveles hormonales, así como la dinámica folicular y la reactivación ovárica después del parto, aunque los resultados obtenidos en los diversos estudios son muy variables, debido probablemente a diferencias en el nivel de energía utilizado, la duración que ha tenido el tratamiento, la edad de los animales, etc.

### **a) Nivel de alimentación recibido antes del parto**

El mayor problema al que se enfrentan los sistemas de producción de vacas nodrizas son los alargados app, que afectan directamente al rendimiento productivo final. El efecto de la alimentación sobre este parámetro se ha demostrado en numerosos trabajos (Wright et al., 1987; Randel, 1990; Blasco, 1991; Petit et al., 1992; Sanz et al., 1997), muchos de los cuales coinciden en que es la nutrición recibida antes del parto el factor principal que influye en la duración del app, como ya se sugirió en los primeros trabajos realizados en este sentido (Wiltbank et al., 1962; Wiltbank et al., 1964), ya que es la que determina precisamente el peso y la condición corporal (CC) de la vaca al parto.

En vacas de raza Pirenaica sometidas a dos niveles de alimentación preparto (alto vs. bajo) y a un nivel nutritivo moderado durante el postparto, la duración del app fue mayor en las vacas del lote alimenticio bajo preparto (39 vs. 54 días, respectivamente,  $p < 0.01$ ) (Revilla y Blasco, 1991), como también se comprobó en la raza Parda Alpina (40.5 vs. 96.6 días, respectivamente,  $p < 0.001$ ) (San Juan et al., 1994b).

En la actualidad, continúa siendo un tema discutido la importancia del modo en que la CC o el peso al parto hayan sido alcanzados. Whittier et al. (1988) sometieron a un lote de novillas de carne a tres regímenes de alimentación durante los últimos 90 días de gestación, uno de ganancia, otro de ganancia + mantenimiento y un tercero de mantenimiento + ganancia, para alcanzar la misma CC al parto, obteniendo similares intervalos del parto a la primera ovulación. La dirección de los cambios en las reservas corporales de los animales al final de la gestación no afectaron al rendimiento reproductivo posterior.

En una experiencia realizada con novillas de carne ovariectomizadas y sometidas a un nivel energético bajo, se observaron diferencias en los patrones de secreción de las gonadotropinas en función de que el orden del cambio de peso fuera ganancia-pérdida o pérdida-ganancia, para un peso similar (Roberson et al., 1991). También se han asociado peores resultados

reproductivos a dietas extremadamente bajas justo antes del parto, aunque el nivel nutricional recibido durante los meses anteriores haya sido elevado (Petit, 1997).

### **b) Nivel de alimentación recibido después del parto**

En las fases tempranas del postparto existe una gran demanda energética, para cubrir las necesidades de mantenimiento y producción lechera. Debido a que la lactación es una función prioritaria, la vaca movilizará sus reservas corporales para compensar la diferencia entre la energía ingerida y la requerida, conduciendo al animal a una situación de balance energético (BE) negativo, que afectará a la reproducción en función de su intensidad y duración (De Vries et al., 1999).

Butler et al. (1981), trabajando con vacas Holstein de alta producción, observaron que el BE de los primeros 20 días postparto estaba inversamente relacionado con la duración del app ( $r=-0.6$ ), produciéndose la ovulación aproximadamente 10 días después de que el BE negativo alcanzara su nivel máximo comenzando a retornar hacia 0, y próximo al pico de lactación. Igualmente, Canfield y Butler (1991) señalaron, en vacas Holstein, una alta correlación negativa ( $r=-0.77$ ,  $p<0.01$ ) entre la duración del app y los días postparto al nadir del BE negativo.

Diversos autores han observado en vacas nodrizas un alargamiento en la duración del app al reducir el nivel energético de la dieta proporcionada durante la lactación (Perry et al., 1991b; Wright et al., 1992b; Sanz et al., 1997). Por el contrario, San Juan (1993), trabajando con vacas de raza Parda Alpina que llegaron al parto con una CC próxima a 2.5 y sometidas a dos raciones postparto que cubrieron el 80 ó el 100% de sus necesidades (INRA, 1978), no observó diferencias significativas en la duración del app entre ambos lotes (33 vs. 33.6 días, respectivamente). Otros autores tampoco han encontrado diferencias en la reactivación ovárica postparto entre animales sometidos a un nivel alto o bajo de energía en el postparto (Richards et al., 1986; Blasco y Revilla, 1991; Osoro y Wright, 1992; Sinclair et al., 1994b).

En el caso de las vacas nodrizas el nivel de alimentación postparto parece menos importante que el recibido antes del parto, aunque debe de existir una interacción entre ambos niveles, de manera que cuanto menor es la CC de los animales al parto más relevancia toma la alimentación recibida durante la lactación. Wright et al. (1992b) observaron que, en vacas con una CC al parto de 2.9, el nivel de alimentación postparto (alto vs. bajo) no afectó al reinicio de la ciclicidad (80 vs. 89 días), mientras que cuando la CC era de 2.2 las vacas sometidas al nivel bajo sufrieron un retraso en la reactivación ovárica postparto (89 vs. 116 días).

En el caso particular de las vacas primíparas, la ración postparto tiene un efecto aditivo importante a la CC al parto, debido a las necesidades adicionales que presentan estos animales para continuar creciendo a la vez que crían el ternero (Grimard et al., 1995). Sin embargo, en una experiencia realizada con novillas de raza Parda Alpina que presentaron un buen estado corporal al parto (CC: 2.8), no se observaron diferencias significativas en la reactivación ovárica entre los lotes sometidos a un nivel alto o bajo durante la lactación (26.8 vs. 29.7 días) (Blasco y Revilla, 1991), probablemente, debido a las altas reservas corporales con las que las novillas llegaron al parto.

La alimentación postparto parece tener un papel importante en la manifestación externa del celo (Spitzer et al., 1995) y en la fertilidad del rebaño, habiéndose observado una relación inversa del BE negativo con el porcentaje de fertilidad del rebaño ( $r=-0.5$ ,  $p<0.01$ ) (Senatore et al., 1996).

La suplementación **grasa** durante la lactación es un tema discutido, puesto que, aunque se ha asociado a reducciones en el intervalo del parto a la primera ovulación, también ha sido relacionada con descensos en la fertilidad (Peters, 1996), debido posiblemente a que al aumentar el número de grandes folículos existe un exceso de producción estrogénica que puede reducir la supervivencia del embrión (Lucy et al., 1991).

El aporte **proteico** de la dieta también puede afectar al rendimiento reproductivo en el periodo postparto. Dietas bajas en proteína conducen a una reducción de la ingestión y la digestibilidad, induciendo paralelamente una disminución en los aportes energéticos. Sin embargo, el exceso de proteína tampoco favorece los índices reproductivos, especialmente cuando las vacas se encuentran en BE negativo después del parto (Charmley et al., 1999).

Sinclair et al. (1994a) observaron un alargamiento del intervalo parto-1<sup>er</sup> estro postparto, en vacas nodrizas sometidas a un alto nivel de proteína, probablemente, como consecuencia del efecto estimulante de la proteína sobre la producción de leche, y el consiguiente aumento del BE negativo. También se han apuntado como posibles consecuencias de los niveles elevados de urea un efecto tóxico sobre el desarrollo folicular y la calidad de los embriones (O'Callahan y Boland, 1999), así como repercusiones sobre el sistema inmune (Ferguson y Chalupa, 1989).

### c) Mecanismos de acción de la nutrición sobre la función reproductiva

Se ha implicado a la alimentación tanto a nivel del eje hipotálamo-hipofisario como a nivel ovárico, aunque todavía no se conocen con exactitud los mecanismos endocrinos y metabólicos a través de los que la nutrición modula la reactivación ovárica postparto en el ganado vacuno.

El desarrollo de la **población folicular** se reinicia en fases muy tempranas del postparto, presentando sucesivas fases de crecimiento y atresia durante un periodo variable hasta que un FD es capaz de ovular. En este sentido, parece que la subnutrición ejerce un efecto depresor sobre el desarrollo folicular, impidiendo las últimas fases de maduración de los folículos preovulatorios, así como su capacidad para producir estradiol.

Lucy et al. (1991), trabajando con vacas de leche, observaron que a medida que aumentaba el BE el día 15 pp se incrementaban la concentración plasmática de LH y el tamaño del mayor folículo presente en el ovario. Estos mismos autores también detectaron un efecto del BE sobre el número de folículos de diferentes diámetros, de forma que el BE negativo se relacionó con un aumento en el porcentaje de pequeños folículos (3-10 mm) y una reducción en la cantidad de folículos mayores de 10 mm y en su capacidad ovulatoria.

En el vacuno de carne, se ha descrito que la subnutrición reduce el número de folículos y su capacidad esteroideogénica (Prado et al., 1990), el diámetro máximo folicular (Perry et al., 1991a; Stagg et al., 1995; Bossis et al., 1999), así como la persistencia de los FD, aumentando el número de ciclos con tres FD en vez de dos, sin afectar por contra a la tasa de crecimiento folicular (Murphy et al., 1991). Resultados similares encontraron Jolly et al. (1995), en relación al efecto de la subnutrición sobre la maduración final de los folículos con capacidad estrogénica. No obstante, estos autores observaron un aumento en la persistencia de los FD, que retrasó la emergencia del siguiente FD.

Los mecanismos precisos por los que la nutrición afecta al desarrollo folicular aún no están claros. Aunque la FSH es la responsable directa del crecimiento folicular, diversos trabajos han demostrado la ausencia de efecto de la restricción alimenticia sobre las concentraciones de FSH (Findlay y Clarke, 1987; Perry et al., 1991b; Stagg et al., 1995).

La disminución de la frecuencia de pulsos de LH descrita en situaciones de subnutrición se ha relacionado con una reducción del diámetro máximo del FD, asociándose la caída en la

concentración y/o amplitud de los pulsos de LH con la reducción de los niveles de estradiol y el fallo en la ovulación (Bossis et al., 1999).

El **IGF-I** es un regulador del desarrollo folicular (Adashi et al., 1985; Perks et al., 1999), y posiblemente sea un mediador importante entre la nutrición y la reproducción (Rutter et al., 1989; Webb et al., 1999). En el caso de las vacas, la subnutrición debe de actuar sobre la concentración plasmática de IGF-I reduciendo su secreción (Elasser et al., 1989). Apoyando esta hipótesis, Lucy et al. (1992) observaron que la subnutrición redujo la concentración plasmática de IGF-I y el ratio estrógeno/progesterona en el fluido folicular de los FD. Spicer et al. (1990) encontraron una fuerte correlación entre el BE y los niveles séricos de IGF-I, en vacas Holstein de alta producción durante el postparto temprano ( $r=0.43$ ,  $p<0.001$ ).

La duración del app de las vacas nodrizas también se ha relacionado inversamente con los niveles plasmáticos de IGF-I (Nugent III et al., 1993), resultados similares a los encontrados por Simpson et al. (1992) en novillas Simental alimentadas ad libitum.

En la actualidad se cuestiona una acción estimulante del estradiol ovárico sobre la secreción de IGF-I hepático, explicando así que las bajas concentraciones de estradiol observadas en animales subnutridos no son capaces de estimular la producción de IGF-I hepático, alterando seguidamente la función reproductiva (Roche y Diskin, 1994).

Otros posibles responsables de la modulación de la población folicular son las proteínas de unión del IGF (IGF-BP) (Echternkamp et al., 1994), cuyos niveles también se ven afectados por la subnutrición (Vandehaar et al., 1995).

Por tanto, es posible que la energía de la dieta actúe a través de los niveles séricos o intrafolículos de IGF-I, modulando el crecimiento folicular.

La concentración de IGF-I en los rumiantes depende tanto del estado nutricional como del nivel de la **hormona del crecimiento** (GH). Este último está aumentado en los animales sometidos un nivel bajo de alimentación (Ryan et al., 1994; Stagg et al., 1998; Bossis et al., 1999), como también lo están el contenido en RNAm para la GH en la adenohipófisis y quizá su metabolismo (Bass et al., 1992).

El nivel de alimentación también podría modular el efecto de la GH a través de la alteración en el número o la afinidad de los receptores específicos para la GH (Chase et al., 1998), entre ellos los receptores hepáticos, pudiendo intervenir las proteínas específicas (GH-BP) encargadas de transportar la GH en sangre.

La **sensibilidad ovárica** a la LH también pudiera estar modificada por la subnutrición. Esta hipótesis, ya planteada por Wiltbank et al. en 1962, ha sido apoyada por Schillo en su revisión (1992), apuntando como posibles causas de la falta de desarrollo folicular un efecto supresor de la subnutrición sobre la capacidad de respuesta del ovario a la LH.

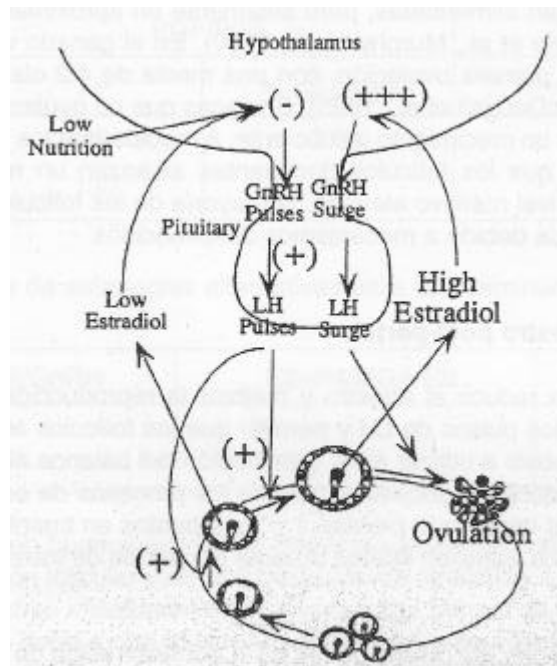
Además de las acciones de la alimentación a nivel ovárico o sobre los factores reguladores del crecimiento folicular, los primeros estudios enfocados a analizar el efecto de la subnutrición sobre la reactivación ovárica ya observaron una reducción de la secreción de LH, así como un aumento en la sensibilidad del feed-back negativo del estradiol en los animales subnutridos (Gombe y Hanse, 1973). Por tanto, el mecanismo debe ser eminentemente a través de la alteración de la liberación pulsátil de LH. Sin embargo, existen resultados controvertidos en cuanto a si la subnutrición ejerce su acción sobre la liberación de GnRH en el hipotálamo o de LH en la hipófisis; cualquiera que sea el mecanismo por el que actúe, el eje hipotálamo-hipofisario debe de estar afectado siempre.

En sus revisiones, Randel (1990) y Schillo (1992) coinciden en considerar que la subnutrición en vacas de cría disminuye la liberación de **GnRH** endógeno y el número de receptores hipofisarios para esta hormona, lo que daría lugar a una menor liberación pulsátil de LH. La restricción energética a largo plazo se ha relacionado con una disminución de los niveles de RNAm para FSH y LH y de las concentraciones plasmáticas de ambas hormonas en ovejas (Kile et al., 1991). Diversos autores también han encontrado menores niveles de **LH** (niveles medios y/o frecuencia de pulsos y/o amplitud de pulsos) en vacas y novillas subnutridas (Whisnant et al., 1985b; Perry et al., 1991b; Wright et al., 1992b).

Sin embargo, la administración de GnRH es capaz de aumentar los niveles de estas gonadotropinas tanto en ovejas (Kile et al., 1991) como en novillas (Kurz et al., 1990). En un reciente trabajo realizado con vacas de carne en anestro nutricional, Hamilton et al. (1999) observaron que la administración de GnRH aumentó la concentración folicular de estradiol y de IGF-I, induciendo finalmente la ovulación.

Todos estos trabajos sugieren que la reducción en la síntesis y secreción de gonadotropinas observada en situaciones de subnutrición se debe a una disminución en la liberación de GnRH hipotalámico, como muestra la Figura 2.4.

**Figura 2.4.** Posible regulación hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, en una situación de subnutrición en el ganado vacuno (Wiltbank, 1999a).



Continúa siendo un tema discutido si los efectos de la subnutrición son mediados a través de mecanismos dependientes o independientes de los **esteroides**. La capacidad del estradiol para inducir el pico preovulatorio de LH parece que está influida por el estado nutricional de la vaca durante el periodo postparto. Imakawa et al. (1987) explican que la inactividad hipotámica observada en novillas subnutridas se debe a un aumento en el feed-back negativo al estradiol que inhibe la síntesis y/o la secreción de LHRH (hormona liberadora de LH).

Sin embargo, Tatman et al. (1990), trabajando con ovejas ovariectomizadas, no han observado un efecto aditivo de la subnutrición y del estradiol sobre la secreción de gonadotropinas, rechazando la hipótesis de que la nutrición tenga un efecto dependiente de los esteroides.

El nivel nutricional no parece que altere la concentración sanguínea de estradiol en las vacas (Richards et al., 1989a; Bossis et al., 1999). No obstante, en varios estudios se han observado menores niveles de estradiol en las novillas sometidas a una restricción alimenticia (Bergfeld et al., 1994; Rodhes et al., 1996).



Roche y Diskin (1994) plantean otro hipotético mecanismo de acción de la nutrición sobre la función reproductiva, a través de la reducción de la sensibilidad del hipotálamo al feed-back positivo del estradiol.

Otras hormonas que pueden ver alterados sus niveles debido a la subnutrición, aunque aparentemente menos implicadas en el anestro nutricional, son la progesterona, la prolactina y los corticoides.

El CL de las vacas subnutridas es más pequeño y menos pesado que el de los animales mejor alimentados, reduciéndose de forma lineal a medida que disminuye el peso vivo y la CC (Rhodes et al., 1996). Murphy et al. (1991), sin embargo, no observaron ninguna influencia del nivel de alimentación ofrecido a un lote de novillas durante 10 semanas sobre el diámetro del CL o la duración de la fase luteínica.

Por otra parte, los niveles bajos de alimentación no parece que afecten al número de receptores para LH situados en el CL (Schrick et al., 1992), por tanto, la reducción del diámetro del CL podría deberse a la reducción del tamaño del FD y de la frecuencia de pulsos de LH.

La restricción alimenticia se ha asociado a un aumento (Bossis et al., 1999), una reducción (Villa-Godoy et al., 1990) o un mantenimiento (Murphy et al., 1991; Rhodes et al., 1996) de los niveles séricos de **progesterona**, contradicción que debe de tener su origen en posibles diferencias en los niveles de subnutrición aplicados a los animales y en la frecuencia de muestreo de esta hormona.

En ocasiones se ha encontrado un efecto depresivo de la subnutrición sobre la concentración plasmática de **prolactina** en el vacuno de carne (Wright et al., 1987), aunque otros autores no han evidenciado efecto alguno (Clemente et al., 1978).

Tampoco parece que la subnutrición afecte a las hormonas del sistema adrenal y simpático, ya que, en la mayoría de los trabajos se han observado valores similares de **cortisol** independientemente del nivel de alimentación que recibieron las vacas o las novillas (Schrick et al., 1990; Hall et al., 1991).

El efecto de la nutrición sobre la actividad del eje hipotálamo-hipofisario durante el periodo postparto del ganado vacuno podría estar mediado por variaciones en la concentración de determinados factores de crecimiento (GH, IGF-I), como hemos visto antes, metabolitos (glucosa, AGNE, ...) u hormonas metabólicas (insulina).

La concentración de **glucosa** en sangre se ha considerado un mediador específico del efecto de la subnutrición en la reproducción, puesto que este metabolito es la única fuente de energía utilizada por el SNC. Además, el ovario y el endometrio son casi totalmente dependientes para su funcionamiento de las reservas de glucosa (Short y Adams, 1988).

En vacas en anestro nutricional, la reducción de la secreción pulsátil de LH se ha asociado con una caída en las concentraciones de glucosa, insulina e IGF-I (Richards et al., 1989a; Richards et al., 1989b). En novillas prepúberes sometidas a dos niveles diferentes de alimentación, se observó un relación positiva de la concentración de glucosa con la ingesta de alimento y la frecuencia de pulsos de LH (Yelich et al., 1996).

Sin embargo, la infusión de glucosa en varias dosis y durante varios días entre los días 26 y 32 pp con una aplicación final de GnRH el día 32 pp no alteró la concentración plasmática de LH, como tampoco la liberación de LH en respuesta a la GnRH exógena (McCaughey et al., 1988). Stewart et al. (1995) afirman que la glucosa tiene poco efecto en la función ovárica, puesto que un nivel medio es suficiente para que se realice la esteroidogénesis. Canfield y Butler (1990) concluyeron que la glucosa no es un mediador fundamental del efecto del BE sobre la secreción de LH y la duración del app en el ganado vacuno.

El trabajo de Downie y Gelman (1976) aclararía seguramente este conflicto; estos autores observaron que las vacas eran infértiles cuando el peso y los niveles de glucosa eran reducidos, pero esta infertilidad desaparecía cuando la concentración de glucosa aumentaba aunque el peso se mantuviera bajo, sugiriendo que la función reproductiva se debe de iniciar cuando el animal consigue ajustar su metabolismo al régimen alimentario al que está sometido. Bossis et al. (1999) también mantienen que el efecto de la glucosa sobre la secreción de LH podría depender de la CC de las vacas y de la disponibilidad total de energía.

La **insulina** se ha relacionado con el periodo de anestro nutricional debido a su papel en el metabolismo de la glucosa y a que sus niveles son menores en las vacas subnutridas (Richards et al., 1989b; Grimard et al., 1995; Bossis et al., 1999).

La detección de receptores para insulina en la eminencia media del hipotálamo ha sugerido que esta hormona podría tener una función importante en el metabolismo de la glucosa en este tejido neural, e indirectamente modularía la secreción de GnRH. Se ha observado que una inyección de insulina puede bloquear la liberación pulsátil de LH en ovejas ovariectomizadas (Clarke et al., 1990), reduciéndose paralelamente la concentración sérica de glucosa. Harrison y Randel (1986), por el contrario, observaron que la insulina no alteró los patrones de LH, independientemente del nivel de alimentación ofertado a un lote de novillas.

La esteroidogénesis que se produce a nivel folicular es probable que dependa del mantenimiento de los niveles fisiológicos de insulina, ya que se han observado receptores para esta hormona en las células de la granulosa (Spicer et al., 1994). Varios estudios han demostrado que la insulina es un potente estimulador de la producción de estradiol inducida por la FSH en la granulosa (Spicer et al., 1994; Webb et al., 1999), confirmando que esta hormona debe jugar un determinado papel en el reinicio de la ciclicidad.

Los niveles de **ácidos grasos no esterificados** (AGNE) están altamente relacionados con el BE de la vaca. Por ello, se han considerado como una señal potencial para informar del estado nutricional de la vaca al sistema hipotálamo-hipófisis. Los bajos niveles nutritivos se han relacionado con un incremento en la concentración de AGNE, debido al aumento de la lipólisis y la liberación de ácidos grasos de los adipocitos que se producen durante el postparto (Grimard et al., 1997).

En ocasiones, los niveles elevados de AGNE se han asociado a unos peores rendimientos reproductivos (San Juan, 1993; Grimard et al., 1997). Trabajando con vacas nodrizas subnutridas, Grimard et al. (1995) relacionaron los altos valores de AGNE con una menor secreción de LH, sugiriendo que los AGNE podrían inhibir la liberación de LH durante estos periodos. Sin embargo, la infusión de AGNE realizada en ovejas ovariectomizadas y sin restricción alimenticia no alteró la secreción de LH (Estienne et al., 1989).

El aumento en los niveles de AGNE podría repercutir negativamente sobre la función ovárica; en particular, el ácido oleico alteró negativamente la producción de testosterona inducida por la LH en las células de Leydig *in vitro*, inhibiendo la esterasa del colesterol y la utilización del colesterol (Meikle et al., 1996). Al respecto, Bossis et al. (1999) sugieren que los AGNE podrían actuar de igual manera en la síntesis de androstendiona inducida por la LH en las células de la teca.

La movilización del tejido adiposo en situaciones de subnutrición conduce a una oxidación de los AGNE, produciéndose los cuerpos cetónicos (**b-hidroxibutirato**, acetona y ácido acetoacético), que también han sido objeto de estudio, sobre todo el  $\beta$ -hidroxibutirato, por su posible papel como indicador del estado nutricional de la vaca durante el periodo postparto.

Sinclair et al. (1994b) observaron un aumento en el nivel de  $\beta$ -hidroxibutirato coincidiendo con la caída en la concentración de glucosa, y presentando mayores valores de este cuerpo cetónico las vacas nodrizas que criaban dos terneros en vez de uno, aunque no se detectó un

efecto del nivel de alimentación postparto sobre la concentración de este metabolito. En una experiencia realizada por Grimard et al. (1995), los dos niveles de alimentación ofrecidos a un lote de vacas nodrizas durante la lactación, cubriendo el 100 ó el 70% de sus necesidades, tampoco afectaron a la concentración plasmática de  $\beta$ -hidroxibutirato.

No está claro el posible efecto de este metabolito en la reproducción, ya que no se ha relacionado frecuentemente con el reinicio de la ciclicidad, aunque sus niveles, unidos al peso y la CC de las vacas al parto, así como a la edad, presentaron un buen valor predictivo de la duración del app en un trabajo realizado con vacas de leche (Verkerk y Guiney, 1999).

En situaciones de BE negativo con insuficientes hidratos de carbono, también puede verse aumentada la concentración sanguínea de **nitrógeno ureico**, como resultado del catabolismo de las proteínas (Oldham, 1984). Así mismo, se han descrito niveles altos de nitrógeno ureico en vacas nodrizas sometidas a dietas con altos niveles de proteína (Sinclair et al., 1994b). Estos mismos autores encontraron un retraso en el inicio de la actividad ovárica postparto y una caída en la tasa de fertilidad a los 21 y 63 días del estro en el lote de vacas que parió con una CC baja y que recibió un alto nivel proteico durante la lactación.

En su revisión, Schillo (1992) sugiere que determinados **aminoácidos** podrían estar implicados en la mediación del efecto de la subnutrición sobre el app, posiblemente a través de la reducción de la producción de catecolaminas neurotransmisoras, que podría disminuir la liberación de LHRH y los pulsos de LH. En un trabajo realizado por Hammerl (1986), la administración de tirosina fue capaz de inducir el crecimiento folicular, la manifestación de celo y la ovulación, sugiriendo un posible papel de estos aminoácidos sobre la función reproductiva de las vacas.

La **leptina** producida por los tejidos grasos informaría al hipotálamo del estado nutricional del animal, induciendo la secreción de péptidos implicados en la regulación del apetito (Houseknecht et al., 1998) y en la secreción de GnRH (Barash et al., 1996, Ahima et al., 1996). Debido a que su producción depende del estado nutricional del animal y a su implicación en la regulación de la función reproductiva (Barb, 1999; O'Callahan y Boland, 1999), la leptina también podría ser un posible mediador de la acción de la nutrición sobre el resto del organismo, aunque en la actualidad no existen evidencias que la relacionen claramente con el anestro nutricional del ganado vacuno.

Los diversos factores que pueden afectar a la liberación pulsátil de GnRH (nutrición, amamantamiento, fotoperiodo, etc.), probablemente no lo harán directamente sobre las células secretoras de GnRH, sino que deben existir señales interneuronales entre las células que reciben la información del estado nutricional del animal, etc. y las células secretoras de GnRH. Los neuromediadores son los responsables de mediar la información interneuronal, y pueden ser aminoácidos, neuropéptidos o aminas biogénicas (Dubois, 1993).

En este sentido, se ha observado un aumento en la concentración sérica de LH tras la administración de un agonista de **aminoácidos** estimulantes, N-metil-D,L-aspartato (NMA), en ovejas subnutridas (Ebling et al., 1990), así como una reducción en la liberación de GnRH cuando se bloqueaban los receptores de N-metil-D-aspartato (Arslan et al., 1988). Estos trabajos sugieren que la subnutrición puede ser capaz de inactivar factores estimulantes de las neuronas secretoras de GnRH, como los aminoácidos aspartato o glutamato, o hacer que dichas neuronas pierdan la sensibilidad a tales estimulantes.

Los **EOP** se han relacionado con el anestro nutricional debido al papel que juegan en la regulación de la ingestión de alimentos y a su capacidad de inhibir la secreción de gonadotropinas. Connor et al. (1990) observaron que las vacas nodrizas con menor CC presentaban mayores niveles de EOP en el área preóptica del hipotálamo el día 30 pp; a pesar de ello, diversos autores coinciden en señalar que no existe ninguna evidencia para implicar a los EOP en la mediación del efecto de la subnutrición sobre el eje hipotálamo-hipófisis (Ebling et al., 1990; Canfield y Butler, 1991).

En relación a las **aminas**, la noradrenalina jugaría un papel estimulante en la liberación de GnRH, mientras que la dopamina (Curlewis et al., 1991) y la serotonina (Meyer y Goodman, 1986) actuarían como inhibidoras de la secreción de LH, teniendo un papel fundamental durante el anestro estacionario del ganado ovino, no así en el caso del anestro nutricional de las vacas nodrizas.

Como síntesis, podemos indicar que el retraso en el inicio de la actividad ovárica después del parto inducido por la subnutrición se realiza a través de la supresión de la liberación de LH vía GnRH. Aunque hoy en día no se conocen con exactitud los mediadores de esta acción, la alimentación podría actuar a través de los niveles séricos o intrafoliculares de IGF-I y de GH regulando el crecimiento folicular y a través de la insulina y de los AGNE informando al SNC del

status nutricional de la vaca, además del papel que estos factores metabólicos pudieran tener a nivel ovárico.

#### **2.4.4.2. Crianza del ternero**

En la explotación de las vacas nodrizas, la práctica de amamantar a los terneros puede repercutir negativamente en el plano reproductivo. Comparando el intervalo parto-1ª ovulación en vacas Holstein que estaban criando respecto a otras que se ordeñaban, Carruthers y Hafs (1980) observaron que este intervalo se duplicaba en las vacas nodrizas.

Hanzen et al. (1994) analizaron el rendimiento reproductivo de 2.004 vacas de carne y 1.649 vacas de leche, pertenecientes a 35 explotaciones, comprobando que el mayor intervalo del parto al primer estro y el menor porcentaje de vacas detectadas en estro el día 50 pp (88 días y 12%) correspondió a las vacas de carne criando, en comparación con las vacas de carne en ordeño (70 días y 35%) y las vacas de leche (59 días y 39%), resultados que los autores justificaron principalmente por el efecto del amamantamiento.

Trabajando exclusivamente con vacas nodrizas, Carter et al. (1980) también observaron que los intervalos del parto a la primera ovulación y al primer celo fueron significativamente más largos en las que estaban criando frente a las que fueron destetadas al parto (34.7 y 61.5 vs. 10.2 y 14.0 días, respectivamente).

#### **a) Frecuencia e intensidad de amamantamiento**

El efecto negativo de la crianza sobre la función reproductiva depende de forma importante de la frecuencia, intensidad y duración del amamantamiento, es decir, de si el ternero tiene acceso libre o restringido a su madre, así como del número de terneros criados y de la duración de la lactación. En general, la reducción en la frecuencia y/o intensidad y/o duración de la crianza se ha asociado a un reinicio de la ciclicidad más temprano.

En un trabajo realizado por San Juan et al. (1994a), la restricción del acceso del ternero a la madre a dos periodos diarios de 30 minutos acortó de forma notable la duración del app respecto a las vacas que criaron de forma libre el ternero, tanto en la raza Pirenaica (55.3 vs. 94.4 días, respectivamente) como en la raza Parda Alpina (91.6 vs. 145.8 días, respectivamente), no viéndose afectado el crecimiento de los terneros por el manejo aplicado. Diversos autores han obtenido resultados similares sobre el efecto de la crianza restringida en

la duración del app (Reeves y Gaskins, 1981; Bluntzer et al., 1989; San Juan et al., 1993; Sanz et al., 1999b) o en el intervalo del parto al primer estro (Browning et al., 1994).

En un estudio epidemiológico, Ducrot et al. (1994) observaron que las vacas de carne que habían criado un ternero presentaban una mayor incidencia de anestro en comparación con las que no lo habían hecho ( $p < 0.05$ ), aunque esta incidencia no dependió del número de terneros criados o de la frecuencia de amamantamiento diaria. Otros autores tampoco han obtenido resultados beneficiosos sobre la duración del app entre vacas amamantando al ternero una o dos veces al día o de forma libre (Montgomery, 1982; Odde et al., 1986; Sanz et al., 1996; Lamb et al., 1999).

En dos experiencias realizadas con vacas cruce HerefordxFrisona en dos años consecutivos, Sinclair et al. (1994b) observaron un acortamiento en la duración del app de las vacas que criaban un ternero en relación a las que criaban dos (29.5 vs. 56.5 días el 1<sup>er</sup> año; 31.4 vs 43.4 días el 2<sup>o</sup> año, respectivamente). Peters y Riley (1982), por el contrario, no detectaron diferencias en la duración del app entre vacas criando uno o dos terneros.

En el caso del vacuno lechero, también se ha asociado el número de ordeños diarios con el periodo de aclicia, aunque Carruthers y Hafs (1980) no encontraron diferencias en el intervalo del parto a la primera ovulación entre vacas Holstein sometidas a 2 ó 4 ordeños diarios (19 vs. 23 días, respectivamente), como tampoco en el intervalo al primer estro (39 vs. 45 días, respectivamente).

### **b) Mecanismos de acción de la crianza del ternero sobre la función reproductiva**

Diversas experiencias han puesto de manifiesto que la crianza ejercería su acción a través de la inhibición de la liberación de **GnRH** hipotalámico. La administración de GnRH en el fluido cerebro espinal (CSF) del tercer ventrículo en vacas nodrizas tres semanas después del parto aumentó la liberación de LH plasmática, así como la amplitud de los pulsos y la concentración media de GnRH en el CSF, tendiendo a incrementar igualmente la liberación pulsátil de GnRH (Williams et al., 1996).

Zalesky et al. (1990), trabajando con vacas Holstein ovariectomizadas y sacrificadas un mes después del parto, ya observaron mayores concentraciones de LHRH en la eminencia media del hipotálamo en las que criaban 3 terneros respecto a las que ni criaban ni eran ordeñadas, indicando que el amamantamiento inhibe la liberación de GnRH.

Numerosos trabajos han descrito menores concentraciones medias de **LH** (Williams, 1990; Hoffman et al., 1996) y una reducción en la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH (Carruther y Hafs, 1980; Williams et al., 1983) como consecuencia de la crianza. Por su parte, Terqui et al. (1982) asociaron la pulsatilidad de LH en el postparto de las vacas nodrizas con su selectividad maternal, definida por la capacidad de las vacas para dar de mamar a otros terneros respecto al suyo propio, de manera que las vacas con mayor selectividad maternal hacia su ternero fueron las que presentaron una menor pulsatilidad de LH.

En relación a la **FSH**, sus niveles no parecen estar afectados por la crianza del ternero, así Carruthers y Hafs (1980) no observaron diferencias significativas en los niveles de FSH entre vacas que criaban y las que no. La retirada del ternero durante 48 horas tampoco modificó la liberación de FSH (Atterberry et al., 1988).

Se han implicado a los **esteroides** en la mediación o modulación del efecto de la crianza sobre la secreción de LH, ya que la colocación de un implante de estradiol a vacas nodrizas inhibió la secreción de LH; después de practicarles una ovariectomía, la liberación de LH aumentó de forma más lenta en las vacas que estaban criando respecto de las que no lo hacían (Acosta et al., 1983). Por tanto, la crianza aumentaría la sensibilidad del hipotálamo al feedback negativo del estradiol y, a su vez, reduciría su capacidad de respuesta al feedback positivo del estradiol en fases posteriores del postparto, como ya apuntaron Short et al. (1979).

Como han indicado numerosos trabajos, los **EOP** deben ser los mediadores entre la crianza del ternero y la función reproductiva en el caso del ganado vacuno (Whisnant et al., 1986b; Malven et al., 1986; Zalesky et al., 1990).

La administración de naloxona el día 35 pp incrementó la concentración de LH en vacas nodrizas criando, pero no en las que habían sido separadas de sus terneros al inicio del tratamiento (Whisnant et al., 1986a). Además, Malven et al. (1986) han indicado que la concentración de EOP en el tejido neural está influida por el amamantamiento, relacionándose con la síntesis/liberación de GnRH. Estos trabajos implicarían al sistema opioideo en la supresión de la secreción de LH inducida por el amamantamiento, a través de la inhibición de las descargas de GnRH hipotalámico (Nett, 1987).

En relación a las concentraciones plasmáticas de **prolactina**, en general, la crianza y el ordeño inducen similares niveles de prolactina, que a su vez van aumentando a lo largo del postparto (Carruthers y Hafs, 1980). En el caso de las vacas nodrizas, el estímulo puede ser



provocado por el ternero propio o por uno ajeno (Silveira et al., 1993). Además, se ha descrito un aumento de prolactina como respuesta al intento de tetar por parte del ternero, en vacas mastectomizadas (Stevenson et al., 1994).

En todo caso, Williams et al. (1993) indican que el efecto del amamantamiento sobre la liberación de GnRH/LH y el retraso de la ovulación no está mediado por la alta concentración de prolactina.

La liberación de **oxitocina** parece estar implicada en el reconocimiento del intento de tetar por parte del ternero, aunque no exista un estímulo directo sobre la ubre (Stevenson et al., 1994), siendo esta liberación menor si el ternero es ajeno (Silveria et al., 1993).

El estímulo del amamantamiento produce un incremento en los niveles séricos de **cortisol**, alcanzando el máximo valor a 15 minutos (Dunlap et al., 1981) del inicio del estímulo. Este aumento en el cortisol se ha relacionado con la eyección de la leche, inducida tanto por el ordeño como por el amamantamiento (Carruthers y Hafs, 1980).

Hoffman et al. (1996) asociaron la presencia del ternero a un aumento en los niveles de cortisol, a través de un mecanismo independiente del amamantamiento, no siendo necesario el estímulo de la ubre, de acuerdo con los resultados obtenidos por Stevenson et al. (1994) con vacas mastectomizadas. Sin embargo, en un trabajo de Faltys et al. (1987), el destete del ternero el día 35 pp no alteró los niveles de cortisol, afirmando que el efecto inhibitor del amamantamiento sobre los niveles de LH no está mediado por el cortisol.

A la vista de los resultados observados en relación a los niveles de oxitocina, prolactina y cortisol, con o sin el estímulo del amamantamiento, se podría concluir que estas tres hormonas no parecen mediar en el anestro postparto de las vacas nodrizas, como apuntan Stevenson et al. (1997).

El papel de la **estimulación somatosensorial** de la ubre se ha revisado en múltiples ocasiones, observándose que una mastectomía reduce significativamente el intervalo postparto al primer estro (Short et al., 1972), así como a la primera ovulación (Viker et al., 1989), siempre y cuando el ternero no esté presente, ya que, el contacto libre de las vacas con los terneros prolonga el app de forma similar a vacas intactas criando (Viker et al., 1993). La denervación completa de la ubre tampoco suprimió la inhibición de LH inducida por la crianza o la anovulación postparto (Williams et al., 1993).

Sin embargo, la privación del contacto oral-inguinal entre el ternero y la vaca sí que consiguió eliminar la inhibición que la crianza ejerce sobre la función reproductiva, no observándose un retraso en la reactivación ovárica postparto, a pesar de la presencia del ternero (Viker et al., 1993; Stevenson et al., 1994).

Por tanto, la glándula mamaria, así como su inervación no parecen presentar un papel fundamental en la mediación del efecto de la crianza sobre la secreción de gonadotropinas, debiendo de existir algún otro tipo de interacción vaca-ternero, aparte del amamantamiento, que es el responsable de la supresión del eje hipotálamo-hipófisis.

Williams et al. (1996) afirman que la crianza es capaz de inducir periodos de aciclia a través de complejas interacciones sensoriales, de comportamiento y espaciales entre la vaca y su propio ternero, de ahí que Griffith y Williams (1996) consideren necesarios los componentes **visuales u olfativos** para que la crianza prolongue el app.

En este sentido, el aislamiento de los terneros a 60 m de sus madres parece inducir un efecto positivo sobre la reactivación ovárica postparto (Diskin et al., 1995; Mackey et al., 1997b). En el trabajo realizado por Stagg et al. (1998), el lote de vacas que permaneció con sus terneros en acceso libre presentó el mayor intervalo del parto a la primera ovulación (79 días), seguido del lote en acceso restringido a una tetada diaria, aunque mantenidos los terneros en un cubículo próximo a las madres (62 días) y, por último, el lote cuyos terneros permanecieron restringidos a una tetada al día y separados a 60 m de las madres (51 días).

A pesar de ello, diversos estudios mantienen que los estímulos visuales, auditivos y olfativos generados por el ternero no son suficientes para provocar la anovulación, siendo necesario un estímulo en la zona inguinal (en vacas mastectomizadas) o el amamantamiento real (Viker et al., 1993; Lamb et al., 1999).

En diversas ocasiones se ha apuntado la existencia de una interacción entre la **nutrición** y el efecto de la crianza (Whisnant et al., 1985b; Schillo, 1992; Browning et al., 1994), de manera que las vacas sometidas a niveles de alimentación preparto y/o postparto bajos son más sensibles al estímulo de la crianza, presentando mayores periodos de anestro postparto.

En resumen, podemos establecer que la acción inhibitoria de la crianza sobre la función reproductiva de las vacas nodrizas se ejerce a través de la reducción de la secreción de GnRH/LH, estando los EOP implicados en dicho proceso. Esta inhibición no se iniciaría por la estimulación de la ubre, sino que sería necesario otro tipo de interacción vaca-ternero más profunda.

### c) Reducción del anestro postparto mediante el manejo del ternero

Como se ha visto anteriormente, y teniendo siempre presente la influencia de la nutrición y el posible efecto beneficioso del aislamiento completo del ternero, la **reducción del acceso** del ternero a su madre a uno o dos periodos al día se ha asociado a una reactivación ovárica más temprana. También se han empleado otros métodos para inducir un inicio de la ciclicidad más temprano en el postparto.

La técnica del **destete temporal** tiene diversas posibilidades en función del momento postparto en que se aplique y de la duración del periodo de separación del ternero. Alberio (1985) observa que el destete de 72 horas produce respuestas de mayor magnitud y más repetibles que el de 48 horas. Para que un destete temporal sea capaz de provocar la ovulación en vacas anéstricas, Shively y Williams (1987) indican la necesidad de, al menos, 96 horas de destete. Algunos autores, por el contrario, no han obtenido una mejora en el rendimiento reproductivo de las vacas con el uso del destete temporal (Wright et al., 1987; Bonavera et al., 1990).

En la eficacia de ésta técnica, además de cuestiones prácticas, juega un papel importante el estado nutricional de los animales (Warren et al., 1988), como sucedía en el método anterior, y, por supuesto, factores como la raza, la edad o la época de parto, que explicarían los resultados tan variables encontrados en la documentación revisada.

El **destete temprano** de los terneros favorece la actividad reproductiva de las vacas después del parto, en parte por el ahorro energético que supone el fin de la producción de leche, y fundamentalmente porque se elimina el estímulo de la crianza. Así, el destete precoz del ternero realizado el día 4-9 (Hoffman et al., 1996), 21 (Acosta et al., 1983) ó 35 pp (Faltys et al., 1987) acortó significativamente el periodo de app en vacas nodrizas.

De nuevo, el estado corporal de las vacas tendrá un papel fundamental en la eficacia del destete temprano (Bishop et al., 1994), que será más efectivo en los animales que presenten mayores reservas corporales. Esta práctica será útil para mejorar la fertilidad de determinados animales, como pueden ser las novillas de primer parto, las vacas subnutridas o las que paren tarde en la época de partos (Bell et al., 1998).

Aunque se han descrito reducciones en las ganancias de peso de los terneros al destete (Montgomery, 1982), en la mayoría de los trabajos ni el destete temporal (Alberio et al., 1984), ni

el destete precoz (Lusby et al., 1981) afectaron de forma importante al peso de los terneros, lo que confirma su utilidad en situaciones reproductivas específicas.

El uso de un bozal (MacMillan, 1983) o la colocación de una placa en la nariz del ternero (Mukasa-Mugerwa et al., 1991) para impedir el amamantamiento no han sido métodos eficaces para reducir la duración del app, aunque Nava Silva et al. (1994) demuestran que la aplicación de la placa nasal 46 días después del parto y mantenida durante 7 días puede ser una práctica útil para reducir el intervalo del parto a la cubrición fértil en novillas con buen estado corporal (67.3 vs. 102.9 días, para los lotes con o sin placa, respectivamente).

También se ha sugerido que el efecto inhibitor del amamantamiento es mayor durante la noche, alargando considerablemente el periodo anovulatorio frente al amamantamiento realizado durante el día (Stewart et al., 1993). Pero, a pesar de que la separación del ternero durante la noche tendría una gran aplicación práctica, su efecto positivo no se ha podido confirmar en estudios posteriores (Gazal et al., 1995; Gazal et al., 1999).

#### **2.4.4.3. Raza / Aptitud**

Numerosos trabajos han descrito diferencias en la reactivación ovárica postparto entre diversas razas de ganado vacuno, ahora bien, habría que considerar que esas diferencias puedan deberse al manejo al que se someten las vacas, más que a verdaderas diferencias entre razas.

En cuanto a la aptitud de las vacas, Hanzen et al. (1994) establecieron, a día 50 pp, un porcentaje de ciclicidad de 12, 35 y 39% para las vacas de carne con cría, vacas de carne ordeñadas y vacas de leche, respectivamente, responsabilizando de estas diferencias eminentemente al estímulo del amamantamiento. Sin embargo, cuando las vacas lecheras y las de carne se manejan de forma similar, criando también las lecheras, estas últimas tienen unos app más largos que las de genotipo cárnico, especialmente en los animales de primer parto (Short et al., 1990).

San Juan et al. (1994a) detectaron menores app, así como inferiores intervalos del parto a la cubrición en las vacas de raza Pirenaica en relación a las de raza Parda Alpina, aunque estas diferencias podrían deberse a que las vacas Pirenaicas presentaron mejores pesos y CC al parto, o a verdaderas diferencias en la respuesta maternal de estas dos razas a la crianza del ternero.

En un reciente trabajo, Ruiz-Cortés y Olivera-Angel (1999) han analizado el desarrollo folicular en vacas zebú (*Bos indicus*), comprobando que el momento de reinicio y el patrón de crecimiento de los folículos ováricos es similar al descrito para *Bos taurus*, si bien la frecuencia de presentación de olas foliculares en *Bos indicus* es baja durante los primeros 6 meses postparto, aumentando posteriormente. Sin embargo, concluyen afirmando que el gran retraso sufrido en la reactivación ovárica postparto (app: 210 días) se debe a aspectos nutritivos y de crianza más que un factor racial.

La disponibilidad de alimentos y las características climatológicas pueden desencadenar diferencias raciales que, de otro modo, no se hubieran evidenciado, como es el caso del relativo bajo rendimiento reproductivo de las razas europeas (p.e. Frisona) en los trópicos (Vargas et al., 1998). McDougall et al. (1995b) observaron que las vacas de raza Frisona presentaron una mayor sensibilidad a la restricción alimenticia en cuanto a la reactivación ovárica postparto, sugiriendo la existencia de una distribución de los nutrientes diferente para las razas Frisona y Jersey.

También se ha planteado la hipótesis de que los genotipos con mayor velocidad de crecimiento se asociarían a unos peores rendimientos reproductivos (Sinclair et al., 1998b). Como resumen Short et al. (1990), el efecto del genotipo sobre la duración del app podría deberse a verdaderas diferencias fisiológicas entre razas y/o a diferencias en la producción lechera, el apetito o la capacidad de ingestión de alimentos.

Hay que añadir que, en el caso de las vacas nodrizas, factores como el comportamiento maternal y la selectividad por su propio ternero, así como sus repercusiones sobre la secreción de LH y prolactina (Terqui et al., 1982) podrían presentar diferencias entre razas, desencadenando un mayor o menor grado de “profundidad” del anestro, término también discutido en la revisión de Short et al. (1990).

#### **2.4.4.4. Época de parto / Fotoperiodo**

La influencia de los factores ambientales son bien conocidos en la oveja, hembra poliéstrica estacional; la vaca, por el contrario, está considerada como una hembra poliéstrica continua, sin embargo, en numerosas ocasiones se han observado diferencias significativas en la duración del app en función de la época del año en la que las vacas parieron.

A lo largo de varias experiencias, Hansen y Hauser (1983) observan que aquellas vacas que paren en el periodo invernal (Octubre a Marzo) presentan reactivaciones ováricas más tardías que las que lo hacen en verano (Abril a Septiembre), en la línea de lo relacionado por otros autores (Pelot et al., 1984; Robalo-Silva et al., 1987; Horta et al., 1990).

En un estudio realizado por Revilla et al. (1992), las vacas con parto en otoño (Septiembre a Diciembre) resultaron tener un menor *app* en relación a las que habían parido en primavera (Febrero a Mayo), aunque esta diferencia desaparecía al incluir en el análisis la CC al parto. Un estudio posterior, en el que se analizaron los rendimientos reproductivos de vacas nodrizas de las razas Parda Alpina y Pirenaica recogidos durante 6 años, no detectó un efecto significativo de la estación del año en el intervalo del parto a la primera ovulación (41 vs. 34 días, para los partos de otoño y primavera) (Revilla, 1997).

De estos trabajos cabe pensar que la influencia de la época de parto sobre el reinicio de la ciclicidad postparto podría deberse a diferencias en el manejo y la nutrición a lo largo del año, más que a un efecto de la época en sí. Sin embargo, en determinadas situaciones, los factores ambientales podrían actuar por sí mismos o interaccionando con factores como la nutrición o la crianza.

Los mecanismos a través de los que la estación influiría en la reproducción en el ganado vacuno no se conocen con profundidad, aunque existen evidencias de que el fotoperiodo podría afectar de una forma directa o indirecta, actuando a nivel del eje hipotálamo-hipófisis y modulando la liberación de LH.

Critser et al. (1983), trabajando con novillas Holstein ovariectomizadas para evitar la influencia del ovario sobre el eje hipotálamo-hipofisario, observaron niveles superiores de LH en invierno que en verano. Estos mismos autores, sometieron a un lote de novillas ovariectomizadas y tratadas con estradiol a un fotoperiodo creciente o decreciente, comprobando que los mayores niveles plasmáticos de LH y prolactina se correspondieron con el lote de vacas sometido al fotoperiodo creciente (Critser et al., 1987).

En varias ocasiones se ha detectado un efecto positivo de un fotoperiodo claro, largo y/o intenso (p. e. 16 horas de luz diarias, 300 lux) sobre el reinicio de la ciclicidad postparto en el ganado vacuno (Hansen y Hauser, 1984; Garel et al., 1987), aunque estos últimos autores no pudieron confirmar tal efecto al año siguiente, ya que, en su mayor parte, se le atribuyó a un efecto animal (Petit, 1997).

El papel de la melatonina y sus relaciones con otras hormonas implicadas en la función reproductiva de las vacas nodrizas no están tan claras como en el caso del ganado ovino (Bittman et al., 1983; Chemineau et al., 1991; Forcada et al., 1995). La melatonina, que se libera en los periodos de oscuridad, regula la secreción de GnRH a nivel del hipotálamo. Se ha comprobado que la inyección de melatonina vía yugular (Rhodes et al., 1979) o subcutánea

(Sharpe et al., 1986) reduce la liberación de LH, alargando considerablemente la duración del app de las vacas. Sin embargo, aún no se conocen con exactitud sus puntos de unión a nivel celular o sus neurotransmisores, no existiendo evidencias de que actúe directamente sobre las neuronas secretoras de GnRH (Malpaux et al., 1999).

La reducción de la fertilidad de los rebaños también se ha relacionado con el aumento de cortisol detectado durante la época seca en Venezuela (Leyva-Ocariz et al., 1996).

No obstante, en el ganado vacuno, la hormona más sensible a los cambios estacionales es la prolactina, y tanto la temperatura como el fotoperiodo pueden alterar sus niveles (Tucker, 1982). En el caso de los búfalos, especie de marcada estacionalidad, las elevadas concentraciones de prolactina observadas en verano han sido relacionadas con la inactividad ovárica (Beg y Totey, 1999). Sin embargo, esta hormona no parece tener un papel fundamental en la duración del app de las vacas, como se apuntó anteriormente.

En ocasiones, se ha puesto de manifiesto un efecto de la época de parto sobre la dinámica folicular. Savio et al. (1990a) observaron que el intervalo del parto a la detección del primer FD fue más corto en otoño que en primavera (6.8 vs. 20.0, respectivamente), aunque la duración del app fue similar en ambas épocas (27.4 vs. 27.3, respectivamente). Por su parte, McNatty et al. (1984), en un trabajo realizado con vacas Angus cíclicas, encontraron que el tamaño del folículo preovulatorio, así como la proporción de células de la granulosa eran mayores en primavera que en otoño, observando que el CL era más pesado y producía más progesterona en primavera.

Las posibles diferencias estacionales en el crecimiento folicular serán una consecuencia directa de la secreción estacional de gonadotropinas. Según Goodman (1994), en el anestro estacional del ganado ovino, las bajas concentraciones de estradiol suprimen la secreción pulsátil de GnRH/LH, impidiendo el desarrollo de las fases finales de la maduración folicular y la secreción de estradiol. Otros autores han apuntado como responsable de la falta de maduración folicular a una reducción en la sensibilidad ovárica a las gonadotropinas y/o a la reducción de la secreción de LH al inicio del anestro estacional de la oveja (Bartlewski et al., 1999).

De la documentación revisada podríamos concluir que la época de parto puede influir en la función reproductiva del ganado vacuno, aunque los efectos estacionales tenderán a ser más claros en situaciones "límite", como son las vacas lecheras de gran producción, las vacas primíparas, las vacas que crían o las sometidas a niveles bajos de alimentación.

#### **2.4.4.5. Otros**

##### **a) Problemas asociados al periodo periparto**

Los partos distócicos provocan un considerable daño uterino, pudiendo retrasar de forma importante la reparación e involución uterina (Hanzen, 1986; Grimard et al., 1992), así como el reinicio de la actividad ovárica postparto. El periodo de 25-30 días necesario para completar la involución uterina (Peters, 1984b) se ha correlacionado positivamente con la duración del app ( $r= 0.54$ ) (Madej et al., 1984), aunque no todos los autores estarían de acuerdo con esta hipótesis (Short et al., 1990; Ramirez-Iglesia et al., 1992).

El retraso de la reactivación ovárica postparto podría ser consecuencia de un posible efecto de estrés asociado a la distocia sobre el eje hipotálamo-hipófisis, que podría suprimir la secreción de gonadotropinas (Dobson y Alam, 1987).

Hay que añadir que la dificultad al parto viene acompañada, con frecuencia, de retención de placenta y endometritis, patologías que se han relacionado con unos peores rendimientos reproductivos (Peeler et al., 1994). Estas anomalías uterinas suelen ir acompañadas de altas concentraciones de prostaglandinas en sangre (Madej et al., 1984), a tener en cuenta, ya que la primera ovulación postparto no sucede hasta que los niveles de prostaglandinas vuelven a su nivel basal.

##### **b) Edad**

La duración del app en las novillas suele ser más largo que en las vacas adultas. Revilla et al. (1992) observaron, en vacas de raza Parda Alpina, un app de 40.4 y 28.2 días para primíparas y multíparas, respectivamente, diferencia que estaría de acuerdo con otros resultados obtenidos tanto en vacuno de carne como de leche (Gonzalez-Stagnaro, 1991; Grimard et al., 1992; Ponsart et al., 1996; MacGregor et al., 1999). Sin embargo, no siempre se ha detectado este efecto de la edad sobre la duración del app (Blasco y Revilla, 1991; Pryce et al., 1999), diferencias debidas probablemente a los distintos niveles alimenticios aplicados en cada ensayo.

En su primera fase productiva, la vaca está aún en periodo de desarrollo y crecimiento, y además tiene que asegurar la lactación, siendo la demanda energética superior a la del animal adulto y pudiendo incurrir en una situación de subnutrición. A esta situación habría que añadir la



mayor incidencia de los partos distócicos observada las novillas (De Kruif, 1978) y sus consiguientes repercusiones a nivel reproductivo.

### **c) Manejo y sistema de alojamiento**

Existen numerosos factores asociados al manejo de las vacas que se han relacionado con peores rendimientos reproductivos.

Diversos estudios han descrito menores tasas de ciclicidad en las vacas trabadas, en relación a las libres (Terqui et al., 1982; Pelot et al., 1984). Trabajando con vacas de raza Parda Alpina, alojadas en estabulación libre o trabada, y sometidas dos manejos diferentes del ternero (acceso libre vs. restringido), Sanz et al. (1999a) detectaron un efecto negativo de la estabulación trabada en la duración del app, aunque únicamente en las vacas cuyos terneros tuvieron acceso restringido al amamantamiento (31.8 vs. 68.8 días, para las vacas AR en estabulación libre y trabada, respectivamente; 82.7 vs. 86.7 días, para las vacas AL en estabulación libre y trabada, respectivamente).

La luz del alojamiento ha destacado como uno de los factores de riesgo asociados a periodos anovulatorios prolongados, aconsejándose la mejora de la misma como medida para acortar la duración del app (Pouilly et al., 1994), en la línea de lo manifestado por otros autores (Terqui et al., 1982; Pelot et al., 1984).

La mayor incidencia de cojeras asociada al tipo de suelo de la estabulación, especialmente en las vacas lecheras, es otra de las repercusiones negativas sobre el rendimiento reproductivo final vinculada al manejo (Lucey et al., 1986). Estos autores sugieren que las vacas que padecen algún tipo de cojera estarían menos predispuestas a exhibirse en celo debido al proceso doloroso que presentan (Britt et al., 1986).

El tipo de manejo aplicado a los animales podría actuar además deteriorando la función reproductiva de las vacas a través de factores asociados al stress (Stoebel y Moberg, 1982), suprimiendo la liberación de gonadotropinas y retrasando finalmente la ovulación.

Aunque no siempre se ha podido establecer esta influencia del tipo de estabulación sobre la función reproductiva (Opsomer et al., 1992; Ducrot et al., 1994; Humblot et al., 1996), es evidente que el sistema de alojamiento (libre o trabado), el número de animales por metro cuadrado, las características del alojamiento (luminosidad, humedad, aireación), las patologías asociadas, así como efectos del ambiente social o de la actividad, pueden llegar a afectar al rendimiento reproductivo siempre que no sean óptimos.

#### **d) Producción de leche**

La mayor producción de leche puede afectar al rendimiento reproductivo de las vacas nodrizas, puesto que aumenta la demanda energética y posibilita el aumento del estímulo de amamantamiento. El componente energético de este factor adquiere especial importancia en el ganado vacuno lechero, en el que la producción diaria puede ser muy alta.

González Stagnaro (1991), en vacas mestizas venezolanas de aptitud mixta, encuentra que el intervalo parto-celo entre vacas con producciones mayores a 3.000 kg y menores de 1.000 kg se reduce de 128 a 56 días y la frecuencia de atrofia ovárica del 56 al 17%.

Del mismo modo, la reducción de la frecuencia de dos ordeños diarios a uno aumentaría el porcentaje de vacas lecheras detectadas en estro, aunque a costa de reducir la producción láctea, según señala Rhodes et al. (1998). Se han descrito incrementos de 3.3 días en la duración del app de vacas nodrizas (Bartle et al., 1984) o de 0.45 días en el intervalo parto-cubrición fecundante en vacas de leche (Kinsel y Etherington, 1998) por cada kg extra de leche producido.

En ocasiones no se ha encontrado ninguna correlación significativa entre la producción de leche y el rendimiento reproductivo (Vargas et al., 1998). Incluso, se han detectado reducciones en el intervalo del parto a la primera ovulación o estro de 3.9 días en vacas nodrizas (Blasco, 1991) ó 14.2 días en vacas de leche (McDougall et al., 1995b) por cada incremento de un kg diario en la producción de leche.

No obstante, cabe pensar que en las vacas nodrizas la producción de leche no sería importante en la función reproductiva, sino que habría otros factores muy relacionados con la producción de leche, como son el estímulo de amamantamiento y la subnutrición prolongada en el postparto, que van a determinar en mayor medida la duración del app.

#### **e) Presencia del macho**

Aunque en el ganado vacuno el efecto de la presencia del macho sobre la reproducción no es tan claro como en el ovino, han sido numerosos los trabajos que han descrito su efecto beneficioso sobre la reactivación ovárica postparto de las vacas nodrizas (Custer et al., 1990; Fernandez et al., 1993). Zalesky et al. (1984) observaron una reducción de 20 días en la duración del app en el lote de vacas nodrizas que se mantuvo con el toro desde el día 3 pp, respecto del lote en el que el toro se introdujo 50 días después del parto.

En ocasiones se da una interacción entre el nivel nutricional y el efecto macho, de forma que el estímulo de la presencia del toro sobre la reproducción en la hembra sólo se observa en vacas en buen estado corporal y no en las subalimentadas (Alberio et al., 1987); Stumpf et al. (1992), por el contrario, no observaron diferencias en el beneficio de la presencia del toro sobre la duración del app entre vacas alimentadas con una dieta alta o baja en energía durante los últimos 90 días de gestación.

También se ha descrito una interacción entre el efecto macho y la edad de las vacas. En el trabajo realizado por Fike et al. (1996), la exposición de las hembras a la presencia de un toro protegido por una valla ocasionó una reducción en la duración del app en las vacas primíparas, no así en las múltiparas. Estas interacciones quizá podrían explicar la ausencia de efecto positivo de la presencia del macho descrito en otras ocasiones (Ducrot et al., 1994; Shipka y Ellis, 1999).

En los pequeños rumiantes, la acción del efecto macho viene dada a través de estímulos olfativos, visuales, sonoros y táctiles, que provocan en la hembra un aumento rápido e importante de la frecuencia y amplitud de las descargas pulsátiles de LH plasmática (Chemineau, 1989; Folch, 1990). En la vaca, sin embargo, no se han detectado modificaciones en la secreción de LH en estudios en los que se han obtenido resultados positivos sobre la ciclicidad de hembras en anestro mantenidas con los machos (Alberio, 1985; Custer et al., 1990), lo que no excluye que el efecto del toro en la reactivación ovárica sea mediado vía SNC con liberación de LH, ya que tal vez el régimen de muestreo de sangre utilizado en esos trabajos no fuera el más apropiado para observar las modificaciones en los niveles plasmáticos de LH.

En todo caso podemos indicar que, aunque el efecto macho no es tan evidente como en el ovino, la presencia del toro nunca será negativa, pudiendo favorecer la reactivación ovárica postparto de las vacas nodrizas.

La **presencia de otras hembras en actividad sexual** en el rebaño podría actuar estimulando el inicio de la ciclicidad de las vacas anéstricas. Así explican Sharpe et al. (1986) que las vacas que paren tarde en una estación de partos tienden a tener intervalos a la primera ovulación y al primer estro postparto más cortos, en relación a las que paren en primer lugar.



### ***3. MATERIAL Y MÉTODOS***

---

### 3.1. FINCA EXPERIMENTAL

Las experiencias presentadas en esta memoria se realizaron en la finca experimental de La Garcipollera, propiedad del Servicio de Investigación Agroalimentaria de la D.G.A.. Esta explotación está situada en Bescós de La Garcipollera, término municipal de Jaca (Pirineo oscense), a 945 m de altitud, aunque las zonas de pastoreo llegan hasta los 2.200 m.

Los datos meteorológicos de la zona se relacionan en la Tabla 3.1, en la que se resumen los datos tomados en la estación meteorológica de Bescós de la Garcipollera durante el periodo 1987-1996. El clima es el propio de un valle de montaña, con inviernos largos y muy fríos ( $T^a$  media: 4 °C), veranos cortos ( $T^a$  media: 20 °C) y una precipitación anual de 1.000 l/m<sup>2</sup>.

**Tabla 3.1.** Pluviometría y temperaturas medias registradas en Bescós de la Garcipollera entre los años 1987 y 1996.

	ene	feb	mar	abril	may	jun	jul	ago	sep	oct	nov	dic
$T^a$ máxima absoluta	14.5	19.0	22.0	23.3	27.3	30.2	34.1	34.1	30.1	22.7	20.0	14.3
$T^a$ mínima absoluta	-7.8	-7.8	-5.7	-3.5	-0.7	2.3	5.8	5.7	3.1	-1.0	-4.6	-7.3
$T^a$ med. de las máximas	9.0	10.4	14.2	14.8	19.4	23.2	28.0	28.6	22.4	16.6	12.7	9.2
$T^a$ med. de las mínimas	-2.2	-1.7	0.2	2.5	6.0	9.0	11.8	12.1	8.5	5.3	1.8	-0.8
$T^a$ media	3.4	4.4	7.2	8.7	12.7	16.1	19.9	20.3	15.4	10.9	7.2	4.2
Precipitación media	95.2	68.5	40.6	99.6	96.5	75.2	37.5	64.6	94.1	108.3	94.1	128.3
Precip.máxima en 24h	21.6	21.3	16.4	27.9	21.8	19.9	15	23.3	38.2	28.8	22.9	38
Nº días precipitación	10	7.2	5.5	11	13.2	8.7	6.3	6.9	7.8	12.1	8.2	9.3
(****)	31.1	112.7	70.6	27.2	105.5	95.8	35.2	5.7	91.9	14.0	18.7	999

(\*\*\*\*) Los datos de esta línea corresponden por este orden a las medias anuales de: (1) días de temperatura mínima inferior a -5°C, (2) días de temperatura mínima inferior a 0°C, (3) días de temperatura máxima superior a 25°C, (4) días de temperatura máxima superior a 30°C, (5) nº de días con precipitación apreciable, (6) nº de días con precipitación superior a 1 l/m<sup>2</sup>; (7) nº de días con precipitación superior a 10 l/m<sup>2</sup>; (8) nº de días con precipitación superior a 30 l/m<sup>2</sup>, (9) nº de días de lluvia, (10) nº de días de nieve, (11) nº de días de tormenta, y (12) precipitación total anual, l/m<sup>2</sup>.

(datos elaborados a partir de los registros del Instituto Nacional de Meteorología (Casasús, 1998)).

### 3.2. ANIMALES

El rebaño experimental de la finca consta de 200 vacas nodrizas, de las que 140 son de raza Parda Alpina y 60 de raza Pirenaica. Este rebaño se formó en 1985 a partir de 120

novillas adquiridas en el Pirineo oscense, que se han ido reponiendo con novillas nacidas en la finca y recriadas en las instalaciones del Servicio de Investigación Agroalimentaria de Zaragoza.

La raza Pirenaica es una raza representativa del ganado vacuno originario del País Vasco, Navarra y Pirineo Aragonés y Catalán, explotada inicialmente por su triple aptitud carne-leche-trabajo, que durante los últimos 150 años ha experimentado distintos periodos de expansión y de regresión.

A pesar de los primeros intentos de mejora de la raza Pirenaica, iniciados a mediados del siglo XIX, su censo comenzó a descender a medida que se introducían otras razas más especializadas y con mayores producciones.

En la década de los 60, conscientes del peligro de extinción de la raza, comenzó un programa de mejora de dicha raza orientado hacia la producción de carne en Navarra, objetivo que se extendió a otras comunidades con la creación de las Asociaciones de Criadores de Ganado Vacuno Pirenaico (ASAPI en Aragón, ASPINA en Navarra, ASGAPIR en Vizcaya, HEBE en Guipúzcoa, ARPIEL-VARACA en Álava y ASPIC en Cataluña) confederadas todas ellas en CONASPI (Confederación Nacional de Asociaciones de Ganado Vacuno Pirenaico). En la actualidad, el censo de vacas Pirenaicas es de aproximadamente 25.000 cabezas (Gómez, 1997).

La raza Parda Alpina se explota en España desde hace más de un siglo. Originalmente se introdujo para mejorar la producción lechera de las vacas autóctonas, y absorbió en buena parte a las razas locales. Actualmente, aunque en algunas áreas de España se explota principalmente por su aptitud lechera, en la montaña pirenaica se utiliza fundamentalmente como vaca nodriza, debido al abandono gradual del ordeño en las últimas décadas y a la orientación de su explotación hacia la producción de terneros, para su posterior cebo en otras áreas. Esta raza se ha utilizado con frecuencia como cruce terminal con razas cárnicas, para mejorar la conformación y producción cárnica de los terneros de raza Parda Alpina.

En la actualidad, y debido al gran interés que hay por la cría en pureza como forma de asegurar la reposición, en el Pirineo catalán existen planes de mejora genética de la raza Bruna dels Pirineus (Piedrafita et al., 1993), con selección de caracteres de crecimiento y peso de los terneros al destete.

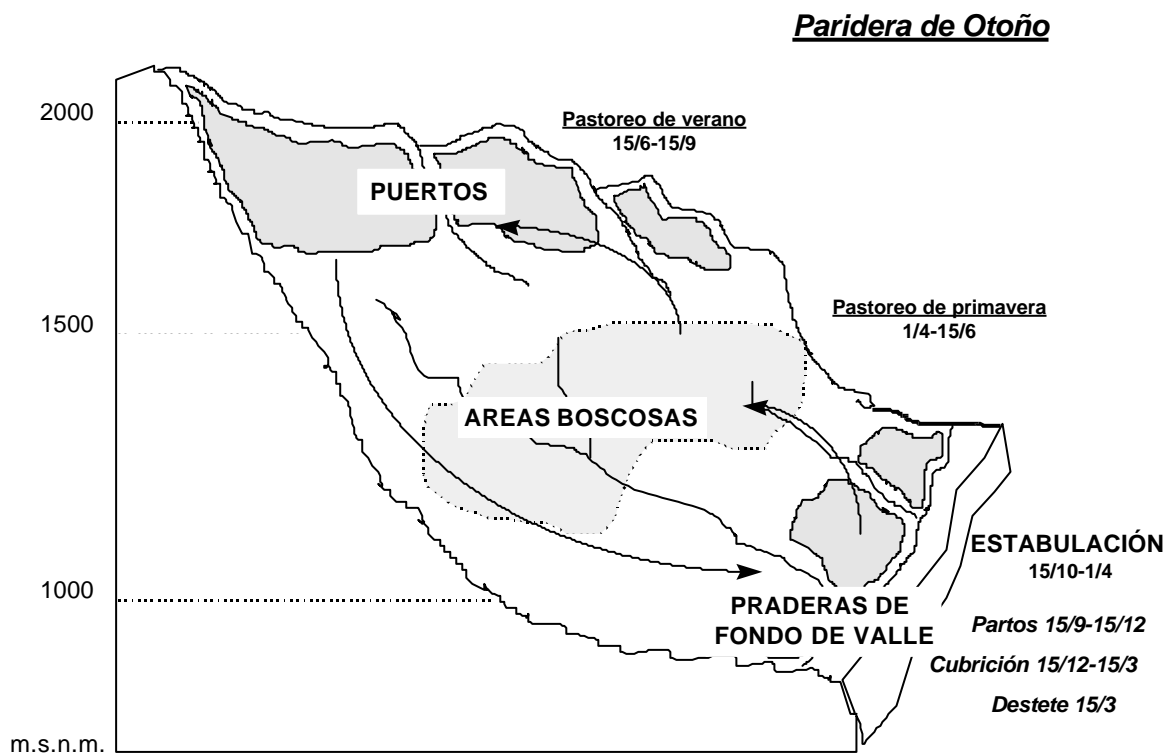
### 3.3. MANEJO GENERAL DE LOS ANIMALES

En el rebaño experimental se utilizó el manejo tradicional de las explotaciones pirenaicas, basado fundamentalmente en tres periodos, uno de estabulación invernal, otro de pastoreo en puertos durante el verano y el último de pastoreo en áreas boscosas o praderas de fondo de valle en épocas intermedias (Revilla, 1987).

El manejo reproductivo se caracterizaba por la concentración de partos en dos épocas: una de *otoño* (Figura 3.1), de la mitad de Septiembre a la mitad de Diciembre, en la que se integraban únicamente vacas de raza Parda Alpina, y otra de *primavera* (Figura 3.2), del 15 de Febrero al 15 de Mayo, en la que participaban ambas razas.

Estos dos periodos de partos, se correspondían a su vez con dos épocas de cubriciones, de tres meses cada una, que se iniciaban 90 días después de la fecha teórica del primer parto, y se realizaban mediante monta natural con toros de las mismas razas que las hembras. Las vacas con parto en otoño permanecieron con el toro en el establo desde el 15 Diciembre hasta el 15 de Marzo, mientras que, para las vacas de parto en primavera, el periodo de cubriciones se inició el 15 de Mayo retirándose el toro 90 días después.

**Figura 3.1.** Manejo general de las vacas con partos en otoño.

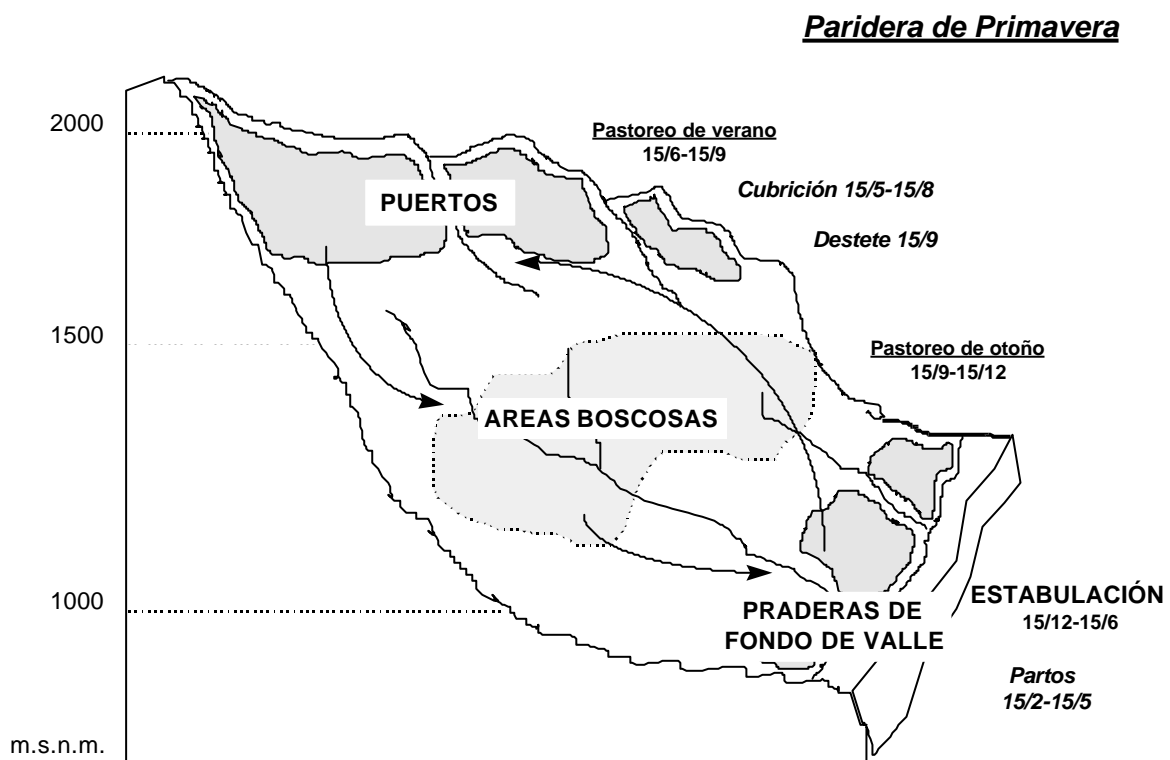




La primera cubrición de las novillas se realizaba antes del inicio del periodo de reproducción de las vacas multíparas con el fin de prestar a las primíparas una atención especial en el momento del parto.

El periodo de estabulación invernal variaba entre cinco y seis meses, en función de la época de parto. Las vacas con parto en otoño se estabularon desde el momento del parto (Octubre) hasta el inicio del periodo de pastoreo de primavera (Abril), que fue aproximadamente un mes después del destete de los terneros (edad: 5 meses). En el caso de las vacas con parto en primavera, la fase de estabulación se alargó desde Diciembre hasta Junio, aunque estos periodos podían adelantarse o retrasarse en función de las condiciones climáticas, la disponibilidad de hierba en los pastos o las necesidades experimentales.

**Figura 3.2.** Manejo general de las vacas con partos en primavera.



Todas las vacas permanecieron pastando en puertos de montaña constituidos por comunidades fitosociológicas de *Nardion strictae* y *Festucion eskiae* (Villalba, 1995), a una altitud de 1.500 a 2.200 m, desde mediados de Junio hasta mediados de Septiembre, momento que se correspondió con el destete de los terneros nacidos en primavera (edad: 6 meses) y que habían permanecido con sus madres durante el pastoreo estival.

En cuanto a los dos periodos de pastoreo en épocas intermedias, en general, fueron de corta duración. El pastoreo de primavera, practicado por las vacas con parto en otoño, se prolongaba desde que terminaba la estabulación hasta que las vacas subían a puerto (de Abril a Junio). El periodo de pastoreo intermedio de otoño se extendió de Septiembre a Octubre (en función de la fecha de parto) en el rebaño con partos de otoño, y de Septiembre a Diciembre en las vacas con parto de primavera.

El pastoreo intermedio se realizó en praderas naturales polifitas de fondo de valle, consideradas como pastos de *Arrhenatheretalia*, con abundancia de *Festuca arundinacea*, *Poa pratensis*, *Trifolium repens* y *Dactylis glomerata* (Ferrer, 1988), así como en pastos forestales, localizados entre 945 y 1.500 m de altitud, y pertenecientes a las comunidades fitosociológicas de *Buxo-Quercetum* y *Aphyllantion* (Ascaso, 1988).

Las experiencias presentadas en esta memoria se llevaron a cabo fundamentalmente durante el periodo de estabulación invernal, lo que permitió un manejo controlado de los animales. El resto del año todas las vacas accedieron a la alimentación permitida por los pastos, a excepción de los individuos que fueron sometidos a un nivel de alimentación determinado durante el último tercio de la gestación, por obligaciones experimentales.

En función de las necesidades de los ensayos, se aplicaron dos manejos del ternero diferentes durante la lactación, el Acceso Restringido (AR) o el Acceso Libre (AL). En el primero, los terneros se mantuvieron separados de sus madres en un cubículo anexo al de las vacas, pudiendo mamar únicamente durante uno o dos periodos diarios de 30 minutos cada uno. En el segundo, la permanencia del ternero con su madre fue continua.

### **3.4. MANEJO ALIMENTICIO EN ESTABULACIÓN**

Las vacas se alimentaron con raciones compuestas principalmente de heno de pradera, heno de alfalfa, paja de cebada, alfalfa deshidratada en cubos, harina de cebada o mezclas completas, en función del año y la experiencia correspondiente. La gran variabilidad en la composición de estos componentes se intentó paliar empleando partidas de alimentos lo más homogéneas posibles.

Durante el periodo invernal los animales permanecieron en estabulación libre o fija, dependiendo de la experiencia en marcha, aunque todos ellos fueron alimentados en lotes con sus niveles de alimentación correspondientes. Las dietas se elaboraron teniendo en cuenta

las necesidades energéticas de los animales (ARC, 1980). La oferta de alimentos se pesaba diariamente, y los rechazos una vez por semana.

Todas las vacas tuvieron a libre disposición bloques de corrector vitamínico-mineral durante todo el año.

### **3.5. CONTROLES**

#### **3.5.1. Parámetros productivos**

##### Peso

Los pesos de los animales se registraron mediante una báscula electrónica. Las vacas se pesaron en el momento del parto y una semana después, considerando el peso al parto como la media de ambos. Durante la lactación, se registraron los pesos de los animales semanalmente (ensayos A, C y D) o quincenalmente (ensayo B), siempre antes de la distribución de las raciones.

En cuanto a los terneros, se registraron sus pesos al nacimiento, y posteriormente una vez por semana.

En los momentos que marcaban el inicio o el final de un periodo de manejo se realizaron dobles pesadas de vacas y terneros, determinando la media de dos pesadas realizadas en dos días consecutivos. Las ganancias medias diarias de los animales se calcularon por regresión lineal de los pesos registrados durante la lactación en función del día.

##### Condición corporal

Se determinó la condición corporal de las vacas, según el método propuesto por Lowman et al. (1976), mediante palpación de la zona de las apófisis transversas de las vértebras lumbares y de la base de la cola. Esta medida se registró cuatro meses antes del parto, en el parto, tres meses después del mismo y a fin de experiencia.

La evolución de los pesos y la CC a lo largo de la lactación han sido referidos en los ensayos A, B, C y D a los tres primeros meses postparto. En primer lugar, por el interés de conocer la situación productiva y reproductiva de los animales al inicio del periodo de cubriciones, que en nuestras condiciones de manejo comienza 90 días después de la fecha teórica del primer parto; y en segundo lugar, porque debido a exigencias de los protocolos experimentales de los ensayos A y D, las lactaciones fueron de menor duración a la

practicada habitualmente en nuestro sistema de explotación (137 y 170 días para las lactaciones de otoño y primavera, respectivamente. Villalba et al., 2000).

### Producción de leche

La producción lechera de las vacas se determinó a partir de la doble pesada del ternero o mediante ordeño mecánico.

La doble pesada de los terneros se realizó mediante una metodología adaptada de la propuesta por Le Neindre (1973). Los terneros se mantuvieron separados de las vacas durante 24 horas, permitiéndoles en este tiempo mamar durante dos periodos de 15 minutos. A partir de la pesada de los terneros antes y después del amamantamiento se estimó la leche producida en 24 horas.

El ordeño mecánico con inyección de oxitocina (Vetrin Lobulor®-S, Hoechst-Roussel) se realizó según el método propuesto por Le Du et al. (1979). Se estimó la leche producida durante un periodo de 8 horas, en el que los terneros permanecieron separados de sus madres.

A partir de muestras individuales de cada uno de los ordeños se analizó el porcentaje de grasa y proteína de la leche mediante infrarrojos (Milkoscan 255 AB, Foss Electric Ltd., U.K.), en el Laboratorio Interprofesional Lechero de Aragón (Movera, Zaragoza).

Se calculó la producción de leche standard (PLS) a partir de la producción de leche bruta (PLB) corregida por su contenido en materia grasa (normalización a 4% de grasa), según la relación propuesta por Gaines (1928):

$$PLS = PLB * (0.4 + 0.15 * \%grasa)$$

Se estimó la producción total de leche bruta a lo largo de la lactación mediante la ecuación de Fleischmann (citado en Franci et al., 1999):

$$PLB_{Total} = PLB_1 * (d_1 - d_0) + (PLB_1 + PLB_2) * 0.5 * (d_2 - d_1) + (PLB_2 + PLB_3) * 0.5 * (d_3 - d_2) + (PLB_3 + PLB_4) * 0.5 * (d_4 - d_3)$$

donde  $d_0$  corresponde al día del parto,  $d_1$  al día en que se registró la  $PLB_1$ , y así sucesivamente. La PLB media se calculó como el cociente entre la  $PLB_{Total}$  y el total de días controlados.

De igual modo se calcularon la PLS media y los porcentajes medios de grasa y proteína.

### Perfiles metabólicos

En el primer ensayo que se presenta en esta memoria (ensayo A) se tomaron muestras semanales de sangre para determinar los niveles plasmáticos de glucosa,  $\beta$ -hidroxibutirato, ácidos grasos no esterificados (AGNE) y urea. Para recoger la sangre se utilizaron tubos de vacío de 10 ml con fluoruro de sodio y oxalato potásico (Venoject, TERUMO, Bélgica), que posteriormente fueron centrifugados a 10.000 rpm y 2°C durante 30 minutos, y el plasma se congeló a -20°C.

La determinación cuantitativa de los metabolitos se realizó mediante un autoanalizador BMD/Hitachi 705, en el Scottish Agricultural College (Aberdeen, Reino Unido).

La glucosa se cuantificó mediante un método colorimétrico, utilizando un kit comercial (Boehringer Mannheim GmbH, nº de catálogo: 704067). Las medias de los coeficientes de variación (CV) entre e intra-análisis para los controles bajo, medio y alto fueron de 4.6 y 2.9%, respectivamente.

Los niveles de  $\beta$ -hidroxibutirato se determinaron mediante un método enzimático cinético, con un kit proporcionado por Randox Laboratories (nº de catálogo: RB-532). Las medias de los CV entre e intra-análisis para los tres controles fueron de 6.3 y 3.2%, respectivamente.

El análisis de AGNE se realizó mediante un método enzimático colorimétrico (kit de Wako Chemicals GmbH, nº de catálogo: 994-75409), y presentó las siguientes medias de los CV entre e intra-análisis para los tres controles: 4.9 y 2.0%, respectivamente.

Se utilizó un método enzimático para la cuantificación de urea (kit de Boehringer Mannheim GmbH, nº de catálogo: 773484). Los CV entre e intra-análisis para los tres controles fueron, de media, de 3.8 y 2.1%, respectivamente.

### Niveles de GH

En el ensayo A se determinaron los niveles plasmáticos de GH, sobre muestras de sangre tomadas cada 15 minutos durante 8 horas.

La sangre, recogida en tubos de vacío con heparina (Venojet, TERUMO, Bélgica), se centrifugó a 10.000 rpm y 2°C durante 30 minutos, y el plasma obtenido se congeló a -20°C, hasta su posterior análisis mediante radioinmunoanálisis (RIA) (Yelich et al., 1995) con NIH-GH-B17 para los standards, en el Scottish Agricultural College (Aberdeen, Reino Unido). La sensibilidad del análisis fue de 1.876 ng/ml y los CV entre e intra-análisis para los tres controles fueron de 17 y 13.3%, respectivamente.

### 3.5.2. Parámetros reproductivos

#### Niveles de progesterona

Para determinar los niveles plasmáticos de  $P_4$  se tomaron tres muestras semanales de sangre de la vena caudal, desde el día siguiente al parto hasta fin de experiencia. La sangre se recogió en tubos de vacío de 5 ml con heparina, que se centrifugaron a 10.000 rpm a 2°C durante 30 minutos para obtener el plasma. Éste fue congelado a -20°C, hasta el momento en el que se realizó el análisis.

La concentración de  $P_4$  se determinó mediante RIA, utilizando un kit comercial diseñado para muestras humanas ( $^{125}$ I-Progesterona Coatria, bioMerieux), y puesto a punto por Alabart (1990). Este kit no precisaba extracción previa de los esteroides (método indirecto).

Al inicio de cada análisis se incluyó una curva standard formada por: 3 totales, 3 de ligación no específica (NSB), 4 de ligación máxima (MB, 0 ng/ml) y 5 standards por duplicado, que cubrían el rango de valores esperados en nuestras condiciones (0.1-15 ng/ml). La sensibilidad del análisis fue de 0.5 ng/ml y los coeficientes medios de variación entre e intra-análisis fueron de 10.1 y 5.2%, respectivamente.

Se consideró que la actividad ovárica se iniciaba cuando se detectó la primera elevación de los valores reales de  $P_4$  por encima de 0.5 ng/ml durante al menos dos días, o 1 ng/ml en un sólo día, concentraciones que reflejaban la existencia de actividad luteal y/o placentaria (Thimonier, 1978). En las vacas que no presentaron reactivación ovárica durante el periodo controlado, se consideró como duración del anestro postparto el intervalo entre el parto y el último análisis de sangre realizado (Wright et al., 1987).

#### Niveles de LH

En el ensayo A se realizaron dos controles de LH, tomando muestras de sangre cada 15 minutos durante 8 horas, en tubos de vacío con heparina. Las muestras se centrifugaron durante 30 minutos a 2°C, y los plasmas se congelaron a -20°C hasta su posterior análisis, en el Teagasc Research Centre (Athenry, Irlanda). Los niveles de LH se determinaron mediante un RIA (Mackey et al., 2000), modificado del método propuesto por Cooke et al. (1997).

La concentración media de LH, así como la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH se determinaron mediante el programa PC-PULSAR (Merriam y Wachter, 1982), modificado para PC-IBM por J. F. Gitzen y V. D. Ramirez (University of Illinois, Urbana-Champaign). Se

utilizaron los parámetros G aplicados por Mackey et al. (2000) para vacas nodrizas, definiendo un pulso como un pico único seguido por dos o más puntos de concentración decreciente. Los valores G fueron 2.0, 1.5, 1.3, 1.1 y 1.0 para G1 a G5, respectivamente.

### Ecografía

En los ensayos A, C y D presentados en esta memoria se realizaron observaciones ecográficas de los ovarios por vía rectal, en un determinado número de animales en función de la experiencia, mediante un ecógrafo Aloka SSD-500V (Aloka, CO., LTD) equipado con una sonda transrectal de haz lineal y 7.5 MHz de frecuencia.

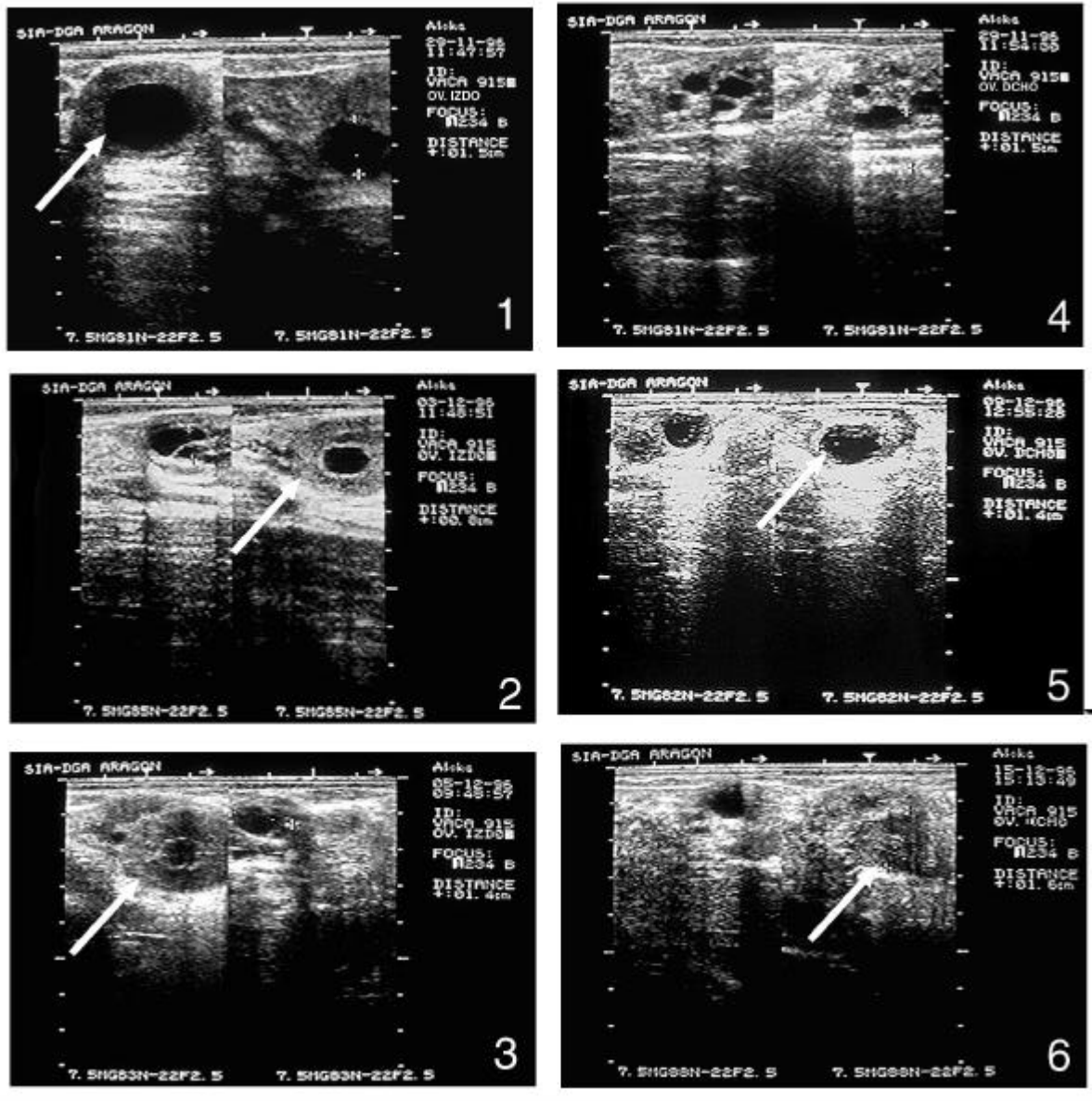
Una vez localizados los ovarios se determinaba el diámetro de todos los folículos mayores o iguales a 4 mm y de los cuerpos lúteos observados, y su posición topográfica. A partir de ello, se realizaba un esquema del ovario que permitió determinar la evolución de los folículos y los cuerpos lúteos identificados en observaciones sucesivas. El diámetro de las estructuras ováricas observadas se estimó a partir de la media de la altura y la anchura registradas.

En la Figura 3.3 se expone la evolución de las estructuras ováricas detectadas mediante ecografía, pertenecientes a la vaca 915.

Las tres imágenes situadas a la izquierda de la figura corresponden al ovario izquierdo. En la 1ª imagen se observa el folículo preovulatorio un día antes de la ovulación y en las imágenes 2 y 3 el cuerpo lúteo cavitario resultante.

Las ecografías ubicadas a la derecha se refieren al ovario derecho, durante el mismo periodo de tiempo. En la 4ª imagen se aprecian pequeños folículos pertenecientes a la misma cohorte del futuro folículo dominante (imagen 5), que alcanzaría la ovulación (imagen 6) aproximadamente 10 días después de la ovulación anterior.

**Figura 3.3.** Imágenes ecográficas de la evolución de las estructuras presentes en los ovarios izquierdo y derecho.



A continuación se relacionan las definiciones utilizadas en las medidas foliculares, adaptadas de la metodología propuesta por Savio et al. (1988):

**Folículo dominante (FD):** el mayor folículo presente en cualquiera de los dos ovarios, que medía al menos 8.5 mm de diámetro, que era 2 mm mayor al resto de folículos de la cohorte



y que había suprimido el crecimiento del resto de folículos (el último folículo subordinado permanecía estático o en regresión).

**Ola folicular:** emergencia del futuro FD y otros folículos, originados del mismo “pool”. La ola finaliza con la emergencia de otra ola folicular.

**Ovulación:** desaparición de un FD seguida por el crecimiento de un cuerpo lúteo en la posición que ocupaba dicho FD.

**Ciclo ovárico:** intervalo entre dos ovulaciones consecutivas, que podía presentar una duración normal (18-24 días) o corta (< 18 días).

**Duración de la dominancia del FD ovulatorio:** número de días transcurridos desde que el FD alcanzó 8.5 mm de diámetro hasta el día de la ovulación.

**Duración del crecimiento folicular:** número de días que transcurrieron desde la detección de un folículo de 4 mm hasta que éste alcanzó su diámetro máximo.

**Velocidad de crecimiento del FD:** diferencia entre el tamaño máximo alcanzado y el detectado en la emergencia, dividida por la duración del crecimiento folicular.

**Duración de la atresia folicular:** número de días entre el momento en que un folículo adquiría su diámetro máximo y este folículo desaparecía (a 4 mm).

**Velocidad de atresia del FD no ovulatorio:** diferencia entre el diámetro máximo alcanzado y el último detectado antes de su desaparición, dividida por la duración de la atresia folicular.

**Diámetro del cuerpo lúteo:** media de la altura y la anchura registradas dos días después de la ovulación.

## ***PARTE I.***

---

***DINÁMICA FOLICULAR EN VACAS NODRIZAS  
SOMETIDAS A CONDICIONES NUTRICIONALES Y DE  
MANEJO DEL TERNERO DIFERENTES***

***ENSAYO A***

---

## **A.1. OBJETIVO**

Determinar el papel de la gonadotropina LH, los perfiles metabólicos y la GH en la dinámica folicular de vacas nodrizas sometidas a diversos niveles de alimentación y manejos del ternero.

En este ensayo se pretende comprobar la respuesta ovulatoria a una combinación de separación y aislamiento visual del ternero, realizada inmediatamente después de la selección del FD de la 1ª ola folicular detectada después del día 21 pp (estimada como la 4ª ola folicular).

## **A.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **A.2.1. Diseño experimental**

Esta experiencia se replicó en cuatro países europeos, con el fin de reforzar la consistencia de los resultados obtenidos.

Se planteó un diseño factorial de 2x2x2, en el que los factores fueron los niveles de alimentación preparto (alto vs. bajo) y postparto (alto vs. bajo), y el acceso del ternero a la vaca (libre vs. combinación de aislamiento y restricción del acceso del ternero a un corto periodo de lactancia diario, a partir de la selección del FD de la 4ª ola folicular postparto). En el ensayo se incluyeron 16 vacas Simental (Escocia), 16 Pardas (España), 16 Sardas (Cerdeña) y 16 Hereford x Frisona (Irlanda).

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos en el ensayo realizado en el SIA, examinándose los resultados globales (Sinclair et al., 1999; Diskin et al., 1999; Sinclair et al., enviado) en la discusión.

Se utilizaron 16 vacas multíparas de raza Parda Alpina con parto de otoño (fecha media de parto: 25 de Octubre), que permanecieron estabuladas durante los últimos meses de gestación, sometidas a dos niveles de alimentación (750 vs. 500 kJ EM/kg<sup>0.75</sup>/d, para los lotes preparto alto y bajo, respectivamente).

Los grupos fueron equilibrados en la fecha de parto, manteniéndose en el ensayo hasta el día 150 pp. Durante la lactación las vacas se mantuvieron en estabulación individual fija con dos dietas, alta y baja, calculadas individualmente con el fin de aportar 1.000 y 600 kJ EM/kg<sup>0.75</sup>/d (Tabla A1), y que cubrieron el 110% y el 80% de las necesidades energéticas teóricas, de media por lote (ARC, 1980).

**Tabla A1.** Protocolo experimental del ensayo A.

Nivel preparto, kJ EM/kg <sup>0.75</sup> /d (n)	750 (8)				500 (8)			
Nivel postparto, kJ EM/kg <sup>0.75</sup> /d (n)	1.000 (4)		600 (4)		1.000 (4)		600 (4)	
Aislamiento del ternero > día 30 pp (n)	sí (2)	no (2)	sí (2)	no (2)	sí (2)	no (2)	sí (2)	no (2)

Las raciones postparto se constituyeron de alfalfa deshidratada en cubos, paja de cebada y harina de cebada en las siguientes cantidades por lote:

kg/vaca/día	Paja	Alfalfa	Concentrado
ALTO	6.4 (0.5)	6.0 (0.9)	3.8 (0.7)
BAJO	6.0 (0.6)	6.0 (0.5)	-
media (d.s.)			

Los alimentos se analizaron en el Scottish Agricultural College, según la metodología descrita por Sinclair et al. (enviado), quedando reflejada su composición en la siguiente tabla:

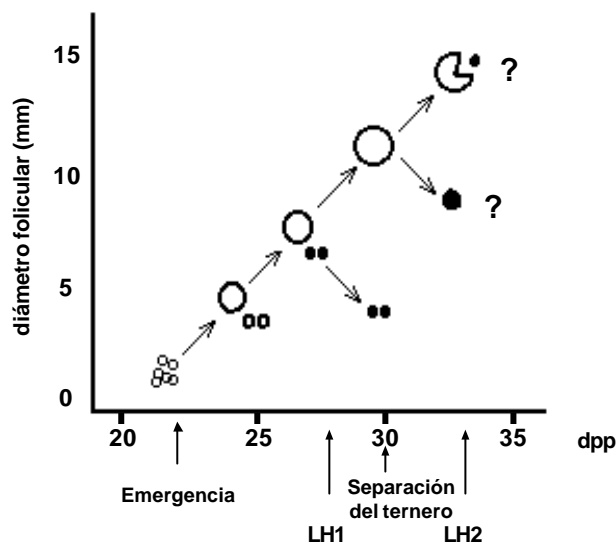
**Tabla A2.** Composición de los alimentos ofrecidos en el periodo postparto.

Análisis	Paja	Alfalfa	Concentrado
% MS	90.39	87.17	88.39
MJ EM/kg MS	7.05	8.80	12.50
% PB	2.78	19.16	11.46
% FB	39.00	22.40	5.40
% Grasa	-	2.23	3.08
% Cenizas	5.72	17.74	2.52
% Digestibilidad	49.65	58.60	83.60

Las vacas dispusieron de sal y minerales a voluntad durante toda la experiencia, y también se ofreció concentrado a voluntad a los terneros desde el nacimiento.

La restricción y el aislamiento de los terneros se inició el 2º día de dominancia durante la primera ola folicular emergida después del día 21 pp, estimada como la 4ª ola folicular postparto, permitiéndoles el acceso a sus madres durante un periodo de 30 minutos diarios (Figura A1).

**Figura A1.** Esquema de la 1ª ola folicular detectada después del día 21 pp (estimada como la 4ª ola folicular), en el que se indica el inicio de la restricción y el aislamiento del ternero, así como los dos días de control de LH (LH1 y LH2).



### A.2.2. Controles

#### Peso y condición corporal

Durante el ensayo se controlaron los pesos de las vacas y de los terneros, como también la CC de las vacas, según la metodología general descrita.

#### Producción de leche

Se realizaron tres controles lecheros, la 3ª, 6ª y 9ª semanas después del parto, mediante la doble pesada del ternero, determinándose de nuevo la producción lechera, cuatro días más tarde, mediante ordeño mecánico.

#### Perfiles metabólicos

Se tomaron muestras de sangre semanales para determinar los niveles plasmáticos de glucosa,  $\beta$ -hidroxibutirato, AGNE y urea, según la metodología descrita en el capítulo 3.

#### GH

Los niveles plasmáticos de GH se analizaron sobre muestras de sangre tomadas cada 15 minutos durante 8 horas, aproximadamente el día 29 pp.

### Observación ecográfica de los ovarios

Se realizaron ecografías ováricas diarias, a partir del día 21 pp y hasta la detección de la 1ª ovulación o, en su caso, hasta el día 90 pp.

### Progesterona

Se controlaron los niveles plasmáticos de progesterona a lo largo del ensayo, según la metodología general descrita.

### LH

Se realizaron dos controles de LH, el primero un día antes de la separación y el aislamiento del ternero (alrededor del día 29 pp) y el segundo 4 días después (en torno al día 34 pp) (Figura A1), tomando muestras de sangre cada 15 minutos durante 8 horas, y determinándose los niveles de LH según la metodología descrita en el apartado 3.5.2.

### **A.2.3. Análisis estadístico**

Se analizó el efecto de la alimentación y del manejo del ternero sobre los parámetros productivos y reproductivos de los animales mediante el procedimiento GLM (SAS, 1990), incluyendo los efectos del nivel preparto, el nivel postparto y el manejo del ternero, así como sus interacciones, si bien éstas últimas no fueron significativas en ningún caso y se eliminaron de los modelos.

Los perfiles de GH el día 29 pp se analizaron mediante el procedimiento GLM, incluyendo como efectos fijos los niveles de alimentación preparto y postparto, puesto que la interacción preparto\*postparto tampoco fue significativa.

También se analizó el efecto de la separación y el aislamiento del ternero sobre los niveles de LH, incluyendo como efecto fijo únicamente el día de muestreo.

Se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson (procedimiento CORR. SAS, 1990) para determinar la relación entre las variables, y el Test exacto de Fisher (procedimiento FREQ. SAS, 1990) para realizar la comparación de porcentajes.

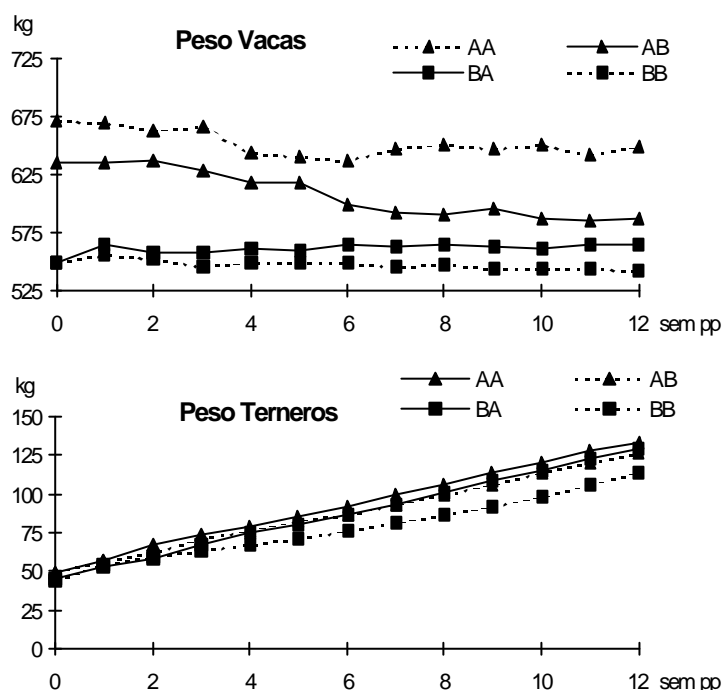
En los resultados se expresan las medias mínimo-cuadráticas (LSMEANS) y el error standard de la diferencia (e.s.d.), o el error standard (e.s.) en las tablas en que se especifica. La separación de medias se realizó con una probabilidad de error inferior al 5%.

### A.3. RESULTADOS

#### A.3.1. Rendimientos productivos de los animales y perfiles metabólicos

En la figura siguiente se representa la variación de los pesos de los animales a lo largo la lactación, en función de los niveles de alimentación preparto y postparto.

**Figura A2.** Evolución de los pesos de vacas y terneros durante los tres primeros meses postparto.



Las vacas sometidas al nivel alto de alimentación durante los últimos meses de gestación presentaron los mayores pesos al parto ( $p < 0.001$ ) y tres meses después del mismo ( $p < 0.01$ ), como refleja la Tabla A3. Durante la lactación las vacas mantuvieron el peso o presentaron ligeras pérdidas, excepto el lote AB, que sufrió pérdidas diarias de 0.720 kg.

Los lotes altos de alimentación preparto superaron en 0.7 unidades la CC al parto de los lotes bajos ( $p < 0.001$ ) (Tabla A3). Posteriormente los lotes AA y BB mantuvieron sus estados corporales, mientras que el lote AB perdió medio punto de CC y el lote BA lo aumentó ligeramente.



**Tabla A3.** Efecto de los niveles de alimentación y la manipulación del ternero sobre los rendimientos productivos de las vacas durante los tres primeros meses de lactación.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Crianza
n	4	4	4	4				
Fecha parto	27 Oct.	23 Oct.	23 Oct.	29 Oct.	17.0	NS	NS	NS
PV parto, kg	672.3 a	636.0 a	549.3 b	550.0 b	41.3	***	NS	NS
PV 3 meses pp, kg	650.0 a	587.3 ab	554.0 b	541.5 b	42.9	**	NS	NS
GMD 3 meses pp, kg	-0.279 b	-0.720 a	0.027 b	-0.128 b	0.199	**	*	NS
CC 4 meses preparto	2.80 a	2.84 a	2.43 b	2.46 b	0.18	***	NS	NS
CC parto	2.70 a	2.73 a	2.00 b	2.01 b	0.09	***	NS	NS
CC 3 meses pp	2.72 a	2.25 b	2.20 b	2.05 b	0.21	*	*	NS
PVT nacimiento, kg	49.6	49.1	45.9	45.8	3.9	0.08	NS	NS
PVT 3 meses pp, kg	133.6 a	127.0 ab	128.8 ab	113.4 b	12.2	NS	NS	NS
GMDT 3 meses pp, kg	0.990	0.907	0.990	0.753	0.160	NS	0.06	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$

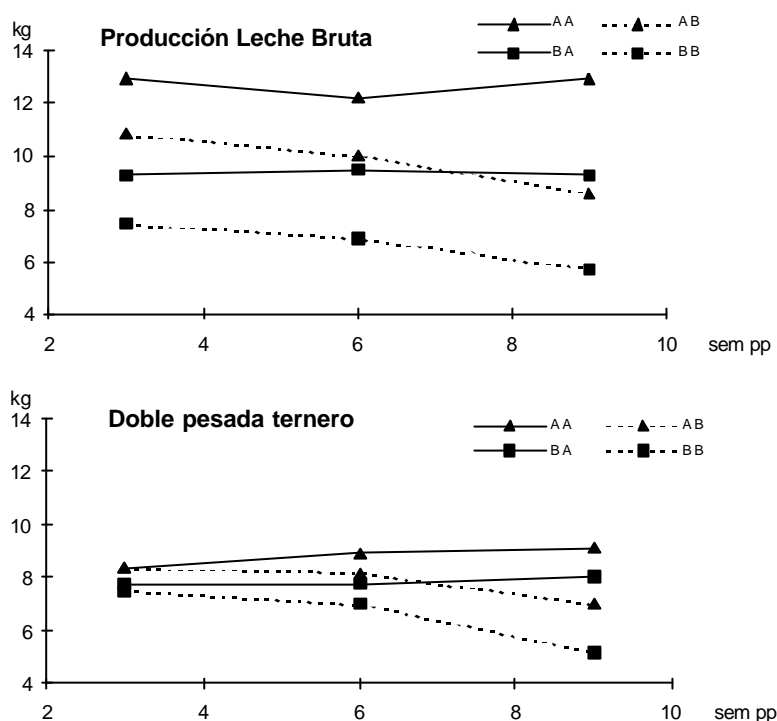
Los terneros de las vacas sometidas al nivel alto preparto tendieron a pesar al nacimiento más que los de los lotes bajos ( $p = 0.08$ ), presentando el peso al nacimiento una relación positiva con la CC de la vaca al parto ( $r = 0.56$ ,  $p < 0.05$ ).

Durante la lactación los pesos de los terneros no difirieron significativamente, aunque el lote BB presentó los pesos más bajos tres meses después del nacimiento y las menores ganancias diarias durante este periodo (Tabla A3).

La manipulación del ternero practicada durante la 4<sup>a</sup> ola folicular (en torno al día 30 pp) no afectó a los rendimientos productivos de las vacas o los terneros analizados a lo largo de la fase experimental (Tabla A3).

En la Figura A3 se muestra la producción lechera de las vacas, determinada mediante ordeño mecánico y doble pesada del ternero, y en la Tabla A4 se relacionan los rendimientos lecheros obtenidos en función de la alimentación.

**Figura A3.** Controles lecheros de las vacas realizados durante la fase experimental, expresados en función de los niveles alimenticios aplicados.



Las dietas recibidas tanto antes como después del parto afectaron de forma significativa a la cantidad de leche producida por las vacas (Tabla A4). Las vacas del lote AA fueron las mayores productoras, seguidas de los lotes AB y BA, y por último el lote BB, que presentó las menores producciones de leche.

**Tabla A4.** Valores medios de los ordeños mecánicos y las dobles pesadas de los terneros (D.P.T.) realizados la 3<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup> semanas después del parto.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Cría
PLB, kg/d	12.0	9.8	9.3	6.7	2.1	*	*	NS
PLS, kg/d	12.2	10.1	8.8	6.8	2.1	**	0.06	NS
Grasa, g/kg	41.19	42.67	36.96	40.76	6.06	NS	NS	NS
Proteína, g/kg	35.10	34.74	34.04	33.43	3.47	NS	NS	NS
D.P.T., kg/d	8.8	7.8	7.8	6.5	1.5	NS	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

A pesar de que el concentrado ofrecido a voluntad a los terneros podría haber compensado la menor producción lechera de determinadas vacas, los pesos de los terneros tres meses después del parto se correlacionaron positivamente con la PLS de las madres ( $r=0.58$ ,  $p<0.05$ ).

Las proporciones de grasa y proteína de la leche fueron similares para los cuatro lotes, aunque estos porcentajes tendieron a ser menores en los lotes sometidos a la dieta baja preparto (41.9 vs. 38.9 g grasa/kg y 34.9 vs. 33.7 g proteína/kg, para los niveles preparto alto y bajo, respectivamente) (Tabla A4).

Las dietas impuestas no afectaron significativamente a la producción de leche estimada mediante la doble pesada de los terneros, aunque se observaron tendencias similares a las de los controles lecheros obtenidos mediante ordeño mecánico (Figura A3), presentando mayores ganancias después de lactar los terneros del lote AA, seguidos de los lotes AB, BA y BB (Tabla A4).

La relación de la doble pesada del ternero con el resultado del ordeño de la vaca fue, evidentemente, muy alta ( $r=0.78$ ,  $p<0.001$ ), a pesar de las diferencias observadas entre estos dos parámetros.

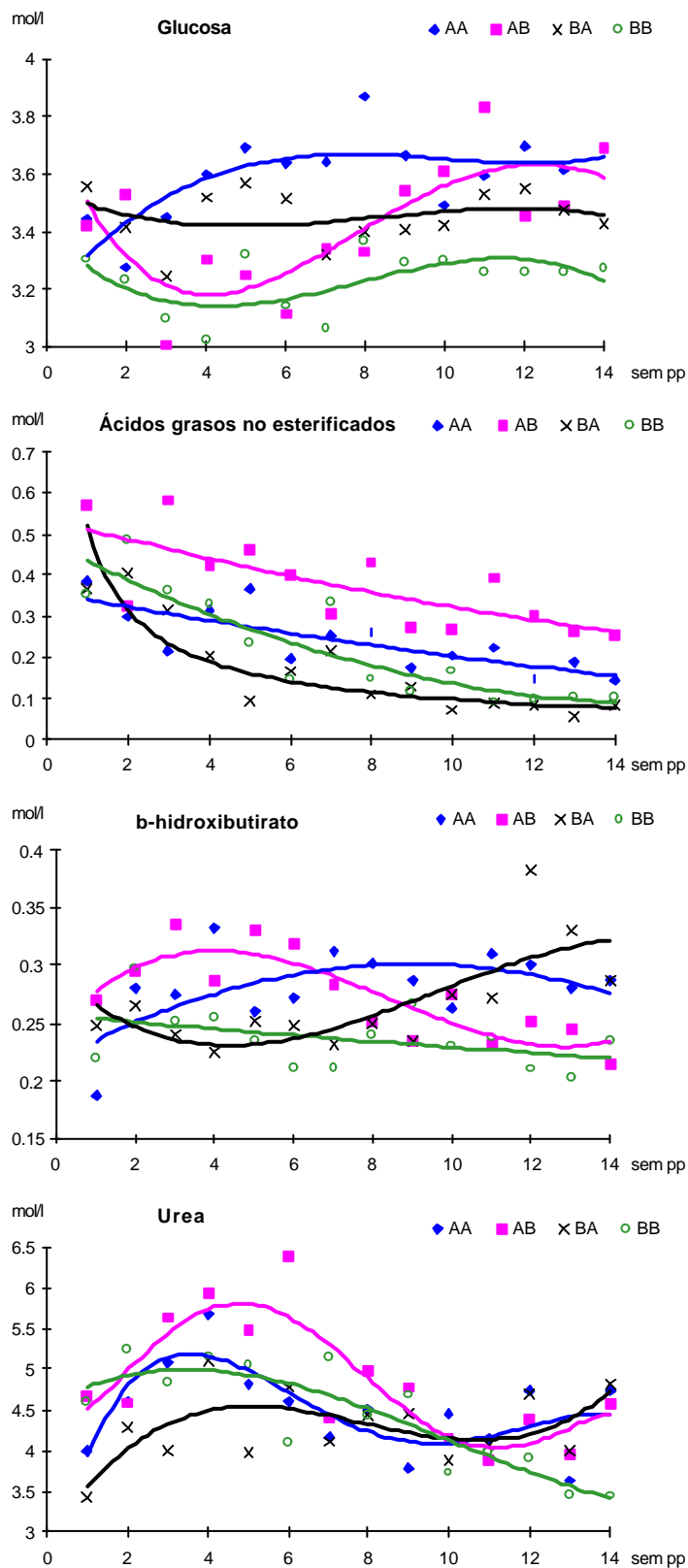
El manejo aplicado al ternero no afectó a ninguna de las variables analizadas en relación a la producción lechera de las vacas (Tabla A4).

En la Figura A4 se representa la evolución de los metabolitos plasmáticos analizados durante la lactación en función de las dietas recibidas, junto a las tendencias que siguieron los niveles metabólicos observados, y la Tabla A5 contiene los efectos de la alimentación y del manejo aplicado al ternero durante la crianza sobre la concentración media de dichos metabolitos.

Los niveles medios de glucosa fueron superiores en los lotes sometidos al nivel alto postparto (3.53 vs. 3.33 mol/ml, para los niveles alto y bajo postparto,  $p<0.05$ ) (Tabla A5), tendiendo también a ser mayores en los grupos de nivel alto preparto (3.51 vs. 3.34 mol/ml, para los niveles alto y bajo preparto,  $p= 0.065$ ).

Durante los dos primeros meses de lactación, los lotes alto postparto presentaron las mayores concentraciones de glucosa, observándose a partir de la 4ª semana postparto una tendencia creciente de este metabolito en los cuatro lotes (Figura A4).

**Figura A4.** Concentraciones medias semanales de los metabolitos durante las 14 semanas siguientes al parto, acompañadas de sus respectivas líneas de tendencia.



La concentración media de glucosa se relacionó con el estado corporal que presentaron las vacas tres meses después del parto ( $r=0.63$ ,  $p<0.001$ ), así como con el peso de la vaca en ese momento ( $r=0.51$ ,  $p<0.05$ ).

**Tabla A5.** Efectos de la alimentación y del manejo aplicado al ternero sobre las concentraciones medias de los metabolitos.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Cría
n	4	4	4	4				
Glucosa, mol/ml	3.60 a	3.42 ab	3.46 ab	3.23 b	0.18	0.065	*	NS
AGNE, mol/ml	0.24 ab	0.37 a	0.17 b	0.22 ab	0.10	0.055	NS	NS
$\beta$ -OH-butarato, mol/ml	0.28	0.27	0.27	0.24	0.03	NS	NS	NS
Urea, mol/ml	4.49 a	4.85 a	4.00 b	4.41 ab	0.31	**	*	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p<0.05$ )

Las vacas que llegaron al parto con mayor cantidad de reservas corporales tendieron a presentar concentraciones superiores de AGNE en plasma durante la lactación (0.31 vs. 0.20 mol/ml, para los lotes alto y bajo preparto,  $p=0.055$ ) (Tabla A5). A pesar de que el efecto de la alimentación postparto tampoco fue estadísticamente significativo, las vacas de los lotes bajo postparto tendieron a presentar los mayores niveles de estos metabolitos (0.21 vs. 0.30 mol/ml, para los lotes alto y bajo postparto,  $p=0.12$ ). La tendencia general de los AGNE a lo largo del postparto fue decreciente, en todos los animales (Figura A4).

Las concentraciones medias de AGNE estuvieron negativa y muy altamente correlacionadas con las ganancias de las vacas durante la fase experimental ( $r=-0.79$ ,  $p<0.001$ ), y positivamente con la PLS ( $r=0.56$ ,  $p<0.05$ ).

Los niveles medios de  $\beta$ -hidroxibutarato fueron similares en los cuatro grupos de vacas, aunque la tendencia de este metabolito a lo largo del postparto en los lotes alto y bajo postparto fue opuesta (Figura A4): las vacas sometidas a la dieta alta postparto presentaron unos niveles crecientes de  $\beta$ -hidroxibutarato, al contrario de las vacas de nivel bajo postparto, correlacionándose el valor medio de  $\beta$ -hidroxibutarato con la cantidad de leche producida ( $r=0.67$ ,  $p<0.001$ ).

Los niveles medios de urea fueron superiores en las vacas que recibieron la dieta alta preparto (4.67 vs. 4.20 mol/ml, para los niveles alto y bajo preparto,  $p < 0.01$ ). Por el contrario, los lotes bajos postparto presentaron las mayores concentraciones medias de urea (4.24 vs. 4.63 mol/ml, para los lotes alto y bajo postparto,  $p < 0.05$ ).

Los mayores niveles de urea se detectaron durante las primeras semanas postparto, reduciéndose a partir de la 8ª semana (Figura A4). Además, los niveles de este metabolito se relacionaron negativamente con las ganancias de peso registradas durante la lactación ( $r = -0.59$ ,  $p < 0.05$ ).

Ninguno de los perfiles metabólicos analizados se vio afectado por el manejo del ternero realizado a partir del día 30 pp (Tabla A5).

En en la tabla siguiente quedan reflejadas la pulsatilidad y los niveles medios de la hormona del crecimiento el día previo a la manipulación del ternero:

**Tabla A6.** Perfiles de GH el día 29 pp en función de las dietas preparto y postparto.

	PREPARTO		POSTPARTO		e.s.d.	<i>Sign.</i>	
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post
n	4	4	4	4			
GH, ng/ml	4.07	4.28	4.09	4.26	1.10	NS	NS
Nº pulsos GH/h	0.30	0.34	0.30	0.34	0.07	NS	NS

Aunque la concentración media de GH el día 29 pp no presentó diferencias estadísticamente significativas en función de la de alimentación, en el lote bajo preparto se observaron niveles basales superiores a los del lote alto preparto, siendo también mayores los niveles de GH en el lote bajo postparto en relación al lote alto postparto.

La frecuencia de pulsos de GH el día 29 pp tampoco difirió significativamente entre los cuatro lotes de vacas (Tabla A6), a pesar de que este parámetro se relacionó negativamente con el peso de la vaca al parto ( $r = -0.51$ ,  $p < 0.05$ ) y con el estado corporal registrado tres meses después del parto ( $r = -0.63$ ,  $p < 0.01$ ).

### A.3.2. Dinámica folicular

La primera ola folicular ovulatoria observada en las vacas presentó de 4.5 a 5 folículos en emergencia, de entre 4 y 4.4 mm de diámetro, independientemente de los niveles nutritivos o el manejo del ternero, como muestra la tabla siguiente:

**Tabla A7.** Características de la 1ª ola ovulatoria o, en su caso, de la última ola detectada antes del día 90 pp.

		n	Nº folículos en emergencia	Diámetro en emergencia FD, mm	Diámetro máximo FD, mm	Velocidad de crecimiento FD, mm/d
<b>PREPARTO</b>	<b>Alto</b>	8	5.08 ± 0.30	4.37 ± 0.13	12.94 ± 0.35	1.22 ± 0.04
	<b>Bajo</b>	8	4.50 ± 0.29	4.00 ± 0.14	11.13 ± 0.36	0.80 ± 0.04
	<b>Sign.</b>		NS	NS	**	**
<b>POSTPARTO</b>	<b>Alto</b>	8	4.88 ± 0.30	4.25 ± 0.13	12.88 ± 0.36	1.19 ± 0.04
	<b>Bajo</b>	8	4.70 ± 0.30	4.12 ± 0.14	11.19 ± 0.37	0.83 ± 0.04
	<b>Sign.</b>		NS	NS	**	**
<b>CRÍA</b>	<b>A. Libre</b>	8	4.98 ± 0.28	4.21 ± 0.13	11.77 ± 0.34	1.00 ± 0.03
	<b>A. Restring.</b>	8	4.60 ± 0.32	4.15 ± 0.15	12.30 ± 0.39	1.02 ± 0.04
	<b>Sign.</b>		NS	NS	NS	NS

lsmeans ± e.s.

El diámetro máximo alcanzado por el FD fue superior en las vacas sometidas a los niveles altos preparto ( $p < 0.01$ ) y postparto ( $p < 0.01$ ), como también sucedió con la tasa de crecimiento del FD. Sin embargo, ninguno de estos parámetros se vio afectado por el manejo aplicado al ternero (Tabla A7).

Cuando se compararon las características de la ola folicular previa a la 1ª ovulación y de la 1ª ola ovulatoria, únicamente se observaron diferencias significativas en el diámetro máximo alcanzado por el FD perteneciente a cada ola, que fue mayor en la ola ovulatoria ( $p < 0.05$ ), como se observa en la Tabla A8.

**Tabla A8.** Comparación de la última ola no ovulatoria y de la 1ª ola ovulatoria o, en su caso, de las dos últimas olas no ovulatorias detectadas antes del día 90 pp.

	Nº ola		Sign.
	Última no ovulatoria	1ª ovulatoria	
n	16	16	
Nº folículos en emergencia	4.81 ± 0.18	4.80 ± 0.16	NS
Diámetro en emergencia FD, mm	4.50 ± 0.13	4.19 ± 0.12	NS
Diámetro máximo FD, mm	11.01 ± 0.22	12.00 ± 0.24	*
Velocidad crecimiento FD, mm/d	1.00 ± 0.04	1.01 ± 0.03	NS

lsmeans ± e.s.

### A.3.2. Duración del anestro postparto y niveles de LH

La duración del app de las vacas y la media de los valores de LH registrados los días 29 y 34 pp se exponen en la Tabla A9, en función de la nutrición, y en la Tabla A10, en función de la alimentación y del manejo del ternero.

**Tabla A9.** Reactivación ovárica postparto y niveles medios de LH en función de la alimentación recibida antes y después del parto.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Cría
n	4	4	4	4				
app, d	42.5 a	89.5 ab	107.3 bc	150.0 c	34.6	**	*	0.07
LH, ng/ml	0.72	0.68	0.49	0.51	0.24	0.08	NS	NS
Nº pulsos LH/8h	3.00 a	2.13 ab	1.88 ab	1.38 b	0.73	*	NS	NS
Amplitud pulsos LH, ng/ml	0.80 a	0.72 a	0.37 b	0.53 ab	0.20	*	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Las dietas ofrecidas antes y después del parto afectaron significativamente al reinicio de la ciclicidad de los animales. Las vacas que recibieron un nivel alto de alimentación durante el último tercio de gestación reanudaron la ciclicidad ovárica 66 días después del parto, mientras que el lote bajo parto lo hizo el día 129 pp.



La reactivación ovárica también fue más temprana en los lotes de vacas sometidos al nivel alto postparto, en relación a los lotes bajo postparto (75 vs. 120 días,  $p<0.05$ ).

**Tabla A10.** Duración del app y secreción de LH en función de la nutrición y del manejo del ternero.

PREPARTO POSTPARTO CRÍA	Alto				Bajo			
	Alto		Bajo		Alto		Bajo	
	AL	AR	AL	AR	AL	AR	AL	AR
n	2	2	2	2	2	2	2	2
app, d	60.0	25.0	111.0	68.0	132.0	82.5	150.0	150.0
LH, ng/ml	0.84	0.60	0.66	0.70	0.47	0.51	0.36	0.58
Nº pulsos LH/8h	3.50	2.50	2.50	1.75	1.00	2.75	1.00	1.75
Amplitud pulsos LH, ng/ml	0.61	1.00	0.69	0.75	0.30	0.45	0.67	0.47

La separación y el aislamiento del ternero realizados el 2º día de dominancia de la 4ª ola folicular tendieron a reducir el intervalo del parto a la 1ª ovulación ( $p=0.07$ ) (Tablas A9 y A10). En los lotes AA, AB y BA las vacas sometidas al manejo del ternero en acceso restringido (a partir del día 30 pp) presentaron un app inferior al de los lotes que permanecieron con el ternero en acceso libre; sin embargo, en el lote BB no se observó esta diferencia (Tabla A10).

La duración del app se correlacionó positivamente con la frecuencia de pulsos de GH registrada el día 29 pp ( $r=0.57$ ,  $p<0.05$ ).

La concentración basal media de LH (día 29 pp + día 34 pp) no presentó diferencias significativas entre lotes, aunque tendió a ser mayor en los lotes altos preparto (0.70 vs. 0.50 ng/ml,  $p=0.08$ ) (Tabla A9), presentando una correlación positiva con el peso de la vaca al parto ( $r=0.52$ ,  $p<0.05$ ).

Asimismo, se observó una mayor pulsatilidad y amplitud de LH en las vacas del nivel alto preparto respecto de las del nivel bajo preparto (2.56 vs. 1.66 pulsos/8h,  $p<0.05$ ; 0.76 vs. 0.43 ng/ml,  $p<0.05$ ) (Tabla A9).

La pulsatilidad media de LH se relacionó negativamente con la duración del app ( $r=-0.65$ ,  $p<0.01$ ) y positivamente con el peso de la vaca al parto ( $r=0.54$ ,  $p<0.05$ ) y el registrado tres

meses después ( $r=0.56$ ,  $p<0.05$ ). En la misma línea, la frecuencia de pulsos de LH presentó una relación positiva con los niveles de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $r=0.66$ ,  $p<0.01$ ).

En relación a la dinámica folicular, se observó una correlación del número de pulsos de LH con el diámetro máximo del FD ovulatorio ( $r=0.66$ ,  $p<0.01$ ), y también con la velocidad de crecimiento del FD ( $r=0.63$ ,  $p<0.05$ ).

Ninguno de los valores medios de LH analizados se vio afectado por el manejo aplicado al ternero (Tablas A9 y A10). Sin embargo, al analizar los niveles de LH únicamente en función del manejo del ternero (Tabla A11) se observó que la restricción del acceso del ternero a su madre y su aislamiento visual provocaron un aumento significativo en la pulsatilidad de LH ( $p<0.01$ ). Las vacas que se mantuvieron permanentemente con los terneros, por el contrario, no presentaron diferencias en la pulsatilidad de LH.

El nivel basal de LH y la amplitud de los pulsos no difirieron entre los dos días de muestreo en ninguno de los lotes.

**Tabla A11.** Efecto de la separación y el aislamiento del ternero realizados el día 30 pp sobre la secreción de LH.

	n	día 29 pp	día 34 pp	e.s.d.	Sign.
<b>A. Libre</b>					
LH, ng/ml	8	0.63	0.60	0.29	NS
Nº pulsos LH/8h	8	2.14	2.14	1.01	NS
Amplitud pulsos LH, ng/ml	8	0.59	0.53	0.20	NS
<b>A. Restringido &gt; día 30 pp</b>					
LH, ng/ml	8	0.59	0.85	0.13	NS
Nº pulsos LH/8h	8	1.38 b	3.00 a	1.06	**
Amplitud pulsos LH, ng/ml	8	0.59	0.74	0.30	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p<0.05$ )

La duración del app resultó estar altamente correlacionada con la frecuencia de pulsos de LH registrada el día 34 pp ( $r=-0.74$ ,  $p<0.01$ ).

La separación y el aislamiento del ternero realizados el 2º día de dominancia del FD perteneciente a la 4ª ola folicular desencadenaron la ovulación de dicho FD o del de la siguiente ola folicular en 3 de las 4 vacas del nivel alto preparto y en 1 de las vacas del nivel bajo preparto, como se muestra en la Tabla A12. Por tanto, la manipulación del ternero indujo un mayor porcentaje de ovulaciones en las vacas que llegaron al parto con mejor condición corporal, aunque estas diferencias no resultaron ser estadísticamente significativas, debido probablemente al número de animales incluidos en el análisis.

En esos momentos únicamente 1 de las 8 vacas que permanecieron con sus terneros en acceso libre había reiniciado su actividad ovárica.

**Tabla A12.** Proporción de vacas cíclicas el día 50 pp y duración del app, en función de la alimentación recibida antes del parto y del manejo del ternero.

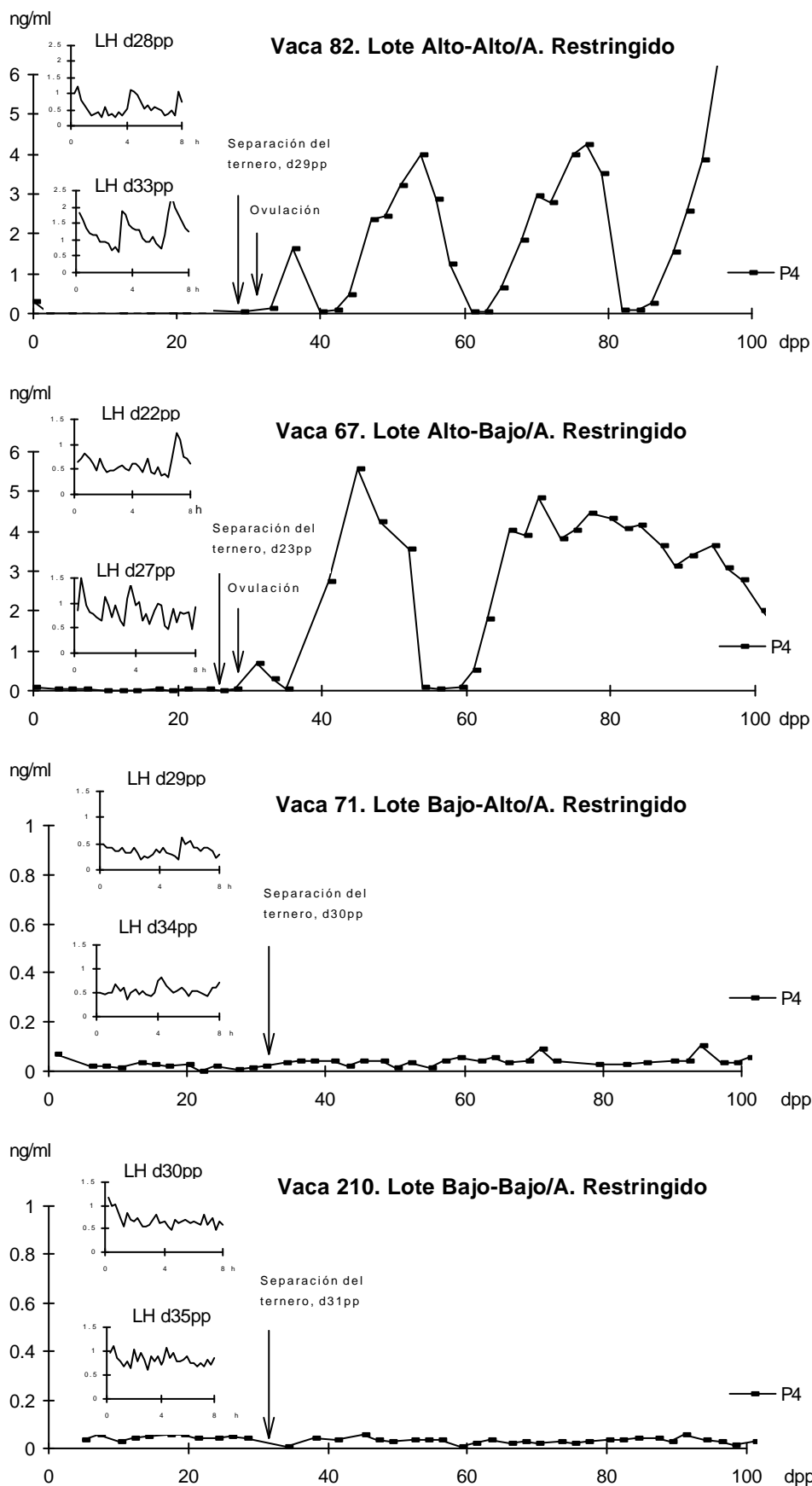
PREPARTO CRÍA	Alto		Bajo		Sign.	
	AL	AR	AL	AR	Pre	Cría
n	4	4	4	4		
Nº vacas cíclicas día 50 pp	1/4	3/4	0/4	1/4	NS	NS
app, d	85.5ab	46.5b	141.0a	116.3a	**	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

El intervalo del parto a la 1ª ovulación, como ya se vio, dependió fundamentalmente de la alimentación recibida durante el último tercio de la gestación. Sin embargo, la separación y el aislamiento del ternero redujeron en 39 y 25 días la duración del app, en las vacas que recibieron los niveles alto y bajo previos al parto, respectivamente (Tabla A12), aunque este efecto no fue estadísticamente significativo.

En la Figura A5 se representa la respuesta individual de 4 vacas pertenecientes a los lotes AA, AB, BA y BB a la restricción del acceso del ternero a la vaca realizada el 2º día de dominancia del FD perteneciente a la 4ª ola folicular.

**Figura A5.** Respuesta hormonal a la manipulación del ternero en función de la nutrición.





***ENSAYO B***

---

## **B.1. OBJETIVO**

Cuantificar el efecto del manejo del ternero sobre la duración del app en condiciones de estabulación y alimentación no restrictivas.

En el ensayo anterior, la reactivación ovárica dependió en gran medida de los niveles de alimentación preparto y postparto, observándose asimismo que la crianza tendió a afectar a la duración del app, de ahí que, en este caso, nos planteamos determinar únicamente el efecto del manejo del ternero. Las vacas se mantuvieron en estabulación libre, ya que el sistema trabado utilizado en el ensayo A pudo haber repercutido de forma negativa en el plano reproductivo, aunque esta hipótesis se discutirá más adelante.

## **B.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **B.2.1. Diseño experimental**

Para realizar este objetivo se diseñó un ensayo con 30 vacas multíparas de raza Parda Alpina con parto en otoño (fecha media de parto: 28 de Octubre), que se mantuvieron estabuladas desde el inicio de la época de partos hasta que los terneros fueron destetados (23 de Febrero).

Durante este periodo los animales permanecieron divididos en dos lotes en función del acceso del ternero a la madre (AL vs. AR a dos periodos diarios de 30 minutos para realizar la lactancia), siendo estos lotes equilibrados en fecha de parto, peso y condición corporal al parto.

Durante la lactación, las vacas recibieron una dieta calculada en función del peso y la producción lechera para cubrir el 100% de las necesidades energéticas teóricas (110 MJ EM/d) (ARC, 1980). La ración se compuso de 5 kg de heno de pradera, 6 kg de paja de cebada y 3 kg de harina de cebada por vaca y día. En la Tabla B1 se presentan la composición química y la digestibilidad de los alimentos utilizados en el ensayo.

El contenido en cenizas se estimó por incineración a 550°C durante 3 horas. La proteína bruta se determinó por el método de Kjeldahl, la fibra neutro-detergente por el método de Goering y Van Soest (1971), y la digestibilidad in vitro de la materia seca por el método de Tilley y Terry (1963).

**Tabla B1.** Características de los alimentos utilizados en la experiencia.

<b>Alimento</b>	<b>% MS</b>	<b>% MO</b>	<b>%PB</b>	<b>%FND</b>	<b>%DMOiv</b>
Heno de pradera	85.78	90.90	11.43	60.96	64.50
Paja de cebada	82.54	93.44	4.86	63.59	48.60
Harina de cebada	86.90	97.40	12.10	20.30	86.00

### **B.2.2. Controles**

#### Peso y condición corporal

Se registraron los pesos de las vacas y los terneros a lo largo de la experiencia, determinándose además la CC de las vacas, según las metodologías descritas en el apartado 3.5.1.

#### Producción de leche

Se estimó la producción de leche quincenalmente, mediante la pesada del ternero antes y después del amamantamiento.

#### Progesterona

La determinación de los niveles plasmáticos de progesterona durante la fase experimental se realizó a partir de dos muestras semanales de sangre, que fueron analizadas según la metodología ya descrita.

### **B.2.3. Análisis estadístico**

Los rendimientos de las vacas y los terneros se analizaron en función del manejo del ternero mediante análisis de varianza, utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1990). La comparación de frecuencias se realizó mediante el Test de  $\chi^2$  y el Test exacto de Fisher (procedimiento FREQ. SAS, 1990).

En los resultados se presentan las medias mínimo-cuadráticas (LSMEANS) y el error standard de la diferencia (e.s.d.).



### B.3. RESULTADOS

#### B.3.1. Rendimientos productivos de los animales

En la Tabla B2 se muestran los parámetros productivos obtenidos en función del manejo aplicado al ternero durante la crianza, y en la Figura B1 la representación de los pesos de los animales a lo largo de la fase experimental.

**Tabla B2.** Rendimientos productivos de los animales en función del manejo aplicado al ternero durante la crianza.

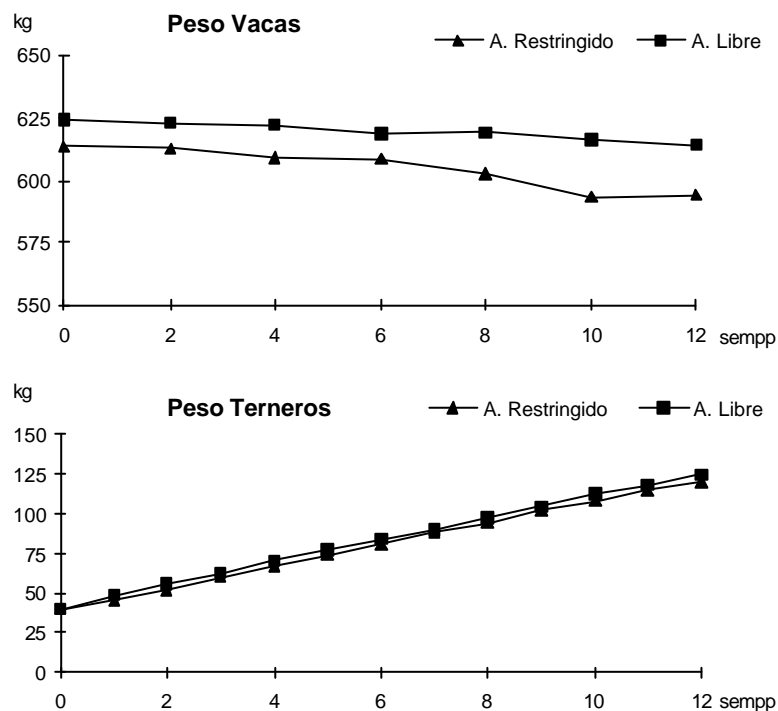
CRÍA	A. Restringido	A. Libre	e.s.d.	Sign.
n	15	15		
Fecha parto	29 Oct.	27 Oct.	5.9	NS
Duración de la lactación, d	114.8	116.9	5.9	NS
PV parto, kg	613.5	624.3	26.3	NS
PV 3 meses pp, kg	593.9	614.1	22.6	NS
PV destete, kg	589.6	610.9	21.2	NS
GMD 3 meses pp, kg	-0.267	-0.119	0.08	NS
GMD destete, kg	-0.215	-0.114	0.08	NS
CC 4 meses preparto	2.30	2.32	0.03	NS
CC parto	2.65	2.65	0.03	NS
CC 3 meses pp	2.52	2.70	0.07	*
CC destete	2.47	2.66	0.07	*
PVT nacimiento, kg	42.1	40.1	2.4	NS
PVT 3 meses pp, kg	120.1	125.5	6.0	NS
PVT destete	147.2	161.1	11.0	NS
GMDT 3 meses pp, kg	0.975	1.007	0.062	NS
GMDT destete, kg	0.917	0.997	0.047	NS
Producción leche, kg	8.8	9.4	0.4	NS

El periodo de lactación presentó una duración media de 116 días.

Los pesos de las vacas registrados en el momento del parto, tres meses después del mismo y al destete no se vieron afectados por el manejo del ternero. A lo largo de la lactación las vacas presentaron unas ligeras pérdidas de peso, que tampoco difirieron significativamente entre los lotes.

Aunque ambos lotes llegaron al parto con una CC idéntica, las reservas corporales tres meses después y en el momento del destete fueron ligeramente inferiores en el lote AR ( $p < 0.05$ ). Las vacas del lote AL mantuvieron la CC con la que llegaron al parto, mientras que las del lote AR sufrieron una ligera reducción a lo largo de la lactación (Tabla B2).

**Figura B1.** Evolución de los pesos de vacas y terneros durante los tres primeros meses de lactación en función del manejo del ternero.



Los terneros de ambos lotes tuvieron pesos similares a lo largo de la fase experimental, presentando unas ganancias diarias próximas a 1 kg.

Tampoco se observaron diferencias significativas en la producción lechera de las vacas en función del manejo del ternero aplicado durante la crianza.

### B.3.2. Rendimiento reproductivo de las vacas

La actividad ovárica postparto se inició de forma similar en ambos lotes, presentando un intervalo del parto a la primera ovulación de 39 días.

**Tabla B3.** Rendimiento reproductivo de las vacas en función del manejo del ternero.

<b>CRÍA</b>	<b>A. Restring.</b>	<b>A. Libre</b>	<b>e.s.d.</b>	<b>Sign.</b>
app, d	38.7	38.9	5.7	NS
Nº ciclos cortos	6/15	6/15	-	NS
Fertilidad#, %	93.3	86.7	-	NS

# Duración del periodo de cubriciones: 3 meses

La frecuencia de aparición de reactivaciones ováricas mediante un primer ciclo de tipo corto también fue idéntica en los lotes AL y AR, obteniéndose una fertilidad de 93 y 87%, para los lotes AR y AL, que tampoco estuvo afectada por el manejo del ternero.



***ENSAYO C***

---

## C.1. OBJETIVO

Estudiar la dinámica folicular ovárica de vacas nodrizas sometidas a diferentes manejos alimenticios antes y después del parto, determinando el efecto de la separación del ternero el día 45 pp.

Teniendo en cuenta que 56 semanas después del parto el depósito hipofisario de LH estaría recuperado (Nett, 1987), y que el efecto de la separación del ternero sobre la liberación pulsátil de LH se ejercería a corto plazo (Wright et al., 1987; Mackey et al., 1997b), en este ensayo se inició la restricción del acceso del ternero a la madre el día 45 pp, con el propósito de aplicar este manejo en el momento oportuno.

Las vacas se mantuvieron en estabulación libre, debido a las posibles repercusiones negativas de la estabulación trabada sobre la función reproductiva.

## C.2. MATERIAL Y MÉTODOS

### C.2.1. Diseño experimental

Con tales objetivos se realizó un ensayo con 48 vacas multíparas de raza Parda Alpina con parto de otoño (fecha media de parto: 14 de Noviembre), 12 de ellas procedentes de una explotación ajena a la finca experimental de la Garcipollera y que permanecieron durante la experiencia en el mismo grupo (Tabla C1).

Las vacas se mantuvieron estabuladas durante todo el verano, y no realizaron el tradicional pastoreo en puerto, con el fin de controlar sus dietas. Durante los últimos cuatro meses de gestación las vacas permanecieron divididas en dos lotes sometidos a dos niveles de alimentación (Tabla C1). A los animales del lote alto se les proporcionó una ración de 100 MJ EM/d, mientras que los del lote bajo recibieron 65 MJ EM/d.

Únicamente 17 de las 24 vacas del lote bajo concluyeron correctamente la gestación, razón por la que los grupos experimentales resultaron ser desequilibrados en nº de vacas.

**Tabla C1.** Protocolo experimental del ensayo C.

Nivel preparto, MJ EM/d (n)	100 (24)		65 (24)			
Nivel postparto, MJ EM/d (n)	175 (12)*	75 (12)	175 (9)	75 (8)		
Aislamiento del ternero > día 45 pp (n)	no (12)	no (12)	no (5)	si (4)	no (4)	si (4)

\* vacas de explotación privada

Después del parto se ofrecieron dos dietas, alta y baja, basadas en dos fórmulas de mezcla completa, cuyas composiciones se reflejan en la Tabla C2.

Las vacas de los lotes alto y bajo postparto recibieron 19 kg de la mezcla completa A y 12.5 kg de la mezcla completa B por vaca y día, respectivamente, asegurando así una cantidad similar de volumen para todos los animales.

Estas raciones aportaron 175 y 75 MJ EM/d, respectivamente, cubriendo de media el 160% y el 75% de las necesidades energéticas teóricas de las vacas, calculadas en función del peso y la producción lechera (ARC, 1980).

**Tabla C2.** Composición de las mezclas completas utilizadas en el ensayo.

Ingredientes	kg / 100 kg de mezcla		Análisis		
	A	B		A	B
Heno de alfalfa DH 18/26	25	0	% MS	87.63	88.43
Heno de alfalfa DH 17/29	0	13	MJ/ kg MS	10.52	6.94
Paja de cereales	10	60	% Proteína	12.35	7.52
Pulpa de cítricos seca	17	5	% MND	8.440	3.490
Gluten 20	14	8	% PDle	9.294	6.661
Cebada mezcla	18	0	% PDIn	8.543	5.078
Palmiste	7	5	% FB	16.739	31.631
Melaza de caña	8	8	% FAD	22.578	40.582
Baymix granulado	1	1	% FND	35.373	51.875
			% Grasa	2.294	2.036
			% Calcio	1.082	0.732
			% Fósforo	0.440	0.288
			% Magnesio	0.312	0.305

Análisis realizado por Química Farmacéutica Bayer S.A.

Transcurridos 45 días después del parto, se restringió el acceso de los terneros a sus madres a media hora diaria de lactación en la mitad de los animales de los lotes sometidos a la dieta baja preparto, ya que los que recibieron el nivel alto preparto ya habían reiniciado su actividad ovárica. El resto de los terneros continuaron de forma permanente con las madres (Tabla C1).

Las vacas se mantuvieron en experiencia hasta que los terneros fueron destetados (fecha destete: 16 de Marzo) y/o hasta la detección de la 2<sup>a</sup> ovulación.

## C.2.2. Controles

### Peso y condición corporal

Se controlaron los pesos de las vacas y los terneros a lo largo del ensayo, así como el estado corporal de las vacas, según la metodología descrita en el apartado 3.5.1.

### Producción de leche

Se determinó la producción y la composición de leche los días 10 y 40 pp, mediante ordeño mecánico.

### Observación ecográfica de los ovarios

Las ecografías se realizaron en 4 animales de cada uno de los grupos AA, AB, BA y BB, iniciándose 7 días después del parto y prolongándose hasta la detección de la segunda ovulación o, en su caso, hasta el día 100 pp. Posteriormente, las vacas que no habían ovulado se controlaron mediante ecografía tres veces por semana, hasta que se detectó la segunda ovulación.

### Progesterona

Los niveles plasmáticos de progesterona se determinaron a partir de 3 muestras semanales de sangre, analizadas según la metodología general descrita.

## **C.2.3. Análisis estadístico**

Se analizó el efecto de la alimentación sobre los parámetros productivos y reproductivos de los animales, mediante el procedimiento GLM (SAS, 1990). El modelo consideró los niveles preparto y postparto y la interacción preparto\*postparto como efectos fijos.

La influencia del manejo del ternero a partir del día 45 pp se analizó únicamente sobre los rendimientos productivos y las características reproductivas de los grupos de vacas sometidos al nivel bajo preparto. En este caso, se testó el efecto del manejo del ternero, del nivel de alimentación postparto y su interacción, mediante el procedimiento GLM.

Para estimar la evolución folicular de los 7 primeros días postparto se realizó una ecuación de predicción mediante el procedimiento MIXED (SAS, 1990) con los datos registrados de la primera ola folicular observada en cada vaca.

Se analizó el efecto del número de ola folicular sobre las características de la misma mediante el procedimiento MIXED, con medidas repetidas dentro del mismo animal. Para ello, las olas se dividieron en categorías, denominadas en relación a la 1ª ola ovulatoria (*ola 1*) (adaptación de la metodología descrita por Stagg et al., 1995), como muestra la Tabla C9. Se incluyeron como efectos fijos los niveles de alimentación preparto y postparto, su interacción y el número de ola. El efecto del manejo del ternero, incluido inicialmente, se eliminó del modelo por no ser significativo.



La comparación de frecuencias se realizó mediante el Test exacto de Fisher (procedimiento FREQ. SAS, 1990). La relación entre las variables se analizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson (procedimiento CORR. SAS, 1990).

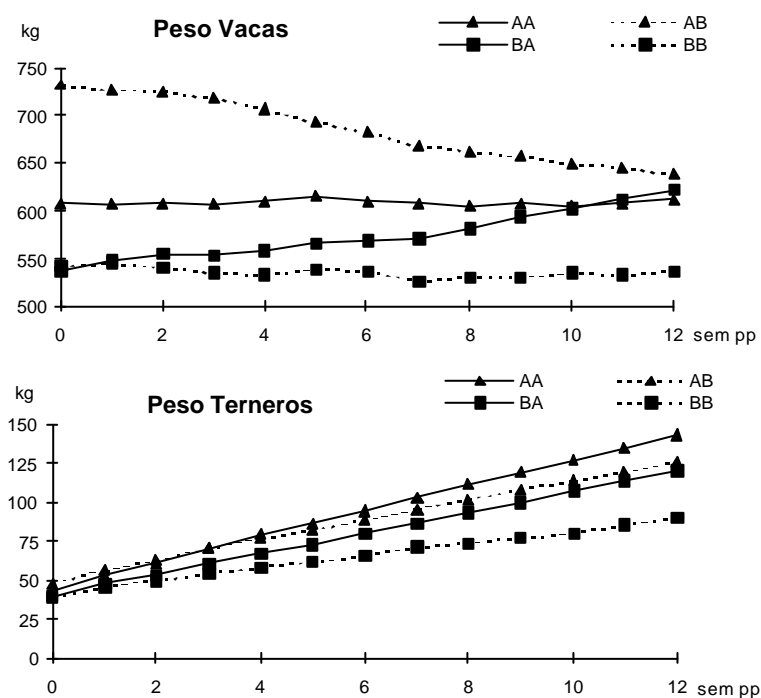
En los resultados se expresan las medias mínimo-cuadráticas (LSMEANS), su separación con una probabilidad de error inferior al 5% y el error standard de la diferencia (e.s.d.).

### C.3. RESULTADOS

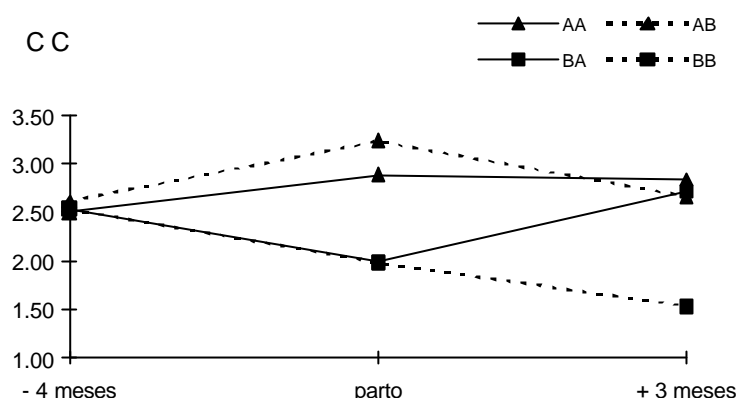
#### C.3.1. Rendimientos productivos de los animales

En la Figura C1 se muestra la evolución gráfica de los pesos de los animales en los primeros meses de lactación, y en la Figura C2 la variación del estado corporal de las vacas, quedando reflejados los rendimientos productivos de los animales en la Tabla C3.

**Figura C1.** Pesos de las vacas y los terneros durante los tres primeros meses de lactación.



Las vacas procedentes de fuera de la explotación integraron el grupo AA, desarrollándose sus partos alrededor de un mes antes que el resto de los grupos (Tabla C3), de ahí que presentaran una lactación más prolongada.

**Figura C2.** Evolución de la condición corporal de las vacas antes y después del parto.**Tabla C3.** Rendimientos productivos de los animales en función de la alimentación.

PREPARTO	Alto		Bajo			Sign.		
POSTPARTO	Alto	Bajo	Alto	Bajo	e.s.d.	Pre	Post	Pre*Post
n	12	12	9	8				
Fecha parto	19 Oct. b	26 Nov. a	21 Nov. a	22 Nov. a	16.3	NS	*	*
Duración lactación, d	145.6 b	107.8 a	112.7 a	111.9 a	16.31	NS	*	*
PV parto, kg	608.1 b	732.8 a	537.1 c	542.2 c	30.7	***	***	***
PV 3 meses pp, kg	611.7 a	638.2 a	622.0 a	537.3 b	23.2	***	*	***
PV destete, kg	619.5 a	616.7 a	640.0 a	537.6 b	25.1	*	***	***
GMD 3 meses pp, kg	0.003 b	-1.125 c	0.944 a	-0.123 b	0.265	***	***	NS
GMD destete, kg	0.064 b	-1.143 c	0.920 a	-0.051 b	0.182	***	***	NS
CC 4 meses preparto	2.48 b	2.61 a	2.54 ab	2.54 ab	0.06	NS	NS	NS
CC parto	2.95 b	3.24 a	1.98 c	1.98 c	0.11	***	**	**
CC 3 meses pp	2.90 a	2.70 b	2.70 b	1.53 c	0.11	***	***	***
CC destete	2.87 a	2.67 b	2.72 ab	1.53 c	0.11	***	***	***
PVT nacimiento, kg	43.2 ab	48.2 a	41.2 b	39.8 b	4.1	*	NS	NS
PVT 3 meses pp, kg	143.2 a	126.1 b	121.1 b	89.9 c	9.8	***	**	NS
PVT destete, kg	208.1 a	146.4 b	143.5 b	104.3 c	20.9	***	***	NS
GMDT 3 meses pp, kg	1.179 a	0.916 b	0.949 b	0.572 c	0.098	***	***	NS
GMDT destete, kg	1.128 a	0.899 b	0.918 b	0.557 c	0.089	***	***	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

El nivel de alimentación ofertado durante la gestación afectó significativamente al peso de las vacas al parto (Tabla C3). A su vez, los lotes de nivel alto preparto difirieron en el peso al parto, debido posiblemente al inferior estado de engrasamiento inicial de las vacas del grupo AA y a su menor formato.

Las ganancias de peso de las vacas durante la lactación vinieron determinadas por los dos niveles de alimentación, preparto y postparto. Así, los grupos AA y BB mantuvieron sus pesos, y el grupo AB perdió más de un kilo de peso al día, al contrario que el grupo BA, que presentó ganancias próximas al kilo diario (Tabla C3 y Figura C1).

Inicialmente todas las vacas presentaron estados corporales próximos a 2.5 (Figura C2). Durante los últimos cuatro meses de gestación los animales sometidos al nivel alto preparto ganaron alrededor de medio punto de condición corporal, mientras que los del nivel bajo lo perdieron. El lote AB superó en tres décimas la CC al parto del lote AA (Tabla C3), consecuencia quizá de su mayor estado corporal cuatro meses antes del parto. El nivel de alimentación bajo postparto se tradujo en una reducción de aproximadamente 0.5 puntos en la CC de las vacas a lo largo de la lactación. Al contrario, el nivel alto postparto permitió a las vacas del grupo AA que mantuvieran su estado corporal, y a las del grupo BA que lo aumentaran en 7 décimas.

El nivel de alimentación ofrecido a las vacas durante la gestación afectó al peso de los terneros al nacimiento ( $p < 0.05$ ) (Tabla C3), siendo más pesados los terneros del grupo AB, seguidos de los grupos AA, BA y BB, en una progresión similar a la del peso de sus madres al parto ( $r = 0.54$ ,  $p < 0.001$ ).

Las ganancias de los terneros durante la lactación estuvieron limitadas por los niveles de alimentación preparto y postparto proporcionados a sus madres (Tabla C3 y Figura C1).

Del mismo modo, el peso de los terneros al destete dependió de forma significativa de la alimentación que recibieron las vacas tanto antes como después del parto. Los mayores pesos al destete correspondieron a los terneros del lote AA ( $p < 0.05$ ), debido a las superiores ganancias que presentaron durante la lactación, así como a que se mantuvieron en lactación aproximadamente un mes más que el resto de los terneros. Los lotes AB y BA mostraron pesos similares en el momento del destete, que a su vez, fueron superiores a los del lote BB (Tabla C3).

En la tabla siguiente se relacionan los rendimientos productivos de las vacas subnutridas durante los últimos 4 meses de gestación, en función del manejo aplicado al ternero a partir del día 45 pp y del nivel de alimentación recibido durante la lactación.

**Tabla C4.** Rendimientos productivos de los animales sometidos al nivel bajo preparto, en función del manejo del ternero y de la alimentación postparto.

POSTPARTO CRÍA > día 45 pp	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.						
	Libre	Restring.	Libre	Restring.		Post	Cría	P*C				
n	5	4	4	4								
Fecha parto, d	332.4	ab	318.8	ab	302.3	b	352.0	a	26.8	NS	NS	*
PV parto, kg	545.4		526.8		562.5		522.0		44.8	NS	NS	NS
PV 3 meses pp, kg	642.8	a	636.5	a	560.5	b	514.8	b	37.3	***	NS	NS
GMD 3 meses pp, kg	0.926	a	0.965	a	-0.175	b	-0.072	b	0.26	***	NS	NS
CC parto	2.05		1.91		1.90		2.06		0.15	NS	NS	NS
CC 3 meses pp	2.71	a	2.73	a	1.56	b	1.5	b	0.14	***	NS	NS
PVT nacimiento, kg	43.4		38.5		41.1		38.4		5.4	NS	NS	NS
PVT 3 meses pp, kg	118.8	a	124.0	a	90.0	b	89.9	b	13.8	***	NS	NS
GMDT 3 meses pp, kg	0.909	a	0.998	a	0.564	b	0.581	b	0.13	***	NS	NS

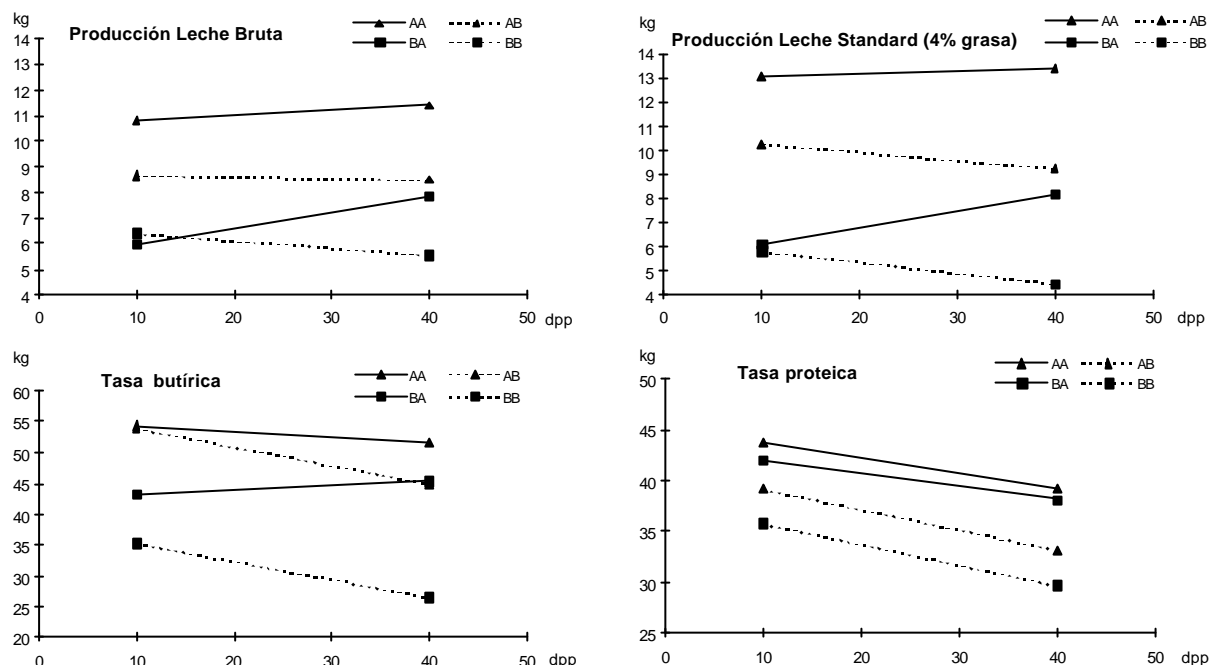
Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Los cuatro lotes de vacas fueron equilibrados en el peso y la condición corporal al parto (Tabla C4). Posteriormente, la influencia de los niveles energéticos postparto sobre los rendimientos productivos analizados fue idéntica a la señalada para el conjunto de los animales.

Este análisis destacó la ausencia de efecto de la separación del ternero practicada el día 45 pp sobre los parámetros productivos registrados en el ensayo.

En la siguiente figura se representan gráficamente los controles lecheros realizados los días 10 y 40 pp, y en la Tabla C5 los valores medios de la producción y la composición de la leche en función de los niveles alimenticios.

**Figura C3.** Evolución de la producción y la composición lechera durante la fase experimental, en función de los niveles de alimentación recibidos antes y después del parto.



La producción y la composición de leche estuvieron afectadas tanto por las reservas corporales acumuladas a lo largo de la gestación como por la alimentación recibida durante la lactación. Las vacas del grupo AA presentaron las mayores producciones de leche, grasa y proteína, seguidas, de mayor a menor, por las producciones de los grupos AB, BA y BB.

**Tabla C5.** Producción y composición de la leche durante la lactación.

PREPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Pre*Post
PLB, kg/d	11.04	a	8.62	b	1.30	***	*	NS
PLS, kg/d	13.18	a	9.88	b	1.41	***	**	NS
Grasa, g/kg	53.3	a	50.5	ab	5.6	***	*	NS
Proteína, g/kg	42.1	a	36.9	b	1.5	**	***	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

La PLS se relacionó positivamente con la CC de las vacas al parto ( $r=0.58$ ,  $p<0.001$ ) y con la CC a los 3 meses del parto ( $r=0.54$ ,  $p<0.001$ ). Comportamientos similares tuvieron el porcentaje de grasa y proteína.

Los pesos de los terneros tres meses después del parto estuvieron altamente correlacionados con la PLB ( $r=0.64$ ,  $p<0.001$ ), la PLS ( $r=0.71$ ,  $p<0.001$ ), así como con las tasas de grasa ( $r=0.45$ ,  $p<0.01$ ) y proteína ( $r=0.59$ ,  $p<0.001$ ) producidas por las vacas.

### C.3.2. Dinámica folicular

#### C.3.2.1. Características de la primera ola folicular postparto

Las características de la 1ª ola folicular detectada en los animales controlados mediante ecografía quedan reflejadas en la Tabla C6.

**Tabla C6.** Efecto de la alimentación sobre la 1ª ola folicular detectada en el postparto.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.						
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Pre*Post				
n	4	4	4	4								
CC parto	2.85	b	3.23	a	1.94	c	2.00	c	0.18	***	*	NS
Día pp emergencia 1ª ola	5.20	ab	4.00	b	4.25	b	7.50	a	1.31	NS	NS	*
Ø emergencia FD 1ª ola, mm	4.25	a	4.00	a	4.25	a	3.90	b	0.34	NS	NS	NS
Día Ø máximo FD 1ª ola	15.00	ab	11.66	b	13.00	b	17.25	a	2.48	NS	NS	*
Ø máximo FD 1ª ola, mm	14.13	a	12.17	ab	11.88	ab	8.25	b	2.62	*	NS	NS
Velocidad crecimiento FD 1ª ola, mm/d	1.03	a	1.03	a	0.86	a	0.53	b	0.20	**	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p<0.05$ )

La primera ola folicular emergió en torno a los días 4-5 pp, excepto en el lote BB, en el que se detectó una semana después del parto. El tamaño del FD en emergencia fue de, aproximadamente, 4 mm, alcanzando su máximo diámetro entre los días 12 y 17 pp (Tabla C6). El nivel de alimentación preparto afectó de forma significativa a este diámetro máximo del primer FD, que fue mayor en las vacas del lote AA, y se redujo progresivamente en los lotes AB, BA y BB.

De igual modo, la tasa de crecimiento del primer FD detectado también se vio afectada por el nivel de alimentación preparto ( $p<0.01$ ), presentando un rango de 1 a 0.5 mm/d.

### C.3.2.2. Reinicio de la actividad ovárica postparto

Las características de la reactivación ovárica postparto en función de la nutrición de las vacas se exponen en la tabla siguiente:

**Tabla C7.** Influencia de la alimentación sobre las características de la reactivación ovárica postparto.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Pre*Post
n	4	4	4	4				
Nº olas a 1ª ovulación	0.50 c	1.25 c	3.75 b	15.25 a	0.88	***	***	***
Días a 1ª ovulación	18.75 c	26.00 c	55.50 b	192.25 a	9.48	***	***	***
Nº ciclos cortos	4/4 a	2/4 b	3/4 a	0/4 b	-	NS	*	-
Intervalo 1ª -2ª ovulación, d	12.00 b	13.00 b	12.50 b	20.80 a	4.36	NS	0.055	NS
Ø 1º Cuerpo lúteo	20.38 a	20.00 a	20.10 a	16.00 b	2.40	*	*	*
Ø 2º Cuerpo lúteo	22.25 a	21.30 a	23.00 a	15.63 b	2.44	*	*	*

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Los dos niveles de alimentación, junto a su interacción, determinaron la aparición de la 1ª ovulación después del parto, así como el número de olas foliculares registradas en el periodo anovulatorio (Tabla C7), en los 16 animales controlados mediante ecográfica durante el ensayo.

Los animales del lote AA presentaron el menor intervalo a la 1ª ovulación (Tabla C7), que no fue significativamente distinto del intervalo del lote AB, procediendo algunas de estas ovulaciones de la primera ola folicular postparto.

El lote BA reinició su actividad ovárica a los 56 días del parto, con una media de 3.75 olas foliculares previas a la primera ovulación, y el app más prolongado correspondió al lote BB, que precisó más de 6 meses para reiniciar su actividad ovárica, sucediéndose de media 15 olas foliculares antes de la primera ovulación (Tabla C7).

Las reactivaciones ováricas con un ciclo de tipo corto fueron más frecuentes en las vacas que más pronto se reactivaron y en los lotes de animales sometidos al nivel alto postparto ( $p < 0.05$ ). En el lote AA las 4 vacas presentaron una reactivación con ciclo corto, al contrario del lote BB, que no presentó ninguna (Tabla C7).

El intervalo de la 1ª a la 2ª ovulación tuvo, evidentemente, un comportamiento similar a la frecuencia de aparición de ciclos cortos, de forma que las vacas del lote BB fueron las únicas que presentaron, de media, una reactivación con ciclo normal (21 días entre las dos 1ªs ovulaciones).

Los dos niveles de alimentación impuestos, así como su interacción, afectaron al tamaño de los dos primeros cuerpos lúteos detectados después del parto ( $p < 0.05$ ) (Tabla C7). Los cuerpos lúteos procedentes de la 1ª ovulación presentaron un diámetro medio de 20 mm, siendo inferiores a los segundos cuerpos lúteos, a excepción del lote BB, en el que ambos cuerpos lúteos presentaron un tamaño de 16 mm.

En la tabla siguiente se muestran los parámetros caracterizadores del reinicio de la ciclicidad de las vacas subnutridas antes del parto, en función del manejo del ternero y de la dieta recibida durante la lactación.

**Tabla C8.** Efecto de la separación del ternero a partir del día 45 pp y de la alimentación postparto sobre la reanudación de la ciclicidad ovárica, en vacas sometidas a un nivel restrictivo durante la gestación.

POSTPARTO CRÍA > día 45 pp	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Libre	Restring.	Libre	Restring.		Post	Cría	P*C
n	2	2	2	2				
Nº olas a 1ª ovulación	4.00 b	3.50 b	14.50 a	14.00 a	1.22	***	NS	NS
Días a 1ª ovulación	50.50 b	60.50 b	196.50 a	188.00 a	15.55	***	NS	NS
Nº ciclos cortos	1/2	2/2	0/2	0/2	-	0.07	NS	-
Intervalo 1ª -2ª ovulación, d	15.50	9.50	21.00	20.50	6.06	0.05	NS	NS
Ø 1º Cuerpo lúteo	19.50 a	20.30 a	16.00 b	16.20 b	2.37	*	NS	NS
Ø 2º Cuerpo lúteo	23.55 a	22.50 a	15.10 b	16.30 b	2.70	**	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Reiterando los resultados anteriores, el nivel de alimentación postparto fue el efecto más importante de este modelo.

La separación tardía del ternero realizada en este ensayo no influyó en ninguna de las características de la reactivación ovárica analizadas en animales que llegaron al parto con una condición corporal extremadamente baja.



### C.3.2.3. Características de las olas foliculares en el periodo postparto

Para detectar posibles diferencias entre las olas foliculares, previamente divididas en categorías y numeradas en relación a la 1ª ola ovulatoria, se realizaron diversos modelos, y en ninguno de ellos destacó el manejo del ternero como efecto significativo en las condiciones de esta experiencia.

Las características de las olas foliculares se expresan en función de los niveles de alimentación en la Tabla C9 y del número de ola en la Tabla C10.

Del análisis de todas las olas foliculares se desprende que la cohorte de folículos estuvo formada por 6-7 folículos en emergencia, con un rango de tamaño de 4 a 5.4 mm, independientemente de los niveles energéticos preparto o postparto o del número de ola folicular.

El diámetro máximo del FD fue superior en los animales sometidos al nivel alto postparto ( $p < 0.001$ ), observándose también un efecto positivo del nivel alto preparto (Tabla C9). Además, este diámetro aumentó progresivamente en relación al número de ola ( $p < 0.001$ ), desde 11 mm en la categoría *resto* hasta 19 mm en la segunda ola ovulatoria (Tabla C10).

Tanto el nivel preparto como el postparto afectaron de forma significativa a la tasa de crecimiento de los FD (1.24 vs. 1.04 mm/d, para los lotes Alto y Bajo preparto,  $p < 0.05$ ; 1.26 vs. 1.03 mm/d, para los lotes Alto y Bajo postparto,  $p < 0.01$ ), que también fue mayor a medida que se aproximaban las olas ovulatorias, variando de 0.8 a 1.7 mm/d ( $p < 0.001$ ) (Tabla C10).

No se observaron diferencias significativas en la duración de la dominancia de los FD ovulatorios, ni en la duración de la atresia de los FD no ovulatorios, en función de la alimentación o del número de ola (Tabla C9).

En este análisis también se observó un incremento progresivo de la velocidad de regresión de los FD no ovulatorios ( $p < 0.01$ ), así como de la duración de las olas foliculares ( $p = 0.05$ ) con el número de ola (Tabla C10).

**Tabla C9.** Efecto de la alimentación y del número de ola sobre las propiedades de las olas foliculares.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		Sign.			Nº ola
	Alto	Bajo	Alto	Bajo	Pre	Post	Pre*Post	
n	4	4	4	4				
Nº folículos en emergencia	7.26	6.25	6.64	6.80	NS	NS	NS	NS
Ø en emergencia FD, mm	4.22	5.11	5.39	4.25	NS	NS	NS	NS
Ø máximo FD, mm	15.32	14.62	16.99	12.35	NS	***	**	***
Días de dominancia FD ovulatorios	5.13	5.09	5.00	4.13	NS	NS	NS	NS
Días de atresia FD no ovulatorios	7.73	8.88	9.92	7.42	NS	NS	NS	NS
Velocidad crecimiento FD, mm/d	1.29	1.19	1.22	0.86	*	**	NS	***
Velocidad atresia FD no ovulatorios, mm/d	0.79	0.64	0.95	0.71	NS	NS	NS	**
Duración ola, d	8.83	10.67	11.96	10.94	NS	NS	NS	0.05

**Tabla C10.** Caracterización de las olas foliculares ovulatorias y no ovulatorias.

NÚMERO DE OLA	No ovulatorias			Ovulatorias	
	Resto (-3)-(-15)	Penúltima (-2)	Ultima (-1)	Primera (1)	Segunda (2)
n	75	9	13	16	16
Nº folículos en emergencia	6.86	7.18	6.89	6.75	6.00
Ø en emergencia FD, mm	4.09	4.61	4.69	5.00	5.34
Ø máximo FD, mm	10.75	13.60	13.75	17.19	18.80
Días de dominancia FD ovulatorios	-	-	-	5.06	4.63
Días de atresia FD no ovulatorios	7.57	9.13	8.76	-	-
Velocidad crecimiento FD, mm/d	0.81	0.98	0.94	1.29	1.67
Velocidad atresia FD no ovulatorios, mm/d	0.56	0.79	0.97	-	-
Duración ola, d	9.62	9.95	10.81	11.75	-

### C.3.3. Duración del anestro postparto

De acuerdo con los resultados anteriores, el reinicio de la ciclicidad del conjunto de vacas del ensayo lo determinaron los niveles de alimentación preparto y postparto y la interacción de ambos, como queda reflejado en la Tabla C11.

**Tabla C11.** Duración del app en función de los niveles de alimentación.

PREPARTO POSTPARTO	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Alto	Bajo	Alto	Bajo		Pre	Post	Pre*Post
n	12	12	9	8				
app, d	27.4 a	33.7 a	69.4 b	194.4 c	10.8	***	***	***

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Las vacas que recibieron el nivel alto preparto presentaron las reactivaciones ováricas más tempranas, no observándose un efecto significativo de la alimentación postparto sobre la duración del app en estos animales (Tabla C11).

En el caso de las vacas que fueron subnutridas durante la gestación, el nivel alto postparto acortó muy significativamente la duración del app en relación al de las vacas sometidas al nivel bajo postparto, cuyo anestro se prolongó hasta el día 194 después del parto.

La relación de la duración de app con la CC al parto fue, evidentemente, muy elevada ( $r = -0.71$ ,  $p < 0.001$ ), como también lo fue con la CC a los 3 meses del parto ( $r = -0.92$ ,  $p < 0.001$ ).

En la Tabla C12 se presenta la reactivación ovárica de las vacas del nivel bajo preparto, en función del manejo del ternero y de la alimentación recibida durante la lactación.

**Tabla C12.** Efecto de la restricción del acceso del ternero a la madre el día 45 pp y de la nutrición postparto sobre la duración del app, en vacas subnutridas durante los últimos cuatro meses de gestación.

POSTPARTO CRÍA > día 45 pp	Alto		Bajo		e.s.d.	Sign.		
	Libre	Restring.	Libre	Restring.		Post	Cría	P*C
n	5	4	4	4				
app, d	63.0 b	77.5 b	208.8 a	180.0 a	20.3	***	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Este análisis reiteró la influencia del nivel de alimentación postparto sobre la reanudación de la ciclicidad ovárica, en vacas sometidas a un nivel restrictivo durante la gestación.

Los elevados niveles de alimentación utilizados durante la lactación permitieron reactivaciones ováricas relativamente tempranas, teniendo en cuenta que estos animales llegaron al parto con condiciones corporales muy bajas, y permanecieron con sus terneros de forma continua, al menos, durante los 45 primeros días postparto.

De nuevo, este modelo destacó el hecho de que la separación tardía del ternero (día 45 pp) practicada en las condiciones nutritivas de este ensayo no tuvo repercusiones sobre la duración del app de las vacas.



***ENSAYO D***

---

## **D.1. OBJETIVO**

Establecer las diferencias en la dinámica folicular y la reactivación ovárica de dos razas de vacas nodrizas en función del manejo aplicado al ternero.

Diversas comparaciones realizadas entre las razas Parda Alpina y Pirenaica han puesto de manifiesto la existencia de diferencias raciales, que han presentado una repetibilidad a nivel productivo, no así a nivel reproductivo.

## **D.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **D.2.1. Diseño experimental**

Para llevar a cabo este objetivo se utilizaron 12 vacas de raza Parda Alpina y 11 de raza Pirenaica, todas ellas multíparas, con parto en primavera (fecha media de parto: 9 de Abril), que permanecieron en estabulación libre durante todo el ensayo.

Inmediatamente después del parto, las vacas se distribuyeron de forma aleatoria en cuatro lotes experimentales, en función de la raza (Parda vs. Pirenaica) y del acceso del ternero a la vaca (libre o restringido a un periodo diario de 30 minutos) durante la lactación, siendo los cuatro lotes equilibrados en fecha de parto, peso y condición corporal al parto.

Durante el periodo postparto, se ofreció a las vacas una ración calculada en función del peso y la producción lechera (ARC, 1980) para cubrir el 110% de sus necesidades energéticas teóricas. Las vacas de raza Parda Alpina recibieron 13.5 kg al día de una mezcla completa (125 MJ EM/d), y la ración de las Pirenaicas fue de 12.5 kg diarios (115 MJ EM/d). Se utilizó la mezcla completa A utilizada en el ensayo anterior, cuya composición queda reflejada en la Tabla C2.

### **D.2.2. Controles**

#### Peso y condición corporal

Se registraron los pesos de los animales y la CC de las vacas a lo largo de la lactación, según la metodología general descrita.

#### Producción de leche

La producción lechera se determinó a la semana del parto y posteriormente cada quince días (6 ordeños) mediante ordeño mecánico.

### Observación ecográfica de los ovarios

Se realizaron observaciones diarias de los ovarios en 3 animales de cada uno de los lotes del ensayo. Los controles comenzaron el día 7 pp y finalizaron después de la detección de la segunda ovulación.

### Progesterona

Se realizaron 3 extracciones semanales de sangre, para determinar los niveles plasmáticos de progesterona, según la metodología señalada en el apartado 3.5.2.

### **D.2.3. Análisis estadístico**

Para determinar el efecto de la raza y del manejo del ternero sobre los rendimientos productivos de los animales y sobre los parámetros reproductivos de las vacas se utilizó el procedimiento GLM (SAS, 1990), incluyendo en el modelo la raza, el manejo del ternero y su interacción como efectos fijos.

Se analizó el efecto del número de ola folicular sobre las propiedades de la misma mediante el procedimiento MIXED (SAS, 1990), con medidas repetidas dentro del mismo animal. Las olas foliculares se dividieron en categorías (Tabla D5), denominadas en relación a la primera ola ovulatoria (*ola 1*) (adaptación de la metodología descrita por Stagg et al., 1995).

El primer modelo testó el efecto de la raza, del manejo del ternero, su interacción y el número de ola, incluyéndose en un segundo modelo el único efecto significativo del modelo anterior, el número de ola. Se realizaron entonces dos modelos de la evolución del diámetro máximo del FD y de su velocidad de crecimiento en función del número de ola, mediante el procedimiento MIXED con medidas repetidas dentro de la misma vaca.

Las diferencias entre proporciones se analizaron mediante el Test exacto de Fisher (procedimiento FREQ. SAS, 1990). Para calcular la relación entre las variables se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson (procedimiento CORR).

Los resultados se expresan como las medias mínimo-cuadráticas (LSMEANS) y el error standard de la diferencia (e.s.d.). La separación de las medias mínimo-cuadráticas se realizó con una probabilidad de error inferior al 5%.



### D.3. RESULTADOS

#### D.3.1. Rendimientos productivos de los animales

No se observaron diferencias significativas entre lotes en la condición corporal o el peso de las vacas al parto (Tabla D1).

Los pesos de las vacas tres meses después del parto tampoco difirieron significativamente. Sin embargo, durante este trimestre las vacas de raza Parda Alpina presentaron una ligera pérdida de peso, al contrario que las Pirenaicas (-0.151 vs. +0.274 kg/d, respectivamente,  $p < 0.001$ ), reflejándose en el menor estado corporal de las vacas de raza Parda a los tres meses del parto (2.57 vs. 2.81, para las razas Parda y Pirenaica, respectivamente,  $p < 0.05$ ).

Los pesos de los terneros al nacimiento fueron similares para ambas razas, aunque posteriormente las ganancias de los Pardos fueron superiores a las de los Pirenaicos (0.945 vs 0.735 kg/d, respectivamente,  $p < 0.05$ ), alcanzándose también mayores pesos a los tres meses del parto en la raza Parda.

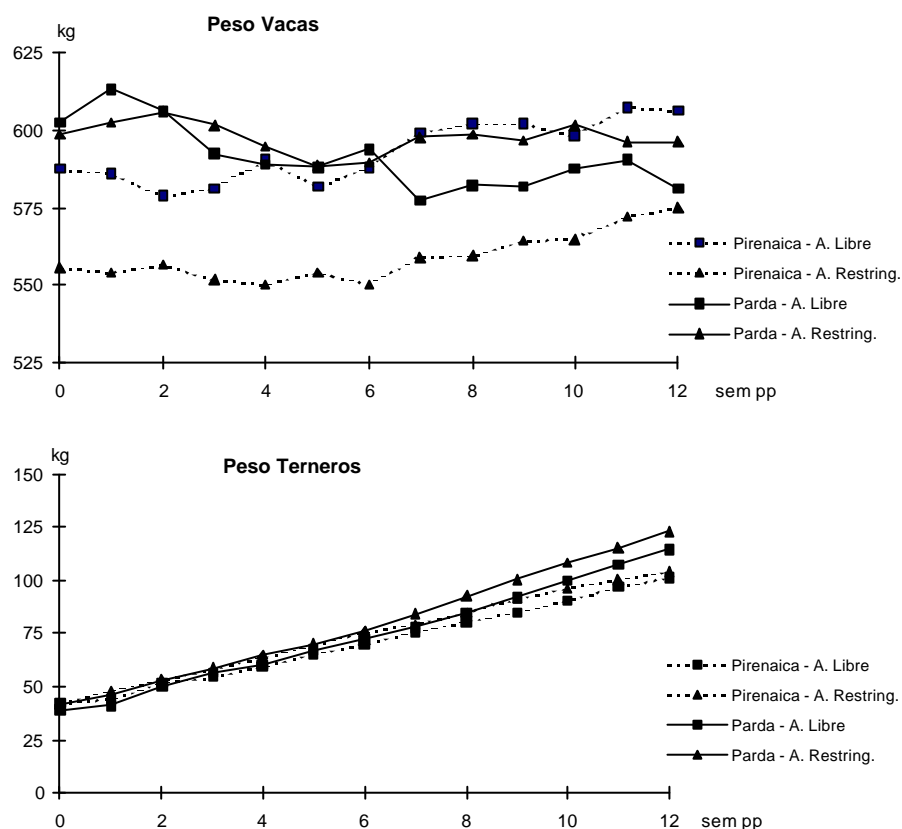
**Tabla D1.** Rendimientos productivos de los animales en función de la raza y del acceso del ternero a la vaca durante la crianza.

RAZA CRÍA	Parda		Pirenaica				e.s.d.	Sign.				
	A. Restring.	A. Libre	A. Restring.	A. Libre					Raza	Cría	R * C	
n	6	6	6	5								
Fecha parto	22 Abr.	17 Abr.	4 Abr.	23 Mar.			24.5	NS	NS	NS		
PV parto, kg	598.3	602.3	555.3	587.6			42.9	NS	NS	NS		
PV 3 meses pp, kg	596.2	581.0	574.7	606.4			40.9	NS	NS	NS		
GMD 3 meses pp, kg	-0.048	bc	-0.253	c	0.234	ab	0.314	a	0.217	***	NS	NS
CC parto	2.53	2.43	2.53	2.54			0.08	NS	NS	NS		
CC 3 meses pp	2.64	bc	2.49	c	2.78	ab	2.83	a	0.13	**	NS	NS
PVT nacimiento, kg	41.5	39	42.1	42.6			5.8	NS	NS	NS		
PVT 3 meses pp, kg	123.1	a	114.8	ab	104.0	b	101.1	b	12.7	*	NS	NS
GMDT 3 meses pp, kg	0.984	a	0.905	ab	0.750	b	0.719	b	0.148	*	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

La variación de los pesos de los animales durante los tres primeros meses de lactación se representan en la siguiente figura:

**Figura D1.** Evolución de los pesos de vacas y terneros en función de la raza y del manejo del ternero.



En la Tabla D2 se presentan los rendimientos lecheros de las vacas.

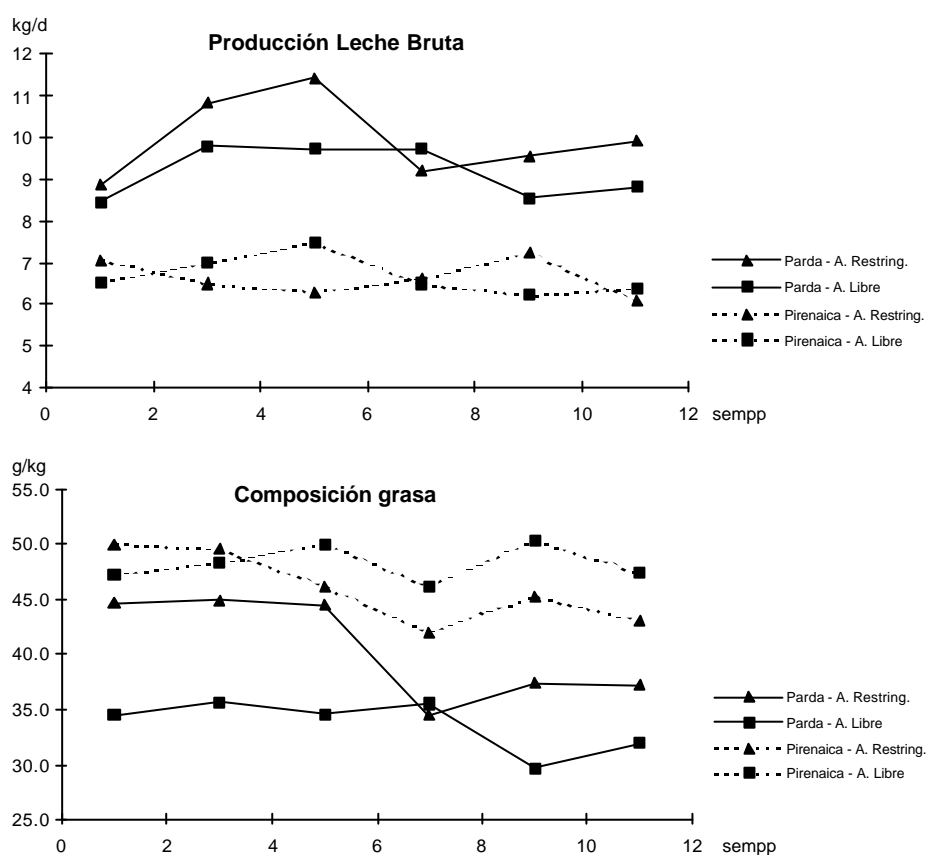
**Tabla D2.** Producción y composición medias de la leche registradas durante la lactación en función de la raza y del manejo del ternero.

RAZA	Parda		Pirenaica		e.s.d.	Sign.						
	A. Restring.	A. Libre	A. Restring.	A. Libre		Raza	Cría	R * C				
PLB, kg/d	9.86	a	9.08	a	6.60	b	6.62	b	1.40	***	NS	NS
PLS, kg/d	10.09	a	8.17	ab	7.39	b	7.49	b	1.69	0.06	NS	NS
Grasa, g/kg	40.3	ab	33.3	b	46.1	a	47.8	a	5.78	**	NS	NS
Proteína, g/kg	35.1	b	37.9	ab	38.9	a	37.8	ab	2.19	NS	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

La evolución de la producción lechera y su composición grasa registradas a lo largo de la lactación quedan reflejadas en la siguiente figura:

**Figura D2.** Producción lechera de las vacas y contenido graso de la leche en función de la raza y del manejo aplicado al ternero durante la crianza.



Las vacas de raza Parda Alpina produjeron en torno a tres kilos más de leche al día que las Pirenaicas (Tabla D2). Sin embargo, la raza Pirenaica presentó un mayor porcentaje de grasa, siendo la tasa proteica similar para ambas razas.

Los pesos de los terneros tres meses después del parto se correlacionaron positivamente con la PLB de sus madres ( $r=0.53$ ,  $p<0.01$ ), explicando así los mayores crecimientos de los terneros Pardos frente a los Pirenaicos.

El manejo aplicado al ternero a partir del día siguiente al parto no influyó en ninguno de los rendimientos productivos de las vacas o los terneros (Tablas D1 y D2).

### D.3.2. Dinámica folicular

#### D.3.2.1. Reinicio de la actividad ovárica postparto

En la Tabla D3 se relacionan los efectos de la raza y del manejo del ternero sobre las características de la reactivación ovárica postparto de las vacas controladas mediante ecografía a lo largo de este ensayo.

**Tabla D3.** Características del reinicio de la ciclicidad ovárica postparto en función de la raza y del manejo del ternero.

RAZA CRÍA	PARDA		PIRENAICA		e.s.d.	Sign.		
	A. Restr.	A. Libre	A. Restr.	A. Libre		Raza	Cría	R*C
n	3	3	3	3				
CC parto	2.49	2.30	2.56	2.59	0.19	NS	NS	NS
Nº olas a 1ª ovulación	2.20 b	9.33 a	4.67 ab	2.00 b	2.94	NS	NS	**
Días a 1ª ovulación	30.33 b	97.67 a	45.70 b	25.67 b	25.13	0.05	0.06	**
Nº ciclos cortos	2/3	2/3	3/3	1/3	-	NS	NS	-
Intervalo 1ª -2ª ovulación, d	13.28	12.06	8.33	15.90	6.15	NS	NS	NS
Ø 1 <sup>er</sup> Cuerpo lúteo	16.83	15.83	16.25	19.83	3.56	NS	NS	NS

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Los btes fueron equilibrados en su estado corporal al parto, a pesar de que el lote de Pardas en AL presentara una CC al parto ligeramente inferior al resto.

El intervalo parto-1ª ovulación y el número de olas foliculares previas a la 1ª ovulación estuvieron determinados por el efecto de la interacción raza\*manejo del ternero (Tabla D3).

La permanencia continua de los terneros con sus madres en las vacas de raza Parda se tradujo en un aumento considerable en la suma de olas foliculares previas a la 1ª ovulación, retrasándose de forma importante el reinicio de la actividad ovárica postparto. En los animales de raza Pirenaica se observó la tendencia contraria, aunque las diferencias entre los dos manejos no fueron significativas en esta raza.

El porcentaje de animales que reinició su actividad ovárica con un ciclo de tipo corto, así como los días transcurridos entre la 1ª y la 2ª ovulación no difirieron entre razas o manejos del ternero.

El diámetro del primer cuerpo lúteo, que osciló entre 16 y 20 mm, tampoco presentó diferencias significativas en función de la raza o del manejo seguido con el ternero.

En la Figura D3 se muestran tres modelos representativos de las reactivaciones ováricas observadas en el ensayo, así como el caso particular de un folículo persistente.

La vaca 202 (raza Parda Alpina) representaría la dinámica folicular de los lotes de vacas de raza Parda en AR y de raza Pirenaica en AL (Tabla D3). A la primera ovulación sólo le precedió una ola folicular no ovulatoria, reiniciando la actividad ovárica con un ciclo de duración normal (21 días).

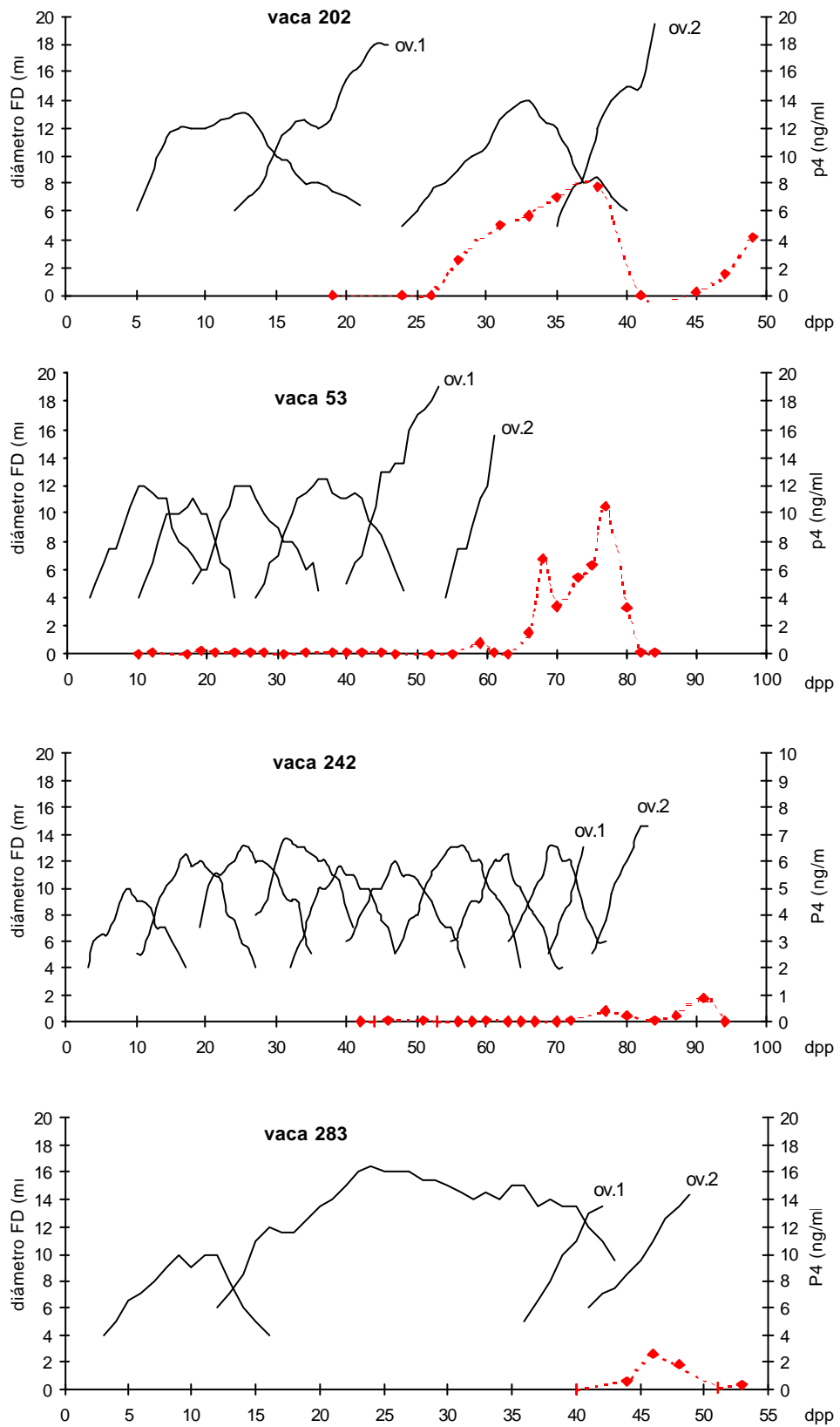
El lote de vacas Pirenaicas en AR presentó 4.7 olas foliculares no ovulatorias antes de la primera ovulación (Tabla D3), figurado en el caso de la vaca 53 (raza Pirenaica). La reactivación ovárica se inició con un ciclo de tipo corto.

La reanudación de la ciclicidad del lote de raza Parda en acceso libre fue similar a la observada en la vaca 242 (raza Parda), con nueve olas foliculares no ovulatorias previas a la primera ovulación (Tabla D3), y un primer ciclo de tipo corto.

En la cuarta gráfica (vaca 283, de raza Parda) se muestra la persistencia de un gran folículo dominante durante 25 días. A su desaparición le siguió una reactivación ovárica con ciclo corto.

**Figura D3.** Modelos de reactivación ovárica postparto.

(—: diámetro FD; ◆◆◆: niveles plasmáticos de progesterona; ov.: ovulación)



### D.3.2.2. Características de las olas foliculares en el periodo postparto

Para caracterizar las olas foliculares, éstas se dividieron en categorías y se numeraron en relación a la primera ola ovulatoria (*ola 1*). En el primer modelo no se observaron diferencias significativas en los parámetros analizados entre razas o manejos del ternero (Tabla D4), de ahí que las propiedades de las olas se analizaron únicamente en función del número de ola (Tabla D5).

Se observaron de 5 a 8 folículos en emergencia (Tabla D5), momento en que el futuro FD midió 4.9 mm.

El diámetro máximo alcanzado por el FD aumentó paulatinamente a medida que se aproximaban las olas ovulatorias ( $p < 0.001$ ), de manera que, en las olas no ovulatorias fue de 11.9 mm y en las ovulatorias alcanzó 17.2 mm.

La tasa de crecimiento de los FD fue de 1.14, 1.39 y 1.72 mm/d, para los FD no ovulatorios, 1º y 2º ovulatorios, respectivamente.

En los FD que no alcanzaron la ovulación se observó un periodo de atresia de 9.6 días, durante el que regresaron a razón de 0.81 mm al día.

Se detectó un aumento paulatino de la duración de las olas foliculares desde 7 hasta 10 días a medida que avanzaba el periodo postparto.

Se modelizó la variación del diámetro máximo del FD y de su velocidad de crecimiento en función del número de ola, de manera que los modelos que mejor se ajustaron a nuestras observaciones fueron los siguientes:

Diámetro máximo del FD

$$DM \text{ (mm)} = 17.729_{(e.s. \ 0.528)} + 2.365_{(0.371)} * n^{\circ}ola + 0.298_{(0.073)} * n^{\circ}ola^2 + 0.013_{(0.004)} * n^{\circ}ola^3$$

$$R^2 = 0.79$$

Velocidad de crecimiento del FD

$$VC \text{ (mm/d)} = 1.668_{(e.s. \ 0.07)} + 0.232_{(0.04)} * n^{\circ}ola + 0.028_{(0.01)} * n^{\circ}ola^2 + 0.001_{(0.0001)} * n^{\circ}ola^3$$

$$R^2 = 0.89$$

**Tabla D4.** Efecto de la raza, del manejo del ternero y del número de ola sobre las propiedades de las olas foliculares.

	RAZA		CRÍA		Sign.			Nº ola
	Parda	Pirenaica	A. Restr.	A. Libre	Raza	Cría	R * C	
n	6	6	6	6				
Nº folículos en emergencia	6.30	6.76	6.09	6.98	NS	NS	NS	NS
Ø en emergencia FD, mm	4.95	4.92	4.75	5.01	NS	NS	NS	NS
Ø máximo FD, mm	13.68	14.18	13.92	13.93	NS	NS	NS	***
Días de dominancia FD ovulatorios	4.50	4.08	4.25	4.33	NS	NS	NS	NS
Días de atresia FD no ovulatorios	9.54	9.57	9.79	9.73	NS	NS	NS	NS
Velocidad crecimiento FD, mm/d	1.23	1.38	1.22	1.25	NS	NS	NS	***
Velocidad atresia FD no ovulatorios, mm/d	0.78	0.85	0.82	0.81	NS	NS	NS	NS
Duración ola, d	9.06	7.93	8.11	8.86	NS	NS	NS	***

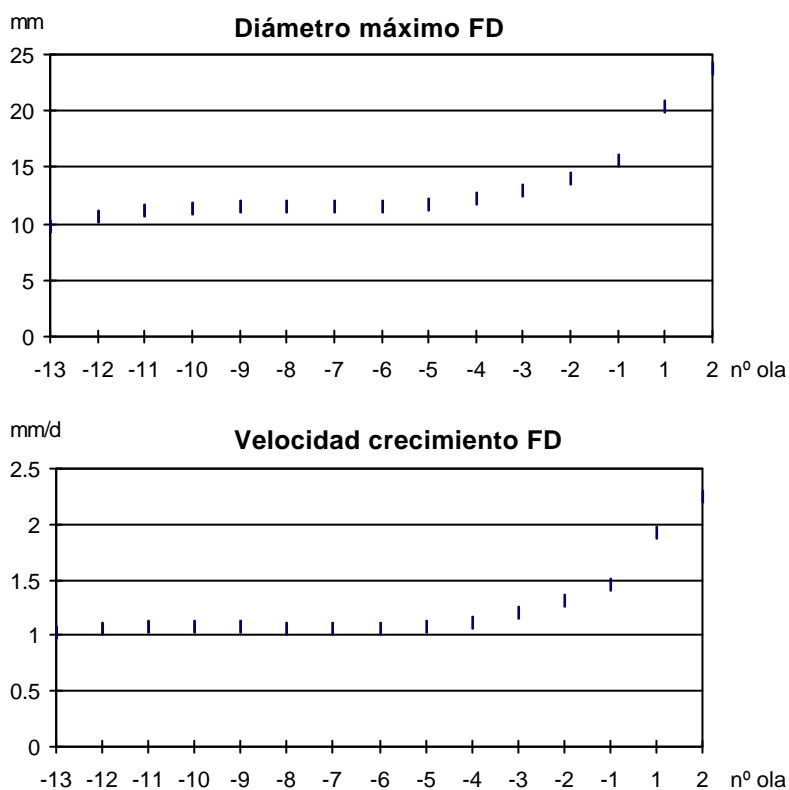
**Tabla D5.** Caracterización de las olas foliculares en función del número de ola.

NÚMERO DE OLA	No ovulatorias			Ovulatorias		Sign. Nº ola
	Resto (-3)-(-13)	Penúltima (-2)	Última (-1)	Primera (1)	Segunda (2)	
n	32	9	12	12	12	
Nº folículos en emergencia	6.72	7.78	6.40	5.67	6.00	NS
Ø en emergencia FD, mm	4.75	4.56	4.46	5.54	5.36	NS
Ø máximo FD, mm	11.34	11.78	12.58	16.75	17.16	***
Días de dominancia FD ovulatorios	-	-	-	4.17	4.42	NS
Días de atresia FD no ovulatorios	9.05	9.86	9.83	-	-	NS
Velocidad crecimiento FD, mm/d	1.06	1.21	1.16	1.39	1.72	***
Velocidad atresia FD no ovulatorios, mm/d	0.77	0.79	0.88	-	-	NS
Duración ola, d	6.98	7.70	9.00	10.25	-	***



En la Figura D4 se representan las variaciones del diámetro máximo del FD y de su ritmo de crecimiento en función del número de ola, resultantes de los modelos señalados.

**Figura D4.** Evolución del diámetro máximo del FD y de la velocidad de crecimiento en función del número de ola folicular.



El diámetro máximo así como la tasa de crecimiento de los FD presentaron una progresión definida por una ecuación de tercer grado. Ambas variables se mantuvieron más o menos constantes a lo largo de la etapa anovulatoria, aumentando vertiginosamente al aproximarse al periodo ovulatorio.

### D.3.3. Duración del anestro postparto

La raza, el manejo del ternero y, fundamentalmente, su interacción afectaron significativamente al reinicio de la ciclicidad ovárica del conjunto de vacas del ensayo (Tabla D6), en la línea de los resultados anteriores.

**Tabla D6.** Duración del app en función de la raza y el manejo del ternero.

RAZA	Parda		Pirenaica		e.s.d.	Sign.		
	Restring.	Libre	Restring.	Libre		Raza	Cría	R * C
app, d	31.8 b	82.7 a	43.5 b	31.8 b	16.2	*	*	***

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

En las vacas de raza Pirenaica no se observaron diferencias significativas en la duración del anestro postparto entre los lotes que se mantuvieron con sus terneros en acceso libre o restringido. En la raza Parda, por el contrario, el acceso libre de los terneros a las vacas retrasó de forma significativa el reinicio de la actividad ovárica ( $p < 0.05$ ).

En condiciones de manejo del ternero en acceso restringido ambas razas presentaron un comportamiento reproductivo similar, no así cuando el ternero permaneció de forma continua con la vaca.

## ***DISCUSIÓN I***

---

## **I.1. NIVELES DE ALIMENTACIÓN PREPARTO Y POSTPARTO**

En nuestras condiciones de trabajo, los niveles nutricionales dependen en gran medida de la época del año en que paren las vacas. Diversos trabajos realizados por este equipo han mostrado que las vacas con parto de otoño son capaces de recuperar el peso perdido en lactación durante la estación de pastoreo y, por lo tanto, pasar el periodo invernal siguiente con una alimentación postparto restrictiva. Las vacas con parto de primavera, por el contrario, tienen menores ganancias en pastoreo, al tener mayores necesidades de lactación, y deben recuperar parte de las reservas en la fase de estabulación previa al parto, si se pretende que alcancen pesos y condiciones corporales al parto satisfactorias (Revilla et al., 1991; Casasús et al., 1999).

La dinámica de este sistema de manejo justifica la importancia de conocer cómo actúa la alimentación sobre la reproducción de las vacas nodrizas, haciendo hincapié en las interacciones que puedan establecerse entre los niveles de alimentación recibidos durante la internada. Este periodo es, por otra parte, el único en el que el ganadero puede influir directamente en la alimentación de la vaca (Revilla et al., 1992).

Para asegurar el equilibrio perseguido entre el ahorro en la alimentación invernal y la eficiencia reproductiva de las vacas es preciso conocer cuándo debemos ofrecer un mayor aporte energético a lo largo del ciclo anual, y a qué niveles de subnutrición podemos someter a las vacas para, reduciendo los costes de alimentación, conseguir unos resultados reproductivos aceptables.

### **I.1.1. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE LOS ANIMALES**

La influencia de los niveles de alimentación sobre la función reproductiva de las vacas se estudió en los ensayos A y C. Los tratamientos comenzaron el 5<sup>o</sup> mes de gestación, presentando las vacas en el momento del parto las diferencias esperadas en peso y CC. Aunque los niveles preparto y postparto impuestos en el ensayo C fueron más extremos a los ofertados en el A, la dinámica de los parámetros productivos fue similar en ambos ensayos.

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los parámetros productivos observados en los cuatro primeros ensayos presentados en esta memoria.

**Tabla I1.** Síntesis de los resultados productivos de los ensayos A, B, C y D, y duración del anestro postparto en función de la alimentación y del manejo del ternero.

ENSAYO	n	CCparto	Nivel pp (%)	lote	GMD 3 meses (kg)		PLB (kg/d)	Anestro postparto (d)		
					vaca	ternero		nutrición	cría (n')#	
									AR	AL
<b>A</b>	4	2.70	110	AA	-0.279	0.990	12.00	42.5	25.0	60.0
	4	2.73	80	AB	-0.720	0.907	9.80	89.5	68.0	111.0
	4	2.00	110	BA	0.027	0.990	9.30	107.3	82.5	132.0
	4	2.00	80	BB	-0.128	0.753	6.70	150.0	150.0	150.0
<b>B</b>	30	2.65	100		-0.193	0.991	9.10*		38.7	38.9
<b>C</b>	12	3.00	160	AA	0.003	1.179	11.04	27.4		27.4
	12	3.00	75	AB	-1.125	0.916	8.62	33.7		33.7
	9	2.00	160	BA	0.944	0.949	6.69	69.4	77.5	63.0
	8	2.00	75	BB	-0.123	0.572	6.06	194.4	180.0	208.8
<b>D</b>	12	2.48	110	Parda	-0.151	0.945	9.47		31.8	82.7
	11	2.53	110	Pirenaica	0.274	0.735	6.61		43.5	31.8

\*Doble pesada del ternero

# n'= n/2, excepto en el lote BA del ensayo C (n'= 4 y 5 animales, para AR y AL, respectivamente) y en el lote de Pirenaicas del ensayo D (n'= 6 y 5 animales, para AR y AL, respectivamente).

Las vacas subnutridas durante las etapas finales de gestación llegaron al parto con, aproximadamente, 100 kg menos de peso vivo y una CC muy inferior a la de las sometidas a las raciones altas preparto (654 vs. 550 kg y 2.72 vs. 2.00 de CC en el ensayo A; 670 vs. 540 kg y 3.1 vs. 1.98 de CC en el ensayo C, para los lotes alto y bajo preparto, respectivamente).

Estas diferencias entre lotes fueron muy similares a las observadas en la experiencia conjunta en la que se desarrolló el ensayo A (Sinclair et al., enviado), aunque nuestras vacas, de mayor formato, presentaron unos pesos ligeramente superiores a los globales.

Como se indicó en el capítulo referido a material y métodos general de la Memoria, la variación de pesos y CC de los animales se refirió a los tres primeros meses postparto coincidiendo con el inicio del periodo de cubriciones. Hay que añadir que la duración de la lactación en los ensayos A y D fue inferior a la practicada habitualmente en nuestras condiciones de trabajo (137 y 170 días para las lactaciones de otoño y primavera,

respectivamente. Villalba et al., 2000), debiendo sacrificar la información zootécnica, que por otro lado ya ha sido ampliamente tratada en memorias anteriores realizadas por este equipo (Blasco, 1991; San Juan, 1993; Casasús, 1998; Villalba, 2000).

En los ensayos B y C se señalaron los resultados obtenidos al destete, aunque éstos mostraron la misma tendencia que los observados en el 3<sup>er</sup> mes de lactación.

Los niveles nutritivos preparto y postparto determinaron las ganancias de las vacas a lo largo del postparto. En el ensayo A, los lotes AA y BB presentaron ligeras pérdidas de peso, el BA mantuvo el peso registrado al parto, destacándose las pérdidas diarias de 0.720 kg observadas en el lote AB. En el ensayo C, con niveles más extremos de alimentación, el peso se mantuvo constante en el grupo AA y se redujo ligeramente en el lote BB, mientras que al AB perdió alrededor de 1 kg diario, al contrario que el BA, que ganó casi un kg diario.

En un periodo de estudio más reducido (61 días postparto), Wright et al. (1992b) describieron variaciones de peso similares a las del ensayo A en sus lotes AA, AB y BA; sin embargo, las pérdidas del lote BB (-0.910 kg/d ) fueron muy superiores a las observadas en nuestro caso, debido seguramente a su mejor estado corporal al parto.

En la línea de las observaciones de Wright et al. (1992b), la evolución del estado corporal a lo largo de la lactación fue similar a la de los pesos, siendo importante destacar que, de nuevo, las diferencias entre los tratamientos extremos fueron superiores en el ensayo C (2.72, 2.25, 2.20 y 2.05 de CC a los 3 meses del parto en el ensayo A; 2.90, 2.70, 2.70 y 1.53 de CC a los 3 meses del parto en el ensayo C, para los lotes AA, AB, BA, y BB, respectivamente).

En ambos ensayo (A y C) las vacas que llegaron al parto con mayor CC fueron las que presentaron mayores pérdidas de peso en el nivel bajo postparto, como citan Osoro y Wright (1992), mientras que en los niveles altos postparto, las vacas subnutridas durante el último tercio de gestación fueron las que más peso recuperaron, al igual que en el trabajo de Boadi y Price (1996).

El fundamento de esta interacción podría ser la adaptación fisiológica de las vacas a la subnutrición, presentando una ralentización del metabolismo de los órganos internos (Ortigues, 1991), unas menores necesidades de mantenimiento (Saubidet y Verde, 1976) y una utilización más eficiente de la energía (Agabriel et al., 1995), así como la menor producción lechera observada en estos animales (Tabla I1).

Las raciones recibidas por las vacas durante el final de la gestación afectaron al peso de los terneros al nacimiento, que fue menor en aquéllos cuyas madres estuvieron subnutridas (Tablas A3 y C3), y se correlacionó positivamente con los pesos de las vacas al parto en el ensayo C ( $r=0.53$ ,  $p<0.001$ ) y con la CC al parto en el ensayo A ( $r=0.56$ ,  $p<0.05$ ).

Estos resultados coinciden con otros trabajos, en los que también se observó un aumento del peso del ternero al nacimiento en novillas (Blasco, 1991, Spitzer et al., 1995) o vacas sometidas a raciones altas durante el último tercio de la gestación (Perry et al., 1991b; San Juan, 1993). Discrepa, sin embargo, con la ausencia de tal efecto indicada por DeRouen et al. (1994) o Morrison et al. (1999), justificada por estos últimos autores por la tendencia de la madre a compensar el efecto de la subnutrición sobre el desarrollo del feto movilizándolo sus reservas corporales.

Los pesos de los terneros al nacimiento registrados en los ensayos A y C, en general, fueron ligeramente superiores al peso medio (42 kg) obtenido en un análisis de 372 registros de vacas Pardas pertenecientes al rebaño experimental utilizado en esta Memoria (Casasús, 1998).

Esta diferencia podría deberse a que nunca antes se habían aplicado niveles de alimentación tan elevados como en estos ensayos, aumentando considerablemente el peso del ternero al nacimiento en los lotes altos, como ya hemos visto. Tampoco antes se había sometido a las vacas a niveles tan extremos de subnutrición que, según Rasby et al. (1990), podrían aumentar el peso de los cotiledones y de las membranas fetales, incrementando el peso de la placenta como mecanismo para intensificar el transporte de nutrientes al feto, de ahí los pesos al nacimiento tan elevados registrados en el lote de vacas subnutridas del ensayo A, en línea con la hipótesis apuntada por Morrison et al. (1999).

En el ensayo A, las ganancias de los terneros durante los tres primeros meses de crianza no estuvieron influidas por las raciones preparto o postparto ofrecidas a las madres (Tabla A3), ya que todos ellos dispusieron de concentrado ad libitum desde el nacimiento, compensándose las diferentes producciones lecheras de las madres. Aún así, dichas ganancias tendieron a ser mayores en los terneros del nivel alto postparto ( $p=0.06$ ).

En el ensayo C, los pesos de los terneros a los tres meses de edad se vieron afectados por las raciones preparto ( $p<0.001$ ) y postparto ( $p<0.001$ ) (Tabla C3), presentando los terneros del lote AA las mayores ganancias en este periodo, seguidos de los lotes AB, BA y BB (1.18, 0.92, 0.95 y 0.57 kg/d, respectivamente), que, a su vez, fueron muy similares a los crecimientos estimados al destete.

En el trabajo de Houghton et al. (1990), los hijos de las vacas del nivel bajo preparto presentaron igualmente menores ganancias diarias desde el parto hasta el día 105 pp. Por su parte, Spitzer et al. (1995) indicaron que, si bien, las ganancias de los terneros al destete (día 205 pp) no dependieron de la alimentación recibida en el preparto, sí que lo hicieron de la alimentación postparto de las vacas, de lo que se deduce que a medida que avanza el periodo postparto debe reducirse la influencia del nivel energético preparto sobre el peso de los terneros.

Del mismo modo, la producción lechera estuvo determinada por los niveles preparto y postparto (Tablas A4 y C5), en el sentido de que las vacas que recibieron la ración alta preparto y/o postparto produjeron más leche que las de los lotes bajos, no observándose ningún tipo de interacción entre niveles nutritivos. Corroboran los resultados anteriores las relaciones positivas de la PLS media con la CC de la vacas al parto ( $r=0.58$ ,  $p<0.001$ ) y a los 3 meses del mismo ( $r=0.54$ ,  $p<0.001$ ) encontradas en el ensayo C.

A pesar de la diferencia cuantitativa entre las dietas de los ensayos A y C, la tendencia de las producciones lecheras fue la misma, obteniéndose de ambos ensayos una PLB media de 11.5, 9.2, 8.0 y 6.4 kg diarios, para los lotes AA, AB, BA y BB, respectivamente.

Estas producciones fueron paralelas a las obtenidas en la experiencia en la que se enmarcó el ensayo A, que incluyó las razas Simental, Sarda, Parda Alpina y HerefordxFrisona, y en la que se obtuvieron las siguientes PLB medias para los lotes AA, AB, BA y BB: 10.5, 9.4, 9.7 y 7.9 kg/d, respectivamente (Sinclair et al., 1999). En un diseño similar al nuestro, en el que los niveles de alimentación preparto y postparto también afectaron a la producción lechera, la interacción entre ambos niveles tampoco resultó ser significativa (Perry et al., 1991b).

Diversos trabajos, por el contrario, no han evidenciado este efecto de los niveles preparto (Revilla y Blasco, 1991; Sinclair et al., 1994a) o postparto (San Juan, 1993) sobre la producción lechera. Garel et al. (1988) señalaron que la producción lechera de las vacas subnutridas a fin de gestación no se vio afectada siempre que, después del parto, se alimentara a las vacas de forma correcta.

La composición de la leche en el ensayo A no difirió significativamente entre los niveles de alimentación, aunque sí que se observó una tendencia a que las vacas subnutridas durante el último tercio de gestación presentaran tasas de grasa y proteína más reducidas (Tabla A4). En el ensayo C, la alimentación afectó a los contenidos en grasa y proteína de la leche,



que estuvieron incrementados en los lotes altos de alimentación preparto o postparto, no observándose ninguna interacción entre ambos niveles (Tabla C5).

La energía total aportada a lo largo del año también afectó a la concentración de grasa de la leche, aunque no a la de proteína en el trabajo de Sinclair et al. (1998a). Sin embargo, anteriormente el mismo equipo observó tasas mayores de grasa y proteína en las vacas que llegaron al parto con mayor CC ( $p<0.01$ ) y un aumento del porcentaje proteico en las vacas sometidas a niveles altos postparto (Sinclair et al., 1994a).

En el trabajo de Perry et al. (1991b), los niveles postparto afectaron a las tasas de proteína ( $p<0.01$ ) y grasa ( $p=0.05$ ), no así los niveles preparto. Probablemente, las diferencias bibliográficas encontradas en relación al efecto de la energía recibida sobre la composición de la leche deben tener su origen en las distintas raciones utilizadas en cada trabajo, como también en sus composiciones diferentes.

En este punto, es preciso subrayar los niveles tan elevados de grasa y proteína lácteas detectadas en el ensayo C, en comparación con las concentraciones medias observadas en la raza Parda. Este incremento podría vincularse, fundamentalmente, a la cantidad y a la calidad de las mezclas completas recibidas en este ensayo, de acuerdo con los trabajos de Seerley et al. (1981) y O'Callahan y Boland (1999). A excepción del lote BB, el resto de vacas del ensayo recibieron durante el preparto y/o el postparto una ración basada en la mezcla completa "A" (Tabla C2), cuyos porcentajes de grasa y proteína fueron relativamente altos (2.3% y 12.3%, respectivamente).

Como sucedió en otros estudios (Perry et al., 1991b; San Juan, 1993; Mallinckrodt et al., 1992), la producción lechera y su composición se reflejaron en el peso de los terneros registrado tres meses después del nacimiento, que estuvo altamente correlacionado con la PLB ( $r=0.64$ ,  $p<0.001$ ), la PLS ( $r=0.71$ ,  $p<0.001$ ), la tasa de grasa ( $r=0.45$ ,  $p<0.01$ ) y la de proteína ( $r=0.59$ ,  $p<0.001$ ) de las vacas del ensayo C.

La producción lechera calculada mediante la doble pesada del ternero (ensayo A), a pesar de que estuvo muy altamente correlacionada con la PLB estimada mediante el ordeño de las vacas ( $r=0.78$ ,  $p<0.001$ ), fue inferior a ésta en los lotes AA, AB y BA, debido probablemente a que la capacidad de consumo de los terneros fue inferior al potencial lechero de las vacas, como ya señaló Drennan en 1971.

Por su parte, los pesos y las CC obtenidos en el momento del parto en los ensayos B y D (raza Parda) (Tablas B2 y D1) fueron ligeramente inferiores a los observados en el lote AA del ensayo A, obteniéndose unos rendimientos productivos similares a los del lote señalado, y que serán analizados en los apartados referentes a los efectos del manejo del ternero y de la raza.

A modo de resumen, podemos apuntar que los niveles energéticos impuestos en los distintos ensayos provocaron las diferencias esperadas en peso y CC al parto y durante la fase experimental.

La restricción energética aplicada durante la lactación afectó en mayor medida al peso y la CC de las vacas que llegaron al parto con más reservas corporales; las vacas subnutridas durante la gestación, por contra, fueron las que recuperaron más peso en los lotes sometidos al nivel alto postparto.

La alimentación recibida por las vacas afectó al peso de los terneros al nacimiento, así como a la producción y composición de la leche, reflejándose tales diferencias en las distintas ganancias diarias de los terneros registradas durante el periodo de crianza.

### **I.1.2. EVOLUCIÓN DE LOS PERFILES METABÓLICOS Y DE LA GH DURANTE EL PERIODO POSTPARTO**

En el ensayo A se realizó un seguimiento de los niveles plasmáticos de glucosa, AGNE,  $\beta$ -hidroxibutirato y urea a lo largo de las 14 semanas siguientes al parto y se determinó la concentración de GH el día 29 pp con el fin de analizar las repercusiones de la cantidad de energía ingerida por las vacas antes y después del parto sobre dichos niveles, así como el papel de estos metabolitos en el plano reproductivo de las vacas durante el periodo postparto.

#### **I.1.2.1. Efecto de la alimentación sobre los perfiles metabólicos de las vacas**

Los elevados niveles plasmáticos de glucosa se han asociado tanto con las mayores CC al parto (Vizcarra et al., 1998) como con las raciones altas recibidas durante la lactación (Oxenreider y Wagner, 1971; Grimard et al., 1995). Del mismo modo, en nuestro trabajo, la concentración media de glucosa registrada durante la lactación fue superior en los lotes altos preparto ( $p=0.065$ ) y/o postparto ( $p<0.05$ ) (Tabla A5). Otros trabajos, por el contrario, no han podido determinar tales diferencias, en función de la nutrición preparto (Sinclair et al., 1994b;

Mäntysaari et al., 1999) o postparto (Lucy et al., 1991; Sinclair et al., 1994b), durante un periodo de estudio similar al nuestro.

La Figura A4 permite determinar un periodo de mayor demanda energética entre las semanas 2<sup>a</sup> y 6<sup>a</sup> postparto, coincidiendo con el pico de lactación de las vacas, durante el que los lotes del nivel alto postparto presentaron los mayores niveles de glucosa, aportada probablemente por la ración recibida durante la lactación; a partir de la 4<sup>a</sup> semana postparto se observó una tendencia creciente en la concentración de glucosa en todas las vacas, normalizándose los niveles un mes más tarde, tal y como apuntaron en sus trabajos Hart et al. (1978) y Lucy et al. (1991), en relación a las concentraciones de glucosa y de insulina.

En general, la glucosa y la insulina evolucionan de forma similar (Ponsart et al., 1999), como muestra la correlación positiva entre ellas indicada por Grimard et al. (1995) durante las 7 primeras semanas postparto ( $r=0.67$ ). La restricción alimenticia se ha relacionado con un descenso en las concentraciones plasmáticas de glucosa y de insulina, ya que la glucosa es el principal regulador fisiológico de la insulina (Philippe, 1991), hormona que a su vez favorece la utilización de la glucosa por el organismo.

Esta tendencia también se manifestó en la experiencia global a la que pertenece el ensayo A, detectándose mayores niveles de insulina en las vacas sometidas a los niveles altos de alimentación preparto y/o postparto (9.8, 6.8, 7.1 y 5.9 mUI/l para los lotes AA, AB, BA y BB, respectivamente) (Sinclair et al., enviado), de acuerdo con otros estudios (Richards et al., 1989b; Grimard et al., 1995; Bossis et al., 1999).

El trabajo de Vizcarra et al. (1998) sugiere la existencia de una interacción entre los niveles de nutrición preparto y postparto, al observar un aumento lineal de la concentración de insulina en el periodo de cubriciones (inicio: día 105 pp) a medida que se incrementaba la CC al parto en vacas sometidas a una dieta moderada durante la crianza, no detectándose tal relación en las vacas que recibieron la dieta alta postparto. En estas últimas vacas aumentó la producción de propionato, estimulándose la secreción de insulina, mientras que las que se mantuvieron con dietas moderadas en el postparto presentaron niveles distintos de insulina en función de la CC con la que llegaron al parto.

De acuerdo con los efectos descritos de la alimentación preparto (San Juan, 1993; Sinclair et al., 1994b) y postparto (Sinclair et al., 1994b; Grimard et al., 1995; Vizcarra et al., 1998) sobre la concentración de AGNE, en nuestro trabajo los niveles medios de AGNE

tendieron a ser inferiores en los animales subnutridos durante la gestación y en los sometidos a las raciones altas postparto (Tabla A5).

El lote AB fue el que catabolizó más reservas grasas, seguido de los lotes AA y BB, que apenas movilizaron reservas, el primero porque recibió la energía necesaria de la dieta postparto y el segundo porque no contó con dichas reservas, y finalmente, el lote BA (0.37, 0.24, 0.22 y 0.17 mol/ml, para los lotes AB, AA, BB y BA, respectivamente). Este lote BA fue el único grupo que mantuvo su peso durante la lactación, a pesar de recibir la misma proporción energética que el lote AA, probablemente debido a que sus necesidades de mantenimiento y producción lechera fueron menores a las del lote AA, como ya señalamos cuando se discutieron los rendimientos productivos de las vacas.

Los niveles más elevados de AGNE se detectaron durante las primeras semanas postparto (Figura A4), coincidiendo con el periodo de mayores necesidades energéticas para la producción de leche y el consecuente aumento de la lipólisis. La evolución de los AGNE en el conjunto de vacas fue decreciente a lo largo del postparto, de forma similar a lo observado en las vacas de leche (Canfield y Butler, 1990; Staples et al., 1990).

Las concentraciones medias de AGNE estuvieron muy altamente correlacionadas con las ganancias de las vacas durante la fase experimental ( $r=-0.79$ ,  $p<0.001$ ), de acuerdo con las relaciones descritas anteriormente de los AGNE con las situaciones de balance energético negativo de las vacas lecheras (Lucy et al., 1991), así como con las pérdidas de peso de las vacas nodrizas (Richards et al., 1989b).

La concentración media de  $\beta$ -hidroxibutirato, uno de los cuerpos cetónicos resultantes de la oxidación de los AGNE en situaciones de subnutrición, fue similar en los cuatro lotes del ensayo (Tabla A5), no observándose diferencias en función de la alimentación recibida. Otros autores han señalado igualmente una ausencia de efecto de los niveles preparto (Sinclair et al., 1994b) o postparto (Grimard et al., 1995; Khireddine et al., 1998) sobre la concentración de este cuerpo cetónico. Por su parte, Rukkwamsuk et al. (1999), analizando las repercusiones de la lipólisis hepática sobre los problemas reproductivos de las vacas lecheras, observaron que los niveles de  $\beta$ -hidroxibutirato y de AGNE se habían duplicado en las vacas sometidas a una sobrealimentación durante la gestación, en comparación con los animales que habían recibido el 100% de sus necesidades energéticas.

Estos resultados contradictorios podrían deberse a diferencias en las pautas de extracción de sangre seguidas en cada trabajo, en la duración de los periodos transcurridos

entre comidas (Bertoni et al., 1994), en la velocidad de fermentación de los distintos alimentos o a un simple reflejo de las diferentes poblaciones de microorganismos ruminales vinculados a cada dieta (Ponsart et al., 1999).

A lo largo de nuestro ensayo, la evolución del  $\beta$ -hidroxibutirato fue creciente en los lotes altos postparto, al contrario que en los lotes subnutridos durante la lactación (Figura A4). En los grupos AA y BB no se observaron variaciones bruscas, mientras que los lotes AB y BA presentaron una reducción y un aumento agudo, respectivamente, en la concentración de  $\beta$ -hidroxibutirato a partir de la 8ª semana postparto, coincidiendo con la recuperación de los niveles de glucosa, y proyectando una imagen espejo del perfil de la glucosa, similar a la obtenida recientemente en vacas de primer parto sometidas a diferentes dinámicas de alimentación durante la gestación (Mäntysaari et al., 1999).

La falta general de precursores energéticos de origen glucídico puede desencadenar igualmente un mayor catabolismo de los aminoácidos y como consecuencia un aumento en la concentración plasmática de nitrógeno ureico. Los niveles energéticos del ensayo A afectaron a la concentración media de urea, que fue menor en las vacas subnutridas durante la gestación ( $p < 0.01$ ), así como en los lotes altos postparto ( $p < 0.05$ ) (Tabla A5).

Al igual que sucedió con el metabolismo graso y los niveles plasmáticos de AGNE, el lote AB sufrió la mayor movilización proteica, seguido de los lotes AA, BB y, por último, el lote BA, que presentó los menores niveles de urea en plasma, relacionándose negativamente la concentración media de urea con las ganancias de las vacas registradas durante la lactación ( $r = -0.59$ ,  $p < 0.05$ ).

En nuestro ensayo, el metabolismo proteico estuvo incrementado durante las primeras semanas postparto (Figura A4), como también observaron en su trabajo Zurek et al. (1995), coincidiendo con el pico de lactación, y reduciéndose a partir de la 8ª semana postparto.

No obstante, no siempre se han observado diferencias en los niveles plasmáticos de urea en función de la alimentación (Sinclair et al., 1994b), e incluso Grimard et al. (1995) detectaron menores niveles de urea en las vacas subnutridas durante la lactación, al contrario de lo observado en nuestro trabajo, señalando estos autores que las vacas subnutridas no llegaron a movilizar sus reservas proteicas para generar glucosa, y compensaron el déficit energético reduciendo sus necesidades para mantenimiento y producción de leche.

Los niveles de subnutrición utilizados en nuestro ensayo redujeron la disponibilidad de glucosa, aunque sin llegar a provocar una hipoglucemia, puesto que las vacas aumentaron la movilización de reservas grasas y proteicas, incrementándose consecuentemente los niveles plasmáticos de AGNE,  $\beta$ -hidroxibutirato y nitrógeno ureico. La producción lechera de las vacas se correlacionó positivamente con los niveles plasmáticos de AGNE ( $r=0.56$ ,  $p<0.05$ ) y  $\beta$ -hidroxibutirato ( $r=0.67$ ,  $p<0.001$ ), confirmando que estos metabolitos pueden ser unos buenos indicadores del grado de utilización de las reservas corporales.

Es probable que las contradicciones encontradas en la bibliografía en relación a los perfiles metabólicos se hayan debido a diferencias en la CC al parto, en las raciones energéticas y proteicas utilizadas o en su composición química, o en las pautas de muestreo de cada uno de los trabajos revisados.

De cualquier forma, se podría afirmar que la subnutrición energética, desencadenada por una oferta reducida de alimentación y/o por un aumento en las necesidades energéticas de las vacas (p.e. pico de lactación), va a estar relacionada con una reducción en los niveles de glucosa e insulina, y un incremento en plasma de los productos resultantes del metabolismo de las reservas grasas e incluso proteicas (AGNE,  $\beta$ -hidroxibutirato y urea) para generar glucosa.

Por tanto, la determinación de estas concentraciones va a ser de gran utilidad para conocer el estado energético de las vacas nodrizas.

#### **I.1.2.2. Efecto de la alimentación sobre los niveles de GH de las vacas**

Además de los metabolitos, la GH y el IGF-I también podrían integrar el eje metabólico regulador de la función reproductiva en el ganado vacuno.

La reducción de los aportes energéticos durante la gestación (Ryan et al., 1994) o la lactación (Stagg et al., 1998; Bossis et al., 1999) se han relacionado con un aumento en los niveles de GH, circunstancia que podría deberse a un inferior metabolismo de esta hormona en situaciones de subnutrición (Bass et al., 1992).

Del mismo modo, los perfiles de GH obtenidos en la experiencia en la que se enmarca el ensayo A fueron mayores en los lotes sometidos a una restricción energética durante la gestación (4.0 vs. 4.7 ng/ml, para los lotes de CC al parto alta o baja, respectivamente,  $p<0.05$ ) (Sinclair et al., 1999).

Los niveles basales de GH registrados el día 29 pp en el ensayo A fueron superiores en las vacas subnutridas durante el parto y/o el postparto, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Tabla A6). La alimentación afectó de forma similar a la pulsatilidad de GH, que se relacionó negativamente con los pesos de las vacas al parto, así como con la CC registrada tres meses después del parto.

Breier et al. (1993) han añadido un papel potencial de la GH en la movilización de reservas que se produce en los periodos de restricción energética, a las funciones ya conocidas de esta hormona sobre la reproducción, como son el estímulo del crecimiento folicular (Lucy et al., 1993) o de la secreción de IGF-I (Hossner et al., 1997)

Paradójicamente, en situaciones de subnutrición los niveles de GH e IGF-I son inversos, como pone de manifiesto la correlación negativa señalada por Stagg et al. (1998) entre dichas concentraciones durante el parto de las vacas nodrizas ( $r=-0.45$ ,  $p<0.001$ ), particularidad que, para estos autores, debe de ser importante en la determinación de qué FD va a alcanzar la ovulación, y en qué momento. Como posibles explicaciones a esta relación inversa, se han apuntado la reducción del número de receptores hepáticos para la GH en condiciones de subnutrición, no siendo capaz de estimular la producción de IGF-I (Breier et al., 1988), así como un posible desacople de los receptores de GH con la respuesta intracelular (Thissen et al., 1991).

En todo caso, es evidente que la subnutrición actúa modificando la concentración plasmática de GH y de IGF-I (Elasser et al., 1989; Lucy et al., 1992), factores que van a jugar un papel fundamental como reguladores endocrinos de la función ovárica.

### **I.1.3. EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE LH**

Las restricciones energéticas aplicadas durante la gestación se han asociado con frecuencia a una reducción de los niveles basales de LH (Richards et al., 1989a; Perry et al., 1991b) o de la frecuencia de pulsos de LH (Wright et al., 1987; Wright et al., 1990; Perry et al., 1991b; Wright et al., 1992a; Diskin et al., 1999).

En el ensayo A se determinó la secreción de LH los días 29 y 34 pp. La concentración media basal de LH tendió a ser menor en las vacas subnutridas durante la gestación ( $p=0.08$ ) (Tabla A9), que además presentaron una inferior frecuencia (2.56 vs. 1.66 pulsos/8h, para los lotes alto y bajo parto, respectivamente,  $p<0.05$ ) y amplitud de pulsos de LH ( $p<0.05$ ).

Los pesos de las vacas al parto se relacionaron positivamente con la concentración media de LH ( $r=0.52$ ,  $p<0.05$ ), así como con la frecuencia media de pulsos de LH ( $r=0.54$ ,  $p<0.05$ ), de forma que cuanto más pesadas fueron las vacas al parto, mayor concentración y frecuencia de pulsos de LH presentaron.

De acuerdo con otros trabajos realizados en este sentido (Wright et al., 1987; Wright et al., 1992a; Grimard et al., 1995; Diskin et al., 1999), los niveles energéticos postparto utilizados en esta Memoria no afectaron al nivel basal, la frecuencia o la amplitud de los pulsos de LH. Sin embargo, también se han reseñado en la bibliografía incrementos en la concentración (Whisnant et al., 1985b), en la frecuencia (Whisnant et al., 1985b; Perry et al., 1991b; Wright et al., 1992b), así como en la amplitud de pulsos de LH (Whisnant et al., 1985b) en animales sometidos a niveles altos postparto. La variedad en los niveles de alimentación utilizados en cada estudio, tanto antes como después del parto, así como en el día de control de los niveles de LH pueden ser la causa del desacuerdo observado en los resultados de los trabajos revisados.

No hay que descartar que las raciones recibidas durante la lactación podrían actuar sobre la secreción de LH aunque en etapas posteriores del postparto, como sugieren los resultados obtenidos por Wright et al. (1992b). Estos autores observaron un aumento de la concentración, la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH durante la 3ª semana postparto en las vacas que llegaron al parto con una mayor CC, no siendo afectados dichos parámetros por el nivel energético postparto. Posteriormente, desaparecieron los efectos de la alimentación preparto, detectándose una mayor pulsatilidad de LH la 6ª ( $p<0.05$ ) y sobre todo la 9ª semana postparto ( $p<0.001$ ) en el nivel alto postparto.

La alimentación postparto afectaría a la secreción de LH, aunque únicamente en las vacas que se encuentran en balance energético negativo. Rutter y Randel (1984) no observaron un efecto directo del nivel energético postparto sobre la liberación de LH, aunque detectaron mayores concentraciones basales de esta hormona en las vacas que recuperaron reservas corporales durante la lactación, en relación a las que sufrieron una pérdida de CC.

Esta hipótesis explicaría la relación de la pulsatilidad de LH con los niveles de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $r=0.66$ ,  $p<0.01$ ) encontrada en nuestro ensayo, o la señalada por Grimard et al. (1995) con la concentración de AGNE a día 30 pp ( $r=-0.61$ ,  $p<0.01$ ), metabolitos cuyos niveles se ven incrementados en los momentos de mayor movilización de reservas.



Los signos opuestos de las correlaciones anteriores se deben, probablemente, a que en el estudio de Grimard et al. (1995) todas las vacas presentaron una CC al parto reducida (2.15-2.38), de ahí que los niveles de AGNE fueron superiores en las vacas sometidas al nivel bajo postparto, respecto de las que recibieron la ración de mantenimiento. En nuestro ensayo, la CC de las vacas al parto fue de 2 ó 2.7, resultando ser mayor la movilización grasa postparto en las vacas que presentaron más reservas al parto, quienes a su vez tuvieron una superior frecuencia de pulsos de LH.

De estos resultados, destacar que la concentración y la frecuencia de pulsos de LH los días 29 y 34 pp dependieron en gran medida de la alimentación recibida durante el último tercio de gestación. La cantidad de energía recibida durante la lactación podría influir en la liberación de LH, fundamentalmente, en animales con escasas reservas corporales, y sobre todo en etapas posteriores del postparto

#### **I.1.4. DINÁMICA FOLICULAR**

La primera ola folicular se inició entre los días 4 y 7 pp (Tabla C6), confirmando que la dinámica folicular se reinicia muy tempranamente en el postparto (Murphy et al., 1990), incluso en vacas sometidas a una profunda subnutrición durante el último tercio de gestación, aunque estas últimas presentaron una menor velocidad de crecimiento del 1<sup>er</sup> FD (1.03 vs. 0.70 mm/d, para los lotes alto y bajo preparto, respectivamente), alcanzando un diámetro máximo del FD inferior al de las vacas del nivel alto preparto (13.2 vs. 10.0 mm, para los lotes alto y bajo preparto, respectivamente).

El análisis global de las olas foliculares detectadas en el postparto puso de manifiesto que ni los niveles de alimentación impuestos, ni el número de ola folicular influyeron en la cantidad media de folículos constituyentes de la cohorte en la fase de emergencia (6.7 folículos) o en el diámetro medio de emergencia de estos folículos (4.7 mm) (Tabla C9).

Diversos trabajos realizados con novillas sometidas a una restricción alimenticia (Murphy et al., 1991; Rhodes et al., 1995; Bossis et al., 1999) han descrito reducciones en el tamaño de los FD, como también se han observado menores FD en vacas subnutridas durante la gestación (Ryan et al., 1994; Burke et al., 1995) o durante la crianza (Perry et al., 1991b; Stagg et al., 1995; Grimard et al., 1995). En nuestro caso, la media del diámetro máximo de los FD observados durante el postparto fue mayor en las vacas que recibieron el nivel alto

postparto ( $p < 0.001$ ), detectándose, además, un efecto positivo de la ración alta preparto (15.3, 14.6, 17.0 y 12.4 mm, para los lotes AA, AB, BA y BB, respectivamente) (Tabla C9).

Probablemente, la menor frecuencia de pulsos de LH asociada a situaciones de subnutrición fue la responsable de esta reducción en el diámetro folicular, como manifiesta la correlación positiva observada en el ensayo A, entre la frecuencia de pulsos de LH y el diámetro máximo del FD ovulatorio ( $r = 0.66$ ,  $p < 0.01$ ). Además, diversas experiencias realizadas *in vitro* han indicado que el IGF-I regularía la proliferación y diferenciación de las células de la granulosa en los folículos en crecimiento (Monniaux y Pisselet, 1992; Spicer et al., 1993), de ahí que Burns et al. (1997) asocien el menor tamaño de los folículos a las bajas concentraciones de IGF-I registradas en situaciones de subnutrición.

Igualmente, en el ensayo A se detectó un mayor diámetro máximo del FD de la 1ª ola ovulatoria en las vacas sometidas a la ración alta preparto o postparto (Tabla A7), sin embargo, el tamaño del 1<sup>er</sup> folículo ovulatorio fue inferior al obtenido en el ensayo C (12.0 vs. 17.2 mm, en los ensayos A y C, respectivamente), indicando que, si bien las últimas fases de crecimiento y maduración folicular son imprescindibles para alcanzar la ovulación, la capacidad ovulatoria de los folículos no debe estar directamente relacionada con su diámetro, como también apuntaron Bossis et al. (1999).

El hecho de que el diámetro máximo del FD fuera incrementándose a medida que se acercaba la fase ovulatoria de las vacas (12.7, 17.2 y 18.8 mm, para los FD no ovulatorios, 1º y 2º ovulatorios, respectivamente) (Tabla C10), ya descrito en la bibliografía (Lucy et al., 1991; McDougal et al., 1995a), podría atribuirse al aumento progresivo en la concentración y pulsatilidad de LH observado a lo largo del postparto (Webb et al., 1980; Moss et al., 1985; Stagg et al., 1998), aunque, tal y como apuntó Nett (1987), esta recuperación puede precisar de 15 a 150 días después del parto en función de diversos factores de manejo, como pueden ser la nutrición o la crianza.

De acuerdo con la experiencia global vinculada al ensayo A (Diskin et al., 1999) y con otros autores (Rhodes et al., 1995b; Bossis et al., 1999), la velocidad de crecimiento de los FD fue menor en los animales subnutridos antes o después del parto (Tablas A7 y C9), aunque algunos trabajos no han detectado tal efecto (Spicer et al., 1991; Murphy et al., 1991). Esta acción de la subnutrición sobre la tasa de crecimiento folicular podría establecerse a través de la modulación de la liberación de LH, teniendo en cuenta la correlación de la

pulsatilidad de LH con la velocidad de crecimiento del FD ( $r=0.63$ ,  $p<0.05$ ) detectada en el ensayo A.

La tasa de crecimiento del FD aumentó paulatinamente con el número de ola (0.9, 1.3 y 1.7 mm/d, para los FD no ovulatorios, 1º y 2º ovulatorios, respectivamente) (Tabla C10), probablemente a medida que se normalizaba la liberación de LH, como sucedió con el tamaño máximo del FD.

Los FD que no alcanzaron la ovulación presentaron un periodo medio de atresia de 8.5 días, regresando a una mayor velocidad los folículos pertenecientes a las dos últimas olas no ovulatorias (Tabla C9). La duración media de las olas, sin embargo, tendió a ser mayor en las olas próximas a la ovulación (Tabla C10). Si es cierto que la progresiva recuperación de la secreción de LH durante el periodo postparto permite un incremento en el diámetro máximo de los FD, éstos podrían precisar más tiempo para alcanzar el tamaño preovulatorio, aumentando la duración de las olas foliculares y reduciéndose, como consecuencia, el número de olas foliculares en cada ciclo ovárico.

La duración de los periodos anovulatorios del ensayo C estuvo determinada por los niveles de alimentación preparto y postparto, así como por su interacción (Tabla C7) (18.8, 26.0, 55.5 y 192.3 días, para los lotes AA, AB, BA y BB, respectivamente), prolongándose considerablemente en las vacas del lote BB, que presentaron de media 15 olas recurrentes de crecimiento y regresión de FD antes de la primera ovulación. En este ensayo se puso de manifiesto, además, la capacidad de ovulación que presentó el FD perteneciente a la primera ola folicular postparto.

En vacas nodrizas que llegaron al parto con una CC similar a la del lote BB, Stagg et al. (1995) observaron 10.6 olas foliculares previas a la primera ovulación, sin embargo, estas vacas recibieron una ración postparto que cubrió el 100% de sus necesidades, de ahí el menor número de olas previas a la primera ovulación respecto al lote BB de nuestro ensayo.

En el ensayo C se detectaron reactivaciones con ciclo corto en los tres lotes de vacas que más pronto reiniciaron su actividad ovárica, AA, AB y BA, como ya apuntaron Blasco y Revilla (1992), así como en los animales sometidos a la dieta alta postparto ( $p<0.05$ ), de forma que el intervalo medio entre la 1ª y la 2ª ovulación en estos casos fue de 12.5 días (Tabla C7).

Este periodo tan corto, similar al referido por otros autores (Murphy et al., 1990; McDougal et al., 1995a) y ligeramente superior al señalado por Perry et al. (1991a), se ha relacionado

frecuentemente con una baja fertilidad, debido posiblemente a que la regresión del primer CL sucede antes de que el ovario reciba la señal uterina de la gestación (Odde et al., 1980).

La insuficiente exposición anterior (“priming”) a la progesterona, necesaria para que el folículo sea capaz de formar un CL funcional completo, parece ser la causa más probable de esta vida tan corta del primer ciclo ovárico postparto (Short et al., 1990), de ahí el éxito conferido a los pretratamientos con progestágenos para reducir la aparición de estos ciclos no fértiles (Ramirez-Godinez et al., 1981; Breuel et al., 1993; Mackey et al., 1997a).

Los niveles de subnutrición establecidos en los periodos preparto ( $p < 0.05$ ) y postparto ( $p < 0.05$ ) del ensayo C redujeron el tamaño de los 2 primeros CL, que oscilaron entre 20 y 23 mm, siendo en el lote BB de 16 mm. Estos resultados son muy similares a la reducción del 21 al 31% en el diámetro del CL observada por Bossis et al. (1999) en el lote de novillas de carne sometido a una restricción energética, respecto al que recibió el 100% de sus necesidades. Esta disminución en el tamaño del CL se podría explicar por la reducción en el tamaño del folículo ovulatorio señalada en condiciones de subnutrición, como apuntan los autores anteriores. En nuestro trabajo, y a excepción del lote BB, el segundo CL fue mayor al primero, como también señalaron Perry et al. (1991a).

A raíz de que la fuente de energía más importante para el ovario parece ser la glucosa, se han diseñado diversos trabajos con el propósito de relacionar la dinámica folicular con los perfiles metabólicos de las vacas. Se ha reconocido un papel estimulante de la insulina sobre la proliferación de las células de la granulosa y la esteroidogénesis folicular (Spicer et al., 1994; Webb et al., 1999), apuntándose una posible inhibición de los AGNE sobre la utilización del colesterol y la esterasa del colesterol de las células de Leidig *in vitro* (Meikle et al., 1996), quizá extrapolable a las células de la teca (Bossis et al., 1999). No obstante, no están claros los posibles efectos directos de los metabolitos en la función reproductiva, siendo su función reseñable actual la de informar al SNC del estado nutricional de la vaca.

Es evidente que la GH (Lucy et al., 1993) y el IGF-I (Adashi et al., 1985) juegan una función importante como reguladores de la función ovárica, habiéndose destacado el segundo como un posible mediador de la relación nutrición-reproducción (Rutter et al., 1989; Webb et al., 1999).

En estudios realizados *in vitro* se ha observado que la GH (Gong et al., 1994) y el IGF-I (Spicer et al., 1993; Gutiérrez et al., 1997) estimulan la proliferación y producción hormonal en las células de la granulosa. Puesto que la mayor parte del IGF-I intrafolicular proviene del IGF-I plasmático (Leeuwenberg et al., 1996), que a su vez está muy influido por la

concentración de GH (Hossner et al., 1997) y los niveles energéticos de la dieta (Elasser et al., 1989), cabría pensar que la nutrición también actúa sobre el crecimiento folicular a través de la modulación de los niveles plasmáticos de GH e IGF-I.

A pesar de estas relaciones, aún no se conocen las funciones específicas de la insulina, la GH y el IGF-I en el desarrollo folicular ovárico *in vivo* (Webb et al., 1999), de ahí que serán precisas investigaciones futuras para esclarecer la multitud de funciones directas e indirectas sobre la reproducción que se les ha asignado (Gutiérrez et al., 1997; Webb et al., 1999).

Para concluir, indicar que, en el caso de las vacas nodrizas de raza Parda Alpina sometidas a diferentes niveles alimenticios antes y después del parto, el crecimiento folicular se reinició muy tempranamente en el postparto. La subnutrición indujo una reducción en el diámetro máximo y la velocidad de crecimiento de los FD, debido, al menos en parte, a la menor frecuencia de pulsos de LH asociada. Tanto el diámetro máximo como la tasa de crecimiento de los FD presentaron un aumento paulatino a medida que avanzaba el postparto, atribuido parcialmente a la recuperación progresiva de la pulsatilidad de LH a lo largo del postparto (Stagg et al., 1998).

Además, la restricción energética aplicada durante la gestación y/o la lactación provocó un aumento en el número de olas foliculares previas a la primera ovulación, así como una reducción en el tamaño de los dos primeros CL. Las reactivaciones con ciclo corto fueron más frecuentes en las vacas que más pronto reiniciaron su actividad ovárica, así como en las sometidas a las raciones altas postparto.

Finalmente, decir que la alimentación debe de actuar sobre la dinámica folicular, en primer lugar, a través de su acción sobre la frecuencia de pulsos de LH, y en segundo lugar, modulando los niveles de los reguladores endocrinos foliculares GH e IGF-I.

### **I.1.5. DURACIÓN DEL ANESTRO POSTPARTO**

Las marcadas diferencias entre los pesos y las CC de las vacas al parto inducidas por la alimentación preparto provocaron una gran diferencia en la duración del app, prolongándose considerablemente en las vacas subnutridas (66 vs. 129 días, en el ensayo A; 31 vs. 132 días, en el ensayo C, para los lotes alto y bajo, respectivamente) (Tablas A9 y C11), de acuerdo con estudios anteriores realizados por este equipo (Revilla y Blasco, 91; San Juan et al., 1994b), así como con el clásico trabajo de Wiltbank et al. (1962).

Si bien la influencia de la alimentación preparto sobre la reactivación ovárica ha sido ampliamente constatada, no sucede lo mismo con las repercusiones de la nutrición recibida durante la lactación. En este sentido, han sido numerosos los trabajos que han descrito una ausencia de efecto de la alimentación postparto sobre la duración del app (Blasco y Revilla, 1991; San Juan, 1993; Stagg et al., 1998), como también son numerosos los trabajos que han asociado la restricción energética establecida durante la lactación con un retraso en el reinicio de la actividad ovárica postparto (Wiltbank et al., 1962; Rutter y Randel, 1984; Stagg et al., 1995).

Es probable que esta controversia se deba, además de a posibles diferencias entre las raciones postparto utilizadas en cada trabajo, a la CC con la que las vacas llegaron al parto, como muestran nuestros propios ensayos: el efecto de la alimentación postparto estuvo subordinado al nivel energético preparto, observándose una fuerte interacción entre los niveles preparto y postparto del ensayo C (42.5, 89.5, 107.3 y 150.0 días, en el ensayo A; 27.4, 33.7, 69.4 y 194.4 días, en el ensayo C, para los lotes AA, AB, BA y BB, respectivamente), como también señalaron Wright et al. (1992b) en un diseño experimental similar al nuestro (80, 89, 89 y 116 días, para los lotes AA, AB, BA y BB, respectivamente).

La alimentación postparto en el ensayo C afectó únicamente a la reactivación ovárica de las vacas que llegaron al parto con una baja CC, tal y como apuntaron otros autores (Wright et al., 1987 y 1992b), que señalaron que la nutrición postparto sólo actúa cuando la CC al parto es inferior a 2.25.

En el ensayo A, el nivel postparto influyó en la duración del app del conjunto de vacas, independientemente de la alimentación preparto recibida. En este ensayo las vacas se alojaron en estabulación trabada durante la lactación, manejo inhabitual que podría haber desencadenado una situación de estrés para las vacas (Webster, 1983), ejerciendo un efecto inhibitorio sobre el crecimiento folicular y la ovulación (Stoebel y Moberg, 1982), como observamos en otro trabajo realizado por este equipo (Sanz et al., 1999a), existiendo la posibilidad de que tal efecto estuviera enmascarado por la alimentación postparto.

Además, esta inhibición asociada al tipo de estabulación explicaría los mayores anestros obtenidos en el ensayo A, en comparación con el C, con la excepción del lote BB, cuyo anestro fue mayor en el ensayo C por cuestiones metodológicas: en el ensayo A, las extracciones de sangre para determinar los niveles plasmáticos de progesterona se mantuvieron hasta el día 150 pp, considerándose como duración del app el intervalo entre el parto y el último análisis de sangre realizado (Wright et al., 1987), mientras que en el ensayo

C, las extracciones se continuaron hasta que se detectó la segunda ovulación en todas las vacas, de ahí la diferencia de los lotes BB de ambos ensayos en idénticas condiciones de alimentación.

De los resultados del ensayo C, en el que las vacas permanecieron en estabulación libre, manejo habitual de la explotación, podríamos concluir que las vacas que presentaron una buena CC al parto (lotes AA y AB) reiniciaron su ciclicidad ovárica antes de que la restricción energética postparto pudiera afectar negativamente al plano reproductivo.

En los animales que llegaron al parto con escasas reservas corporales, las dietas altas postparto (lote BA) permitieron reactivaciones ováricas relativamente tempranas, teniendo en cuenta que estos animales permanecieron con sus terneros de forma continua, al menos, durante los 45 primeros días postparto.

El intervalo del parto a la primera ovulación en el lote BB se prolongó hasta el día 195 pp, periodo próximo al indicado por Ruiz-Cortés y Olivera-Ángel (1999) en vacas nodrizas *Bos indicus*, explotadas en condiciones extensivas tropicales.

Confirman la influencia de la alimentación preparto y postparto las altas correlaciones negativas encontradas entre la duración de app y la CC al parto ( $r=-0.71$ ,  $p<0.001$ ) y a los 3 meses del parto ( $r=-0.92$ ,  $p<0.001$ ) en el ensayo C, relaciones tan pronunciadas debido a las importantes diferencias en peso y CC al parto inducidas por los dos niveles de alimentación preparto impuestos.

Para conocer las posibles vías a través de las que la subnutrición inhibe la función reproductiva, se han analizado los perfiles metabólicos de las vacas. Ya en 1971, Oxenreider y Wagner vincularon la hipoglucemia observada en las vacas lecheras con una reducida fertilidad. Posteriormente, diversos trabajos han indicado correlaciones significativas entre la duración del app y los niveles plasmáticos de glucosa (Oxenreider y Wagner, 1971), AGNE (San Juan, 1993),  $\beta$ -hidroxibutirato (Verkerk y Guiney, 1999) o urea (Senatore et al., 1996).

Probablemente, una vez superado el pico lactación, las vacas necesitan recuperar su equilibrio metabólico, normalizándose los niveles de glucosa e insulina y reduciéndose los metabolitos indicadores de la movilización de reservas, para que la función reproductiva se reanude. Sin embargo, de la documentación revisada tampoco es posible determinar los posibles efectos directos de tales metabolitos sobre la función reproductiva (Grimard et al., 1995; Burns et al., 1997; Ponsart et al., 1999; Bossis et al., 1999).

Se ha sugerido un posible papel de la GH en la movilización grasa (Breier et al., 1993) que se produce en las vacas durante los periodos de mayores necesidades energéticas. Además, el intervalo parto-1ª ovulación se correlacionó con la frecuencia de pulsos de GH registrada el día 29 pp en el ensayo A ( $r=0.57$ ,  $p<0.05$ ), como también con los niveles de IGF-I a las 3 semanas del parto, aunque únicamente cuando la disponibilidad energética fue baja (Nugent III et al., 1993). No obstante, la función reconocida de estos factores sería a nivel local regulando la dinámica folicular ovárica, como vimos anteriormente, repercutiendo de forma indirecta en la duración del app.

De estos resultados cabe concluir que la alimentación, esencialmente la recibida antes del parto, es la que determina fundamentalmente la duración del app; la influencia de la alimentación postparto estaría subordinada a la CC de la vaca al parto, actuando únicamente sobre la función reproductiva en las vacas que presenten escasas reservas corporales en el momento del parto.

La nutrición actuaría sobre la duración del app a dos niveles, sistémico y local: a nivel sistémico, modulando la secreción de LH, en concreto la frecuencia de pulsos de LH, a partir de la información aportada por los perfiles metabólicos del animal al SNC, confirmando esta hipótesis la relación negativa obtenida en el ensayo A entre la pulsatilidad media de LH y la duración del app ( $r=-0.65$ ,  $p<0.01$ ); y a nivel local, a través del efecto directo de la liberación pulsátil de LH sobre la dinámica folicular, como también mediante la alteración de los niveles de GH e IGF-I, reconocidos reguladores foliculares en el ganado vacuno.

## **I.2. MANEJO DEL TERNERO**

La permanencia continua de los terneros con sus madres puede retrasar la reactivación ovárica postparto, de ahí que, en nuestras condiciones habituales de trabajo, el ternero permanece separado de la vaca en el periodo de crianza, mamando únicamente durante uno o dos breves periodos al día.

Hay que añadir que, a raíz de la política de extensificación propuesta por la Unión Europea, existe un interés actual hacia los sistemas de producción de vacuno en los que las vacas, prácticamente, no se estabulan en invierno o lo hacen brevemente, conduciendo a una permanencia continua de los ternero con sus madres, y, por tanto, a posibles repercusiones negativas sobre el rendimiento reproductivo de las vacas.



A pesar de los numerosos estudios realizados al respecto, aún no se conocen con profundidad los mecanismos a través de los que la crianza del ternero retrasa el inicio de la ciclicidad ovárica postparto (Williams, 1990; Viker et al., 1993; Stevenson et al., 1994; Williams et al., 1996; Griffith y Williams, 1996; Lamb et al., 1999).

Por todo ello, además del objetivo de profundizar en los mecanismos endocrinos implicados en la supresión reproductiva que provoca la crianza, nos planteamos estudiar el efecto del aislamiento visual del ternero, así como el interés de una restricción tardía de los terneros, y paralelamente analizar las posibles repercusiones de una crianza libre sobre los rendimientos productivos y reproductivos del rebaño.

### **I.2.1. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE LOS ANIMALES**

En esta Memoria, el acceso del ternero a la madre se redujo a uno (ensayos A, C y D) o dos (ensayo B) periodos al día para la lactancia, aplicándose la restricción a partir del día siguiente al parto (ensayos B y D) o a partir del día 30 (ensayo A) o 45 pp (ensayo C).

Ninguno de los manejos anteriores afectó significativamente a la evolución del peso o de la CC de las vacas durante el periodo de crianza (Tablas A3, B2, C4 y D1). Únicamente en el ensayo B las vacas cuyos terneros se mantuvieron en acceso restringido perdieron ligeramente más peso y CC en lactación. Reeves y Gaskins (1981) y Montgomery (1982) tampoco encontraron diferencias en los pesos de las vacas, durante las primeras semanas de lactación, entre vacas amamantando al ternero una o dos veces al día, o de forma libre.

El crecimiento de los terneros, así como la producción lechera de las vacas (Tablas A4, B2 y D2), tampoco estuvieron afectados por el manejo del ternero, aunque teóricamente se esperasen unas ganancias mayores en los terneros que se mantuvieron con acceso libre a su madre (Montgomery, 1982). Estos resultados, similares a los reseñados por Diskin et al. (1992), contradirían lo apuntado por Montgomery (1982), quien señaló que cuando la intensidad de la crianza del ternero se reduce a un sólo periodo diario se produce una importante reducción en las ganancias diarias de los terneros.

En nuestras condiciones de trabajo, las ganancias diarias de los terneros en AR no dependieron de que éstos tuvieran el acceso limitado a uno o dos periodos diarios desde el día siguiente al parto, como demuestra la similitud de los crecimientos de los terneros del

ensayo B y los obtenidos por los terneros de raza Parda Alpina del ensayo D (0.991 vs. 0.945 kg/d, para los ensayos B y D, respectivamente) (Tabla I1).

En cuanto a los perfiles metabólicos de las vacas, ninguno de ellos se vio afectado por el manejo del ternero aplicado a partir del día 30 pp (Tabla A5). Sin embargo, algunos trabajos han indicado que la crianza podría inducir determinadas señales metabólicas que actuarían sobre la liberación pulsátil de LH, a destacar la glucosa y el IGF-I: Ryan et al. (1995) describen un aumento en las concentraciones de IGF-I, independientemente de la dieta, después de un destete temporal durante 48 horas y la administración de GnRH para inducir la ovulación. Por su parte, Rutter et al. (1989) asociaron el destete de los terneros con un aumento en la disponibilidad de glucosa paralelamente al IGF-I en la vaca, reiniciándose la actividad ovárica postparto. No obstante, estos resultados podrían deberse a la reducción del gasto energético que supone el fin de la producción de leche, más que a un efecto directo de la supresión del estímulo de la crianza.

Sin embargo, Stagg et al. (1998) también observaron un incremento en la concentración de IGF-I cinco días después de restringir el acceso del ternero a la madre, que no pudo asociarse a un ahorro energético, ya que los animales presentaron una evolución de pesos similar. Puesto que los niveles de GH no se vieron afectados por el manejo del ternero, los autores sugieren que el aumento progresivo observado en la frecuencia de pulsos de LH a medida que se aproximaba la ovulación podría haber influido en los niveles de estradiol folicular, regulando parcialmente la concentración de IGF-I.

De estos resultados podemos concluir que la supresión de la función reproductiva causada por la permanencia del ternero no se ejercería a través de mecanismos relacionados con un posible mayor gasto energético derivado de la crianza libre, puesto que las ganancias de las vacas y los terneros fueron similares, independientemente del manejo aplicado al ternero.

### **I.2.2. NIVELES DE LH Y CRECIMIENTO FOLICULAR**

En el ensayo A, la separación y el aislamiento visual del ternero realizados alrededor del día 30 pp provocaron un aumento significativo en la frecuencia de pulsos de LH (1.38 vs. 3.00 pulsos/8h, para los días 29 y 34 pp, respectivamente,  $p < 0.01$ ), no alterándose ni la concentración ni la amplitud de pulsos (Tabla A11).

El destete de los terneros establecido 4 (Rund et al., 1989) o 35-38 días después del parto (Whisnant et al., 1985a; Faltys et al., 1987) indujo un aumento en la concentración de LH. Wright et al. (1987), por el contrario, no observaron ningún efecto de la separación del ternero durante 48 horas realizada el día 34 pp sobre la concentración de LH. De estos cuatro trabajos citados, únicamente Whisnant et al. (1985a) asociaron la manipulación del ternero a un aumento en la amplitud de los pulsos de LH.

Aunque la influencia de la crianza sobre la concentración o amplitud de los pulsos de LH continúa siendo cuestionada, la mayoría de los trabajos realizados al respecto coinciden en señalar un aumento en la frecuencia de pulsos de LH después del destete del ternero (Whisnant et al., 1985a; Faltys et al., 1987; Rund et al., 1989) o de la restricción del acceso del ternero a su madre a un periodo diario a partir del día 30 pp (Mackey et al., 1997b; Stagg et al., 1998; Diskin et al., 1999) o de la separación del ternero durante 48 horas (Wright et al., 1987), aunque en este último trabajo la pulsatilidad de LH se redujo de nuevo una semana después de la manipulación del ternero.

En este sentido, habría que destacar que la nutrición juega un papel fundamental sobre la capacidad que tiene la manipulación del ternero para aumentar la pulsatilidad de LH, lo que explicaría la ausencia de efecto del destete del ternero practicado por Bishop et al. (1994) el día 41 pp sobre la frecuencia de pulsos de LH, en vacas que llegaron al parto con una baja CC.

Las restricciones del acceso de la cría a la madre realizadas en los ensayos A, C y D no alteraron las propiedades de las olas foliculares que han sido examinadas en esta Memoria (Tablas A7, C9 y D4). Oxenreider y Wagner (1971) analizaron las estructuras ováricas mediante palpación rectal, reseñando mayores intervalos del parto a la detección de folículos mayores de 10 mm en las vacas que estaban criando, en comparación con las que se ordeñaban o las que ni se ordeñaban ni criaban. Posteriormente, también se observó que las vacas que criaban tenían un menor número de folículos ováricos, de menor tamaño y con menores concentraciones de estradiol que las que no lo hacían, reduciéndose además el porcentaje de folículos sanos (Bellin et al., 1984).

Short et al. (1979) responsabilizaron a la crianza de un aumento en la sensibilidad del hipotálamo al feedback negativo del estradiol, así como de una reducción en la capacidad de respuesta del hipotálamo al feedback positivo del estradiol tres semanas después del parto. Además, diversos autores han implicado a los EOP en la supresión de la liberación de

GnRH/LH inducida por el amamantamiento (Malven et al., 1986; Whisnant et al., 1986a; Nett, 1987; Williams, 1990).

El estímulo de la crianza podría impedir la maduración final de los folículos mediante la supresión de la secreción de LH, conduciendo a un insuficiente crecimiento folicular para alcanzar el tamaño preovulatorio, y frenando la producción de estradiol folicular necesario para inducir el pico preovulatorio de LH y la ovulación (Wiltbank, 1999b).

No obstante, después de analizar nuestros resultados, no parece que el amamantamiento ejerza un efecto local a nivel ovárico sobre la población folicular.

### **I.2.3. DURACIÓN DEL ANESTRO POSTPARTO**

En condiciones intermedias de alimentación (Ensayo D: CC al parto de 2.48 y ración de mantenimiento en lactación) la permanencia continua de los terneros con sus madres ocasionó, en el caso de las vacas de raza Parda Alpina, un marcado retraso en el reinicio de la actividad ovárica postparto (31.8 vs. 82.7 días, para los lotes AR y AL, respectivamente) (Tabla I1), similar al observado en otras experiencias realizadas por este equipo (San Juan et al., 1994a). Otros autores han indicado un retraso parecido, aunque la restricción del acceso del ternero se iniciara entre los días 21 y 35 pp (Randel, 1981; Bluntzer et al., 1989; Diskin et al., 1992; Browning et al., 1994).

El mayor estado corporal al parto de las vacas del ensayo B (CCp: 2.65) en relación al ensayo D se tradujo en una ausencia de efecto de la crianza libre sobre la función reproductiva (38.7 vs. 38.9 días, para los lotes AR y AL del ensayo B, respectivamente), confirmando el papel modulador de la alimentación preparto sobre la intensidad de la influencia del resto de factores que pueden afectar a la reactivación ovárica postparto.

La duración del app de las vacas que llegaron al parto con una CC próxima a 3, en el ensayo C, fue de 30 días, no dependiendo de que estos animales mantuvieran su peso durante la lactación o llegaran a perder 1.13 kg diarios, como tampoco de que los terneros se criaran de forma libre con sus madres, corroborando el hecho de que la alimentación preparto parece ser el factor que determina fundamentalmente la reproducción, por encima de la alimentación postparto o de la crianza. Warren et al. (1988) también justificaron la ausencia de efecto del manejo del ternero sobre la función reproductiva por el hecho de que las vacas presentaron una CC superior a 5 (en la escala de 1 a 9).

En la literatura otros estudios también han señalado que el estímulo del amamantamiento será más pronunciado cuanto menor sea la alimentación que reciben las vacas (Whisnant et al., 1985b; Schillo, 1992; Browning et al., 1994; Jolly et al., 1995).

En contra de los resultados obtenidos en los ensayos B y C, en el ensayo A se detectó un efecto depresor de la crianza del ternero sobre la duración del app incluso en las vacas que parieron con una CC de 2.7. En este caso y a pesar de que los animales recibieron una dieta postparto lo suficientemente alta, la reactivación ovárica se retrasó tanto por la crianza libre como por la subnutrición aplicada durante la crianza.

Esta circunstancia la hemos asociado al hecho de que en nuestra explotación se practica habitualmente una estabulación de tipo libre, por lo que la estabulación trabada utilizada en este ensayo pudo actuar como un estrés alternativo (Webster, 1983), inhibiendo parcialmente la liberación de gonadotropinas y participando en el bloqueo de la ovulación (Stoebel y Moberg, 1982), como se comprobó posteriormente (Sanz et al., 1999a), relación que pudo ocultarse bajo los efectos de la alimentación o de la manipulación del ternero.

Respecto a las vacas subnutridas durante el último tercio de gestación, la limitación del acceso del ternero a la madre redujo la duración del app únicamente en las sometidas al nivel alto de alimentación postparto del ensayo A (82.5 vs. 132.0 días, para los lotes AR y AL del grupo BA, respectivamente).

El nivel alto postparto ofrecido en el ensayo C fue tan elevado (160%) que permitió una recuperación del estado metabólico de forma temprana, presentando el lote BA su primera ovulación el día 69 pp, independientemente del manejo aplicado al ternero.

Puesto que 5-6 semanas después del parto el almacén hipofisario de LH debía estar recuperado (Nett, 1987) y que la influencia de la separación del ternero sobre la liberación pulsátil de LH se ejercería a corto plazo (Wright et al., 1987; Mackey et al., 1997b), en el ensayo C iniciamos la restricción del acceso del ternero a la madre el día 45 pp, con el fin de aplicar el efecto beneficioso de la separación del ternero sobre la reactivación ovárica en el momento oportuno (Williams et al., 1987; Bishop et al., 1994). Sin embargo, en las condiciones del ensayo, la manipulación resultó ser tardía, conduciendo a que el efecto del manejo del ternero fuera secundario al ejercido por la alimentación postparto.

Este ensayo mostró que en animales extremadamente delgados al parto la oferta de unas raciones elevadas durante la lactación permitirá reactivaciones relativamente tempranas, inclusive en condiciones de crianza libre, como puede suceder en los sistemas extensivos de explotación.

Por último, en las vacas subnutridas tanto antes como después del parto, la manipulación del ternero no resultó ser una práctica útil para reducir la duración del app, que se prolongó considerablemente (150 y 194 días, para los lotes BB de los ensayos A y C, respectivamente), como también ocurrió en la experiencia de Bishop et al. (1994).

Por otra parte, y comentando brevemente el manejo del ternero utilizado en el ensayo A, la restricción y el aislamiento del ternero realizados en presencia de un FD incipiente, alrededor del día 30 pp, desencadenó la ovulación en tres de las cuatro vacas que llegaron al parto con mejor CC y en 1 de las sometidas al nivel bajo preparto, presentando una tendencia a acortar la duración del app ( $p=0.08$ ). Del mismo modo, en la experiencia a la que está vinculado el ensayo A, esta manipulación del ternero indujo un mayor porcentaje de ovulaciones en las vacas que presentaron mejor CC al parto (Sinclair et al., enviado). En otros trabajos, la reactivación ovárica se inició cuatro días después del destete de los terneros realizado los días 38 (Whisnant et al., 1985a) o 50 postparto (Viker et al., 1989).

Debido a las posibles repercusiones negativas sobre la reproducción derivadas del tipo de estabulación en la que permanecieron los animales del ensayo A, no sería apropiado comparar el efecto de la restricción habitualmente practicada en La Garcipollera con el de la separación y aislamiento visual aplicados en el ensayo A sobre la función reproductiva.

Diversos trabajos han señalado un efecto positivo del aislamiento del ternero a 60 m de sus madres sobre la duración del app (Diskin et al., 1995; Mackey et al., 1997a; Mackey et al., 1997b; Stagg et al., 1998). En este sentido, el estudio de Griffith y Williams (1996) demostró que la vaca es capaz de reconocer a su ternero mediante la vista o el olfato, por lo que sólo la eliminación de ambos sentidos impidió el reconocimiento del ternero, anulando la inhibición que ejerce el amamantamiento sobre la secreción de LH.

Viker et al. (1993), por su parte, mantienen que los estímulos visuales, auditivos y olfativos, así como el contacto del ternero con la cabeza y el cuello de la madre no son capaces de suprimir la función reproductiva, siendo necesario que el ternero estimule la zona inguinal de la vaca para retrasar la reactivación ovárica postparto. Incluso en vacas mastectomizadas, la propia posición que adquiere el ternero para lactar y determinados reflejos originados en el vientre de la vaca podrían iniciar el bloqueo de la secreción de LH y, por tanto, de la ovulación.

Determinar los límites nutritivos a partir de los que la permanencia continua del ternero con su madre puede convertirse en un factor supresor de la función ovárica continúa siendo

complicado, si tenemos en cuenta que la crianza debe actuar a nivel central reforzando la supresión que ejerce la subnutrición sobre la liberación pulsátil de LH.

La respuesta a la separación del ternero estará en función del estado corporal de las vacas en el momento del parto, de modo que, en la raza Parda Alpina y en nuestras condiciones de explotación podemos establecer que:

- si la CC al parto es elevada ( $>2.7$ ) la permanencia continua del ternero con su madre no influirá en la reactivación ovárica postparto.

- si la CC al parto es intermedia la restricción del acceso del ternero a la madre permitirá que las vacas reinicien su actividad ovárica relativamente pronto y, fundamentalmente, antes del inicio del periodo de cubriciones (tres meses después del parto).

- si la CC al parto es baja ( $<2.25$ ) la restricción del acceso del ternero a la madre no presentará ningún beneficio en el plano reproductivo; sin embargo, la oferta de niveles energéticos elevados durante la lactación permitirá que los animales alcancen su equilibrio energético, evitando que el periodo anovulatorio se prolongue más allá del inicio del periodo de cubriciones.

Mientras que en las dos primeras situaciones, el ganadero podrá reducir los costes alimenticios durante la lactación, asegurándose un alto porcentaje de gestaciones para el año siguiente, en el tercer caso será preciso incrementar de forma importante las raciones postparto, existiendo la posibilidad de que las vacas no se encuentren cíclicas durante el periodo de cubriciones, lo que reduciría considerablemente el rendimiento reproductivo del rebaño.

Además, hay que insistir en que, a pesar de que determinadas prácticas de manejo del ternero han resultado ser útiles para reducir el periodo anovulatorio de las vacas, su aplicación va a ser difícil en condiciones extensivas de explotación, reiterándose la importancia de la alimentación recibida durante el último tercio de gestación sobre la modulación del efecto del resto de factores que pueden intervenir en la reactivación ovárica postparto del ganado vacuno.

### **I.3. RAZA**

En numerosas ocasiones se han asociado diferencias en la duración del app con la raza de las vacas (Pelot et al., 1984; Short et al., 1990; McDougall et al., 1995b). No obstante, y como veíamos en la revisión de documentación, tales diferencias podrían deberse más que

a la propia raza a los distintos sistemas de explotación y manejo a los que son sometidas las vacas, en función de la finalidad productiva, la región donde se explotan o el sistema de alimentación utilizado.

El rebaño experimental de La Garcipollera está formado por las dos razas de ganado vacuno más comúnmente explotadas en el Pirineo, la Parda Alpina, de aptitud mixta con buen potencial lechero, y la Pirenaica, de aptitud cárnica, manejándose ambas razas como vacas nodrizas en idénticas condiciones.

Desde que se iniciaron los trabajos de investigación en esta explotación, se han observado diferencias raciales, que, si bien a nivel productivo han sido las esperadas teóricamente, a nivel reproductivo han resultado ser contrapuestas en las diversas experiencias, de ahí el interés de conocer la respuesta a nivel ovárico de estas razas a dos manejos del ternero diferentes, en condiciones no restrictivas de alimentación.

### **I.3.1. DIFERENCIAS RACIALES EN LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS DE LOS ANIMALES**

Con el fin de que las vacas de raza Parda no mantuvieran la mayor producción lechera observada en experiencias anteriores (Blasco, 1991; San Juan, 1993; Villalba et al., 1997b) a costa de mayores pérdidas de peso, éstas recibieron diariamente 10 MJ EM más que las Pirenaicas. Sin embargo, las Pardas presentaron una ligera pérdida de peso a lo largo de la lactación, contrariamente a las Pirenaicas (-0.151 vs. +0.274 kg/d, respectivamente,  $p < 0.001$ ), diferencia que también quedó patente en su estado corporal (Tabla D1).

La comparación de la producción lechera registrada en el ensayo D (9.5 vs. 6.6 l/d, para Parda y Pirenaica, respectivamente) y la observada a lo largo de 6 años en el mismo rebaño experimental (7.8 vs. 6.6 l/d, para Parda y Pirenaica, respectivamente) (Blasco, 1991; San Juan, 1993; Villalba et al., 1997b) explicaría las evoluciones que siguieron los pesos, reiterándose la diferente pauta de reparto de la energía observada en función de la raza (Casasús, 1998), de forma que las vacas de raza Parda destinaron preferentemente la energía a la producción de leche, incluso la energía suministrada de forma extra, de ahí el aumento de su producción lechera en 2 kg diarios sobre la media registrada en años anteriores, mientras que las de raza Pirenaica priorizaron la acumulación de reservas corporales.



El porcentaje graso de la leche fue mayor en la raza Pirenaica (36.8 vs. 46.9 g/kg, para Parda y Pirenaica, respectivamente), siendo la tasa proteica similar en ambas razas (Tabla D2), de acuerdo con las comparaciones de la producción lechera de ambas razas realizadas anteriormente (Villalba et al., 1997b; Casasús, 1998).

Aunque los pesos de los terneros al nacimiento fueron similares, la superior producción de leche de las Pardas se reflejó en los mayores crecimientos y pesos finales de sus terneros, como corrobora la correlación observada entre la PLB de la madre y la ganancia media diaria del ternero ( $r=0.53$ ,  $p<0.01$ ), si bien esta correlación fue inferior a la obtenida en el ensayo C, en el que la producción lechera presentó un mayor abanico debido a los niveles extremos de alimentación aplicados.

En cuanto al manejo del ternero, el hecho de que las crías permanecieran con acceso libre o restringido a las vacas no afectó en ningún momento al rendimiento productivo de los animales de ambas razas, de acuerdo con lo indicado en apartados anteriores.

### **I.3.2. PARÁMETROS REPRODUCTIVOS DE AMBAS RAZAS**

La dinámica de la población folicular existente en el periodo anovulatorio no difirió en función del manejo aplicado al ternero durante la crianza, de acuerdo con los resultados de los ensayos anteriores, o de la raza (Tabla D4).

En condiciones moderadas de alimentación y para ambas razas, la cohorte folicular en emergencia estuvo formada por 6.5 folículos de media, presentando el futuro FD un tamaño medio de 5 mm para ambas razas. Este FD creció a una velocidad media de 1.3 mm/d, hasta alcanzar un diámetro máximo de 14 mm.

En los casos en que este FD alcanzó la ovulación, dio lugar a un CL de entre 16 y 20 mm de diámetro (Tabla D3). El periodo de atresia folicular de los FD que no ovularon (9.6 días) así como la velocidad de atresia (0.81 mm/d) tampoco difirieron entre razas (Tabla D4).

Algunos autores han asociado determinadas diferencias observadas en la dinámica folicular a un factor genético. Recientemente, Niasari-Naslaji et al. (1999) han determinado que la velocidad de crecimiento y el diámetro del folículo ovulatorio es mayor en vacas del tronco *Bos taurus* frente a vacas *Bos indicus*, mantenidas en el mismo ambiente. Por su parte, Burke et al. (1995) describieron un patrón folicular diferente para las razas Frisona o Jersey, independientemente del peso vivo de las vacas: mientras que en la raza Frisona la

mayoría de sus ciclos estrales tuvieron dos olas foliculares, la raza Jersey presentó una proporción similar de ciclos con dos o tres olas.

En nuestro ensayo se observó un aumento progresivo en el diámetro máximo del FD y su velocidad de crecimiento (11.9, 16.8 y 17.2 mm; 1.1, 1.4 y 1.7 mm/d, para los FD no ovulatorios, 1º y 2º ovulatorios, respectivamente), al igual que en el ensayo C, así como en la duración de las olas foliculares a medida que se acercaba la fase ovulatoria de las vacas (Tabla D5), eventos probablemente asociados a la recuperación gradual de la secreción de LH que sucede en el periodo postparto (Webb et al., 1980; Moss et al., 1985; Stagg et al., 1998).

En condiciones moderadas de alimentación y para ambas razas, la evolución del diámetro máximo y de la tasa de crecimiento de los FD a lo largo del postparto presentó una progresión definida por una ecuación de tercer grado, de modo que ambos parámetros presentaron una constancia durante el periodo anovulatorio, aumentando rápidamente a partir de las tres últimas olas no ovulatorias (Figura D4).

En este sentido, Dimmick et al. (1991) también describieron una variación progresiva del diámetro del mayor folículo detectado, que se adaptó a una ecuación de segundo grado. Stagg et al. (1995) apuntaron que el aumento progresivo del diámetro máximo del FD se ajustaba a una ecuación de segundo grado, y el de la tasa de crecimiento a una ecuación lineal, aunque esta diferencia en relación a nuestros modelos se deba probablemente a que en el estudio de Stagg et al. (1995) se incluyeron únicamente los folículos no ovulatorios.

La duración media de las olas foliculares fue de 8 y 9 días en las razas Pirenaica y Parda (Tabla D4), respectivamente, sucediéndose entre 1 y 13 olas foliculares no ovulatorias antes de la primera ovulación en función del modelo de reactivación ovárica (Figura D3), que a su vez estuvo determinado por la raza y el manejo aplicado al ternero (Tabla D3).

La respuesta ovárica a la permanencia continua del ternero con su madre fue diferente en función de la raza, observándose una fuerte interacción raza\*crianza ( $p < 0.001$ ). Mientras que en la raza Pirenaica el acceso libre del ternero a la vaca no afectó a la duración del app (43.5 vs. 31.8 días, para los lotes AR y AL, respectivamente), en la Parda se tradujo en un retraso importante en el reinicio de la actividad ovárica (31.8 vs. 82.7 días, para los lotes AR y AL, respectivamente) (Tabla D6).

Comparando los lotes AR, manejo utilizado habitualmente en la finca experimental, ambas razas presentaron un intervalo parto-1<sup>a</sup> ovulación similar, adelantándose incluso la reactivación ovárica en la raza Parda aunque esta diferencia no fue significativa (31.8 vs. 43.5 días, para Parda y Pirenaica, respectivamente, NS). Estos datos confirman los resultados de un análisis global de los registros obtenidos de vacas de raza Parda y Pirenaica a lo largo de 6 años, manejados todos los terneros en acceso restringido (40 vs. 44 días) (Revilla, 1997). Por lo tanto, queda claro que en condiciones de manejo del ternero en AR la capacidad de reiniciar la actividad ovárica postparto es similar en ambas razas.

En otra experiencia realizada por este equipo (San Juan et al., 1994a) y con niveles alimenticios similares a los anteriores, el acceso libre del ternero a la madre influyó en la duración del app tanto en la raza Parda como en la Pirenaica (91.6 vs. 145.8 días, para los lotes AR y AL de la raza Parda; 55.3 vs. 94.4 días, para los lotes AR y AL de la raza Pirenaica, respectivamente). Estas reactivaciones tan tardías en la Parda se asociaron con una inferior CC al parto y, fundamentalmente, con el hecho de que de las 27 vacas Pardas 8 eran animales de 2<sup>o</sup> parto, de los que 5 permanecieron en anestro total. A diferencia de nuestros resultados, la raza Pirenaica también resultó afectada por la crianza continua de los terneros.

La frecuencia de aparición de reactivaciones con un ciclo de tipo corto, y por tanto el intervalo 1<sup>a</sup> -2<sup>a</sup> ovulación, fueron similares en ambos manejos del ternero y razas.

En nuestro caso, las diferencias raciales encontradas en el la duración del app no parece que tengan su origen en diferencias en el comportamiento de la población folicular. Estos resultados sugieren que la alimentación no deficitaria permitió una restauración de la liberación de LH suficiente para inducir el crecimiento folicular en todas las vacas. En la raza Parda, sin embargo, la permanencia continua del ternero con su madre pudo reducir la capacidad esteroidogénica del FD, que no fue capaz de estimular el pico preovulatorio de LH, ni la ovulación (Wiltbank, 1999b). Del mismo modo, estos resultados confirman que el diámetro del FD no tiene porqué estar directamente relacionado con su capacidad de ovulación.

A continuación apuntamos algunas de las hipótesis recogidas en la bibliografía en relación a las diferencias raciales encontradas en la duración del app.

Short et al. (1990), analizando los resultados productivos de vacas de leche utilizadas como nodrizas, indicaron las vacas de aptitud lechera podrían ser más sensibles al estímulo de la crianza, como observamos en nuestro ensayo con la raza Parda Alpina.

Por otra parte, la raza Parda podría presentar un comportamiento maternal superior a la Pirenaica, conducta que se ha relacionado con una menor pulsatilidad de LH (Terqui et al., 1982), así como con una mayor profundidad de anestro postparto (Hoffman et al., 1996).

Browning et al. (1995) asociaron la menor producción lechera a un inferior estímulo de amamantamiento debido a la menor frecuencia con la que el ternero “visitaría” a su madre, de manera que en nuestro caso el efecto de la permanencia continua del ternero con la madre pudo ser sensiblemente menor en la raza Pirenaica.

De cualquier forma, la consecuencia final de la crianza libre en la raza Parda, en las condiciones del ensayo D, cabe pensar que fue la inhibición del pico preovulatorio de LH y de la ovulación.

Si aceptamos el papel modulador de la nutrición sobre la función reproductiva, aparentemente, el nivel de restricción alimenticia a partir del cual otros factores, como la permanencia continua del ternero con su madre, comienzan a actuar podría ser diferente para cada una de las razas implicadas en este ensayo.

En cuanto a la raza Pirenaica, una CC al parto de 2.5 fue suficiente para eludir el estímulo del ternero, mientras que en las vacas de raza Parda fue necesaria una CC al parto superior a 2.7 para que el estímulo de la permanencia continua del ternero no retrasara la reactivación ovárica, como sucedió en los ensayos B y C.

Estos resultados, con niveles de alimentación moderados tanto antes como después del parto, y a pesar de las complejas interacciones que existen entre todos los factores que afectan a la reactivación ovárica postparto, señalarían que la raza Pirenaica podría tener una menor sensibilidad al bloqueo que la crianza ejerce sobre la reproducción.

Este hecho sería de suma importancia de cara a la puesta en práctica de los sistemas extensivos, que conducirían a una permanencia del ternero con la madre durante toda la lactación. La estrategia de alimentación en condiciones extensivas no debería ser la misma para ambas razas, debiéndose incrementar los niveles de reservas corporales al parto en los animales de raza Parda Alpina en relación a la Pirenaica.

En todo caso, deberán plantearse futuros ensayos para determinar los mecanismos por los que la raza Pirenaica no se vio afectada por el efecto supresor de la crianza en idénticas

condiciones nutritivas que la raza Parda, quedando pendiente analizar las pautas de comportamiento de los terneros de ambas razas durante la crianza, que podrían explicar como la raza supuestamente más rústica resultó ser la menos maternal, en contra de lo esperado teóricamente (Valdelvira, 1988; Rincón y Albarrán, 1990).

En resumen, este ensayo confirmaría la teoría, ya planteada por este equipo (Casasús, 1998), de la diferente partición de energía en función de la raza, de modo que la raza Pirenaica presentó mayores ganancias de peso, mientras que la Parda destinó un mayor porcentaje de energía a la producción lechera, produciendo aproximadamente tres kg más de leche al día que la raza Pirenaica, lo que se reflejó en los crecimientos de los terneros.

Ambas razas presentaron unas características similares en el desarrollo folicular ovárico, así como un aumento progresivo del diámetro máximo y la velocidad de crecimiento de los FD a medida que se aproximaba la fase ovulatoria, ajustándose tales eventos a una ecuación de tercer grado.

En condiciones de manejo del ternero en acceso restringido a la madre, ambas razas presentaron una duración del app similar. Por el contrario, la raza Parda fue más sensible que la Pirenaica a la permanencia continua del ternero, presentando un retraso importante en la reactivación ovárica postparto y evidentemente un aumento en el número de olas foliculares previas a la primera ovulación en relación a la Pirenaica.

Esta desigualdad entre razas, sin embargo, no se originaría a través de un mayor gasto energético en el caso de la raza Parda, por su mayor producción lechera, o por diferencias en la dinámica del crecimiento folicular. Aunque con nuestros resultados no podemos afirmar por qué, en similares condiciones nutritivas, la raza Parda fue más sensible al estímulo de la permanencia continua del ternero que la raza Pirenaica, nos planteamos la hipótesis de que este manejo pudo influir en la Parda, tanto a nivel hipotalámico alterando su sensibilidad al estradiol, como en aspectos relacionados con la capacidad esteroideogénica de los FD, estando todo ello mediado por los EOP (Wiltbank, 1999b), y que deberá ser objeto de estudios posteriores.

## ***PARTE II.***

---

***FACTORES DE EXPLOTACIÓN ASOCIADOS A LA DURACIÓN  
DEL ANESTRO POSTPARTO Y TIPOLOGÍA DE VACAS  
IDENTIFICADA MEDIANTE ANÁLISIS MULTIVARIANTES***

***ENSAYO E***

---

## **E.1. OBJETIVO**

En este ensayo se pretende realizar un análisis global de los posibles factores de manejo vinculados tradicionalmente a la reproducción de las vacas nodrizas, para determinar cuales de ellos están asociados a la reactivación ovárica postparto. Teniendo en cuenta tales factores se establecerá una tipología de vacas atendiendo a sus características productivas y reproductivas.

## **E.2. MATERIAL Y MÉTODOS**

Para cumplir los objetivos previstos se analizaron los rendimientos productivos y la reactivación ovárica postparto de un rebaño de vacas nodrizas explotadas en el Pirineo oscense durante el periodo comprendido entre los años 1987 y 1998. El manejo general de los animales fue el descrito en el apartado 3.3.

Para la realización de este estudio se contó con 549 partos, e inicialmente se consideraron 22 variables (Tabla E1).

Los diferentes pasos de la metodología se presentan en la Figura E1.

### **E.2.1. Análisis estadístico multivariante**

La información disponible se caracterizaba por un elevado número de datos (debido a la gran cantidad de variables relacionadas con la reactivación ovárica postparto), de diversa naturaleza (variables cuantitativas y cualitativas) y con una compleja estructura debido a la existencia de interacciones entre las variables. Por todo ello, en el estudio se utilizó una metodología adecuada para el tratamiento estadístico de grandes matrices de datos, la estadística multivariante, en concreto, el Análisis Factorial de Correspondencias Múltiples (AFCM) y el Análisis Cluster de Clasificación Jerárquica Ascendente (Carrasco y Hernán, 1993).

#### **E.2.1.1. Análisis Factorial de Correspondencias Múltiples (AFCM)**

Mediante éste y otros métodos multivariantes se trata de describir la información original de forma sintética y resumida, condensando las variables iniciales (cualitativas, o cuantitativas categorizadas) en un número menor de nuevas variables creadas en el propio análisis, que contienen la mayor parte posible de la información original. Las variables iniciales empleadas en el AFCM también se denominan *activas*.



Figura E1. Representación esquemática de los pasos de la metodología empleada.



El AFCM extrae relaciones entre categorías, lo que permitirá agruparlas si se detecta que se “corresponden” (Carrasco y Hernán, 1993). Así, se pueden conocer las variables y categorías que contribuyen en mayor grado a formar parte de las nuevas variables y, por tanto, explican mayor cantidad de la inercia del modelo. El concepto de inercia en el análisis de correspondencias es análogo al de varianza en el análisis de componentes principales, y es proporcional a la información aportada por  $\chi^2$  (SAS, 1990).

Las nuevas variables creadas, también denominadas ejes, factores o dimensiones, van a definir el espacio en que se representan las categorías iniciales. Estas dimensiones son cuantitativas, lo que permitirá la aplicación posterior de otras pruebas multivariantes cuantitativas.

Este tipo de análisis permite incluir a posteriori nuevas categorías (*suplementarias*) que, aunque no participaron en la definición de los ejes, interese analizar su relación con las categorías de las variables activas (González, 1991).

La métrica del AFCM se basa en la distancia entre diferentes categorías de una variable, calculada mediante la suma de las diferencias cuadráticas relativas entre las frecuencias de ambas distribuciones, es decir, el concepto de  $\chi^2$  (Carrasco y Hernán, 1993).

Para el desarrollo de los AFCM realizados en este trabajo se utilizó el procedimiento CORRESP (SAS, 1990).

### **E.2.1.2. Análisis Cluster (Clasificación Jerárquica Ascendente)**

Es un método estadístico multivariante de clasificación automática, que forma grupos de individuos homogéneos entre sí y heterogéneos respecto a los otros grupos, en función de unas variables caracterizadoras de dichos individuos (Sánchez, 1984). Es importante que estas variables no sean dependientes, de modo que, en ocasiones, se realiza una selección de las variables a través de un análisis factorial previo del que se obtienen nuevas variables (dimensiones).

Es preciso definir la distancia entre individuos y la distancia entre grupos de individuos.

De las diversas formas que existen para medir la distancia entre individuos, en este trabajo se empleó la distancia euclídea (para dos variables: distancia  $(h) = (a^2 + b^2)^{1/2}$ ). Cuanto menor es la distancia entre dos individuos mayor es su parecido, y viceversa (Carrasco y Hernán, 1993). Por tanto, el método transforma la tabla de observaciones\*variables en una tabla de distancias que recoge la disimilaridad entre todos los individuos, a partir de la cual actúa el Análisis Cluster (Grande y Abascal, 1999).

Existen dos grandes tipos de Análisis Clusters: No jerárquicos (asignan las observaciones a grupos independientes creados por el propio análisis) y jerárquicos (forman grupos con estructura arborescente). Estos últimos pueden ser ascendentes (aglomerativos) o descendentes (disociativos).

Los Análisis Clusters Jerárquicos Ascendentes se caracterizan por un proceso iterativo en el que en cada etapa se unen grupos de individuos de la etapa anterior, formando un árbol cuya representación gráfica se denomina “dendrograma”, hasta llegar a un grupo que contiene todos los individuos. Este proceso se puede detener en un momento intermedio obteniéndose un número de grupos determinado.

Para establecer la distancia entre grupos existen diversos criterios de agregación, como son los algoritmos *simple*, *completo*, *promedio* o *centroide*. En este análisis se aplicó el algoritmo centroide, en primer lugar, por ser el más robusto de los métodos jerárquicos ante la presencia de casos atípicos (Carrasco y Hernán, 1993), y en segundo lugar, por utilizar la misma métrica que el AFCM, la distancia euclídea (SAS, 1990). Este criterio considera como distancia entre dos grupos la existente entre sus centros de gravedad, definidos por las medias aritméticas de las variables de los individuos que componen los clusters.

En este estudio se llevó a cabo un Análisis Cluster Jerárquico Ascendente mediante el procedimiento CLUSTER (SAS, 1990), partiendo de las dimensiones obtenidas en los AFCM previos.

### **E.2.2. Variables utilizadas en el estudio**

A partir de la información disponible fueron seleccionadas las 22 variables que, a priori, podían estar implicadas en la regulación de la duración del anestro postparto de las vacas nodrizas, y que se relacionan en la Tabla E1.

Se dispuso de los registros obtenidos de 549 vacas en la explotación a lo largo del periodo 1987-1998, lo que supuso 324 observaciones de vacas con parto en primavera (razas Parda Alpina y Pirenaica) y 225 de vacas con parto en otoño (sólo vacas de raza Parda Alpina). De estas observaciones, 403 correspondieron a animales de raza Parda Alpina y 146 a animales de raza Pirenaica, contándose con 127 vacas de primer parto y 422 múltiparas.

**Tabla E1.** Variables de partida utilizadas en los Análisis Factoriales de Correspondencias Múltiples (AFCM).

EPOCPA	época de parto	1: primavera 2: otoño
RAZA	raza de la vaca	1: Parda Alpina 2: Pirenaica
NUPAR	número de parto	primíparas: 1 <sup>er</sup> parto multíparas: resto
GEMELO *	parto gemelar	1: no 2: si
TIPOPA	tipo de parto	1: sin dificultad y sin ayuda 2: con ayuda, pero no necesaria 3: ayuda necesaria, extracción de feto, presentación anormal 4: extracción de feto mediante trócola 5: cirugía necesaria, cesárea
SEXO *	sexo del ternero	1: macho 2: hembra
CRIA	manejo del ternero	AR: Acceso Restringido AL: Acceso Libre
REACT	reactivación ovárica postparto	días
PPRE	peso de la vaca 4 meses antes del parto	kg
VAPRE	variación relativa peso 4 últimos meses gestación	%
PPAR	peso de la vaca al parto	kg
PDTTV *	peso de la vaca al destete	kg
GMDV *	ganancia media diaria de la vaca en lactación	kg
VAPOS	variación relativa peso 3 meses lactación	%
PNT0	peso del ternero al nacimiento	kg
PDTT *	peso del ternero al destete	kg
GMDT	ganancia media diaria del ternero en postparto	kg
DLACTA *	duración de la lactación	días
LECHE *	producción diaria de leche	kg
CCPRE	condición corporal vaca 4 meses antes del parto	
CCP	condición corporal vaca al parto	
CCPOS	condición corporal vaca 3 meses postparto	

(\*) Variables excluidas del primer AFCM

El tipo de parto según su grado de dificultad osciló de 1 a 5, en una escala adaptada de la propuesta por Brinks et al. (1973).

El estudio de la reactivación ovárica postparto de las vacas se basó en la evolución de los niveles de progesterona en sangre periférica determinada según la metodología descrita en el apartado 3.5.2.

El peso del ternero al nacimiento en el caso de los partos gemelares representó el sumatorio del peso de los dos fetos gestados. Debido al manejo tradicional de la explotación, en el 80 % de las lactaciones el ternero permaneció con acceso restringido a su madre; el nuevo manejo en el que el ternero se mantenía de forma permanente con la madre se introdujo en el año 1991, acumulándose hasta 1998 un total de 112 lactaciones correspondientes a este manejo del ternero, aunque no se dispuso de observaciones de vacas primíparas sometidas a este último manejo.

Se han considerado los pesos de vacas y terneros en los momentos más relevantes que marcan el inicio o el final de un periodo de manejo. Todos los datos utilizados se obtuvieron por doble pesada, considerando la media de dos pesadas realizadas en dos días consecutivos, y el peso al parto se calculó como la media entre el peso el día del parto y el registrado una semana más tarde. Debido a que las vacas se encontraban en estados de gestación variables, y con el fin de estimar la variación de peso corporal real obtenida en el periodo preparto, se tomó en consideración el peso del útero grávido ( $P_{ug}$ : feto + anejos) al calcular el peso 4 meses antes del parto, según la corrección propuesta por el INRA (1978):

$$PV_{cor} = PV - P_{ug} = PV - \left[ \left( e^{(-6.43 + 1.728 * \ln(t)) * \frac{P_t}{37.8}} \right) - (2.43) + \left( P_t * e^{2.748 * (1 - e^{0.00487 * (286 - t)})} \right) \right]$$

donde en  $P_{ug}$  el primer término corresponde al peso de las envueltas y líquidos en el día de gestación  $t$ , el segundo es el peso del útero vacío y el tercero corresponde al peso del ternero en el día  $t$ , siendo  $P_t$  el peso al nacimiento del ternero nacido tras el periodo preparto en estudio.

Las ganancias medias diarias de las vacas y de los terneros se consideraron como una función lineal entre las pesadas inicial y final. La variación relativa de peso (%) se calculó como la diferencia entre el peso final e inicial de cada periodo, dividida por el peso inicial, y

multiplicado todo ello por 100 (variaciones relativas positivas correspondieron a animales que ganaron peso y variaciones relativas negativas a animales que perdieron peso).

Se determinó la CC según la metodología general (apartado 3.5.1).

La producción de leche se estimó, con diferentes frecuencias en cada año, mediante la pesada del ternero antes y después del amamantamiento o mediante ordeño mecánico tras la administración de oxitocina, según la metodología general descrita.

### **E.2.3. Estudio de las relaciones entre las variables mediante AFCM**

En primer lugar se determinó el coeficiente de correlación entre todas las variables mediante el procedimiento CORR (SAS, 1990), para eliminar las variables que aportaban información redundante. Se excluyeron las variables *peso del ternero al destete*, correlacionado con la GMD del ternero ( $r= 0.60$ ,  $p<0.001$ ); *peso de la vaca al destete*, por su relación con el peso al parto ( $r= 0.80$ ,  $p<0.001$ ); *ganancia media diaria de la vaca*, altamente relacionada con la variación relativa de peso postparto ( $r= 0.99$ ,  $p<0.001$ ); y finalmente, la *producción diaria de leche*, que presentó una correlación positiva con la ganancia media diaria del ternero ( $r= 0.63$ ,  $p<0.001$ ).

Así mismo, se excluyeron las variables *parto gemelar*, *sexo del ternero* y *duración de la lactación* debido a la escasa información que aportaron.

Antes de realizar cualquier AFCM, se transformaron las variables cuantitativas en clases o categorías, confiriéndoles así carácter cualitativo (Tablas E2 y E3). Dichas variables se sometieron a una prueba de normalidad para comprobar su distribución, mediante el procedimiento UNIVARIATE (SAS, 1990).

Las variables fueron divididas en tres clases equilibradas en la medida de lo posible, de acuerdo a la posición de los cuantiles (Q) (Q1= 25% observaciones con valores más bajos; Q2= 50% observaciones con valores intermedios; Q3= 25% observaciones con valores más altos). Así, se consideró una clase alta (A), compuesta por los individuos que para ese determinado indicador tenían un valor elevado, clase media (M) y clase baja (B).

**Tabla E2.** Transformación en clases de las variables activas utilizadas en los AFCM.

<b>Variable</b>	<b>Clases</b>	<b>Definición</b>	<b>Nº observaciones</b>	<b>%</b>
NUPAR	primi	primíparas	127	23.1
	multi	multíparas	422	76.9
CRIA	AR	A. Restringido	437	79.6
	AL	A. Libre	112	20.4
REACT	reactC	≤ 45	330	60.1
	reactM	de 45 a 90	85	15.5
	reactL	> 90	134	24.4
VAPRE	vapreB	≤ 0	140	25.5
	vapreM	de 0 a 13,4	273	49.7
	vapreA	> 13,4	136	24.8
VAPOS	vaposB	≤ -3,3	137	25
	vaposM	de -3,3 a 2,2	273	49.7
	vaposA	> 2,2	139	25.3
CCP	ccpB	≤ 2,37	144	26.2
	ccpM	de 2,37 a 2,75	301	54.8
	ccpA	> 2,75	104	18.9

**Tabla E3.** Transformación en clases de las variables suplementarias.

<b>Variable</b>	<b>Clases</b>	<b>Definición</b>	<b>Nº observaciones</b>	<b>%</b>
EPOCPA	prim	primavera	324	59
	otoñ	otoño	225	41
RAZA	PA	Parda Alpina	403	73.4
	PI	Pirenaica	146	26.6
TIPOPA	tipopa1	tipopa1	477	86.9
	tipopa2	tipopa 2 y 3	54	9.8
	tipopa3	tipopa 4 y 5	18	3.3
PNT0	pntoB	≤ 37	138	25.1
	pntoM	de 37 a 46	274	49.9
	pntoA	> 46	137	25
GMDT	gmdtB	≤ 0,820	139	25.3
	gmdtM	de 0,820 a 1,020	274	49.9
	gmdtA	> 1,020	136	24.8
PPRE	ppreB	≤ 486	143	26
	ppreM	de 486 a 572	272	49.5
	ppreA	> 572	134	24.4
PPAR	pparB	≤ 516	143	26
	pparM	de 516 a 602	271	49.4
	pparA	> de 602	135	24.6
CCPRE	ccpreB	< 2,5	251	45.7
	ccpreM	de 2,5 a 2,75	179	32.6
	ccpreA	> 2,75	119	21.7
CCPOS	ccposB	≤ 2,37	165	30.1
	ccposM	de 2,37 a 2,75	227	41.3
	ccposA	> 2,75	157	28.6



Las clases obtenidas fueron equilibradas, a excepción de las variables *reactivación ovárica postparto* y *CC preparto*. Las tres clases de *reactivación ovárica postparto*, corta ( $\leq 45$  días), media (de 45 a 90 días) y larga ( $> 90$  días), se obtuvieron aplicando unos límites de clase con interpretación zootécnica y no los cuantiles obtenidos, de ahí que las categorías resultantes no fueran equilibradas (Tabla E2). En cuanto a las clases de *CC preparto*, no resultaron equilibradas debido al tipo de escala con que se determina en la práctica la CC, haciendo que esta variable presente un carácter discontinuo (Tabla E3).

Los cinco *tipos de parto* se redujeron finalmente a 3 clases, reflejadas en la Tabla E3, para facilitar la interpretación de los resultados.

En primer lugar, se realizaron diversos AFCM considerando aisladamente las dos *épocas de parto* (primavera y otoño), las dos *razas* (Parda Alpina y Pirenaica), así como las dos categorías de *número de parto* examinadas (primíparas y multíparas), para identificar posibles diferencias entre las clases de cada variable.

El AFCM definitivo, que incluía todas las observaciones, reflejó los ejes obtenidos en los análisis parciales anteriores. Éste fue el análisis que explicaba el mayor grado de inercia, e incluía como variables activas el *número de parto*, el *manejo del ternero*, la *reactivación ovárica postparto*, la *variación relativa de peso preparto*, la *variación relativa de peso postparto* y la *CC al parto*, mostradas en la Tabla E2.

Finalmente, las clases de las variables activas se representaron sobre las tres dimensiones principales resultantes de los AFCM.

#### **E.2.4. Identificación de la tipología de vacas mediante Análisis Cluster.**

Los Análisis Clusters Jerárquicos Ascendentes se desarrollaron a partir de los cuatro primeros ejes resultantes del AFCM realizado, puesto que todos ellos presentaron un significado zootécnico y, en conjunto, fueron los que explicaron un mayor porcentaje de la inercia total.

Para decidir la configuración óptima de grupos, tanto a nivel estadístico como de interpretabilidad práctica, se compararon las clasificaciones de vacas obtenidas en función del algoritmo utilizado (centroide vs. average vs. ward), optando finalmente por los resultados del centroide.

El punto de corte sobre la base del dendrograma se decidió según el criterio de detección de un fuerte aumento de la  $R^2$ , del indicador Pseudo F y del Criterio Cúbico de Clusters, así como de una disminución aguda del indicador Pseudo  $T^2$  (Tabla E4), combinación de indicadores estadísticos que se ha descrito como la mejor manera para decidir el número óptimo de grupos (SAS, 1990). Estos indicadores aseguraron que los grupos formados en ese momento tenían la menor *varianza* intra-grupo y la mayor *varianza* entre grupos.

**Tabla E4.** Indicadores estadísticos del Análisis Cluster.

Nº de Clusters	$R^2$	CCC	PSF	PST <sup>2</sup>
10	0.740	8.45	170.8	74.2
9	0.738	11.21	190.2	3.7
8	0.730	13.34	208.5	20.5
7	0.676	7.62	188.4	101.2
<b>6</b>	<b>0.621</b>	<b>3.45</b>	<b>177.8</b>	<b>112.4</b>
5	0.473	-11.87	121.9	230.4
4	0.273	-21.44	68.2	183.6
3	0.138	-22.70	43.5	95.9
2	0.127	-9.10	79.6	16.3
1	0.000	0.00	.	79.6

CCC: Criterio Cúbico de Clusters

PSF: Indicador Pseudo F

PST<sup>2</sup>: Indicador Pseudo  $T^2$

Se representaron gráficamente los grupos de vacas obtenidos sobre los planos definidos por las tres primeras dimensiones del AFCM, como ya se hizo con las categorías de las variables activas.

Se realizó una comparación de las variables que caracterizaron las tipologías de vacas obtenidas, mediante el procedimiento GLM (SAS, 1990) para las variables continuas y el procedimiento FREQ (SAS, 1990) para las discontinuas.

Finalmente, se representó la evolución gráfica de la reactivación ovárica postparto en función de la variación de peso preparto de todos los animales, incluyendo los modelos de curvas que mejor se adaptaron a los resultados.

### E.3. RESULTADOS

#### E.3.1. Ejes asociados a la función reproductiva

En la tabla siguiente quedan reflejados los cuatro primeros ejes obtenidos en el AFCM.

**Tabla E5.** Porcentajes de inercia (coordenadas) explicados por las variables y sus categorías en los cuatro primeros ejes obtenidos en el AFCM. Categorías suplementarias más relevantes en cada eje.

<b>Variables activas</b>	<b>EJE 1 (19%)#</b> Contribución*	<b>EJE 2 (16.4%)</b> Contribución	<b>EJE 3 (13%)</b> Contribución	<b>EJE 4 (10.5%)</b> Contribución
<b>nº parto</b>	1.46	1.33	0.49	0.47
<b>primi</b>	<b>-1.12</b>	<b>1.02</b>	0.38	0.36
<b>multi</b>	0.34	-0.31	-0.11	-0.11
<b>cría</b>	0.58	1.29	1.45	0.08
<b>AR</b>	-0.12	0.26	-0.3	-0.02
<b>AL</b>	0.46	<b>-1.03</b>	<b>1.15</b>	0.06
<b>reactivación</b>	1.21	1.78	2.06	1.72
<b>reactC</b>	-0.25	-0.16	-0.51	-0.38
<b>reactM</b>	0.05	<b>0.86</b>	<b>0.73</b>	0.23
<b>reactL</b>	<b>0.91</b>	-0.76	<b>0.83</b>	<b>1.11</b>
<b>var. preparto</b>	2.4	0.75	0.92	2.48
<b>vapreB</b>	<b>1.26</b>	0.4	-0.01	-0.72
<b>vapreM</b>	-0.16	-0.06	-0.3	<b>0.83</b>
<b>vapreA</b>	-0.98	-0.29	<b>0.61</b>	-0.93
<b>var. postparto</b>	0.69	2.27	1.59	0.44
<b>vaposB</b>	-0.46	-1.14	0.34	-0.17
<b>vaposM</b>	0.23	0.04	-0.53	0.15
<b>vaposA</b>	0	<b>1.09</b>	<b>0.72</b>	-0.12
<b>CC parto</b>	2.34	0.8	0.73	0.31
<b>ccpB</b>	<b>1.17</b>	0.47	0.18	-0.2
<b>ccpM</b>	-0.23	-0.17	-0.21	0.1
<b>ccpA</b>	-0.94	-0.16	0.34	-0.01
<b>Categorías suplementarias</b>				
<b>ppreB</b>	-0.73			0.52
<b>pparB</b>		0.73		0.38
<b>ccpreA</b>	-0.79	0.64		
<b>ccpreB</b>	0.53			
<b>tipopa3</b>		0.4		<b>0.42</b>

# Contribución del eje a la inercia total.

\* Contribución de la categoría a la inercia explicada por el eje.

Los cuatro primeros ejes obtenidos en el AFCM explicaron el 59% de la inercia total del modelo (Tabla E5) y, en base a las contribuciones de las variables originales, se interpretaron como:

### **Eje 1. “Nivel de alimentación preparto”**

Este primer eje explicó el 19% de la inercia total, e hizo referencia a animales con una variación de peso antes del parto de categoría *Baja*, es decir, vacas que presentaron pérdidas de peso durante los últimos cuatro meses de gestación (Tabla E5). El peso registrado 4 meses antes del parto (categoría suplementaria) no fue *Bajo*.

La CC preparto de estas vacas (categoría suplementaria) fue *Baja*, como también lo fue la CC en el momento del parto ( $\leq 2.37$ ).

Este eje se correspondió con vacas no *primíparas*, que presentaron *Largas* reactivaciones ováricas después del parto ( $> 90$  días).

### **Eje 2. “Nivel de alimentación postparto y edad de la vaca”**

Este eje (16.4% de la inercia total) reflejó a individuos con una variación de peso postparto de clase *Alta*, por tanto, estos animales presentaron ganancias de peso durante los 3 primeros meses de lactación superiores al 2.2 % de su peso al parto. En cuanto a las categorías suplementarias, destacar que estos individuos se relacionaron con una CC antes del parto *Alta* y un peso al parto *Bajo*.

Asimismo, se correspondió con vacas *primíparas*, que estuvieron vinculadas a partos de *tipo distócico* (categoría suplementaria). El manejo del ternero asociado al eje 2 no fue el *Acceso Libre* a la madre.

Finalmente, este eje se relacionó con reactivaciones ováricas *Medias* (45-90 días).

### **Eje 3. “Manejo del ternero”**

El eje 3, que explicó el 13% de la inercia total, se caracterizó por vacas que se mantuvieron *permanentemente* con el ternero durante la lactación.

Este eje estuvo relacionado con animales que presentaron reactivaciones ováricas *Medias* y *Largas*, y, en menor medida, con variaciones relativas de peso tanto antes como después del parto dentro de las clases *Altas* (ganancias de peso).

### **Eje 4. “Anestro postparto largo y Distocias”**

El eje 4 (10.5% inercia total) representó a animales con reactivaciones ováricas *Largas*. Estos individuos estuvieron vinculados a pesos *Bajos* tanto cuatro meses antes del parto

como en el momento del parto (categorías suplementarias), y a variaciones de peso preparto de clase *Media*, es decir, ganancias del 1 al 13.4% del peso vivo.

Este eje también se relacionó con el tipo de parto 3 (distócico), como categoría suplementaria.

Las dos épocas de parto que caracterizaban el manejo general del rebaño se representaron como variables suplementarias (Figuras E2 y E3), comprobando en ambas gráficas que el nivel de alimentación recibido durante la gestación en la paridera de otoño tendió a ser más alto que el recibido en la paridera de primavera.

### **E.3.2. Características de los tipos de vacas identificados**

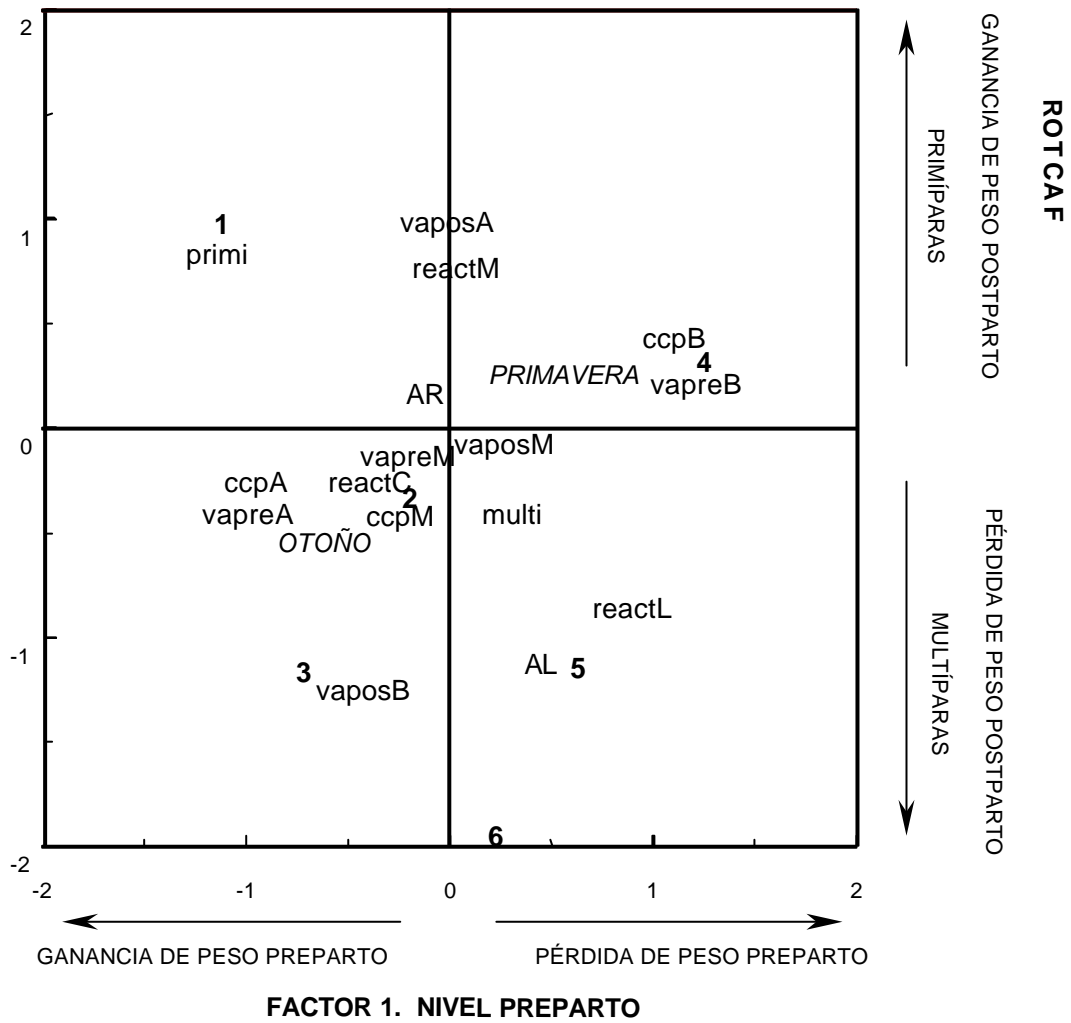
El análisis Cluster sobre los cuatro primeros ejes del AFCM identificó claramente seis grupos de vacas, cuyas características principales se relacionan en la Tabla E6.

Los centros de gravedad de los grupos junto con las categorías de las variables activas se representaron gráficamente sobre los planos definidos por los ejes 1 y 2 (Figura E2) y los ejes 1 y 3 (Figura E3) del AFCM. También se representaron los seis centros de gravedad sobre las tres primeras dimensiones obtenidas en el AFCM (Figura E4). Finalmente, en la Figura E5 se muestran las vacas que constituyeron los seis grupos, sobre los ejes 1 y 2 del AFCM.

Tabla E6. Características de las tipologías de vacas identificadas mediante Análisis Cluster.

Variable	GRUPO 1 (n=115)		GRUPO 2 (n=165)		GRUPO 3 (n=71)		GRUPO 4 (n=139)		GRUPO 5 (n=54)		GRUPO 6 (n=5)		Sign.	
	nº indiv	%	nº indiv	%	nº indiv	%	nº indiv	%	nº indiv	%	nº indiv	%		
NUPAR	primi	112	97.4	15	9.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
	multi	3	2.6	150	90.9	71	100.0	139	100.0	54	100.0	5	100.0	***
CRIA	AR	115	100.0	157	95.2	39	54.9	108	77.7	18	33.3	0	0.0	
	AL	0	0.0	8	4.8	32	45.1	31	22.3	36	66.7	5	100.0	***
EPOCPA	prim	70	60.9	99	60.0	6	8.5	121	87.1	28	51.9	0	0.0	
	otoñ	45	39.1	66	40.0	65	91.5	18	12.9	26	48.1	5	100.0	***
RAZA	PA	76	66.1	117	70.9	69	97.2	89	64.0	47	87.0	5	100.0	
	PI	39	33.9	48	29.1	2	2.8	50	36.0	7	13.0	0	0.0	***
TIPOPA	1	96	83.5	141	85.5	65	91.5	121	87.1	49	90.7	5	100.0	
	2	12	10.4	20	12.1	5	7.0	15	10.8	2	3.7	0	0.0	
	3	7	6.1	4	2.4	1	1.4	3	2.2	3	5.6	0	0.0	N.S.
SEXO	macho	55	47.8	87	52.7	34	47.9	67	48.2	27	50.0	1	20.0	
	hembra	60	52.2	78	47.3	37	52.1	72	51.8	27	50.0	4	80.0	N.S.
GEMELO	no	110	95.7	164	99.4	68	95.8	132	95.0	52	96.3	5	100.0	
	si	5	4.3	1	0.6	3	4.2	7	5.0	2	3.7	0	0.0	N.S.
Variable		media	cv	media	cv	media	cv	media	cv	media	cv	media	cv	Sign.
REACT		53.8	0.6	33.1	0.5	31.0	0.5	65.6	0.8	110.5	0.4	129.4	0.2	***
VAPRE		13.7	0.5	7.3	0.5	20.6	0.4	-3.7	-1.1	7.2	0.6	16.6	0.2	***
VAPOS		2.5	1.5	-1.6	-1.6	-5.1	-1.0	2.5	1.6	-3.0	-1.5	-9.8	-0.2	***
CCP		2.77	0.11	2.63	0.10	2.75	0.10	2.34	0.10	2.48	0.10	2.58	0.05	***
PNT0		39.1	0.2	43.3	0.2	45.6	0.2	42.0	0.2	44.3	0.2	41.8	0.1	***
PDTT		183.6	0.2	190.6	0.2	164.2	0.2	171.5	0.2	166.2	0.2	139.8	0.2	***
GMDT		0.922	0.186	0.940	0.141	0.946	0.155	0.892	0.205	0.835	0.191	0.814	0.166	***
PPRE		449.6	0.06	541.0	0.08	540.7	0.12	556.9	0.07	538.4	0.10	476.2	0.06	***
PPAR		508.5	0.10	579.8	0.09	637.7	0.11	535.9	0.08	576.8	0.10	555.8	0.08	***
PDTTV		529.1	0.08	561.7	0.09	593.4	0.09	555.6	0.08	548.4	0.11	483.0	0.07	***
GMDV		0.129	1.549	-0.106	-1.584	-0.386	-1.120	0.148	1.621	-0.201	-1.416	-0.614	-0.285	***
DLACTA		157.1	0.2	158.8	0.2	126.5	0.2	151.2	0.2	145.2	0.3	119.6	0.1	***
LECHE		8.1	0.2	8.7	0.2	9.0	0.2	7.9	0.2	7.9	0.3	6.7	0.2	***
CCPRE		2.93	0.08	2.60	0.09	2.49	0.07	2.54	0.07	2.47	0.07	2.58	0.07	***
CCPOS		2.71	0.09	2.47	0.11	2.55	0.11	2.45	0.12	2.49	0.07	2.47	0.06	***

**Figura E2.** Representación de las clases de las variables activas sobre los ejes 1 y 2, junto con los centros de gravedad de los grupos de vacas identificados.



**Grupo 1. Primíparas (115 individuos)**

Este grupo destacó por contener la casi totalidad de las vacas de primer parto incluidas en el análisis. Dos tercios de los animales eran de raza Parda Alpina, raza mayoritaria en la explotación (Tabla E6). Se observó una mayor frecuencia de partos en primavera que en otoño, en una proporción similar a la global de la explotación (Tabla E3). Esta distribución de partos fue consecuencia de que la paridera de otoño la integraban únicamente vacas de raza Parda Alpina, mientras que en el rebaño de partos en primavera había vacas de ambas razas.

Todos los terneros de las vacas primíparas permanecieron separados de sus madres, por cuestiones de manejo general, como ya se indicó en el apartado E.2.2. El número de partos asistidos en este grupo fue ligeramente superior al porcentaje general (Tabla E6).

En los últimos meses de gestación, los animales ganaron un 13.7% de su peso, llegando al parto con una CC muy alta (2.77). A lo largo de la lactación, las vacas de esta tipología aumentaron su peso en un 2.5% del registrado en el momento del parto.

La actividad ovárica del grupo 1 se reanudó 54 días después del parto.

**Grupo 2. Acceso Restringido, CC al parto alta, app corto (165 individuos)**

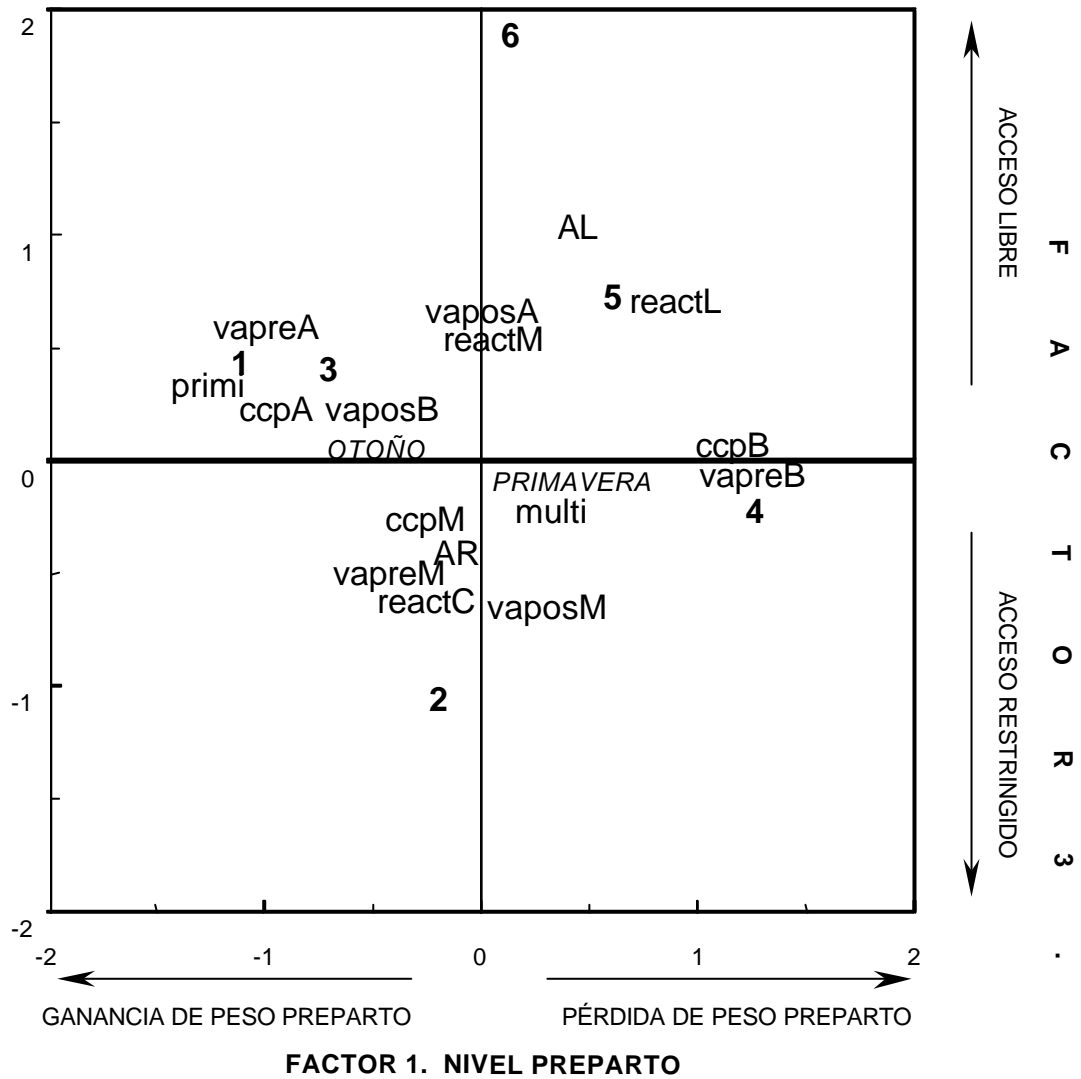
Este grupo, constituido en su mayoría por vacas multíparas, se distinguió por el manejo de los terneros en Acceso Restringido (Tabla E6). El 71% de las observaciones correspondieron a vacas de raza Parda Alpina, proporción equivalente al conjunto de las observaciones analizadas. También el número de partos en primavera fue paralelo al del total de registros (60% vs. 40%, para partos en primavera y en otoño, respectivamente).

Las vacas de este grupo presentaron un aumento moderado de peso en el último tercio de gestación, que se tradujo en una buena CC al parto. Durante la lactación, estos animales perdieron un 1.6% de su peso al parto, lo que supuso una pérdida diaria de 0.106 kg.

El grupo 2 presentó una reactivación ovárica postparto muy temprana, presentando la primera ovulación el día 33 pp.



**Figura E3.** Representación de las clases de las variables activas y de los centros de gravedad de los grupos de vacas identificados sobre los ejes 1 y 3.



**Grupo 3. CC al parto muy alta, app corto (71 individuos)**

El tipo 3 estuvo formado por vacas multíparas de raza Parda Alpina (97.2%), que en su mayoría parieron en otoño (Tabla E6), no destacando ningún manejo del ternero (55 vs. 45%, para AR y AL, respectivamente).

Los animales que constituyeron este grupo presentaron la mayor ganancia de peso preparto del análisis (20.6% del peso), reflejándose en la elevada CC de estas vacas en el momento del parto (2.75). El descenso de peso de las vacas durante la lactación fue importante, alcanzando una pérdida de 0.386 kg al día.

La duración del app del grupo 3 fue muy corta, de 31 días de media.

**Grupo 4. CC al parto baja, app medio (139 individuos)**

Presentó la mayor concentración de partos en primavera del análisis (Tabla E6). Todas las vacas que formaron este grupo eran multíparas. La raza Parda Alpina apareció con una frecuencia mayor, aunque el porcentaje de vacas de raza Pirenaica fue superior al del conjunto de los datos. Se observaron los dos manejos del ternero (77.7 vs. 22.3%, para AR y AL, respectivamente) en una relación similar a la global.

Este grupo también se distinguió por las enormes pérdidas de peso registradas durante el último tercio de gestación, reflejándose en la baja CC al parto (2.34). La variación relativa de peso postparto fue la más elevada del análisis, alcanzándose una ganancia diaria de 0.148 kg.

Las vacas de esta agrupación presentaron un intervalo parto-1<sup>a</sup> ovulación de 66 días.

**Grupo 5. Acceso Libre, CC al parto media, Parda Alpina, app largo (54 individuos)**

El grupo 5, constituido por vacas multíparas, se caracterizó porque la mayor parte de los terneros se criaron en Acceso Libre (33.3 vs. 66.7%, para AR y AL, respectivamente) (Tabla E6). Las dos épocas de parto estuvieron equilibradas en número de individuos, resultando ser la Parda la raza mayoritaria de este grupo (87%).

Las vacas del grupo 5 ganaron un 7.2% de su peso en la última parte de la gestación, llegando al parto con una CC media (2.48). Durante la lactación los animales perdieron un 3% de su peso, es decir, alrededor de 0.200 kg al día.

Este grupo también se identificó por su prolongado app (111 días).

### Grupo 6. Casos atípicos (5 individuos)

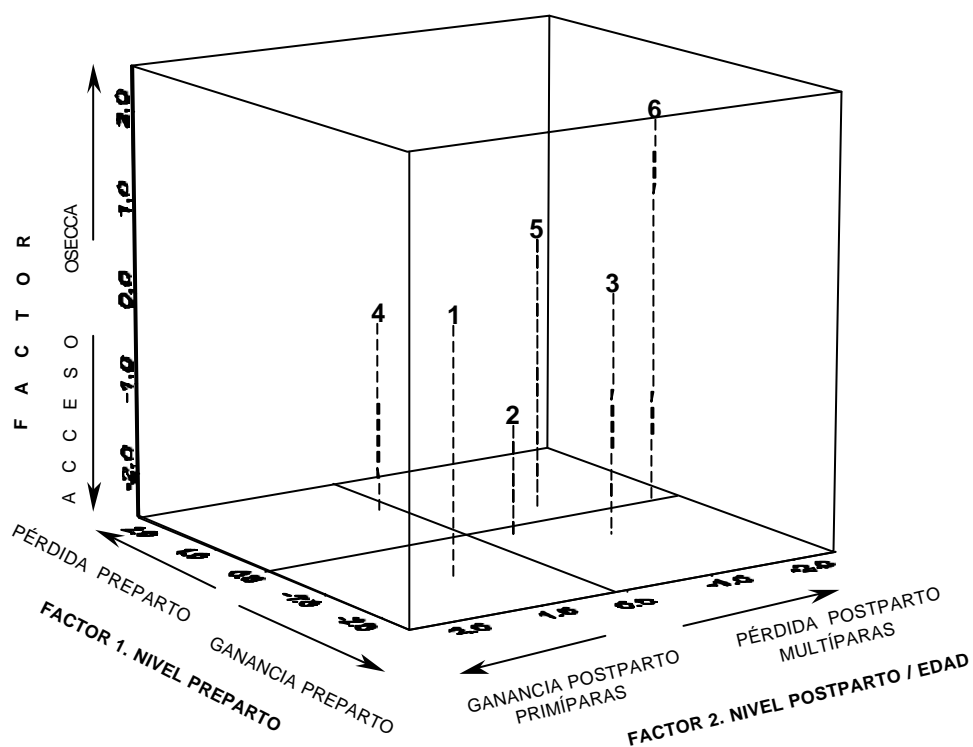
Los casos atípicos discriminados por el análisis eran cinco vacas multíparas de raza Parda Alpina con parto en otoño, que permanecieron con sus terneros en Acceso Libre.

Estas vacas recuperaron un 16.6% de su peso en el último tercio de gestación, presentando una buena CC al parto (2.58). Destacaron, por el contrario, las grandes pérdidas de peso en lactación, llegando a perder 0.614 kg al día (Tabla E6).

El grupo de casos atípicos también se caracterizó por presentar la mayor duración del app observada en el análisis (130 días).

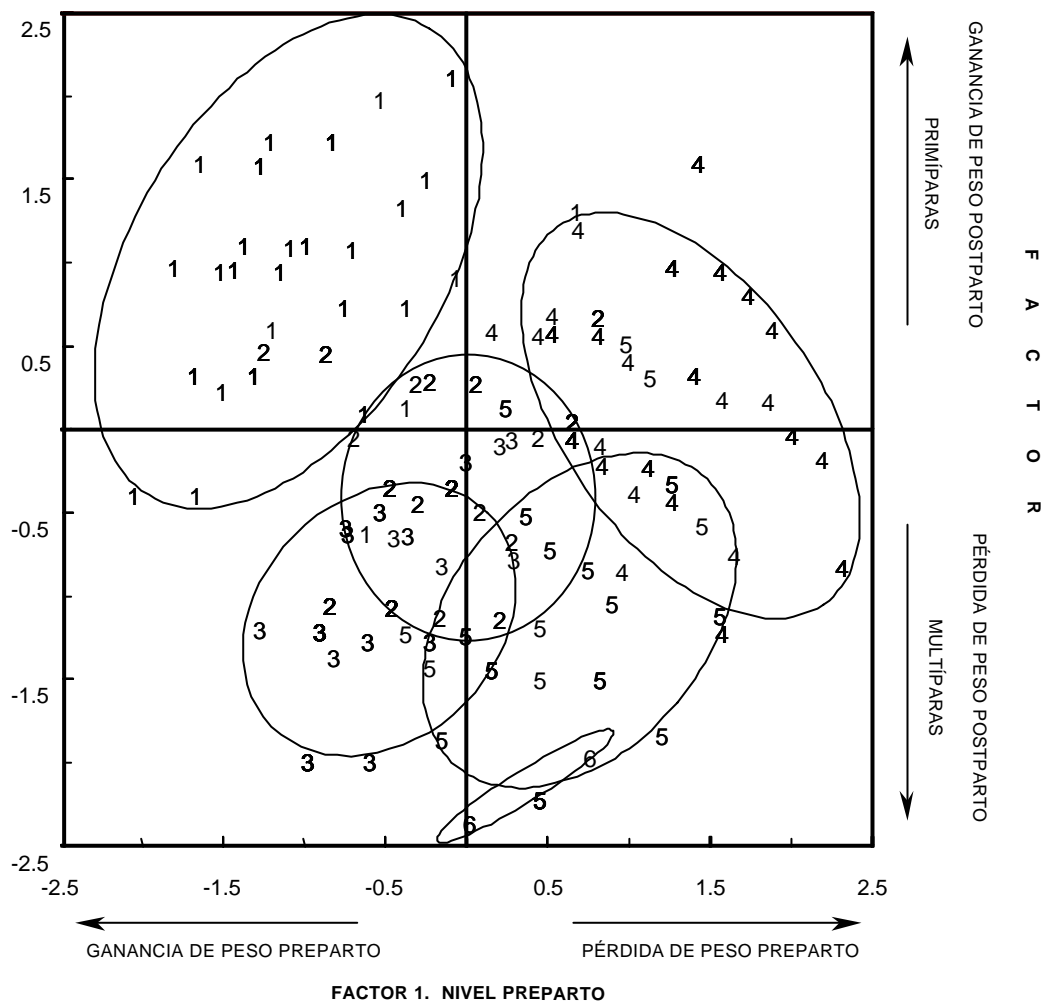
Las seis tipologías de vacas obtenidas presentaron diferencias importantes en relación a las variables caracterizadoras analizadas, excepto en la distribución de los tipos de parto, en el porcentaje de terneros machos y hembras, así como en la frecuencia de aparición de partos gemelares, que fueron similares para los seis clusters (Tabla E6).

**Figura E4.** Representación de los centros de gravedad de los grupos resultantes del Análisis Cluster sobre las tres primeras dimensiones obtenidas en el AFCM .



**Figura E5.** Representación gráfica de las vacas (n= 549) que constituyeron cada uno de los grupos sobre los dos primeros ejes del AFCM.

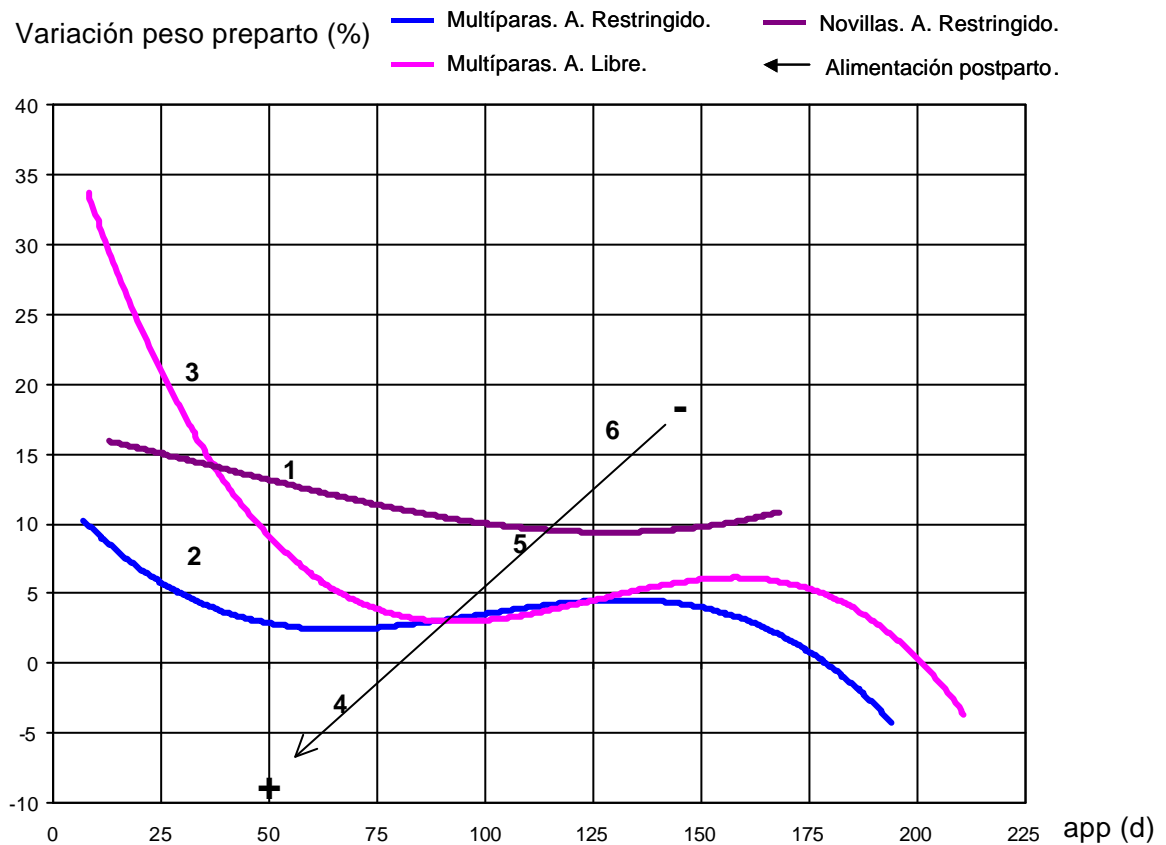
(cada punto puede representar varias observaciones con coordenadas idénticas).



### E.3.3. Evolución de la duración del anestro postparto en vacas nodrizas

Una vez identificadas las variables asociadas a la duración del app, se representó su relación gráficamente (Figura E6) y las líneas de tendencia que mejor se adaptaron a la evolución del app, que se correspondieron con ecuaciones de tipo cúbico.

**Figura E6.** Relación de la duración del app con la variación de peso preparto en función del manejo del ternero y de la edad de la vaca. Representación de los centros de gravedad de los grupos de vacas identificados mediante Análisis Cluster.



Las vacas mantenidas con los terneros en Acceso Libre necesitaron ganancias superiores al 10% de su peso durante el último tercio de gestación para que la reanudación de la ciclicidad postparto no excediera de 50 días, precisando ganancias de hasta un 35% del peso en las reactivaciones más tempranas.

Por el contrario, la restricción del acceso del ternero a la madre permitió reactivaciones ováricas inferiores a 50 días con ganancias de peso preparto menores del 10%.

Esta diferencia en el app de las vacas en función del manejo del ternero fue extrema en el caso de las reactivaciones muy tempranas, reduciéndose paulatinamente hasta desaparecer en el intervalo de app de 75 a 125 días, y mostrándose de nuevo a partir de este punto.

La observación de los grupos de vacas identificados sobre estos ejes sugieren que hay otros factores que están interviniendo en la duración del app, como es la nutrición postparto, que toman relevancia cuando el nivel de alimentación preparto o el manejo del ternero no han sido los adecuados. Los grupos 4, 5 y 6, alojados en el área de mínima diferencia entre los dos manejos del ternero, ayudaron a trazar la hipotética evolución de la nutrición postparto en dicho intervalo.

En el rebaño de primíparas (grupo 1) se aplicó el manejo tradicional del ternero (AR), de ahí que el reinicio de la ciclicidad en las novillas presentara una evolución similar a la observada en las vacas adultas sometidas a tal manejo. Sin embargo, las vacas de primer parto precisaron niveles de alimentación preparto entre un 5 y un 10% superiores a los exigidos por las vacas adultas para conseguir reactivaciones ováricas similares.



## ***DISCUSIÓN II***

---



## II.1. CONSIDERACIONES SOBRE LA METODOLOGÍA UTILIZADA PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

En el rendimiento reproductivo del ganado vacuno intervienen numerosos factores interrelacionados entre sí, como ya se vio en la documentación revisada. Por ello, los métodos estadísticos clásicamente utilizados para su estudio no siempre se pueden adaptar a este tipo de información tan compleja, de ahí que, en esta ocasión, se han elegido técnicas estadísticas multivariantes, en concreto, el *Análisis Factorial de Correspondencias Múltiples*, que permite trabajar con variables cuantitativas y cualitativas. Puesto que las dimensiones resultantes de este análisis son cuantitativas, también fue posible la aplicación posterior de otras pruebas multivariantes cuantitativas, siendo además sus resultados compatibles con otros análisis estadísticos.

Hay que añadir que estos métodos estadísticos van a permitir globalizar los resultados obtenidos en ensayos puntuales, eliminando posibles inconvenientes vinculados a tales ensayos. Además, la inclusión de un gran número de datos, en nuestro caso contamos con la información de 549 partos, fortalece en gran medida la validez de estos métodos.

En el ámbito específico de la reproducción del ganado vacuno, tanto por motivos económicos como por exigencias de los protocolos experimentales, no es frecuente contar con largas series de animales, de ahí la relevancia de los resultados obtenidos en este tipo de trabajos.

En los últimos años se ha detectado un aumento notable en la aparición de artículos que utilizan estas técnicas: por ejemplo, Carrasco y Hernán (1993) citan un incremento anual del 20 % en el ámbito médico, si bien, en la actualidad, la aplicación de este tipo de métodos se ha extendido a campos como la sociología, la lingüística, la ecología, la epidemiología, etc..

Algunos ejemplos de aplicación de las técnicas multivariantes en el ganado vacuno son los trabajos de Cowen et al. (1989), quienes estudiaron la relación de las prácticas de manejo reproductivo empleadas con el rendimiento reproductivo en rebaños de leche, mediante *Análisis Discriminantes*. Por su parte, Webster et al. (1997) utilizaron un *Análisis de Componentes Principales* para identificar qué factores de explotación afectaban a la fertilidad de las vacas de leche.

Se han aplicado con frecuencia los *Análisis de Regresión Logística* con el propósito de examinar, por ejemplo, los factores de riesgo que afectan a la duración del anestro postparto en vacas nodrizas (Ducrot et al., 1994) o las fuentes de variación de la tasa de fertilidad en

vacas de raza Charolesa sometidas a un tratamiento de sincronización (Ponsart et al., 1996).

En cuanto a los *Análisis Factoriales de Correspondencias Múltiples*, se ha recurrido a ellos, entre otras finalidades, para determinar los patrones de la mastitis clínica tanto en ovejas (Calavas et al., 1998) como en vacas lecheras (Vaarst y Enevoldsen, 1997).

La clasificación automática de individuos mediante *Análisis Clusters* también se ha utilizado frecuentemente en los últimos años (Faye et al., 1996; Beaudeau et al., 1996).

Sin embargo, a pesar de la fiabilidad que aporta este aumento en la aplicación de las diversas técnicas multivariantes, es necesario señalar la dificultad que conllevan todos los métodos multivariantes: la interpretación de unos resultados que no siempre son únicos. Estos resultados son generalmente opinables, pero serán válidos siempre que sean útiles y se haga un esfuerzo en la elaboración de las conclusiones del trabajo.

## II.2. FACTORES DE EXPLOTACIÓN ASOCIADOS A LA DURACIÓN DEL APP

El AFCM definitivo se eligió primordialmente porque de los diversos análisis realizados fue el que explicó un mayor grado de inercia de la información de partida. Asimismo, este análisis reflejó ordenadamente los ejes principales obtenidos en los análisis parciales realizados considerando de forma individual las dos épocas de parto (primavera y otoño), las dos razas (Parda Alpina y Pirenaica) o las dos categorías de edad de las vacas (primíparas y multíparas).

El modelo destacó como variables activas las variaciones relativas de peso preparto y postparto, la CC al parto, el manejo del ternero, el número de parto y la reactivación ovárica postparto, descartando como factores determinantes de la inercia de la información la época de parto, la raza, el tipo de parto, el peso del ternero al nacimiento y su ganancia diaria en lactación, así como el resto de caracteres productivos de la vaca incluidos (peso y CC cuatro meses antes del parto, peso al parto o CC tres meses después del parto). Factores como la existencia de partos gemelares o el sexo del ternero, citados en ocasiones como factores a tener en cuenta en el estudio de la duración del app (Osoro, 1986; Ramirez-Iglesia, 1992), aportaron escasa información a nuestro análisis.

La condensación de las variables activas dio lugar a una serie de nuevas variables o ejes, por orden de importancia, explicando los cuatro primeros ejes el 59% de la inercia del análisis. De la matriz original (15 variables x 549 partos) el modelo seleccionó como fuente de mayor inercia (19%) una variable que reflejó, fundamentalmente, aspectos relacionados

con la subnutrición preparto, como fueron la pérdida de peso preparto y la CC al parto baja, vinculándose todo ello a reactivaciones ováricas largas. Por tanto, la alimentación preparto destacó como el principal factor de manejo asociado a la duración del app, consolidando los resultados de los ensayos individuales tratados en la primera parte de esta Memoria. Del mismo modo, la importancia de la alimentación preparto ha sido destacada en multitud de trabajos realizados con el propósito de analizar, por distintos métodos estadísticos, los factores que determinan el rendimiento reproductivo del ganado vacuno (Osoro y Wright, 1992; Ducrot et al., 1994; Pouilly et al., 1994; Revilla, 1997).

El análisis detectó como segunda fuente de inercia (16.4%) un eje que integró la alimentación postparto junto con la edad de la vaca, poniéndose de manifiesto que las vacas primíparas, en general, presentaron elevadas ganancias de peso durante la lactación, lo que favoreció el reinicio de la ciclicidad en un periodo adecuado. En esta ocasión, y como consecuencia de la práctica seguida en la explotación, las primíparas permanecieron con el ternero en acceso restringido. De acuerdo con los resultados de los ensayos anteriores, la influencia de los niveles energéticos postparto estuvo subordinada a la cantidad de energía recibida durante el último tercio de gestación. Por tanto, el nivel de alimentación recibido durante la lactación fue, después de la alimentación preparto, otro factor principal asociado a la duración del app especialmente en animales jóvenes, de acuerdo con lo indicado en otros análisis (Ducrot et al., 1994; Pouilly et al., 1994; Grimard et al., 1995).

La condición de animal que aún está en periodo de crecimiento añadida a la obligación de asegurar la lactación desencadenan con frecuencia un retraso en la duración del app de las novillas en relación a las vacas adultas (Revilla et al., 1992; Ponsart et al., 1996; Revilla, 1997). En condiciones de manejo del ternero en acceso restringido, los requerimientos energéticos de las novillas durante el último tercio de gestación se cifraron entre un 5 y un 10% superiores a los de las vacas adultas para obtener unos anejros postparto similares (Figura E6), a tener en cuenta si queremos evitar que las vacas primíparas presenten periodos anovulatorios muy prolongados. Sin embargo, este análisis evidenció que, en condiciones de alimentación y manejo del ternero adecuados, la duración del app no supone una limitación importante de cara a obtener buenos resultados reproductivos en vacas primíparas.

El manejo aplicado a los terneros durante la crianza explicó el 13% de la inercia total, constituyendo el tercer factor en importancia del modelo. El acceso libre del ternero a la

madre se relacionó con reactivaciones ováricas medias y sobre todo largas, a pesar de que tanto antes como después del parto los animales tendieron a presentar ganancias de peso.

La representación de la evolución del app en función de la variación de peso preparto, del manejo del ternero y de la edad de la vaca (Figura E6) puso de manifiesto que la restricción del acceso del ternero a la madre es una técnica sencilla y económica, que va a facilitar que los animales reinicien el periodo reproductivo de forma temprana con ganancias de peso preparto inferiores en un 10-20% a las necesarias en condiciones de manejo libre del ternero, lo que permitirá la reducción de los gastos de alimentación en un porcentaje similar.

En la primera parte de esta Memoria ya se evidenció la permanencia continua del ternero con la madre como un posible factor inhibitor de la reactivación ovárica postparto, en función de la alimentación recibida antes del parto. Aunque en la actualidad continúa siendo un tema discutido el orden de importancia de los efectos de la alimentación y de la crianza sobre la reproducción (Short et al., 1990; Peters y Lamming, 1990; Williams, 1990; Williams et al., 1996; Petit, 1997; Revilla, 1997; Sinclair et al., enviado), en nuestro trabajo la duración del app se asoció principalmente a la alimentación preparto y de forma secundaria al manejo del ternero. La observación de los grupos 4, 5 y 6 (Figura E6) también evidenció que si la CC al parto o el manejo del ternero no son los adecuados, factores como la alimentación postparto podrían tener un papel relevante sobre la función reproductiva de las vacas nodrizas.

De forma complementaria a los ejes anteriores, se estableció una relación de los partos de tipo distócico (categoría suplementaria) con un alargamiento del intervalo parto-1<sup>a</sup> ovulación en vacas que tendieron a presentar en general pesos bajos. Como no se detectaron importantes pérdidas de peso, de estos resultados cabrían dos interpretaciones: que las vacas estuvieran aún en fase de crecimiento, o por el contrario, que se tratara de adultas que no llegaron a completar su desarrollo adecuadamente. En otros trabajos también se han descrito diferencias en el rendimiento reproductivo de las vacas asociadas a la incidencia de partos distócicos (Short et al., 1990; Pouilly et al., 1994; Humblot et al., 1996; Ponsart et al., 1996; Peters, 1996).

De Kruif (1978) señaló que la menor tasa de concepción de las primíparas no fue debida a la edad, sino a la mayor incidencia de los problemas en el parto y puerperio en éstas respecto a las adultas. Parámetros como el intervalo del parto al primer servicio o la tasa de ciclicidad también han resultado ser peores en las vacas que presentaron partos distócicos (Thompson et al., 1983; Grimard et al., 1992).

En cuanto al mecanismo de acción a través del que las distocias pueden repercutir negativamente en el rendimiento reproductivo de la vaca, diversos autores han implicado a

las elevadas concentraciones de prostaglandinas detectadas en sangre (Madej et al., 1984), a un posible efecto de estrés sobre el eje hipotálamo-hipófisis (Dobson y Alam, 1987), como también al sistema opioideo endógeno (Short et al., 1990; Humblot et al., 1996). Pese a la posible variabilidad individual en la recuperación de un parto distócico, este eje subrayaría la importancia de realizar una recría adecuada, con el propósito de asegurar un futuro reproductivo óptimo en la vaca adulta.

En relación a la existencia (Hansen y Hauser, 1983; Robalo-Silva et al., 1987) o no (Revilla et al., 1992; Gonzalez-Stagnaro et al., 1997; Revilla, 1997) de influencias estacionales en la reproducción del ganado vacuno, tema ampliamente tratado en la bibliografía, en nuestro análisis la época de parto no destacó como un factor notable asociado a la duración del app de las vacas nodrizas explotadas en zonas extensivas, de acuerdo con lo apuntado recientemente por D'hour et al. (1998).

Es probable que la influencia de la época de parto en el plano reproductivo (Blasco, 1991), al menos en nuestras condiciones de explotación, se deba a diferencias nutricionales o de manejo del rebaño, más que a un efecto de la época en sí. La marcada estacionalidad de los recursos pastorales y el manejo habitual de la explotación se reflejaron probablemente en los pesos de los animales, ya que en los partos de primavera el final de la gestación se realiza durante la estabulación invernal, dependiendo la lactación, la reactivación ovárica y la recuperación de reservas corporales de la estación de pastoreo. En los partos de otoño, por contra, tanto la recuperación de reservas corporales como el final de la gestación recaen sobre la estación de pastoreo, centrándose las necesidades de lactación y la reproducción durante la invernada. Esta circunstancia fue la que condujo a las vacas con parto en otoño a presentar una mayor CC al parto (Figura E2) respecto a las que parieron en primavera, no siendo un efecto estacional sino una consecuencia del manejo seguido con el rebaño.

En ocasiones se han detectado diferencias entre los resultados reproductivos de las razas Parda y Pirenaica (Blasco, 1991; San Juan et al., 1994a), sin embargo, estas diferencias raciales resultaron ser contrapuestas en los distintos ensayos. En este trabajo, la raza de las vacas no destacó como factor asociado a la duración del app, corroborando la ausencia de efecto racial sobre la reactivación ovárica observada en un análisis de los resultados obtenidos a lo largo de 6 años en La Garcipollera, cuando en ambas razas el ternero tuvo acceso restringido a su madre (Revilla, 1997).

La mayor sensibilidad de la raza Parda a la presencia continua del ternero en relación a la raza Pirenaica, observada en el ensayo D, también se puso de manifiesto en este análisis

global, puesto que en el quinto tipo identificado el manejo del ternero en acceso libre se asoció a largos periodos anéstricos, componiéndose este grupo fundamentalmente por vacas de raza Parda Alpina.

A pesar de que una mayor ganancia media diaria del ternero podría asociarse a un estímulo de amamantamiento más intenso (Osoro y Wright, 1992) y, por tanto, a un retraso en la reactivación ovárica postparto (Williams, 1990), ni el peso del ternero al nacimiento, ni su ganancia media diaria estuvieron vinculados a la duración del app. Otros parámetros productivos de la vaca citados en la bibliografía por su posible relación con la reanudación de la actividad ovárica del ganado vacuno, como son el peso y la CC cuatro meses antes del parto (Petit, 1997), el peso al parto (Peters, 1984b; Osoro, 1986) o la CC tres meses después del parto (Rutter y Randel, 1984) tampoco aparecieron en el AFCM como factores notables asociados a la duración del app.

### II.3. TIPOS DE VACAS IDENTIFICADOS

La ubicación de los individuos sobre los ejes o factores anteriores manifestó la existencia de 5 tipos de vacas diferentes, distinguiéndose un pequeño grupo de casos infrecuentes o atípicos.

El análisis Cluster reconoció a la práctica totalidad de las novillas como un determinado tipo de vacas (n=115) que presentaron ganancias de peso tanto antes como después del parto y que, por cuestiones de manejo, se mantuvieron con los terneros en acceso restringido. Estos animales presentaron un app de 54 días, estando cíclicos cuando se inició el periodo de cubriciones, a pesar de su condición de primíparas.

El segundo grupo incluyó al 30% de la población de vacas (n=165), que se caracterizaron por su CC al parto media-alta (2.63), la permanencia de los terneros en acceso restringido y una reactivación ovárica muy temprana (33 días), pese a que estas vacas perdieron 0.106 kg/d de peso durante la lactación.

El tipo 3 (n=71) se ubicó fundamentalmente en la paridera de otoño, de ahí que todas las vacas fueran de raza Parda Alpina, destacando las mayores ganancias preparto observadas, y que se reflejaron en una elevada CC al parto (2.75). En este caso, no predominó ninguno de los manejos del ternero, por tanto, esta CC podría definir el límite a partir del cual el estímulo de la crianza no suprime la función reproductiva en la raza Parda Alpina. Estas

vacas, al igual que las del grupo anterior, reiniciaron su actividad ovárica un mes después del parto, incluso con pérdidas de peso próximas a 0.400 kg/d durante el periodo de lactación.

Este grupo confirmaría que el pastoreo estival permite una buena recuperación de reservas corporales en las vacas con parto en otoño (D'hour et al., 1998), siendo este tipo el adecuado para los sistemas de explotación extensivos, en los que las vacas permanecen de forma continua con sus terneros. Este grupo de vacas, además, toleraría una restricción energética durante la lactación permitiendo la reducción de los costes de alimentación, sin que por ello se viera perjudicado el rendimiento reproductivo final del rebaño. La simulación estocástica de las consecuencias de la subnutrición invernal ha ofrecido resultados similares a los obtenidos en esta Memoria (Villalba, 2000).

El cuarto tipo (n=139) se correspondió con la paridera de primavera, explicando así el mayor porcentaje de vacas de raza Pirenaica respecto a la media de la población. Este grupo fue el único que sufrió pérdidas de peso durante la gestación, presentando la menor CC al parto del análisis (2.34). Sin embargo, las elevadas ganancias de peso detectadas durante la crianza junto a un manejo adecuado del ternero (AR) durante la primera fase de la lactación favorecieron la reanudación de la actividad ovárica postparto (día 66 pp) antes del inicio del periodo de cubriciones, permitiendo además que los terneros permanecieran de forma continua con las vacas durante la estación de pastoreo (desde los tres hasta los cinco meses de vida), sin que este manejo repercutiera negativamente en el rendimiento reproductivo.

A diferencia del tercer tipo, las vacas con parto en primavera, que suben a puerto con sus terneros, no son capaces de recuperar el peso perdido durante la lactación invernal debido esencialmente a la necesidad de mantener la producción lechera. En este caso, por tanto, van a ser de suma importancia la aplicación de raciones postparto elevadas, así como un manejo adecuado del ternero.

El grupo 5 (n=54), formado esencialmente por vacas de raza Parda Alpina, se asoció a unos niveles de alimentación ligeramente inferiores a los del tipo 2, con la diferencia de que los terneros, en su mayoría, permanecieron de forma continua con las madres. Este manejo del ternero desencadenó un enorme retraso en la reactivación ovárica postparto (33.1 vs. 110.5 días, para los tipos 2 y 5, respectivamente), con una probable reducción de la tasa de fertilidad siguiente, puesto que los animales no estuvieron cíclicos al inicio del periodo de cubriciones. El hecho de que la raza mayoritaria de este grupo fuera la Parda Alpina reafirmaría la hipótesis de trabajo discutida en la primera parte de esta Memoria de que esta

raza es más sensible al estímulo del ternero que la Pirenaica, en situaciones nutricionales moderadas (CC al parto: 2.5).

Finalmente, el análisis aisló 5 casos de vacas Pardas con un estado corporal al parto similar al del tipo 2, aunque con las mayores pérdidas de peso en lactación detectadas en el análisis, que añadidas a la permanencia continua del ternero prolongaron el periodo anovulatorio de las vacas hasta el día 130 pp, reduciendo de forma importante las posibilidades de una cubrición fértil.

Los niveles de alimentación preparto y postparto, el número de parto, el manejo aplicado al ternero y la incidencia de partos distócicos fueron los principales factores que condicionaron la gran variedad observada en la duración del app de las vacas, corroborando los resultados obtenidos en la primera parte de la Memoria. Estos factores explicaron el 59% de la inercia, porcentaje ligeramente superior al referido por Osoro y Wright (1992) en su análisis de la varianza del intervalo entre partos, en el que el día de parto, la CC al parto, la raza y la edad de las vacas explicaron el 42% de la varianza de dicho análisis.

En nuestro ensayo quedó pendiente un 41% de inercia que, en principio, tampoco explicaron el resto de factores incluidos en el análisis multivariante inicialmente. Las posibles variaciones en la respuesta individual a la restricción alimenticia, a determinado manejo del ternero, a situaciones de estrés, etc. serían factores a tener en cuenta, al menos, para interpretar el porcentaje de inercia no explicada por el modelo (Grimard et al., 1995).

Además de los efectos analizados puntualmente en cada ensayo, sería interesante profundizar en un posible efecto de los factores estudiados a lo largo de la vida productiva del animal. En su revisión, Petit (1997) destacó la existencia de un efecto acumulativo del nivel de alimentación a largo plazo, así, las vacas mantenidas a niveles moderados de subnutrición durante su vida productiva presentaron un retraso en la reactivación ovárica determinada en ensayos concretos, aunque resultaron tener una mayor tasa global de fertilidad y longevidad. Por tanto, factores como el manejo del ternero aplicado en años anteriores, los niveles alimenticios a los que las vacas han sido sometidas en años sucesivos, el cambio de la época de parto, etc. deben actuar sobre los rendimientos reproductivos de las vacas a largo plazo, confiriendo una cierta variabilidad a los datos concretos de cada ensayo. A pesar de lo costoso del proyecto, tanto a nivel económico como de tiempo, sería de gran interés profundizar en este efecto acumulativo asociado a determinados factores.



De los resultados obtenidos en los 5 ensayos presentados en esta Memoria se desprende la recomendación de diseñar una estrategia de manejo que permita la correcta alimentación de las vacas, al menos durante el último tercio de gestación, asegurando un rendimiento reproductivo óptimo en los rebaños de vacas nodrizas. La distribución de los gastos alimenticios deberá estar en función del sistema de explotación, de forma que en sistemas extensivos que conllevan la permanencia continua del ternero será necesario concentrar dicho gasto antes del parto para que los animales lleguen al parto con una CC mínima de 2.75 en el caso de la Parda y 2.5 en el de la Pirenaica.

Sin embargo, en los sistemas de explotación que permitan la manipulación del ternero será factible reducir la alimentación preparto, al menos en un 10-20%, sin que existan repercusiones importantes en el plano reproductivo, siempre y cuando las pérdidas de peso en lactación no sean acusadas.

Si finalmente no es posible asegurar una adecuada CC al parto será imprescindible, en primer lugar, el aporte de niveles de alimentación elevados durante la lactación y, en segundo lugar, la permanencia restringida del ternero, para conseguir que las vacas estén cíclicas en el periodo de cubriciones, y se asegure el ciclo productivo siguiente.

En el caso concreto de las novillas, será preciso un esfuerzo especial para aportar una alimentación adecuada tanto antes como después del parto y, siempre que sea posible, mantener a los terneros en acceso restringido, pautas que van a permitir reactivaciones ováricas relativamente tempranas, asegurándose el óptimo desarrollo de las futuras vacas nodrizas.



***CONCLUSIONES***

---

**1ª** . En vacas de raza Parda Alpina, el desarrollo folicular se detectó durante la primera semana postparto, incluso en vacas sometidas a una profunda subnutrición durante el último tercio de gestación. Éstas últimas presentaron un menor diámetro máximo del primer FD observado después del parto así como una inferior velocidad de crecimiento de dicho folículo, en relación a las vacas del nivel de alimentación alto preparto. Se ha puesto de manifiesto la capacidad ovulatoria del primer FD detectado en el periodo postparto en vacas que presentaron una elevada condición corporal al parto.

**2ª** . Durante el periodo postparto, la cohorte folicular media estuvo formada por 6.5 folículos, que presentaron un diámetro medio en emergencia de 4.7 mm, independientemente de los niveles alimenticios preparto o postparto, el manejo aplicado al ternero, la raza o el número de ola folicular.

**3ª** . El diámetro máximo medio del FD y su velocidad de crecimiento fueron menores en las vacas sometidas a una restricción energética antes y/o después del parto, debido a la menor frecuencia de pulsos de LH asociada a situaciones de subnutrición. Estos parámetros fueron similares para las razas Parda y Pirenaica, e independientes de que el acceso del ternero a la vaca fuera libre o restringido.

El diámetro máximo del FD, su velocidad de crecimiento y la duración de las olas foliculares presentaron un aumento progresivo a medida que se aproximaba la fase ovulatoria de las vacas.

**4ª** . Las situaciones de subnutrición energética estuvieron asociadas a una reducción del nivel plasmático de glucosa, tendiendo a aumentar los productos resultantes del metabolismo de las reservas grasas (AGNE y  $\beta$ -hidroxibutirato) y aumentando, finalmente, la concentración plasmática de urea, en vacas de raza Parda Alpina sometidas a distintos niveles alimenticios.

**5ª** . En vacas de raza Parda Alpina, la alimentación preparto fue la que determinó el número de olas foliculares previas a la primera ovulación y la duración del app, modulando la intensidad del efecto de la alimentación postparto y el manejo del ternero sobre la reactivación ovárica postparto. La nutrición actuó sobre el desarrollo folicular y la incidencia de ovulación de los FD, alterando la frecuencia de pulsos de LH y los niveles plasmáticos de GH.

**6ª** . En la raza Parda Alpina, la permanencia continua del ternero con la madre suprimió la liberación pulsátil de LH, prolongando la duración del app. No se ha evidenciado un mayor gasto energético o una alteración del crecimiento folicular atribuibles a dicho manejo. Esta permanencia continua no provocó un retraso en la reactivación ovárica postparto cuando la condición corporal al parto de las vacas fue elevada.

La restricción del acceso del ternero a la madre suprimió la inhibición ejercida por la crianza libre sobre la reactivación ovárica postparto en vacas que llegaron al parto con un estado corporal moderado, no así en las que presentaron una baja condición corporal al parto.

**7ª** . La separación y el aislamiento visual del ternero, realizados inmediatamente después de la selección del FD de la primera ola ovulatoria detectada después del día 21 postparto (estimada como la cuarta ola folicular), desencadenó un mayor porcentaje de ovulaciones en las vacas que presentaron mayor condición corporal al parto.

En vacas de raza Parda Alpina sometidas a diferentes niveles de alimentación preparto y postparto, la restricción del acceso del ternero a la madre iniciada el día 45 postparto resultó ser tardía para inducir la ovulación.

**8ª** . En condiciones de manejo del ternero en acceso restringido y condición corporal al parto moderada, las razas Parda Alpina y Pirenaica presentaron una duración del app similar. La raza Parda Alpina fue más sensible que la Pirenaica a la permanencia continua del ternero, presentando un aumento en el número de olas foliculares previas a la primera ovulación y evidentemente un retraso importante en la reactivación ovárica postparto en relación a la Pirenaica. Sin embargo, no se han evidenciado diferencias raciales en el crecimiento folicular atribuibles al manejo del ternero. La condición corporal al parto umbral a partir de la cual la permanencia continua del ternero comenzaría a inhibir la reproducción sería menor en la raza Parda Alpina.

**9ª** . En las condiciones de explotación descritas, la duración del app de las vacas nodrizas estuvo asociada, principalmente, a cuatro factores definidos, por orden de importancia, como: alimentación preparto, alimentación postparto-edad de la vaca, manejo del ternero y, como variable suplementaria, incidencia de partos distócicos. Estos factores explicaron el 59% de la inercia del modelo.

Ni la época de parto, ni la raza estuvieron vinculados a la duración del app, aunque el Análisis Cluster asoció el retraso de la reactivación ovárica postparto inducido por la permanencia continua del ternero fundamentalmente con la raza Parda Alpina.

**10ª** . De los resultados de esta Memoria se puede desprender que los efectos asociados a la extensificación, reducción de los niveles de alimentación y presencia constante del ternero con la madre, pueden traducirse en importantes pérdidas reproductivas en los rebaños de vacas nodrizas, planteándose la hipótesis de que este efecto podría ser menos marcado en determinados tipos raciales.

Esta situación indica la necesidad de proseguir con los trabajos encaminados a determinar las pautas de manejo que puedan asegurar la viabilidad técnico-económica de los sistemas extensivos de producción de vacuno.



***RESUMEN***

---



En la presente Memoria se ha estudiado, en las condiciones de producción de la montaña Pirenaica, la dinámica folicular en vacas nodrizas sometidas a condiciones nutricionales y de manejo del ternero diferentes. Se ha analizado el crecimiento folicular en las razas Parda Alpina y Pirenaica, así como los factores de explotación asociados a la duración del app. Para ello, se han realizado cuatro ensayos puntuales profundizando en los mecanismos de acción de factores específicos y un ensayo global para determinar la influencia del conjunto de factores sobre la duración del app.

Se determinó la dinámica folicular existente en vacas de raza Parda Alpina sometidas a diferentes niveles de alimentación (alto vs. bajo), detectándose desarrollo folicular en la primera semana postparto. El diámetro máximo y la velocidad de crecimiento del primer FD detectado después del parto fueron menores en las vacas que recibieron el nivel bajo preparto. En los animales del lote alto preparto, el primer FD detectado en el postparto fue capaz de alcanzar la ovulación.

Las características del crecimiento folicular a lo largo del periodo postparto se estudiaron en vacas de razas Parda Alpina y Pirenaica. La cohorte folicular media estuvo formada por 6.5 folículos, que presentaron un diámetro medio en emergencia de 4.7 mm, no estando influidos estos parámetros por los niveles alimenticios preparto o postparto, el manejo aplicado al ternero, la raza o el número de ola folicular.

La subnutrición aplicada durante los periodos preparto o postparto desencadenó un descenso en el diámetro máximo medio del FD y en su velocidad de crecimiento, a través de la inferior pulsatilidad de LH observada en vacas sometidas a una restricción energética. Estos parámetros foliculares fueron similares para ambas razas y manejos del ternero, y presentaron un aumento progresivo a medida que se aproximaba la fase ovulatoria de las vacas.

Se estudió el papel de los perfiles metabólicos en el periodo postparto de las vacas de raza Parda Alpina. Las vacas sometidas a un nivel restrictivo presentaron una caída en la concentración plasmática de glucosa, tendiendo a aumentar los niveles de AGNE y  $\beta$ -hidroxibutirato, y aumentando, finalmente, la concentración plasmática de urea.

El número de olas foliculares detectadas antes de la primera ovulación, así como la duración del app se vieron influidos fundamentalmente por el nivel de alimentación recibido durante el último tercio de gestación, que actuó a través de la modulación de la pulsatilidad de LH y la concentración en plasma de GH. La alimentación preparto determinó la intensidad

de los efectos de la alimentación postparto y del manejo del ternero sobre la reactivación ovárica postparto.

En vacas de raza Parda Alpina, la permanencia continua del ternero con la madre redujo la pulsatilidad de LH retrasando la reactivación ovárica postparto. No se evidenciaron diferencias en los rendimientos productivos de los animales o una alteración del crecimiento folicular atribuibles a dicho manejo.

Se estableció la existencia de una interacción entre el nivel de alimentación preparto y el manejo del ternero. La duración del app fue independiente del manejo aplicado al ternero en las vacas que presentaron una condición corporal al parto alta o baja. En vacas que llegaron al parto con una condición corporal moderada, la restricción del acceso del ternero a la madre aplicada después del parto o después de la selección del FD de la cuarta ola folicular (en torno al día 30 postparto) suprimió la inhibición ejercida por la crianza libre sobre la reanudación de la ciclicidad ovárica.

La separación del ternero realizada el día 45 postparto fue una práctica tardía para inducir la ovulación en vacas de raza Parda Alpina sometidas a diferentes niveles alimenticios antes y después del parto.

En vacas de razas Parda Alpina y Pirenaica, cuya condición corporal al parto fue moderada, se observó un desarrollo folicular postparto similar, que a su vez fue independiente del manejo aplicado al ternero. Sin embargo, la permanencia continua del ternero con la madre aumentó el número de olas foliculares previas a la primera ovulación y retrasó la reactivación ovárica postparto únicamente en las vacas de raza Parda Alpina.

El análisis global de los posibles factores relacionados con la reactivación ovárica postparto detectó, por orden de importancia, cuatro factores que explicaron el 59% de la inercia del modelo: alimentación preparto, alimentación postparto-edad de la vaca, manejo del ternero y, como variable suplementaria, incidencia de partos distócicos. La duración del app no estuvo asociada a la época de parto o a la raza, aunque el quinto tipo de vaca identificado por unos prolongados app y un manejo del ternero en acceso libre estuvo formado en su mayoría por vacas de raza Parda Alpina.

## ***SUMMARY***

---

The effect of feeding level (high vs. low) and calf handling (restricted vs. free suckling) on follicular development of suckler cows were studied under mountain conditions. Follicular growth in Parda Alpina and Pirenaica cows and management factors associated with the duration of postpartum anoestrus were analysed. With this aim, four specific assays were carried out (A, B, C and D) to study in depth the mechanisms of action of certain factors, and one global assay (E) to determine the effect of management factors as a whole on the duration of postpartum anoestrus.

Follicular development was detected during the first postpartum week in Parda Alpina cows maintained on two prepartum feeding levels. Maximum diameter and growth rate of the first postpartum dominant follicle were smaller in the low than in the high group. The three first dominant follicles were able to ovulate in cows fed high nutritional levels before calving.

Follicle growth properties during the postpartum period were studied in Parda Alpina and Pirenaica cows. Each wave of follicular development was characterised by the simultaneous emergence of 6.5 follicles, with 4.7 mm in mean diameter, independently of pre and postpartum nutritional levels, calf management, breed or number of follicular wave.

Mean maximum diameter and mean growth rate of dominant follicles were smaller in pre and postpartum low nutritional levels, as a result of a lower LH pulse frequency associated with underfeeding situations, and were similar in both breeds and calf managements. Mean maximum diameter and mean growth rate of dominant follicles presented a progressive increase in the postpartum period.

The role of metabolic profiles in the Parda Alpina postpartum period was studied. The restrictive nutritional levels were associated with a lower level of glucose, a tendency to increase NEFA and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations, and a higher level of urea.

The prepartum feeding level affected the number of follicular waves detected before first ovulation and the length of postpartum anoestrus, by modulating LH pulse frequency and GH plasma concentration. The nutritional level before calving determined the intensity of postpartum nutrition and calf management effects on postpartum ovarian activity.

Free suckling reduced LH pulse frequency and delayed postpartum ovarian activity in Parda Alpina cows, but reproductive performances and follicular development were similar in both calf managements (restricted vs. free suckling).

Suckling effect on postpartum anoestrus depended on the prepartum feeding level. No suckling effect was detected in cows in high or low body condition at calving. When body condition score at calving was moderate calf restriction after calving or shortly after selection of the dominant follicle of the fourth wave (at around day 30 postpartum) alleviated the suppressive effect of suckling on postpartum ovarian reactivation.

Calf restriction on day 45 postpartum was a late practice to induce the ovulation in Parda Alpina cows maintained on two prepartum and two postpartum feeding levels.

Postpartum follicular development was similar in Parda Alpina and Pirenaica cows in moderate body condition at calving, and irrespective on calf management. However, free suckling increased the number of follicular waves before first ovulation and the duration of postpartum anoestrus period exclusively in Parda Alpina cows.

The global analysis of management factors associated with postpartum ovarian reactivation detected, in order of weight, four *factors* that explained 59% of the inertia of the model: prepartum feeding level, postpartum feeding level-parity, calf management and calving difficulty (additional variable). No differences were found in the duration of postpartum anoestrus which could be attributed to calving season or breed, although the type of cows characterised by long postpartum anoestrus and free suckling (type 5) was mostly formed by Parda Alpina cows.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

---

- Acosta B., Tarnavsky G. K., Platt T. E., Hamernik D. L., Brown J. L., Schoenemann H. M., Reeves J. J. (1983).** "Nursing enhances the negative effect of estrogen on LH release in the cow". *Journal of Animal Science* 57: 1530-1536.
- Adams G. P., Evans A. C. O., Rawlings N. C. (1994).** "Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers". *Journal of Reproduction and Fertility* 100: 27-33.
- Adams G. P., Kot K., Smith C. A., Ginther O. J. (1993).** "Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers". *Animal Reproduction Science* 30: 259-271.
- Adams G. P., Matteri R. L., Kastelic J. P., Ko J. C. H., Ginther O. J. (1992).** "Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers". *Journal of Reproduction and Fertility* 94: 177-188.
- Adams G. P., Pierson R. A. (1995).** "Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans". *Theriogenology*: 113-120.
- Adams W. M., Wagner W. C. (1970).** "The role of corticoids in parturition". *Biology of Reproduction* 3: 223-228.
- Adashi E. Y., Resnick C. E., D'Ercole A. J., Svoboda M. E., Wyk J. J. v., Van-Wyk J. J. (1985).** "Insulin-like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cell growth and function". *Endocrine Reviews* 6: 400-420.
- Agabriel J., Petit M., Ollier A., Chilliard Y. (1995).** "Effects of underfeeding on body reserves variations and on energy efficiency of lactating Charolais cows". *Annales de Zootechnie* 44: 317.
- Ahima R. S., Prabakaran D., Mantzoros C., Qu D. Q., Lowell B., Maratos-Flier E., Flier J. S. (1996).** "Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting". *Nature (Lond.)* 382: 250-252.
- Ahmadzadeh A., Barnes M. A., Pearson R. E. (1998).** "Effect of naloxone on serum luteinizing hormone concentration in anovulatory Holstein cows during the early postpartum period". *Domestic Animal Endocrinology* 15: 177-181.
- Alabart J. L. (1990).** "Introducción al radioinmunoanálisis". *Curso de Reproducción Animal, IAMZ, Zaragoza.*
- Alberio R., Butler H., Palma G., Schiersmann G., Algorta D., Ortiz A. (1984).** "Actividad reproductiva y fertilidad luego de un destete temporario en vacas de cría multíparas con diferentes estados corporales". *Revista Argentina de Produccion Animal* 4: 555-566.
- Alberio R. (1985).** "Manejo reproductivo del ganado bovino en sistemas extensivos". *ITEA Vol. Extra 5: 267-296.*
- Alberio R., Schiersmann G., Carou N., Mestre J. (1987).** "Effect of a teaser bull on ovarian and behavioural activity of suckling beef cows". *Animal Reproduction Science* 14: 263-272.

- A.R.C. (1980).** "The nutrient requirements of ruminant livestock.". Ed. T. R. a. A. R. C. w. party. Farnham Royal, U.K., Commonwealth Agricultural Bureaux. 351 págs.
- Arslan M., Pohl C. R., Plant T. M. (1988).** "DL-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid, a specific N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonist, suppresses pulsatile LH release in the rat". *Neuroendocrinology* 47: 465-468.
- Ascaso J. (1988).** "Pastos arbustivos y forestales del Prepirineo Aragonés occidental. Aportaciones a su conocimiento y tipificación". *Actas de la XXVIII Reunión Científica de la S.E.E.P.*: 169-177.
- Atterberry A. A., Mikeska J. C., Miller A. M., Williams G. L., Welsh T. H., Jr. (1988).** "Serum concentration of bioactive follicle-stimulating hormone (FSH) in heifers". 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, University College Dublin, Ireland, 26-30.
- Badinga L., Driancourt M. A., Savio J. D., Wolfenson D., Drost M., Thatcher W. W., De la Sota R. L. (1992).** "Endocrine and ovarian responses associated with the first-wave dominant follicle in cattle". *Biology of Reproduction* 47: 871-883.
- Balent G. (1987).** "Structure, fonctionnement et évolution d'un système pastoral. Le pâturage vu comme un facteur écologique piloté dans les Pyrénées Centrales". Tesis doctoral. Université de Rennes. 146 págs.
- Barash I. A., Cheung C. C., Weigle D. S., Hongping R., Kabigting E. B., Kuijper J. L., Clifton D. K., Steiner R. A. (1996).** "Leptin is a metabolic signal to the reproductive system". *Endocrinology Philadelphia* 137: 3144.
- Barb C. R. (1999).** "The brain-pituitary-adipocyte axis: role of leptin in modulating neuroendocrine function". *Journal of Animal Science* 77: 1249-1257.
- Bartle S. J., Males J. R., Preston R. L. (1984).** "Effect of energy intake on the postpartum interval in beef cows and the adequacy of the cow's milk production for calf growth". *Journal of Animal Science* 58: 1068-1074.
- Bartlewski P. M., Beard A. P., Rawlings N. C. (1999).** "Ovarian function in ewes during the transition from breeding season to anoestrus". *Animal Reproduction Science* 57: 1-2.
- Bass J. J., Spencer G. S. G., Hodgkinson S. C. (1992).** "Nutritional control of the growth hormone axis". En *The control of fat and lean deposition*. N. Boorman, P. J. Buttery, D. B. Lindsay (Ed.), Butterworths-Heinemann, 175-195.
- Beaudeau F., Van der Ploeg J. D., Boileau B., Seegers H., Noordhuizen J. (1996).** "Relationships between culling criteria in dairy herds and farmers' management styles". *Preventive Veterinary Medicine* 25: 327-342.
- Beg M. A., Totey S. M. (1999).** "The oestrous cycle, oestrous behaviour and the endocrinology of the oestrous cycle in the buffalo (*Bubalus bubalis*)". *Animal Breeding Abstracts* 67: 329-337.



- Bell D. J., Spitzer J. C., Burns G. L. (1998).** "Comparative effects of early weaning or once-daily suckling on occurrence of postpartum estrus in primiparous beef cows". *Theriogenology* 50: 707-715.
- Bellin M. E., Hinshelwood M. M., Hauser E. R., Ax R. L. (1984).** "Influence of suckling and side of corpus luteum or pregnancy on folliculogenesis in postpartum cows". *Biology of Reproduction* 31: 849-855.
- Bergfeld E. G. M., Kojima F. N., Cupp A. S., Wehrman M. E., Peters K. E., Garcia Winder M., Kinder J. E. (1994).** "Ovarian follicular development of prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake". *Biology of Reproduction* 51: 1051-1057.
- Bertoni G., Trevisi E., Bani P. (1994).** "Metabolic effects of two different lapses without concentrate in early lactating dairy cows". *Livestock Production Science* 39: 139-140.
- Bishop D. K., Wettemann R. P., Spicer L. J. (1994).** "Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows". *Journal of Animal Science* 72: 2703-2708.
- Bittman E. L., Karsch F. J., Hopkins J. W. (1983).** "Role of the pineal gland in ovine photoperiodism: regulation of seasonal breeding and negative feedback effects of estradiol upon luteinizing hormone". *Endocrinology* 113: 329-336.
- Blasco I. (1991).** "Influencia de diversos factores de explotación sobre las características reproductivas del periodo post-parto en ganado vacuno de montaña". Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. 163 págs.
- Blasco I., Olleta J. L., San Juan L., Revilla R. (1992).** "The Pyrenean breed: some production trials and the interest in its conservation in mountain areas". *Archivos de Zootecnia* 41: 549-553.
- Blasco I., Revilla R. (1992).** "Characterization of progesterone profiles in post-partum beef cows". 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Holland, 27-29.
- Blasco I., Revilla R. (1991).** "Duración del anoestro posparto en vacas de raza Parda Alpina: efecto del nivel de alimentación durante la lactación". *I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra* 11: 106-108.
- Bloomfield G. A., Morant S. V., Ducker M. J. (1986).** "A survey of reproductive performance in dairy herds. Characteristics of the patterns of progesterone concentrations in milk". *Animal Production* 42: 1-10.
- Bluntzer J. S., Forrest D. W., Harms P. G., Beverly J. R., Long C. R. (1989).** "Effect of suckling manipulation on postpartum reproduction in primiparous Brahman-cross cows". *Theriogenology* 32: 893-899.
- Boadi D., Price M. A. (1996).** "The effects of pre- and early post-calving management on reproductive performance of beef cows". *Canadian Journal of Animal Science* 76: 337-342.
- Bodensteiner K. J., Kot K., Wiltbank M. C., Ginther O. J. (1996).** "Synchronization of emergence of follicular waves in cattle". *Theriogenology* 45: 1115-1128.

- Bonavera J. J., Schiersmann G. C. S., Alberio R. H., Mestre J. (1990).** "A note on the effects of 72-hour calf removal and/or bull exposure upon post-partum reproductive performance of Angus cows". *Animal Production* 50: 202-206.
- Bossis I., Wettemann R. P., Welty S. D., Vizcarra J. A., Spicer L. J., Diskin M. G. (1999).** "Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation". *Journal of Animal Science* 77: 1536-1546.
- Braden T. D., Cermak D. L., Manns J., Niswender G. D., Nett T. M. (1983).** "Hypothalamic GnRH, pituitary FSH and LH, and pituitary receptors for GnRH and estradiol in cycling beef cows". *Proceedings of the West Section of American Society of Animal Science* 34: 215-218.
- Braden T. D., Manns J. G., Cermak D. L., Nett T. M., Niswender G. D. (1986).** "Follicular development following parturition and during the estrous cycle in beef cows". *Theriogenology* 25: 833-843.
- Breier B. H., Gluckman P. D. (1993).** "Growth hormone and lactation: physiological responses and endocrine interactions.". En *Progress in Endocrinology*. R. Mornex, C. Jaffiol, J. Leclere (Ed.), New York, Parthenon Publishing Group, 675-679.
- Breier B. H., Gluckman P. D., Bass J. J. (1988).** "Influence of nutritional status and oestradiol-17beta on plasma growth hormone, insulin-like growth factors-I and -II and the response to exogenous growth hormone in young steers". *Journal of Endocrinology* 118: 243-250.
- Breuel K. F., Lewis P. E., Inskeep E. K., Butcher R. L. (1993).** "Endocrine profiles and follicular development in early-weaned postpartum beef cows". *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 205-212.
- Brinks J. S., Olson J. E., Carroll E. J. (1973).** "Calving difficulty and its association with subsequent productivity in Herefords". *Journal of Animal Science* 36: 11-17.
- Britt J. H., Scott R. G., Armstrong J. D., Whitacre M. D. (1986).** "Determinants of estrous behavior in lactating Holstein cows". *Journal of Dairy Science* 69: 2195-2202.
- Brooks A. N., Lamming G. E., Haynes N. B. (1986).** "Review article. Endogenous opioid peptides and the control of gonadotrophin secretion". *Research in Veterinary Science* 41: 285-299.
- Browning Jr. R., Leite Browning M. L., Neuendorff D. A., Randel R. D. (1995).** "Prewaning growth of Angus- (*Bos taurus*), Brahman- (*Bos indicus*), and Tuli- (*Sanga*) sired calves and reproductive performance of their Brahman dams". *Journal of Animal Science* 73: 2558-2563.
- Browning Jr. R., Robert B. S., Lewis A. W., Neuendorff D. A., Randel R. D. (1994).** "Effects of postpartum nutrition and once-daily suckling on reproductive efficiency and preweaning calf performance in fall-calving Brahman (*Bos indicus*) cows". *Journal of Animal Science* 72: 984-989.
- Burke C. R., McDougall S., MacMillan K. L. (1995).** "Effects of breed and calving liveweight on postpartum ovarian activity in pasture-fed dairy heifers". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 55: 76-78.

- Burns P. D., Spitzer J. C., Henricks D. M. (1997).** "Effect of dietary energy restriction on follicular development and luteal function in nonlactating beef cows". *Journal of Animal Science* 75: 1078-1086.
- Butler W. R., Everett R. W., Coppock C. E. (1981).** "The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows". *Journal of Animal Science* 53: 742-748.
- Cahill L. P., Mauleon P. (1981).** "A study of the population of primordial and small follicles in the sheep". *Journal of Reproduction and Fertility* 61: 201-206.
- Calavas D., Bugnard F., Ducrot C., Sulpice P. (1998).** "Classification of the clinical types of udder disease affecting nursing ewes". *Small Ruminant Research* 29: 21-31.
- Canfield R. W., Butler W. R. (1990).** "Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle". *Domestic Animal Endocrinology* 7: 323-330.
- Canfield R. W., Butler W. R. (1991).** "Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows". *Journal of Animal Science* 69: 740-746.
- Carrasco J. L., Hernán M. A. (1993).** "Estadística multivariante en las ciencias de la vida. Fundamentos, métodos y aplicación". Centro de Investigación Bioestadística. CIBEST. Ciencia 3 S.L. (Ed.). 363 págs.
- Carruthers T. D., Hafs H. D. (1980).** "Suckling and four-times daily milking: influence on ovulation, estrus and serum luteinizing hormone, glucocorticoids and prolactin in postpartum Holsteins". *Journal of Animal Science* 50: 919-925.
- Carter M. L., Dierschke D. J., Rutledge J. J., Hauser E. R. (1980).** "Effect of gonadotropin-releasing hormone and calf removal on pituitary-ovarian function and reproductive performance in postpartum beef cows". *Journal of Animal Science* 51: 903-910.
- Casasús I. (1998).** "Contribución al estudio de los sistemas de producción de ganado vacuno en zonas de montaña: Efecto de la raza y de la época de parto sobre la ingestión voluntaria de forrajes y los rendimientos en pastoreo". Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza. 215 págs.
- Casasús I., Sanz A., Revilla R. (1999).** "Factors influencing animal performance during the grazing season in Spanish mountain cattle production systems". En *"Nutritional ecology of herbivores". Posters and discussion of plenary topics and posters at the Fifth International Symposium on the Nutrition of Herbivores. CD-ROM. G. Stone, T. D. A. Forbes, J. W. Stuth, F.M.Byers., San Antonio (Texas), EEUU.*
- Cermak D. L., Braden T., Manns J., Niswender G. D., Nett T. M. (1982).** "Contents of hypothalamic GnRH, pituitary FSH and LH, and pituitary receptors for GnRH and estradiol in postpartum suckled beef cows". *Journal of Animal Science* 57 Supl.1: 322.
- Chaffaux S., Valon F., Martinez J. (1982).** "Development of the ultrasound image of the bovine fetus". *Bulletin de l'Academie Veterinaire de France* 55: 213-221.

- Charmley E., Small J. A., McRae K. B. (1999).** "Influence of post-calving supplemental protein on calf performance and reproductive efficiency for beef cows fed silage". *Canadian Journal of Animal Science* 79: 97-106.
- Chase C. C., Jr., Kirby C. J., Hammond A. C., Olson T. A., Lucy M. C. (1998).** "Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency". *Journal of Animal Science* 76: 212-219.
- Chemineau P. (1989).** "The male effect: mode of action and effectiveness in stimulating reproduction in anoestrous goats". *Productions Animales, INRA* 2: 97-104.
- Chemineau P., Vandaele E., Brice G., Jardon C. (1991).** "Use of melatonin implants to improve the reproductive performance of ewes". *Recueil de Medecine Veterinaire* 167: 3-4.
- Clarke I. J., Horton R. J. E., Doughton B. W. (1990).** "Investigation of the mechanism by which insulin-induced hypoglycemia decreases luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes". *Endocrinology* 127: 1470.
- Clemente P. F., Short R. E., Staigmailler R. B., Bellows R. A., Kaltenbach C. C., Dunn T. G. (1978).** "Effect of precalving nutrition, early weaning, CB-154 and antiprolactin treatment on postpartum interval length in beef cows". *Journal of Animal Science* 47 Supl.1: 351.
- Connor H. C., Houghton P. L., Lemenager R. P., Malven P. V., Parfet J. R., Moss G. E. (1990).** "Effect of dietary energy, body condition and calf removal on pituitary gonadotropins, gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and hypothalamic opioids in beef cows". *Domestic Animal Endocrinology* 7: 403-411.
- Cooke D. J., Crowe M. A., Roche J. F. (1997).** "Circulating FSH isoform patterns during recurrent increases in FSH throughout the oestrous cycle of heifers". *Journal of Reproduction and Fertility* 110: 339-345.
- Cooper D. A., Carver D. A., Villeneuve P., Silvia W. J., Inskoop E. K. (1991).** "Effects of progestagen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows". *Journal of Reproduction and Fertility* 91: 411-421.
- Copelin J. P., Smith M. F., Garverick H. A., Youngquist R. S., McVey W. R., Jr., Inskoop E. K. (1988).** "Responsiveness of bovine corpora lutea to prostaglandin F2alpha: Comparison of corpora lutea anticipated to have short or normal lifespans". *Journal of Animal Science* 66: 1236-1245.
- Copelin J. P., Smith M. F., Keisler D. H., Garverick H. A. (1989).** "Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin F-2 alpha on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea". *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 199-207.
- Cosgrove J. R., Rensis F. d., Foxcroft G. R. (1993).** "Opioidergic pathways in animal reproduction: their role and effects of their pharmacological control". *Animal Reproduction Science* 33: 373-392.

- Cowen P., Schwabe C. W., Rosenberg H. R., Bondurant R. H., Franti C. E., Goodger W. J. (1989).** "Reproductive management practices among Tulare, California, dairy herds. II. Analytical studies". *Preventive Veterinary Medicine* 7: 101-111.
- Critser J. K., Block T. M., Folkman S., Hauser E. R. (1987).** "Effect of photoperiod on LH, FSH, prolactin and melatonin patterns in ovariectomized prepubertal heifers". *Journal of Reproduction and Fertility* 81: 29-39.
- Critser J. K., Miller K. F., Gunsett F. C., Ginther O. J. (1983).** "Seasonal LH profile in ovariectomized cattle". *Theriogenology* 19: 181-191.
- Curlewis J. D., Naylor A. M., McNeilly A. S. (1991).** "Evaluation of a possible role for the dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in the steroid-dependent suppression of luteinizing hormone secretion in the seasonally anoestrus ewes". *Journal of Neuroendocrinology* 3: 387-391.
- Custer E. E., Berardinelli J. G., Short R. E., Wehrman M., Adair R. (1990).** "Postpartum interval to estrus and patterns of LH and progesterone in first-calf suckled beef cows exposed to mature bulls". *Journal of Animal Science* 68: 1370-1377.
- De Kruif A. (1978).** "Factors influencing the fertility of a cattle population". *Journal of Reproduction and Fertility* 54: 507-518.
- De Rensis F., Cosgrove J. R., Foxcroft G. R. (1993).** "Luteinizing hormone and prolactin responses to naloxone vary with stage of lactation in the sow". *Biology of Reproduction* 48: 970-976.
- De Vries M. J., Beek S. v. d., Kaal Lansbergen L., Ouweltjes W., Wilmink J. B. M. (1999).** "Modeling of energy balance in early lactation and the effect of energy deficits in early lactation on first detected estrus postpartum in dairy cows". *Journal of Dairy Science* 82: 1927-1934.
- DeRouen S. M., Franke D. E., Morrison D. G., Yatt W. E., Coombs D. F., White T. W., Humes P. E., Greene B. B. (1994).** "Prepartum body condition and weight influences on reproductive performance of first-calf beef cows". *Journal of Animal Science* 72: 1119-1125.
- D'Hour P., Revilla R., Wright I A. (1998).** "Possible adjustments of suckler herd management to extensive situations". *Annales de Zootechnie* 47: 453-463.
- Dieleman S. J., Bevers M. M., Tol H. T. M. v., Willemse A. H., Van-Tol H. T. M. (1986).** "Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrous cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrous period". *Animal Reproduction Science* 10: 275-292.
- Dimmick M. A., Gimenez T., Spitzer J. C. (1991).** "Ovarian endocrine activity and development of ovarian follicles during the postpartum interval in beef cows". *Animal Reproduction Science* 24: 173-183.
- Diskin M. G., Grealy M., Sreenan J. M. (1992).** "Shortening the postpartum interval in suckler cows". 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Holland, 2036-2038.

- Diskin M. G., Mackey D. R., Sanz A., Marongiu L., Quintans G., Roche J. F., Revilla R., Molle G., Sinclair K. D. (1999).** "Effects of body condition at calving, post-partum nutrition and calf access on the interval from calving to first ovulation in beef cows: II. Ovarian folliculogenesis and gonadotrophin secretion". Winter Meeting, British Society of Animal Science, Scarborough, UK, 5.
- Diskin M. G., Stagg K., Sreenan J. M. (1995).** "Suckling and cow-calf interactions delay postpartum resumption of cyclicity in suckler cows". Irish Grassland and Animal Production Research Meeting.
- Dobson H., Alam M. G. S. (1987).** "Preliminary investigations into the endocrine systems of su-fertile cattle; location of a common lesion (rate-limiting step)". *Journal of Endocrinology* 113: 167-171.
- Dobson H., Essawy S. A., Alam M. G. S. (1988).** "Suppression of LH response to gonadotrophin-releasing hormone or oestradiol by ACTH(1-24) treatment in anoestrous ewes". *Journal of Endocrinology* 118: 193-197.
- Domínguez J. C., Peña Vega F. J., Anel L., Carbajo M., Alegre B. (1996).** "Prostaglandinas en la reproducción del ganado vacuno". *Medicina Veterinaria* 13: 606-616.
- Donaldson L. E. (1969).** "Effect of continued daily injections of oxytocin on oestrous cycle length and reproductive tract morphology in the cow". *Journal of Reproduction and Fertility* 18: 259-263.
- Downie J. G., Gelman A. L. (1976).** "The relationship between changes in bodyweight, plasma glucose and fertility in beef cows". *Veterinary Records* 99: 210-212.
- Drennan M. J. (1971).** "Single-suckled beef production. 3. Effect of plane of nutrition during late pregnancy on cow performance". *Irish Journal of Agricultural Research* 15: 157-168.
- Dubois P. (1993).** "The hypothalamic-pituitary axis". En *Reproduction in mammals and man*. C. Thibault, M. C. Levasseur, R. H. F. Hunter (Ed.). Ellipses, Paris.
- Ducrot C., Gröhn Y. T., Humblot P., Bugnard F., Sulpice P., Gilbert R. O. (1994).** "Postpartum anestrus in french beef cattle: an epidemiological study". *Theriogenology* 42: 753-764.
- Dunlap S. E., Kiser T. E., Rampacek G. B., Kraeling R. R., Thompson F. N. (1981).** "Effect of suckling on cortisol, progesterone and luteinizing hormone in postpartum beef cows". *Theriogenology* 16: 185-193.
- Ebling F. J. P., Schwartz M. L., Foster D. L. (1989).** "Endogenous opioid regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion during sexual maturation in the female sheep". *Endocrinology Philadelphia* 125: 369-383.
- Ebling F. J. P., Wood R. I., Karsch F. J., Vannerson L. A., Suttie J. M., Bucholtz D. C., Schall R. E., Foster D. L. (1990).** "Metabolic interfaces between growth and reproduction. III. Central mechanisms controlling pulsatile luteinizing hormone secretion in the nutritionally growth-limited female lamb". *Endocrinology Philadelphia* 126: 2719-2727.

- Echternkamp S. E., Howard H. J., Roberts A. J., Grizzle J., Wise T. (1994).** "Relationships among concentrations of steroids, insulin-like growth factor-I, and insulin-like growth factor binding proteins in ovarian follicular fluid of beef cattle". *Biology of Reproduction* 51: 971-981.
- Eger S., Shemesh M., Schindler H., Amir S., Foote R. H. (1988).** "Characterization of short luteal cycles in the early post-partum period and their relation to reproductive performance of dairy cows". *Animal Reproduction Science* 16: 215-224.
- Elasser T. H., Rumsey T. S., Hammond A. C. (1989).** "Influence of diet on basal and growth hormone-stimulated plasma concentrations of IGF-I in beef cattle". *Journal of Animal Science* 67: 128-141.
- Erickson B. H. (1966).** "Development and senescence of the postnatal bobine ovary". *Journal of Animal Science* 25: 800-805.
- Erickson G. F. (1978).** "Función ovárica normal". *Clinical, Obstrics and Gynecology* 1: 33-55.
- Estienne M. J., Schillo K. K., Green M. A., Boling J. A. (1989).** "Free fatty acids suppress growth hormone, but not luteinizing hormone, secretion in sheep". *Endocrinology* 125: 85-91.
- Evans A. C. O., Adams G. P., Rawlings N. C. (1994).** "Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age". *Journal of Reproduction and Fertility* 102: 463-470.
- Faltys G. L., Convey E. M., Short R. E., Keech C. A., Fogwell R. L. (1987).** "Relationship between weaning and secretion of luteinizing hormone, cortisol and transcortin in beef cows". *Journal of Animal Science* 64: 1498-1505.
- Faye B., Boulme R., Lescourret F., Coulon J. B. (1996).** "A method for describing disease patterns during the life span of dairy cows". *Veterinary Research* 27: 453-464.
- Ferguson J. D., Chalupa W. (1989).** "Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows". *Journal of Dairy Science* 72: 746-766.
- Fernandez D., Berardinelli J. G., Short R. E., Adair R. (1993).** "The time required for the presence of bulls to alter the interval from parturition to resumption of ovarian activity and reproductive performance in first-calf suckled beef cows". *Theriogenology* 39: 411-419.
- Ferrer C. (1988).** "Los recursos pascícolas del Pirineo Aragonés". *Actas de la XXVIII Reunión Científica de la S.E.E.P.*, 23-65.
- Fike K. E., Bergfeld E. G., Cupp A. S., Kojima F. N., Mariscal V., Sanchez T. S., Wehrman M. E., Kinder J. E. (1996).** "Influence of fenceline bull exposure on duration of postpartum anoestrus and pregnancy rate in beef cows". *Animal Reproduction Science* 41: 161-167.
- Findlay J. K., Clarke I. J. (1987).** "Regulation of the secretion of FSH in domestic ruminants". *Journal of Reproduction and Fertility Supl.*34: 27-37.

- Flint A. P. F., Sheldrick E. L., McCann T. J., Jones D. S. C. (1990).** "Luteal oxytocin: characteristics and control of synchronous episodes of oxytocin and PGF<sub>2</sub> alpha secretion at luteolysis in ruminants". Domestic Animal Endocrinology 7: 111-124.
- Folch J. (1990).** "Utilización práctica del *efecto macho* para la provocación de celos y ovulaciones en ganado ovino". ITEA, Información Técnica Económica Agraria 3: 145-163.
- Forcada F., Zarazaga L., Abecia J. A. (1995).** "Effect of exogenous melatonin and plane of nutrition after weaning on estrous activity, endocrine status and ovulation rate in Salz ewes lambing in the seasonal anestrus". Theriogenology 43: 1179-1193.
- Forrest D. W., Fleeger J. L., Long C. R., Sorensen A. M., Jr., Harms P. G. (1980).** "Effect of exogenous prolactin on peripheral luteinizing hormone levels in ovariectomized cows". Biology of Reproduction 22: 197-201.
- Fortune J. E. (1986).** "Bovine theca and granulosa cells interact to promote androgen production". Biology of Reproduction 35: 292-299.
- Franci O., Pugliese C., Acciaioli A., Parisi G., Lucifero M. (1999).** "Application of two models to the lactation curve of Massese ewes". Small Ruminant Research 31: 91-96.
- Gaines W. L. (1928).** Bulletin Illinois Agricultural Experiment Station, 308.
- García-Belenguer S., Palacio J., Aceña C., Gascón M., Revilla R., Mormède P. (1996a).** "Neuroendocrine and metabolic adaptation of two cattle breeds to the physical stress of climbing to mountain pastures". Applied Animal Behaviour Science 49: 102.
- García-Belenguer S., Palacio J., Gascón M., Aceña C., Revilla R., Mormède P. (1996b).** "Differences in the biological stress responses of two cattle breeds to walking up to mountain pastures in the Pyrenees". Veterinary Research 27: 515-526.
- Garel J. P., Gauthier D., Petit M., Thimonier J. (1987).** "Effect of photoperiod on changes in live weight and the development of ovarian activity post partum in the lactating cow". Reproduction, Nutrition, Developpement 27: 305-306.
- Garel J. P., Petit M., Agabriel J. (1988).** "Alimentation hivernale des vaches allaitantes en zone de montagne". I.N.R.A. Productions Animales 1: 19-23.
- Gauthier D., Blanc M. R., Petit M., Pelletier J. (1982).** "FSH and LH variations in beef cows during the postpartum period". Reproduction, Nutrition, Developpement 22: 283-290.
- Gazal O. S., Guzman Vega G. A., Williams G. L. (1995).** "Duration of postpartum anestrus in beef cows is not dependent upon the time of suckling". Journal of Animal Science 73 Supl.1: 241 (Abstr.).
- Gazal O. S., Guzman Vega G. A., Williams G. L. (1999).** "Effects of time of suckling during the solar day on duration of the postpartum anovulatory interval in Brahman X Hereford (F1) cows". Journal of Animal Science 77: 1044-1047.



- Ginther O. J., Bergfelt D. R., Kulick L. J., Kot K. (1999).** "Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations". *Theriogenology* 52: 1079-1093.
- Ginther O. J., Knopf L., Kastelic J. P. (1989a).** "Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves". *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 223-230.
- Ginther O. J., Knopf L., Kastelic J. P. (1989b).** "Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy". *Biology of Reproduction* 41: 247-254.
- Ginther O. J., Kot K., Kulick L. J., Wiltbank M. C. (1997).** "Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle". *Theriogenology* 48: 75-87.
- Ginther O. J., Wiltbank M. C., Fricke P. M., Gibbons J. R., Kot K. (1996).** "Selection of the dominant follicle in cattle". *Biology of Reproduction* 55: 1187-1194.
- Goering H. K., Van Soest P. J. (1971).** "Forage fibre analysis". USDA, ARS, Agricultural Handbook. 10: 1-12.
- Gombe S., Hanse W. (1973).** "Plasma luteinizing hormone (LH) and progesterone levels in heifers on restricted energy intakes". *Journal of Animal Science* 37: 728-733.
- Gómez M. (1997).** "Basque Cattle Breeds". Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Vienna, Austria.
- Gong J. G., McBride D., Bramley T. A., Webb R. (1994).** "Effects of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis in vitro". *Journal of Endocrinology* 143: 157-164.
- González B. (1991).** "Análisis Multivariante: Aplicación al Ámbito Sanitario". SG (Ed). Barcelona. 247 págs.
- González de Bulnes A., Santiago Moreno J., López Sebastián A. (1999).** "Principios básicos de ultrasonografía". *Ovis* 61: 13-19.
- Gonzalez-Stagnaro C. (1991).** "Problemas reproductivos en ganado vacuno. Importancia de los programas de control". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 11: 28 págs.
- Gonzalez-Stagnaro C., De la Fuente J., Monleon M., Yepes J., Vasquez Prada J. A. (1997).** "Edad al primer parto e intervalo entre partos en vacas Avileña Negra-Ibérica". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 18: 514-516.
- Goodman R. L. (1994).** "Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle". En *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil, J. D. Neill (Ed.). Raven Press, New York (2ª edición), 2: 659-709.

- Grande I., Abascal E. (1999).** "Fundamentos y técnicas de investigación comercial". ESIC (Ed.). Madrid. (4ª edición).
- Gregg D. W., Moss G. E., Hudgens R. E., Malven P. V. (1986).** "Endogenous opioid modulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in postpartum ewes and cows". *Journal of Animal Science* 63: 838-847.
- Griffith M. K., Williams G. L. (1996).** "Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows". *Biology of Reproduction* 54: 761-768.
- Grimard B., Humblot P., Mialot J. P., Jeanguyot N., Sauvant D., Thibier M. (1997).** "Absence of response to oestrus induction and synchronization treatment is related to lipid mobilization in suckled beef cows". *Reproduction, Nutrition, Development* 37: 129-140.
- Grimard B., Humblot P., Ponter A. A., Mialot J. P., Sauvant D., Thibier M. (1995).** "Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows". *Journal of Reproduction and Fertility* 104: 173-179.
- Grimard B., Humblot P., Thibier M. (1992).** "Conditions of calving as a source of variation of cyclicity before and after oestrus synchronisation treatment in Charolais cow". 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Holland, 11-53.
- Gutierrez C. G., Campbell B. K., Webb R. (1997).** "Development of a long-term bovine granulosa cell culture system: induction and maintenance of estradiol production, response to follicle-stimulating hormone, and morphological characteristics". *Biology of Reproduction* 56: 608-616.
- Hall J. B., Kiser T. E., Boggs D. L., Lowery R. S. (1991).** "Effect of dietary energy level on luteinizing hormone and adrenal function in the post partum beef cow". *Theriogenology* 36: 107-116.
- Hamilton T. D., Vizcarra J. A., Wettemann R. P., Keefer B. E., Spicer L. J. (1999).** "Ovarian function in nutritionally induced anoestrous cows: effect of exogenous gonadotrophin-releasing hormone in vivo and effect of insulin and insulin-like growth factor I in vitro". *Journal of Reproduction and Fertility* 117: 179-187.
- Hammerl J. (1986).** "Der einfluss der aminosäure Ltyrosin, als ein Katecholamin-vorläufer, auf die reproduktion bei kuhen". The 14th World Congress on Diseases of Cattle, Dublin, Ireland, 911.
- Hansen P. J., Hauser E. R. (1983).** "Genotype X environmental interactions on reproductive traits of bovine females. III. Seasonal variation in postpartum reproduction as influenced by genotype, suckling and dietary regimen". *Journal of Animal Science* 56: 1362-1369.
- Hansen P. J., Hauser E. R. (1984).** "Photoperiodic alteration of postpartum reproductive function in suckled cows". *Theriogenology* 22: 1-14.

- Hanzen C. (1986).** "Endocrine regulation of postpartum ovarian activity in cattle: a review". *Reproduction, Nutrition, Developpement* 26: 1219-1239.
- Hanzen C., Laurent Y., Ward W. R. (1994).** "Comparison of reproductive performance in Belgian dairy and beef cattle". *Theriogenology* 41: 1099-1114.
- Harrison L. M., Randel R. D. (1986).** "Influence of insulin and energy intake on ovulation rate, luteinizing hormone and progesterone in beef heifers". *Journal of Animal Science* 63: 1228-1235.
- Hart I. C., Bines J. A., Morant S. V., Ridley J. L. (1978).** "Endocrine control of energy metabolism in the cow: comparison of the levels of hormones (prolactin, growth hormone, insulin and thyroxine) and metabolites in the plasma of high- and low-yielding cattle at various stages of lactation". *Journal of Endocrinology* 77: 333-345.
- Hirshfield A. N. (1994).** "Relationship between the supply of primordial follicles and the onset of follicular growth in rats". *Biology of Reproduction* 50: 421-428.
- Hisaw F. L. (1974).** "Development of follicles in the mammalian ovary". *International Review of Cytology* 124: 43-110.
- Hoffman D. P., Stevenson J. S., Minton J. E. (1996).** "Restricting calf presence without suckling compared with weaning prolongs postpartum anovulation in beef cattle". *Journal of Animal Science* 74: 190-198.
- Homanics G. E., Silvia W. J. (1988).** "Effects of progesterone and estradiol-17beta on uterine secretion of prostaglandin F2alpha in response to oxytocin in ovariectomized ewes". *Biology of Reproduction* 38: 804-811.
- Horta A., Vasques I., Leitao R., Robalo-Silva J., Vaz-Portugal A. (1990).** "Postpartum anoestrus in Alentejana cows: effect of season and temporary calf removal". *Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France* 75: 32-36.
- Hossner K. L., McCusker R. H., Dodson M. V. (1997).** "Insulin-like growth factors and their binding proteins in domestic animals". *Animal Science* 64: 1-15.
- Houghton P. L., Lemenager R. P., Horstman L. A., Hendrix K. S., Moss G. E. (1990).** "Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and preweaning calf gain". *Journal of Animal Science* 68: 1438-1446.
- Houseknecht K. L., Baile C. A., Matteri R. L., Spurlock M. E. (1998).** "The biology of Leptin: A Review". *Journal of Animal Science* 76: 1405-1420.
- Humblot P., Grimard B., Ribon O. v., Khireddine B., Dervishi V., Thibier M. (1996).** "Sources of variation of postpartum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in primiparous charolais cows treated with norgestomet implants and PMSG". *Theriogenology* 46: 1085-1096.

- Hussein F. M., Paccamonti D. L., Eilts B. E., Younis M. Y. M. (1992).** "Comparison of ovarian palpation, milk progesterone and plasma progesterone in the cow". *Theriogenology* 38: 431-439.
- Imakawa K., Day M. L., Zalesky D. D., Clutter A., Kittok R. J., Kinder J. E. (1987).** "Effects of 17beta-estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers". *Journal of Animal Science* 64: 805-815.
- I.N.R.A. (1978).** "Alimentation des ruminants". R. Jarrige (Ed.). INRA Publications Versailles. 621 págs.
- Ireland J. J., Roche J. F. (1982).** "Effect of progesterone on basal LH and episodic LH and FSH secretion in heifers". *Journal of Reproduction and Fertility* 64: 295-302.
- Ireland J. J., Roche J. F. (1983).** "Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: Changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles". *Journal of Animal Science* 57: 157-167.
- Ireland J. J., Roche J. F. (1987).** "Hypothesis regarding development of dominant follicles during a bovine oestrous cycle". En *Follicular growth and ovulation rate in farm animals*. J. F. Roche, D. O'Callahan (Ed.). Nijhoff M, 1-18.
- Ireland J. L. H., Good T. E. M., Knight P. G., Ireland J. J. (1994).** "Alterations in amounts of different forms of inhibin during follicular atresia". *Biology of Reproduction* 50: 1265-1276.
- Jolly P. D., McDougall S., Fitzpatrick L. A., Macmillan K. L., Entwistle K. W., Scaramuzzi R. J., Nancarrow C. D., Doberska C. (1995).** "Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows". *Journal of Reproduction and Fertility* Supl.49: 477-492.
- Jolly P. D., Tisdall D. J., Heath D. A., Lun S., McNatty K. P. (1994).** "Apoptosis in bovine granulosa cells in relation to steroid synthesis, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response to follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and follicular atresia". *Biology of Reproduction* 51: 934-944.
- Jones J. I., Clemmons D. R. (1995).** "Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions". *Endocrinology Reviews* 16: 3-34.
- Kastelic J. P., Bergfelt D. R., Ginther O. J. (1990).** "Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers". *Theriogenology* 33: 1269-1278.
- Kawate N., Inaba T., Mori J. (1994).** "Effects of progesterone and cortisol on the release of gonadotropin-releasing hormone from the perfused pituitary stalk-median eminence and on luteinizing hormone release from the pituitary of cows". *Animal Reproduction Science* 34: 93-100.
- Kesler D. J., Troxel T. R., Hixon D. L. (1980).** "Effect of days postpartum and exogenous GnRH on reproductive hormone and ovarian changes in postpartum suckled beef cows". *Theriogenology* 13: 287-296.

- Kesner J. S., Padmanabhan V., Convey E. M. (1982).** "Estradiol induces and progesterone inhibits the preovulatory surges of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in heifers". *Biology of Reproduction* 26: 571-578.
- Khiredine B., Grimard B., Ponter A. A., Ponsart C., Boudjenah H., Mialot J. P., Sauvant D., Humblot P. (1998).** "Influence of flushing on LH secretion, follicular growth and the response to estrus synchronization treatment in suckled beef cows". *Theriogenology* 49: 1409-1423.
- Kile J. P., Alexander B. M., Moss G. E., Hallford D. M., Nett T. M. (1991).** "Gonadotropin-releasing hormone overrides the negative effect of reduced dietary energy on gonadotropin synthesis and secretion in ewes". *Endocrinology Philadelphia* 128: 843-849.
- Kinsel M. L., Etherington W. G. (1998).** "Factors affecting reproductive performance in Ontario dairy herds". *Theriogenology* 50: 1221-1238.
- Kotwica J., Skarzynski D., Jaroszewski J., Williams G. L., Bogacki M. (1998).** "Uterine secretion of prostaglandin F<sub>2</sub>α stimulated by different doses of oxytocin and released spontaneously during luteolysis in cattle". *Reproduction, Nutrition, Development* 38: 217-226.
- Kurz S. G., Dyer R. M., Hu Y. F., Wright M. D., Day M. L. (1990).** "Regulation of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers fed an energy-deficient diet". *Biology of Reproduction* 43: 450-456.
- Lamb G. C., Miller B. L., Lynch J. M., Thompson K. E., Heldt J. S., Loest C. A., Grieger D. M., Stevenson J. S. (1999).** "Twice daily suckling but not milking with calf presence prolongs postpartum anovulation". *Journal of Animal Science* 77: 2207-2218.
- Lamming G. E., Claire W. D., Peters A. R. (1981).** "Endocrine patterns of the postpartum cow". *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.*30: 155-170.
- Lamsa J. C., Kot S. J., Eldering J. A., Nay M. G., McCracken J. A. (1989).** "Prostaglandin F<sub>2</sub>α-stimulated release of ovarian oxytocin in the sheep in vivo: threshold and dose dependency". *Biology of Reproduction* 40: 1215-1223.
- Le Du Y. L. P., Macdonald A. J., Peart J. N. (1979).** "Comparison of two techniques for estimating the milk production of suckler cows.". *Livestock Production Science* 6: 277-281.
- Le Neindre P. (1973).** "Observations sur l'estimation de la production laitière des vaches allaitantes per la pesée du veau avant et après la tétée". *Annales de Zootechnie* 22: 413-422.
- Leeuwenberg B. R., Hudson N. L., Moore L. G., Hurst P. R., McNatty K. P. (1996).** "Peripheral and ovarian IGF-I concentrations during the ovine oestrous cycle". *Journal of Endocrinology* 148: 281-289.
- Leshin L. S., Rund L. A., Kraeling R. R., Kiser T. E. (1991).** "The bovine preoptic area and median eminence: sites of opioid inhibition of luteinizing hormone-releasing hormone secretion". *Journal of Animal Science* 69: 3733-3746.

- Leyva Ocariz H., Querales G., Saavedra J., Hernandez A. (1996).** "Corpus luteum activity, fertility, and adrenal cortex response in lactating Carora cows during rainy and dry seasons in the tropics of Venezuela". *Domestic Animal Endocrinology* 13: 297-306.
- Li P. S., Wagner W. C. (1983).** "Effects of hyperadrenal states on luteinizing hormone in cattle". *Biology of Reproduction* 29: 11-24.
- Lowman B. G., Scott N. A., Somerville S. H. (1976).** "Condition scoring suckler cows". *East of Scotland College of Agriculture, Bulletin* 6: 1-31.
- Lucey S., Rowlands G. J., Russell A. M. (1986).** "The association between lameness and fertility in dairy cows". *Veterinary Record* 118: 628-631.
- Lucy M. C., Beck J., Staples C. R., Head H. H., De la Sota R. L., Thatcher W. W. (1992).** "Follicular dynamics, plasma metabolites, hormones and insulin-like growth factor I (IGF-I) in lactating cows with positive or negative energy balance during the preovulatory period". *Reproduction, Nutrition, Development* 32: 331-341.
- Lucy M. C., De la Sota R. L., Staples C. R., Thatcher W. W. (1993).** "Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (somatotribove) or saline and fed diets differing in fat content and energy". *Journal of Dairy Science* 76: 1014-1027.
- Lucy M. C., Staples C. R., Michel F. M., Thatcher W. W. (1991).** "Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows". *Journal of Dairy Science* 74: 473-482.
- Lusby K. S., Wettemann R. P., Turman E. J. (1981).** "Effects of early weaning calves from first-calf heifers on calf and heifer performance". *Journal of Animal Science* 53: 1193-1197.
- Lussier J. G., Matton P., Dufour J. J. (1987).** "Growth rates of follicles in the ovary of the cow". *Journal of Reproduction and Fertility* 81: 301-307.
- MacGregor R. G., Casey N. H. (1999).** "Evaluation of calving interval and calving date as measures of reproductive performance in a beef herd". *Livestock Production Science* 57: 181-191.
- Mackey D. R., Diskin M. G., Sreenan J. M., Roche J. F. (1997a).** "Will treatment with progesterone, either alone or with oestradiol result in behavioural oestrus and a normal length luteal phase in beef suckler cows induced to ovulate by calf isolation and once-a-day suckling?". Winter Meeting, British Society of Animal Science.
- Mackey D. R., Sreenan J. M., Roche J. F., Diskin M. G. (1997b).** "The effect of calf isolation and restricted suckling, either alone or with progesterone/oestradiol treatment on LH secretion and interval to first ovulation in beef suckler cows". *Proc IGAPA Research Forum*.

- Mackey D. R., Sreenan J. M., Roche J. F., Diskin M. G. (2000).** "The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamic, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling". *Journal of Animal Science* 78: 1917-1929.
- Macmillan K. L. (1983).** "Post-partum interval to oestrus in monozygous twin cows and possible effects of maternal bonding". *New Zealand Journal of Agricultural Research* 26: 451-454.
- Madej A., Kindahl H., Woyno W., Edqvist L. E., Stupnicki R. (1984).** "Blood levels of 15-keto-13,14-dihydroprostaglandin F2alpha during the postpartum period in primiparous cows". *Theriogenology* 21: 279-287.
- Mallinckrodt C. H., Bourdon R. M., Golden B. L., Schalles R. R., Odde K. G. (1992).** "Relationship of maternal milk expected progeny differences to actual milk yield and calf weaning weight". *Journal of Animal Science* 71: 355-362.
- Malpoux B., Thiery J. C., Chemineau P. (1999).** "Melatonin and the seasonal control of reproduction". *Proceedings of the 8th meeting of the European Pineal Society, Tours, France* 39: 355-366.
- Malven P. V., Parfet J. R., Gregg D. W., Allrich R. D., Moss G. E. (1986).** "Relationships among concentrations of four opioid neuropeptides and luteinizing hormone-releasing hormone in neural tissues of beef cows following early weaning". *Journal of Animal Science* 62: 723-733.
- Manns J. G., Humphrey W. D., Flood P. F., Mapletoft R. J., Rawlings N., Cheng K. W. (1983).** "Endocrine profiles and functional characteristics of corpora lutea following onset of postpartum ovarian activity in beef cows". *Canadian Journal of Animal Science* 63: 331-347.
- Mäntysaari P., Ingvarsen K. L., Toivonen V. (1999).** "Feeding intensity of pregnant heifers effect of feeding intensity during gestation on performance and plasma parameters of primiparous Ayrshire cows". *Livestock Production Science* 62: 29-41.
- Matton P., Adalakoun V., Couture Y., Dufour J. J. (1981).** "Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle". *Journal of Animal Science* 52: 813-820.
- McArdle C. A., Holtorf A. P. (1989).** "Oxytocin and progesterone release from bovine corpus luteal cells in culture: effects of insulin-like growth factor I, insulin, and prostaglandins". *Endocrinology Philadelphia* 124: 1278-1286.
- McCaughey W. P., Rutter L. M., Manns J. G. (1988).** "Effect of glucose infusion on metabolic and reproductive function in postpartum beef cows". *Canadian Journal of Animal Science* 68: 1079-1087.
- McDougall S., Burke C. R., Macmillan K. L., Williamson N. B. (1995a).** "Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving". *Research in Veterinary Science* 58: 212-216.

- McDougall S., Burke C. R., Williamson N. B., MacMillan K. L. (1995b).** "The effect of stocking rate and breed on the period of postpartum anoestrus in grazing dairy cattle". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 55: 236-238.
- McDougall S., Rhodes F. M. (1999).** "Detection of a corpus luteum in apparently anoestrous cows by manual palpation, transrectal ultrasonography and plasma progesterone concentration". *New Zealand Veterinary Journal* 47: 47-52.
- McGuire M. A., Vicini J. L., Bauman D. E., Veenhuizen J. J. (1992).** "Insulin-like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation". *Journal of Animal Science* 70: 2901-2910.
- McNatty K. P., Heath D., Lun S., Henderson K. M., Hudson N., Gibb M., McDiarmid J., Montgomery G. W., Thurley D. C. (1984).** "Effect of season on ovarian and pituitary activity in cows". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 44: 19-20.
- Meikle A. W., Cardoso de Sousa J. C., Hanzalova J., Murray D. K. (1996).** "Oleic acid inhibits cholesteryl esterase and cholesterol utilization for testosterone synthesis in mouse Leydig cells". *Metabolism, Clinical and Experimental* 45: 293-299.
- Merriam G. R., Wachter W. (1982).** "Algorithms for the study of episodic hormone secretion". *American Journal of Physiology* 243 (Endocrinol. Metab. 6): E310-E318.
- Meyer S. L., Goodman R. L. (1986).** "Separate neural systems mediate the steroid-dependent and steroid-independent suppression of tonic luteinizing hormone secretion in the anestrous ewe". *Biology of Reproduction* 35: 562-571.
- Mihn M., Austin E. J., Good T. E. M., Ireland J. L. H., Knight P. G., Roche J. F., Ireland J. J. (1999).** "Evidence that intrafollicular concentration of insulin-like growth factor-binding protein 4 (IGF-BP4) in cohort follicles predicts the dominant follicle in cattle". *Journal of Reproduction and Fertility Abstract Series* 23: 8.
- Moenter S. M., Caraty A., Locatelli A., Karsch F. J. (1991).** "Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge". *Endocrinology Philadelphia* 129: 1175-1182.
- Monniaux D., Pisselet C. (1992).** "Control of proliferation and differentiation of ovine granulosa cells by insulin-like growth factor-1 and follicle-stimulating hormone in vitro". *Biology of Reproduction* 46: 109-119.
- Montgomery G. W. (1982).** "Influence of suckling frequency and bromocryptine treatment on the resumption of ovarian cycles in post-partum beef cattle". *Theriogenology* 17: 551-563.
- Morrison D. G., Spitzer J. C., Perkins J. L. (1999).** "Influence of prepartum body condition score change on reproduction in multiparous beef cows calving in moderate body condition". *Journal of Animal Science* 77: 1048-1054.



- Moss G. E., Nett T. M. (1980).** "GnRH interaction with anterior pituitary. IV. Effect of estradiol-17 beta on GnRH-mediated release of LH from ovine pituitary cells obtained during the breeding season, anestrous season, and period of transition into or out of the breeding season". *Biology of Reproduction* 23: 398-403.
- Moss G. E., Parfet J. R., Marvin C. A., Allrich R. D., Diekman M. A. (1985).** "Pituitary concentrations of gonadotropins and receptors for GnRH in suckled beef cows at various intervals after calving". *Journal of Animal Science* 60: 285-293.
- Mukasa-Mugerwa E., Tegegne A., Franceschini R. (1991).** "Influence of suckling and continuous cow-calf association on the resumption of post-partum ovarian function in *Bos indicus* cow monitored by plasma progesterone profiles". *Reproduction, Nutrition, Development* 31: 241-247.
- Murphy M. G., Boland M. P., Roche J. F. (1990).** "Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows". *Journal of Reproduction and Fertility* 90: 523-533.
- Murphy M. G., Enright W. J., Crowe M. A., McConnell K., Spicer L. J., Boland M. P., Roche J. F. (1991).** "Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers". *Journal of Reproduction and Fertility* 92: 333-338.
- Nanda A. S., Ward W. R., Dobson H. (1991).** "Opioid involvement in LH release during the negative feedback effects of oestradiol and progesterone in dairy cows". *Reproduction, Fertility and Development* 3: 709-714.
- Nava Silva G. T. d., Burnham D. L., McDonald M. F., Morris S. T. (1994).** "The effects of restricted suckling and prepartum nutritional level on reproductive performance of primiparous crossbred beef cows". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 54: 307-310.
- Nett T. M. (1987).** "Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows". *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.*34: 201-213.
- Niasari-Naslaji A., Sarhaddi F., Naji A., Angurani A., Damavandi Y. (1999).** "Ovarian follicular dynamics in *bos taurus* and *bos indicus* heifers". *Theriogenology* 51: 307 (Abstr.).
- Nugent III R. A., Jenkins T. G., Roberts A. J., Klindt J. (1993).** "Relationship of post-partum interval in mature beef cows with nutritional environment, biological type and serum IGF-1 concentrations". *Animal Production* 56: 193-200.
- O'Callaghan D., Boland M. P. (1999).** "Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants". *Animal Science* 68: 299-314.
- Odde K. G., Kiracofe G. H., Schalles R. R. (1986).** "Effect of forty-eight-hour calf removal, once- or twice-daily suckling and Norgestomet on beef cow and calf performance". *Theriogenology* 26: 371-381.
- Odde K. G., Ward H. S., Kiracofe G. H., McKee R. M., Kittok R. J. (1980).** "Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows". *Theriogenology* 14: 105-112.

- Oldham J. D. (1984).** "Protein-energy interrelationships in dairy cows". *Journal of Dairy Science* 67: 1090-1114.
- Olleta J. L., Revilla R., Blasco I., San Juan L. (1992).** "Effect of calving season on puberty in Brown Swiss heifers". 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Holland, 2078-2080.
- Olleta J. L., Revilla R., San Juan L., Blasco I. (1993).** "Factores determinantes del inicio de la pubertad en novillas de carne". *I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 12*: 376-378.
- Opsomer G., Coryn M., De Kruif A. (1992).** "A study of the factors influencing ovarian activity after calving". 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Holland, 90-92.
- Ortigue I. (1991).** "Adaptation of energy metabolism to under-nutrition in ruminants. Quantification in whole animal and in individual body tissues". *Reproduction, Nutrition, Development* 31: 593-616.
- Osoro K. (1986).** "Efecto de las principales variables de manejo sobre los parámetros reproductivos en las vacas de cría". *Investigación Agraria, Producción y Sanidad Animales* 1: 89-111.
- Osoro K., Wright I. A. (1992).** "The effect of body condition, live weight, breed, age, calf performance, and calving date on reproductive performance of spring-calving beef cows". *Journal of Animal Science* 70: 1661-1666.
- Ottobre J. S., Vincent D. L., Silvia W. J., Inskeep E. K. (1984).** "Aspects of regulation of uterine secretion of prostaglandins during the oestrous cycle and early pregnancy". *Animal Reproduction Science* 7: 75-100.
- Oxenreider S. L., Wagner W. C. (1971).** "Effect of lactation and energy intake on postpartum ovarian activity in the cow". *Journal of Animal Science* 33: 1026-1031.
- Palacio J., García-Belenguer S., Gascón M., Aceña C., Boissy A., Revilla R. (1996).** "Influencia de la raza en las reacciones emotivas del ganado vacuno: Separación social". VI Congreso Nacional y III Latinoamericano de Etología, Sevilla, España.
- Palacio J., García-Belenguer S., Gascón M., Aceña C., Boissy A., Revilla R. (1997).** "Variabilité génétique dans les réactions à l'homme chez les bovins de races espagnoles". 29ème Colloque Annuel de la Société Française pour l'Etude du Comportement Animal, Albi, France.
- Peeler E. J., Otte M. J., Esslemont R. J. (1994).** "Inter-relationships of periparturient diseases in dairy cows". *Veterinary Record* 134: 129-132.
- Pelot J., Fontaubert P., Chupin D., Terqui M. (1984).** "Managemente of reproduction in cattle: ovarian activity, hormonal treatments and fertility. Reproductive potential of cattle and sheep". *Les Colloques de l'INRA* 27: 55-70.
- Perks C. M., Peters A. R., Wathes D. C. (1999).** "Follicular and luteal expression of insulin-like growth factors I and II and the type 1 IGF receptor in the bovine ovary". *Journal of Reproduction and Fertility* 116: 157-165.

- Perry R. C., Corah L. R., Cochran R. C., Beal W. E., Stevenson J. S., Minton J. E., Simms D. D., Brethour J. R. (1991b).** "Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows". *Journal of Animal Science* 69: 3762-3773.
- Perry R. C., Corah R. L., Kiracofe G. H., Stevenson J. S., Beal W. E. (1991a).** "Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles". *Journal of Animal Science* 69: 2548-2555.
- Peters A. R. (1984a).** "Effect of exogenous oestradiol-17beta on gonadotrophin secretion in post-partum beef cows". *Journal of Reproduction and Fertility* 72: 473-478.
- Peters A. R. (1984b).** "Reproductive activity of the cow in the post-partum period. 1. Factors affecting the length of the post-partum acyclic period". *British Veterinary Journal* 140: 76-84.
- Peters A. R. (1996).** "Herd management for reproductive efficiency". *Animal Reproduction Science* 42: 455-464.
- Peters A. R., Lamming G. E. (1984).** "Reproductive activity of the cow in the post-partum period. II. Endocrine patterns and induction of ovulation". *British Veterinary Journal* 140: 269-280.
- Peters A. R., Lamming G. E. (1986).** "Regulation of ovarian function in the post partum cow: an endocrine model". *Veterinary Record* 118: 236-239.
- Peters A. R., Lamming G. E. (1990).** "Lactational anoestrus in farm animals". *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 12: 245-288.
- Peters A. R., Perera B. (1989).** "Pulsatile secretion of oestradiol-17beta in post-partum dairy cows". *Animal Production* 49: 335-338.
- Peters A. R., Pimentel M. G., Lamming G. E. (1985).** "Hormone responses to exogenous GnRH pulses in post-partum dairy cows". *Journal of Reproduction and Fertility* 75: 557-565.
- Peters A. R., Riley G. M. (1982).** "Milk progesterone profiles and factors affecting post partum ovarian activity in beef cows". *Animal Production* 34: 145-153.
- Petit M. (1997).** "Environmental and management factors influencing reproduction in the beef cow herd". 1 Congresso Iberico Reproducao Animal, Estoril, Portugal, 86-113.
- Petit M., Jarrige R., Russel A. J. F., Wright I. A. (1992).** "Feeding and nutrition of the suckler cow". En *Beef cattle production*. R. Jarrige, C. Béranger (Ed.). Elsevier, Amsterdam, 191-208.
- Philippe J. (1991).** "Structure and pancreatic expression of the insulin and glucagon genes". *Endocrinology Reviews* 12: 252-271.
- Phogat J. B., Smith R. F., Dobson H. (1997).** "Effect of adrenocorticotrophic hormone on gonadotrophin releasing hormone-induced luteinizing hormone secretion in vitro". *Animal Reproduction Science* 48: 53-65.

- Phogat J. B., Smith R. F., Dobson H. (1999).** "Effect of adrenocorticotrophic hormone (ACTH1-24) on ovine pituitary gland responsiveness to exogenous pulsatile GnRH and oestradiol-induced LH release in vivo". *Animal Reproduction Science* 55: 193-203.
- Piedrafita J., Quintanilla R., Jordana J. (1993).** "Factores ambientales que influyen sobre el peso al nacimiento y el peso al destete de bovinos de la población Bruna dels Pirineus". *I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra* 12: 130-132.
- Pierson R. A., Adams G. P. (1995).** "Computer-assisted image analysis, diagnostic ultrasonography and ovulation induction: strange bedfellows". *Theriogenology* 43: 105-112.
- Pierson R. A., Ginther O. J. (1987).** "Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers". *Theriogenology* 28: 929-936.
- Pierson R. A., Ginther O. J. (1988a).** "Ultrasonic imaging of ovaries and uterus in cattle". *Theriogenology* 29: 21-37.
- Pierson R. A., Ginther O. J. (1988b).** "Follicular populations during the estrous cycle in heifers. III. Time of selection of the ovulatory follicle". *Animal Reproduction Science* 16: 81-95.
- Ponsart C., Ponter A. A., Khireddine B., Humblot P., Sauvant D., Mialot J. P., Grimard B. (1999).** "A period of energy supplementation but not the type of supplement influences the insulin response to exogenous glucose in food-restricted post-partum suckler beef cows". *Animal Science* 68: 749-761.
- Ponsart C., Sanaa M., Humblot P., Grimard B., Jeanguyot N., Ponter A. A., Viel J. F., Mialot J. P. (1996).** "Variation factors of pregnancy rates after oestrus synchronization treatment in French Charolais beef cows". *Veterinary Research* 27: 227-239.
- Pouilly F., Viel J. F., Mialot J. P., Sanaa M., Humblot P., Ducrot C., Grimard B. (1994).** "Risk factors for post-partum anoestrus in Charolais beef cows in France". *Preventive Veterinary Medicine* 18: 305-314.
- Prado R., Rhind S. M., Wright I. A., Russel A. J. F., McMillen S. R., Smith A. J., McNeilly A. S. (1990).** "Ovarian follicle populations, steroidogenicity and micromorphology at 5 and 9 weeks post partum in beef cows in two levels of body condition". *Animal Production* 51: 103-108.
- Pryce J. E., Nielsen B. L., Veerkamp R. F., Simm G. (1999).** "Genotype and feeding system effects and interactions for health and fertility traits in dairy cattle". *Livestock Production Science* 57: 193-201.
- Rahe C. H., Owens R. E., Fleeger J. L., Newton H. J., Harms P. G. (1980).** "Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle". *Endocrinology* 107: 498-503.
- Rajakoski E. (1960).** "The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations". *Acta Endocrinologica* 34: 1-68.

- Ramirez Godinez J. A., Kiracofe G. H., McKee R. M., Schalles R. R., Kittok R. J. (1981).** "Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet". *Theriogenology* 15: 613-623.
- Ramirez Iglesia L., Soto Belloso E., Gonzalez Stagnaro C., Soto Castillo G., Rincon Urdaneta E. (1992).** "Factors affecting postpartum ovarian activity in crossbred primiparous tropical heifers". *Theriogenology* 38: 449-460.
- Randel R. D. (1981).** "Effect of once-daily suckling on postpartum interval and cow-calf performance of first-calf Brahman X Hereford heifers". *Journal of Animal Science* 53: 755-757.
- Randel R. D. (1990).** "Nutrition and postpartum rebreeding in cattle". *Journal of Animal Science* 68: 853-862.
- Rasby R. J., Wettemann R. P., Geisert R. D., Rice L. E., Wallace C. R. (1990).** "Nutrition, body condition and reproduction in beef cows: fetal and placental development, and estrogens and progesterone in plasma". *Journal of Animal Science* 68: 4267-4276.
- Reeves J. J., Gaskins C. T. (1981).** "Effect of once-a-day nursing on rebreeding efficiency of beef cows". *Journal of Animal Science* 53: 889-891.
- Revilla R. (1987).** "Las zonas de montaña y su entorno económico. Análisis estructural y bases técnicas para la planificación de la ganadería en los altos valles del Sobrarbe (Pirineo Oscense)". Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Revilla R. (1997).** "Manejo de la reproducción en razas autóctonas explotadas en diferentes sistemas de producción". 1 Congreso Iberico Reproducao Animal, Estoril, Portugal, 66-85.
- Revilla R., Blasco I. (1991).** "Efecto de la alimentación preparto sobre los parámetros reproductivos en vacas de raza Pirenaica.". *I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra* 11: 109-111.
- Revilla R., Blasco I., San Juan L. (1992).** "Effect of season (autumn vs. spring) on post-partum anoestrus in beef cows managed under mountain conditions". 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, Holland, 2090-2092.
- Revilla R., Olleta J. L., Alberti P., Blasco I., San Juan L. (1991).** "Recuperación de peso y de condición corporal durante el periodo de pastoreo en vacas explotadas en condiciones de montaña". *I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra* 11: 298-300.
- Rhodes F. M., Clark B. A., Macmillan K. L., McDougall S., Elvidge D. G. (1998).** "Use of once daily milking or treatment with progesterone and oestradiol benzoate in anoestrous cows". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 58: 44-46.
- Rhodes F. M., Entwistle K. W., Kinder J. E. (1996).** "Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers". *Biology of Reproduction* 55: 1437-1443.

- Rhodes F. M., Fitzpatrick L. A., Entwistle K. W., De' ath G. (1995).** "Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus". *Journal of Reproduction and Fertility* 104: 41-49.
- Rhodes R. C., Forrest P. K., Randel R. D. (1979).** "The effect of melatonin upon serum luteinizing hormone in ovariectomized Brahman cows". *Journal of Animal Science* 49 Supl.1: 330-331.
- Richards M. W., Spitzer J. C., Warner M. B. (1986).** "Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle". *Journal of Animal Science* 62: 300-306.
- Richards M. W., Wettemann R. P., Schoenemann H. M. (1989a).** "Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity". *Journal of Animal Science* 67: 1520-1526.
- Richards M. W., Wettemann R. P., Schoenemann H. M. (1989b).** "Nutritional anestrus in beef cows: concentrations of glucose and nonesterified fatty acids in plasma and insulin in serum". *Journal of Animal Science* 67: 2354-2362.
- Rincón C., Albarrán L. M. (1990).** "Condicionantes bio-económicos en la producción de carne bovina: La raza Pirenaica como alternativa en los programas de mejora". *World Review of Animal Production* XXV, 77-82.
- Riskind P. N., Millard W. J., Martin J. B. (1984).** "Opiate modulation of the anterior pituitary hormone response during suckling in the rat". *Endocrinology* 114: 1232-1237.
- Robalo-Silva J., Horta A. E. M., Vasques M. I., Leitao R. M., Claudio D. (1987).** "The effect of calving season on the duration of postpartum anoestrous in Alentejana beef cows". 38th Annual Meeting of EAAP Lisbon, 732.
- Roberson M. S., Stumpf T. T., Wolfe M. W., Kittok R. J., Kinder J. E. (1991).** "Influence of direction of body weight change on pattern of gonadotropin secretion in ovariectomized beef heifers of equivalent body weight". *Journal of Animal Science* 69: 1616-1625.
- Roche J. F. (1975).** "Control of time of ovulation in heifers treated with progesterone and gonadotrophin releasing hormone". *Journal of Reproduction and Fertility* 43: 471-477.
- Roche J. F., Boland M. P. (1991).** "Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states". *Theriogenology* 35: 81-91.
- Roche J. F., Diskin M. G. (1994).** "Hormonal regulation of reproduction and interactions with nutrition in female ruminants". VII International Symposium on Ruminant Physiology, Willingen, Germany, 1-15.
- Ruiz Cortés Z. T., Olivera Ángel M. (1999).** "Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography". *Animal Reproduction Science* 54: 211-220.

- Rukkwamsuk T., Wensing T., Kruip T. A. M. (1999).** "Relationship between triacylglycerol concentration in the liver and first ovulation in postpartum dairy cows". *Theriogenology* 51: 1133-1142.
- Rund L. A., Leshin L. S., Thompson F. N., Rampacek G. B., Kiser T. E. (1989).** "Influence of the ovary and suckling on luteinizing hormone response to naloxone in postpartum beef cows". *Journal of Animal Science* 67: 1527-1531.
- Rutter L. M., Randel R. D. (1984).** "Postpartum nutrient intake and body condition: effect on pituitary function and onset of estrus in beef cattle". *Journal of Animal Science* 58: 265-274.
- Rutter L. M., Snopce R., Manns J. G. (1989).** "Serum concentrations of IGF-1 in postpartum beef cows". *Journal of Animal Science* 67: 2060-2066.
- Ryan D. P., Bao B., Griffith M. K., Williams G. L. (1995).** "Metabolic and luteal sequelae to heightened dietary fat intake in undernourished, anestrous beef cows induced to ovulate". *Journal of Animal Science* 73: 2086-2093.
- Ryan D. P., Spoon R. A., Griffith M. K., Williams G. L. (1994).** "Ovarian follicular recruitment, granulosa cell steroidogenic potential and growth hormone/insulin-like growth factor-I relationships in suckled beef cows consuming high lipid diets: effects of graded differences in body condition maintained during the puerperium". *Domestic Animal Endocrinology* 11: 161-174.
- San Juan L. (1993).** "Contribución al estudio del anoestro postparto en vacas de carne explotadas en zonas de montaña: influencia de la alimentación y del manejo del ternero". Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. 282 págs.
- San Juan L., Revilla R., Blasco I. (1994a).** "La crianza del ternero alarga la duración del anoestro postparto en vacas de cría". 7ª Jornadas Internacionales de Reproducción Animal, Murcia, 224.
- San Juan L., Revilla R., Blasco I. (1994b).** "Importancia de la alimentación preparto sobre el rendimiento productivo y reproductivo de vacas de cría". 7ª Jornadas Internacionales de Reproducción Animal, Murcia, 225.
- San Juan L., Revilla R., Blasco I. (1994c).** "Modelo de reactivación de la ciclicidad sexual postparto en vacas de carne". 7ª Jornadas Internacionales de Reproducción Animal, Murcia, 226.
- San Juan L., Revilla R., Olleta J. L., Blasco I. (1993).** "Efecto del manejo del ternero sobre la duración del anoestro postparto y los índices productivos en vacas de carne.". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 12: 385-387.
- Sánchez J. J. (1984).** "Introducción a las Técnicas de Análisis Multivariante aplicadas a las Ciencias Sociales". Centro de Investigaciones Sociológicas. Madrid. 331 págs.
- Sanz A., Casasús I., Villalba D., Ferrer R., Revilla R. (1996).** "Efecto del manejo del ternero sobre los parámetros reproductivos y productivos de vacas de cría de raza Parda Alpina". Actas del V Congreso Nacional de Buiatría, Zaragoza, 150-154.

- Sanz A., Casasús I., Villalba D., Revilla R. (1999a).** "Efecto del tipo de estabulación sobre los parámetros reproductivos en vacas de raza Parda Alpina". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 20: 636-638.
- Sanz A., Casasús I., Villalba D., Revilla R. (1999b).** "Sensibilidad de dos razas de vacas nodrizas al manejo del ternero". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 20: 639-641.
- Sanz A., Villalba D., Casasús I., Ferrer R., Revilla R. (1997).** "Efecto de la nutrición y del manejo del ternero en los mecanismos metabólicos y endocrinos que controlan el anestro postparto en el vacuno de carne.". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 18: 508-510.
- S.A.S. (1990).** "SAS Procedures guide. Version 6, 6th Edition". Ed. C. SAS Institute Inc., NC, USA.
- Saubidet C. L., Verde L. S. (1976).** "Relationship between live weight, age and dry matter intake for beef cattle after different levels of food restriction". Animal Production 22: 61-69.
- Savio J. D., Boland M. P., Hynes N., Roche J. F. (1990a).** "Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows". Journal of Reproduction and Fertility 88: 569-579.
- Savio J. D., Boland M. P., Roche J. F. (1990b).** "Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows". Journal of Reproduction and Fertility 88: 581-591.
- Savio J. D., Keenan L., Boland M. P., Roche J. F. (1988).** "Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers". Journal of Reproduction and Fertility 83: 663-671.
- Savio J. D., Thatcher W. W., Badinga L., De la Sota R. L., Wolfenson D. (1993).** "Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows". Journal of Reproduction and Fertility 97: 197-203.
- Scaramuzzi R. J., Adams N. R., Baird D. T., Campbell B. K., Downing J. A., Findlay J. K., Henderson K. M., Martin G. B., McNatty K. P., McNeilly A. S., Tsonis C. G. (1993).** "A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe". Reproduction, Fertility and Development 5: 459-478.
- Schallenberger E. (1985).** "Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. III. Pulsatile changes of gonadotrophin concentrations in the jugular vein post partum". Acta Endocrinologica 109: 37-43.
- Schallenberger E., Oerterer U., Hutterer G. (1982).** "Neuroendocrine regulation of postpartum function". En *Factors influencing fertility in the postpartum cow*. H. Karg, E. Schallenberger (Ed.). Nijhoff M, 20: 123-147.
- Schillo K. K. (1992).** "Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep". Journal of Animal Science 70: 1271-1282.
- Schreiber J. R., Reid R., Ross G. T. (1976).** "A receptor-like testosterone-binding protein in ovaries from estrogen-stimulated hypophysectomized immature female rats". Endocrinology 98: 1206-1213.



- Schrick F. N., Spitzer J. C., Gimenez T., Henricks D. M., Jenkins T. C., Plyler B. B. (1992).** "Is nutritional anestrus precipitated by subfunctional corpora lutea in beef cows?". *Domestic Animal Endocrinology* 9: 187-197.
- Schrick F. N., Spitzer J. C., Jenkins T. C., Henricks D. M., Althen T. G. (1990).** "Effect of dietary energy restriction on metabolic and endocrine responses during the estrous cycle of the suckled beef cow". *Journal of Animal Science* 68: 3313-3321.
- Schrick F. N., Surface R. A., Pritchard J. Y., Dailey R. A., Townsend E. C., Inskeep E. K. (1993).** "Ovarian structures during the estrous cycle and early pregnancy in ewes". *Biology of Reproduction* 49: 1133-1140.
- Seerley R. W., Snyder R. A., McCampbell H. C. (1981).** "The influence of sow dietary lipids and choline on piglet survival, milk and carcass composition". *Journal of Animal Science* 52: 542-550.
- Senatore E. M., Butler W. R., Oltenacu P. A. (1996).** "Relationships between energy balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows". *Animal Science* 62: 17-23.
- Sharpe P. H., Gifford D. R., Flavel P. F., Nottle M. B., Armstrong D. T. (1986).** "Effect of melatonin on postpartum anestrus in beef cows". *Theriogenology* 26: 621-629.
- Shipka M. P., Ellis L. C. (1999).** "Effects of bull exposure on postpartum ovarian activity of dairy cows". *Animal Reproduction Science* 54: 237-244.
- Shively T. E., Williams G. L. (1987).** "Premature calf return attenuates neuroendocrine and ovarian responses to temporary weaning in anestrus cows". *Journal of Animal Science* 65 Supl.1: 423 (abstr.).
- Short R. E., Adams D. C. (1988).** "Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction". *Canadian Journal of Animal Science* 68: 29-39.
- Short R. E., Bellows R. A., Moody E. L., Howland B. E. (1972).** "Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction". *Journal of Animal Science* 34: 70-74.
- Short R. E., Bellows R. A., Staigmiller R. B., Berardinelli J. G., Custer E. E. (1990).** "Physiological mechanisms controlling anoestrus and infertility in postpartum beef cattle". *Journal of Animal Science* 68: 799-816.
- Short R. E., Randel R. D., Staigmiller R. B., Bellows R. A. (1979).** "Factors affecting estrogen-induced LH release in the cow". *Biology of Reproduction* 21: 683-689.
- Sierra I. (1973).** "Técnicas de la producción bovina en el Pirineo Central". *Anales de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza* 8: 253-256.
- Silveira P. A., Spoon R. A., Ryan D. P., Williams G. L. (1993).** "Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows". *Biology of Reproduction* 49: 1338-1346.

**Simpson R. B., Armstrong J. D., Harvey R. W. (1992).** "Effect of prepartum administration of growth hormone-releasing factor on somatotropin, insulin-like growth factor I, milk production, and postpartum return to ovarian activity in primiparous beef heifers". *Journal of Animal Science* 70: 1478-1487.

**Sinclair K. D., Broadbent P. J., Hutchinson J. S. M. (1994a).** "The effect of pre- and post-partum energy and protein supply on the performance of single- and twin-suckling beef cows and their calves". *Animal Production* 59: 379-389.

**Sinclair K. D., Broadbent P. J., Hutchinson J. S. M. (1994b).** "The effect of pre- and post-partum energy and protein supply on the blood metabolites and reproductive performance of single- and twin-suckling beef cows". *Animal Production* 59: 391-400.

**Sinclair K. D., Molle G., Revilla R., Roche J. F., Quintans G., Marongiu L., Sanz A., Mackey D. R., Diskin M. G. (1999).** "Effects of body condition at calving, post-partum nutrition and calf access on the interval from calving to first ovulation in beef cows: I. Cow performance and metabolism". Winter Meeting, British Society of Animal Science, Scarborough, UK, 4.

**Sinclair K. D., Molle G., Revilla R., Roche J. F., Quintans G., Marongiu L., Sanz A., Mackey D. R., Diskin M. G. (enviado).** "Nutritional status determines the ability of beef cows to ovulate the dominant follicle of the fourth follicular wave postpartum in response to acute calf isolation and restricted suckling". *Journal of Animal Science*.

**Sinclair K. D., Yildiz S., Quintans G., Broadbent P. J. (1998a).** "Annual energy intake and the performance of beef cows differing in body size and milk potential". *Animal Science* 66: 643-655.

**Sinclair K. D., Yildiz S., Quintans G., Gebbie F. E., Broadbent P. J. (1998b).** "Annual energy intake and the metabolic and reproductive performance of beef cows differing in body size and milk potential". *Animal Science* 66: 657-666.

**Slama H., Vaillancourt D., Goff A. K. (1991).** "Pathophysiology of the puerperal period: relationship between prostaglandin E2 (PGE2) and uterine involution in the cow". *Theriogenology* 36: 1071-1090.

**Smith V. G., Edgerton L. A., Hafs H. D., M. C. E. (1973).** "Bovine serum estrogens, progestins and glucocorticoids during late pregnancy parturition and early lactation". *Journal of Animal Science* 36: 391-396.

**Spicer L. J., Alpizar E., Echterkamp S. E. (1993).** "Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor I production in vitro". *Journal of Animal Science* 71: 1232-1241.

**Spicer L. J., Alpizar E., Stewart R. E. (1994).** "Evidence for an inhibitory effect of insulin-like growth factor-I and -II on insulin-stimulated steroidogenesis by nontransformed ovarian granulosa cells". *Endocrine* 2: 735-739.

- Spicer L. J., Echternkamp S. E. (1995).** "The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals". *Domestic Animal Endocrinology* 12: 223-245.
- Spicer L. J., Enright W. J., Murphy M. G., Roche J. F. (1991).** "Effect of dietary intake on concentrations of insulin-like growth factor-I in plasma and follicular fluid, and ovarian function in heifers". *Domestic Animal Endocrinology* 8: 431-437.
- Spicer L. J., Leung K., Convey E. M., Gunther J., Short R. E., Tucker H. A. (1986).** "Anovulation in postpartum suckled beef cows. I. Associations among size and numbers of ovarian follicles, uterine involution, and hormones in serum and follicular fluid". *Journal of Animal Science* 62: 734-741.
- Spicer L. J., Tucker W. B., Adams G. D. (1990).** "Insulin-like growth factor-I in dairy cows: relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrous behavior". *Journal of Dairy Science* 73: 929-937.
- Spitzer J. C., Morrison D. G., Wettemann R. P., Faulkner L. C. (1995).** "Reproductive responses and calf birth and weaning weights as affected by body condition at parturition and postpartum weight gain in primiparous beef cows". *Journal of Animal Science* 73: 1251-1257.
- Stagg K., Diskin M. G., Sreenan J. M., Roche J. F. (1995).** "Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum". *Animal Reproduction Science* 38: 49-61.
- Stagg K., Spicer L. J., Sreenan J. M., Roche J. F., Diskin M. G. (1998).** "Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum". *Biology of Reproduction* 59: 777-783.
- Stahringer R. C., Byerley D. J., Kiser T. E., Randel R. D. (1994).** "Serum luteinizing hormone, 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F<sub>2</sub>α and cortisol profiles during postpartum anestrus in Brahman and Angus cows". *Theriogenology* 41: 1069-1080.
- Staigmiller R. B., England B. G. (1982).** "Folliculogenesis in the bovine". *Theriogenology* 17: 43-52.
- Staples C. R., Thatcher W. W., Clark J. H. (1990).** "Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows". *Journal of Dairy Science* 73: 938-947.
- Stevenson J. S., Knoppel E. L., Minton J. E., Salfen B. E., Garverick H. A. (1994).** "Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf". *Journal of Animal Science* 72: 690-699.
- Stevenson J. S., Lamb G. C., Hoffmann D. P., Minton J. E., Tucker H. A., Petitclerc D., Knight C., Sejrnsen K. (1997).** "Interrelationships of lactation and postpartum anovulation in suckled and milked cows". *Livestock Production Science* 50: 57-74.

- Stewart I. B., Louw B. P., Lishman A. W. (1993).** "Suckling behaviour and fertility in beef cows on pasture. 2. Influence of twelve-hour calf separation on interval to first oestrus after onset of mating period". *South African Journal of Animal Science* 23: 180-186.
- Stewart R. E., Spicer L. J., Hamilton T. D., Keefer B. E. (1995).** "Effects of insulin-like growth factor I and insulin on proliferation and on basal and luteinizing hormone-induced steroidogenesis of bovine thecal cells: involvement of glucose and receptors for insulin-like growth factor I and luteinizing hormone". *Journal of Animal Science* 73: 3719-3731.
- Stoebel D. P., Moberg G. P. (1982).** "Effect of adrenocorticotropin and cortisol on luteinizing hormone surge and estrous behavior of cows". *Journal of Dairy Science* 65: 1016-1024.
- Stumpf T. T., Wolfe M. W., Wolfe P. L., Day M. L., Kittok R. J., Kinder J. E. (1992).** "Weight changes prepartum and presence of bulls postpartum interact to affect duration of postpartum anoestrus in cows". *Journal of Animal Science* 70: 3133-3137.
- Tatman W. R., Judkins M. B., Dunn T. G., Moss G. E. (1990).** "Luteinizing hormone in nutrient-restricted ovariectomized ewes". *Journal of Animal Science* 68: 1097-1102.
- Terqui M., Chupin D., Gauthier D., Perez N., Pelot J., Mauleon P. (1982).** "Influence of management and nutrition on postpartum endocrine function and ovarian activity in cows". En *Factors influencing fertility in the postpartum cow*. H. Karg, E. Schallenberger (Ed.). Nijhoff M., 384-408.
- Thatcher W. W., Guilbault L. A., Collier R. J., Lewis G. S., Drost M., Knickerbocker J., Foster D. B., Wilcox C. J. (1982).** "The impact of ante-partum physiology on postpartum performance in cows". En *Factors influencing fertility in the postpartum cow*. H. Karg, E. Schallenberger (Ed.). Nijhoff M., 20: 3-25.
- Thimonier J. (1978).** "Ovarian activity in cattle. Methods of study and factors contributing to variation". *Annales de Medecine Veterinaire* 122: 81-92.
- Thissen J. P., Triest S., Moats Staats B. M., Underwood L. E., Mauerhoff T., Maiter D., Ketelslegers J. M. (1991).** "Evidence that pretranslational and translational defects decrease serum insulin-like growth factor-I concentrations during dietary protein restriction". *Endocrinology Philadelphia* 129: 429-435.
- Thompson J. R., Pollak E. J., Pelissier C. L. (1983).** "Interrelationships of parturition problems, production of subsequent lactation, reproduction, and age at first calving". *Journal of Dairy Science* 66: 1119-1127.
- Tilley J. M. A., Terry R. A. (1963).** "A two-stage technique for in vitro digestion of forage crops". *Journal of the British Grassland Society* 18: 104-111.
- Tisdall D. J., Watanabe K., Hudson N. L., Smith P., McNatty K. P. (1995).** "FSH receptor gene expression during ovarian follicle development in shepp". *Journal of Molecular Endocrinology* 15: 273-281.

- Tucker H. A. (1982).** "Seasonality in cattle". *Theriogenology* 17: 53-59.
- Vaarst M., Enevoldsen C. (1997).** "Patterns of clinical mastitis manifestations in Danish organic dairy herds". *Journal of Dairy Research* 64: 23-37.
- Valdelvira A. (1988).** "El vacuno Pirenaico, su valor como recurso productivo adaptado al ámbito mediterráneo-continental". *Actas de la XXVIII Reunión Científica de la S.E.E.P.*, 445-453.
- Vandehaar M. J., Sharma B. K., Fogwell R. L. (1995).** "Effect of dietary energy restriction on the expression of insulin-like growth factor-I in liver and corpus luteum of heifers". *Journal of Dairy Science* 78: 832-841.
- Vargas B., Baaijen M., van der Lende T., van Arendonk J. A. M. (1998).** "Event-time analysis of reproductive traits of dairy heifers". *Journal of Dairy Science* 81: 2881-2889.
- Verkerk G. A., Guiney J. C. (1999).** "Can beta-hydroxybutyrate levels predict the post-partum anoestrous interval of dairy cows?". *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 59: 205-207.
- Vighio G. H., Liptrap R. M. (1986).** "Plasma concentrations of oxytocin, prostaglandin and ovarian steroids during spontaneous luteolysis in the cow". *Domestic Animal Endocrinology* 3: 209-215.
- Viker S. D., Larson R. L., Kiracofe G. H., Stewart R. E., Stevenson J. S. (1993).** "Prolonged postpartum anovulation in mastectomized cows requires tactile stimulation by the calf". *Journal of Animal Science* 71: 999-1003.
- Viker S. D., McGuire W. J., Wright J. M., Beeman K. B., Kiracofe G. H. (1989).** "Cow-calf association delays postpartum ovulation in mastectomized cows". *Theriogenology* 32: 467-474.
- Villa-Godoy A., Hughes T. L., Emery R. S., Enright W. J., Ealy A. D., Zinn S. A., Fogwell R. L. (1990).** "Energy balance and body condition influence luteal function in Holstein heifers". *Domestic Animal Endocrinology* 7: 135-148.
- Villalba D. (1995).** "Contribución al estudio de los sistemas ganaderos de montaña: factores que influyen en la ganancia de peso de vacas y terneros en los pastos de puerto". Trabajo fin de carrera. Dept. Producció Animal. Universitat de Lleida. 88 págs.
- Villalba D. (2000).** "Construcción y utilización de un modelo estocástico para la simulación de estrategias de manejo invernal en rebaños de vacas nodrizas". Tesis doctoral. Universitat de Lleida. 156 págs.
- Villalba D., Casasús I., Sanz A., Estany J., Revilla R. (2000).** "Prewaning growth curves in Brown Swiss and Pirenaica calves with emphasis on individual variability". *Journal of Animal Science* 78: 1132-1140.

**Villalba D., Casasús I., Sanz A., Ferrer R., Bergua A., Revilla R. (1997a).** "Efectos ambientales sobre el peso al nacimiento y destete en raza Parda Alpina y Pirenaica". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 18: 200-202.

**Villalba D., Ferrer R., Casasús I., Sanz A., Revilla R. (1997b).** "Efecto de la disponibilidad forrajera y de la condición corporal en los resultados productivos y de comportamiento de vacas lactantes durante el pastoreo de primavera.". I.T.E.A. Producción Animal Vol. Extra 18: 287-289.

**Vizcarra J. A., Wettemann R. P., Spitzer J. C., Morrison D. G. (1998).** "Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows". Journal of Animal Science 76: 927-936.

**Warren W. C., Spitzer J. C., Burns G. L. (1988).** "Beef cow reproduction as affected by postpartum nutrition and temporary calf removal". Theriogenology 29: 997-1006.

**Webb R., Gosden R., Telfer E., Moor R. (1999).** "Factors affecting folliculogenesis in ruminants". Animal Science 68: 257-284.

**Webb R., Lamming G. E., Haynes N. B., Foxcroft G. R. (1980).** "Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in post-partum dairy cows". Journal of Reproduction and Fertility 59: 133-143.

**Webster A. J. F. (1983).** "Environmental stress and the physiology, performance and health of ruminants". Journal of Animal Science 57: 1584-1593.

**Webster F. B., Lean I. J., Curtis M. A. (1997).** "A case-control study to identify farm factors affecting fertility of dairy herds: multivariate description of factors". Australian Veterinary Journal 75: 262-265.

**Whisnant C. S., Kiser T. E., Thompson F. N. (1985a).** "Effect of calf removal on serum luteinizing hormone and cortisol concentrations in postpartum beef cows". Theriogenology 24: 119-129.

**Whisnant C. S., Kiser T. E., Thompson F. N., Barb C. R. (1986a).** "Influence of calf removal on the serum luteinizing hormone response to naloxone in the postpartum beef cow". Journal of Animal Science 63: 561-564.

**Whisnant C. S., Kiser T. E., Thompson F. N., Barb C. R. (1986b).** "Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in suckled beef cows". Journal of Animal Science 63: 1445-1448.

**Whisnant C. S., Kiser T. E., Thompson F. N., Hall J. B. (1985b).** "Effect of nutrition on the LH response to calf removal and GnRH". Theriogenology 24: 565-573.

**Whisnant C. S., Thompson F. N., Kiser T. E., Barb C. R. (1986c).** "Effect of naloxone on serum luteinizing hormone, cortisol and prolactin concentrations in anestrous beef cows". Journal of Animal Science 62: 1340-1345.

- Whittier J. C., Clanton D. C., Deutscher G. H. (1988).** "Effect of varying weight gain during the last trimester of gestation on productivity of beef heifers". *Animal Production* 47: 53-57.
- Williams G. L. (1990).** "Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review". *Journal of Animal Science* 68: 831-852.
- Williams G. L., Gazal O. S., Guzman Vega G. A., Stanko R. L. (1996).** "Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow". *Animal Reproduction Science* 42: 289-297.
- Williams G. L., Kozirowski M., Osborn R. G., Kirsch J. D., Slinger W. D. (1987).** "The postweaning rise of tonic luteinizing hormone secretion in anestrus cows is not prevented by chronic milking or the physical presence of the calf". *Biology of Reproduction* 36: 1079-1084.
- Williams G. L., McVey W. R., Jr., Hunter J. F. (1993).** "Mammary somatosensory pathways are not required for suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion and delay of ovulation in cows". *Biology of Reproduction* 49: 1328-1337.
- Williams G. L., Talavera F., Petersen B. J., Kirsch J. D., Tilton J. E. (1983).** "Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone". *Biology of Reproduction* 29: 362-373.
- Wiltbank J. N., Rowden W. W., Ingalls J. E., Gregory K. E., Koch R. M. (1962).** "Effect of energy level on reproductive phenomena of mature hereford cows". *Journal of Animal Science* 21: 219-225.
- Wiltbank J. N., Rowden W. W., Ingalls J. E., Zimmerman D. R. (1964).** "Influence of postpartum energy level on reproductive performance of hereford cows restricted in energy intake prior to calving". *Journal of Animal Science* 23: 1049-1053.
- Wiltbank M. C. (1999a).** "Regulación ovárica del ganado vacuno". 3ª Jornadas ANEMBE de Medicina Bovina, León, 79-94.
- Wiltbank M. C. (1999b).** "Causas y tratamientos de procesos de anestro y ovarios quísticos: consideraciones en base a la fisiología ovárica normal". 3ª Jornadas ANEMBE de Medicina Bovina, León, 95-108.
- Wood K. P., Kiser T. E., Whisnant C. S., Thompson F. n., Leshin L. S. (1987).** "The effect of naloxone and calf removal on FSH release in postpartum beef cows". *Journal of Animal Science* 65 Supl.1: 398.
- Wright I. A., Rhind S. M., Russel A. J. F., Whyte T. K., McBean A. J., McMillen S. R. (1987).** "Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrous period and associated LH, FSH and prolactin concentrations in beef cows". *Animal Production* 45: 395-402.

**Wright I. A., Rhind S. M., Whyte T. K. (1992a).** "A note on the effects of pattern of food intake and body condition on the duration of the post-partum anoestrous period and LH profiles in beef cows". *Animal Production* 54: 143-146.

**Wright I. A., Rhind S. M., Whyte T. K., Smith A. J. (1992b).** "Effects of body condition at calving and feeding level after calving on LH profiles and the duration of post-partum anoestrous period in beef cows". *Animal Production* 55: 41-46.

**Wright I. A., Rhind S. M., Whyte T. K., Smith A. J., McMillen S. R., Prado R. (1990).** "Circulating concentrations of LH and FSH and pituitary responsiveness to GnRH in intact and ovariectomized suckled beef cows in two levels of body condition". *Animal Production* 51: 93-101.

**Xu Z., Garverick H. A., Smith G. W., Smith M. F., Hamilton S. A., Youngquist R. S. (1995).** "Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave". *Biology of Reproduction* 53: 951-957.

**Yelich J. V., Wettemann R. P., Dolezal H. G., Lusby K. S., Bishop D. K., Spicer L. J. (1995).** "Effects of growth rate on carcass composition and lipid partitioning at puberty and growth hormone, insulin-like growth factor I, insulin, and metabolites before puberty in beef heifers". *Journal of Animal Science* 73: 2390-2405.

**Yelich J. V., Wettemann R. P., Marston T. T., Spicer L. J. (1996).** "Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates". *Domestic Animal Endocrinology* 13: 325-338.

**Zalesky D. D., Day M. L., Garcia-Winder M., Imakawa K., Kittok R. J., D'Occhio M. J., Kinder J. E. (1984).** "Influence of exposure to bulls on resumption of estrous cycles following parturition in beef cows". *Journal of Animal Science* 59: 1135-1139.

**Zalesky D. D., Forrest D. W., McArthur N. H., Wilson J. M., Morris D. L., Harms P. G. (1990).** "Suckling inhibits release of luteinizing hormone-releasing hormone from the bovine median eminence following ovariectomy". *Journal of Animal Science* 68: 444-448.

**Zollers W. G., Jr., Garverick H. A., Smith M. F., Moffatt R. J., Salfen B. E., Youngquist R. S. (1993).** "Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle". *Journal of Reproduction and Fertility* 97: 329-337.

**Zurek E., Foxcroft G. R., Kennelly J. J. (1995).** "Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows". *Journal of Dairy Science* 78: 1909-1920.