



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Efecto de la oferta de forraje de campo natural en otoño y primavera-verano, sobre el metabolismo de vacas de cría y su impacto en variables productivas y reproductivas

Maité ANZOLABEHERE

Maestría en Ciencias Agrarias opción
Ciencias Animales

Diciembre 2021

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Ing. Agr. (MSc) Ana Inés Trujillo, PhD Ing. Agr. Andrea Alvarez Oxiley e Ing. Agr. (MSc) Martín Do Carmo, el 17 de diciembre de 2021. Autora: Maité Anzolabehere. Directora Ing Agr. (Msc) Ana Laura Astessiano.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en primera instancia a Martín Claramunt, Alberto Casal y Pablo Soca, por su tiempo, colaboración y apoyo en la realización del experimento. Un agradecimiento muy especial para Venancio Riella quien me apoyó durante todo el proceso y fundamentalmente en la recta final. Por último, quisiera dedicarle este trabajo a mi familia y amigos por el apoyo incondicional de siempre.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	III
TABLA DE CONTENIDO.....	IV
RESUMEN.....	VI
SUMMARY	VII
1 <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
2 <u>ANTECEDENTES</u>	4
2.1 NUTRICION PRE Y POSPARTO	4
2.2 CAMBIOS METABÓLICOS, ENDÓCRINOS Y DE EXPRESIÓN GÉNICA HEPÁTICA DURANTE LA TRANSICIÓN	5
2.2.1 <u>Movilización de reservas y metabolismo energético</u>	6
2.2.2 <u>Movilización proteica</u>	8
2.2.3 <u>Expresión génica hepática</u>	8
3 <u>OBJETIVOS E HIPÓTESIS</u>	13
3.1 OBJETIVO GENERAL	13
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3.3 HIPÓTESIS	14
4 <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	14
4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS.....	14
4.2 DETERMINACIONES EN LOS ANIMALES	16
4.2.1 <u>Condición corporal</u>	16
4.2.2 <u>Muestras de sangre</u>	16
4.3.3 <u>Muestras de tejido hepático</u>	17
4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	18
5 <u>RESULTADOS</u>	19
5.1 VARIABLES VEGETALES	19
5.2 VARIABLES PRODUCTIVAS.....	20
5.3 HORMONAS Y METABOLITOS VINCULADOS A LA MOVILIZACIÓN DE RESERVAS	21
5.4 MOVILIZACIÓN PROTEICA	23
5.5 METABOLISMO ENERGÉTICO.....	24
5.6 METABOLISMO HEPÁTICO DE LA GLUCOSA	26

5.7 VARIABLES REPRODUCTIVAS	30
6 <u>DISCUSION</u>	31
7 <u>CONCLUSIONES</u>	39
8 <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	40

RESUMEN

Se investigó el efecto de la intensidad de pastoreo del campo natural a través de cambios en la oferta de forraje (OF) de otoño y primavera-verano, en el metabolismo hepático de vacas primíparas, su relación con el peso del ternero y su impacto sobre el reinicio de la actividad ovárica. Se realizó un experimento con diseño de bloques completos al azar: a los -150 ± 12 días posparto (DPP) las vacas fueron asignadas aleatoriamente a alta (AOF) o baja (BOF) oferta del campo natural (4 vs. 2,5 kgMS/kgPV en promedio anual para AOF y BOF, respectivamente). A los 15 DPP, en primavera, la mitad de las vacas asignadas a AOF fueron reasignadas a BOF, mientras que la mitad de las vacas asignadas en BOF fueron reasignadas a AOF del campo natural, de manera de generar 4 tratamientos (A-AOF, A-BOF, B-AOF, B-BOF). Si bien la CC en otoño fue mayor en A-AOF, la pérdida de la CC durante el último tercio de gestación fue consistente con el balance energético negativo (BEN) característico de los sistemas pastoriles para ambos tratamientos, siendo mayor en las vacas de B-BOF. Esto se vio reflejado en incrementos en las concentraciones de NEFA (ácidos grasos no esterificados), BHB (β -hidroxibutirato), urea, 3MH (metilhistidina) y en la disminución de las concentraciones de IGF-I (factor de crecimiento insulínico tipo 1) y glucógeno hepático con el fin de cubrir los requerimientos gestacionales. Al parto no existieron diferencias de CC entre tratamientos. Nuestros resultados indican que existen cambios metabólicos y de expresión génica que permiten la adaptación a la restricción de la oferta de forraje; sin embargo, no todos los animales logran sostener la performance productiva y reproductiva, determinando en este caso un menor impacto de la OF durante el otoño y el invierno.

Palabras clave: campo natural, pastoreo, primíparas, metabolismo, expresión de genes, gluconeogénesis

SUMMARY

The effect of natural field grazing intensity through changes in fall and spring-summer forage supply (OF) on hepatic metabolism of primiparous cows, its relationship with calf weight and its impact on resumption of ovarian activity was investigated. A randomized complete block design experiment was conducted: at -150 ± 12 days postpartum (DPP) cows were randomly assigned to high (AOF) or low (BOF) natural field supply (4 vs. 2.5 kgMS/kgPV in annual average for AOF and BOF, respectively). At 15 DPP, in spring, half of the cows assigned to AOF were reassigned to BOF while half of the cows assigned in BOF were reassigned to AOF from the natural field, so as to generate 4 treatments (A-AOF, A-BOF, B-AOF, B-BOF). Although CC in autumn was higher in A-AOF, the loss of CC during the last third of gestation was consistent with the negative energy balance (BEN) characteristic of pastoral systems for both treatments, being higher in B-BOF cows. This was reflected in increased concentrations of NEFA (non-esterified fatty acids), BHB (β -hydroxybutyrate), urea, 3MH (methylhistidine) and decreased concentrations of IGF-I (insulin-like growth factor 1) and hepatic glycogen in order to meet gestational requirements. At delivery there were no differences in CC between treatments. Our results indicate that there are metabolic and gene expression changes that allow adaptation to the restriction of forage supply; however, not all animals are able to sustain productive and reproductive performance, determining in this case a lower impact of OF during autumn and winter.

Keywords: natural range, grazing, primiparous, metabolism, gene expression, gluconeogenesis

1 INTRODUCCIÓN

En Uruguay la cría de bovinos de carne involucra 7.587 millones de cabezas y 25.385 productores con un fuerte predominio de producción familiar (MGAP, 2019). De los 15.003 millones de hectáreas de pastoreo con bovinos y ovinos de carne, 8.206 millones son utilizadas por establecimientos criadores y 2.984 millones son destinadas al ciclo completo dando cuenta de la importancia de la cría de bovinos a nivel nacional. Los sistemas ganaderos nacionales están basados principalmente en el uso y aprovechamiento directo de las pasturas por el animal, donde la cría vacuna utiliza una superficie mayor que cualquier otra actividad y su base forrajera es principalmente campo natural. En el contexto actual, la cría se realiza en zonas con menor producción y mayor variabilidad de forraje, como en la región de Basalto, donde se concentra un gran número de predios ganaderos de cría vacuna, los cuales están compuestos en un 65% de suelos superficiales (Altamirano et al., 1976). Una de las características más restrictivas de estos suelos, es la limitada capacidad de almacenar agua, lo cual contribuye a explicar su mayor variabilidad de la producción forrajera durante la primavera y el verano (Guido et al., 2014).

En el ciclo productivo de la vaca de cría, existe una baja producción invernal de forraje coincidiendo con el momento de gestación avanzada o inicio de lactancia y determinando un período de balance energético negativo (BEN), debido a que los requerimientos energéticos no son satisfechos por el consumo de energía (Astessiano et al., 2014). Este desfase entre los requerimientos y la producción forrajera podría ser más prolongado y/o intenso en campos de basalto; Por lo que el control de la oferta de forraje surge como una herramienta de manejo para contrarrestar dicho desfase y reducir su efecto negativo en el balance de energía del rodeo de cría (Soca et al., 2013). La restricción alimenticia durante la gestación puede afectar el peso de los terneros al nacer (LeMaster et al., 2017), y generar una baja CC de las vacas y vaquillonas al momento del parto. A su vez, esta baja CC tiene un efecto negativo en la eficiencia reproductiva de los rodeos debido a que las vacas tenderán a tener un anestro posparto mayor, afectando la posibilidad de preñarse en el siguiente entore (Do Carmo, 2013; Claramunt et al., 2017) explicando de esta manera el bajo porcentaje de destete del rodeo nacional (65%; DIEA, 2018). Particularmente, la

respuesta productiva y reproductiva de las vacas primíparas, que aún no han completado el proceso de crecimiento y que por lo tanto son más sensibles a las restricciones alimenticias (Diskin y Kenny, 2014), sigue siendo un desafío importante para el sistema de producción.

En ambientes productivos donde el clima controla la producción forrajera, una carga animal fija, conllevaría períodos de sobre y subpastoreo, y consecuentemente esto se vería reflejado en descensos de la producción de forraje y animal (Bransby, 1989). Sin embargo, es posible mejorar la ingesta energética de las vacas y por tanto la producción animal mediante una gestión flexible de la carga ganadera a través de la oferta de forraje (OF, kg MS/kg PV; Do Carmo et al., 2019). Se ha demostrado que vacas de cría multíparas con mayor oferta y altura del forraje en campo natural a lo largo del ciclo anual de producción (gestación-lactación) presentan mejor CC, reflejando cambios metabólicos, endócrinos y de metabolismo hepático que impactan positivamente en las respuestas productivas y reproductivas de los animales, mayor peso vivo del ternero al destete y porcentaje de preñez (Laporta et al., 2014). En vacas primíparas, se ha demostrado que ofertas altas de forraje durante 2 años, mejoraron la CC al parto (CCP) y, por lo tanto, las respuestas productivas y reproductivas comparado con vacas en menor oferta de forraje (4 kg vs. 2,5 kg MS/kg PV; Claramunt et al., 2017).

En este contexto, son pocos los trabajos en los cuales se estudia la interacción entre la nutrición preparto y posparto en sistemas pastoriles, a través de distintas combinaciones de oferta de forraje y se estudian los mecanismos metabólicos/endócrinos que impactan en la performance productiva y reproductiva de vacas primíparas frente a cambios en la oferta de forraje. Sin embargo, existen estudios en vacas adultas, sometidas a diferente consumo de energía que nos permiten aproximarnos a entender como la nutrición impacta en las variables de interés cuando el plano nutricional difiere entre preparto y postparto. En este sentido Houghton et al. (1990) trabajando con vacas de cría estudia el efecto de dos dietas durante el preparto (dieta de mantenimiento; ME vs. baja oferta de energía; LE), reasignándolas aleatoriamente al momento del parto para que tengan dos dietas durante el postparto (alta energía; H vs. baja energía; L). Dichos autores encontraron que las vacas con una dieta baja en energía durante el preparto tuvieron terneros más ligeros al nacer,

mientras que las vacas que fueron alimentadas con bajos niveles de energía durante el postparto tuvieron terneros más livianos a los 105 DPP. En lo que respecta a los indicadores reproductivos, la combinación de dieta LE-H permitió que un mayor porcentaje de vacas en celo a los 60 DPP y un alto consumo de energía en el posparto dio lugar a una mejor tasa de preñez. Estudios de Freetly et al. (2000) demostraron que vacas con restricción alimenticia a partir del segundo trimestre gestacional, que aumentan su consumo de energía y comienzan a ganar peso a partir del primer mes de lactancia, no se diferencian de aquellos animales que nunca se someten a una restricción en cuanto a su tasa de preñez. Dichos autores al igual que Dunn y Kaltenbach (1980); Selk et al. (1988); Osoro y Wright (1992) indicaron que la tasa de preñez depende de la severidad de la restricción alimenticia durante el preparto, evidenciado en la CC al parto, del nivel de realimentación y el momento en que ocurre la misma en relación al inicio del entore y de la temporada de cría. Por otra parte, Loudon (1987) señala que la subnutrición interactúa con el amamantamiento, siendo este último un factor inhibitorio para el reinicio de la ciclicidad y Short et al. (1990) demostraron que el amamantamiento tiene un efecto de mayor magnitud en vacas primíparas y con pobre CC. Asimismo, dichos autores establecen que animales con CC delgada al parto, tendrán una mayor influencia de la alimentación postparto sobre el anestro. En base a estos datos, identificar como la OF en distintos momentos del ciclo anual de gestación-lactación, afecta la CC y el metabolismo energético, proteico y la expresión génica hepática durante el pre y postparto, -comprendiendo en parte, la regulación de la partición de nutrientes-, resulta relevante para desarrollar alternativas productivas en sistemas criadores. En este sentido, la hipótesis que nos planteamos es que el manejo de la intensidad de pastoreo sobre campo natural, a través de cambios en la oferta de forraje, modifica el metabolismo energético de vacas de carne durante el ciclo anual de gestación-lactación. Es así que, cambios en la oferta de forraje de otoño y primavera-verano pueden reflejar adaptaciones del metabolismo hepático que impacten sobre las respuestas productivas y reproductivas.

2 ANTECEDENTES

2.1 NUTRICION PRE Y POSPARTO

En vacas primíparas, el estrés del parto y los efectos combinados de la primera lactancia y del crecimiento imponen mayores requerimientos nutricionales que, en general, no son satisfechos en pastoreo de campo natural, reflejándose en el largo anestro posparto de esta categoría. El factor más importante que determina la duración del período de anestro posparto en esta categoría es la CC al parto, la cual es un reflejo de la alimentación preparto (Richards et al., 1986). En este sentido, se ha demostrado que la CC al parto y la suplementación en el último mes de gestación mejoran las respuestas productivas y reproductivas de vacas primíparas en condiciones pastoriles. Vacas primíparas que lleguen al parto con 4,5 puntos de CC, aumentan la probabilidad de preñez entre 20 – 25 % (Soca y Orcasberro et al., 1992) comparado con vacas en CC subóptimas (3,5 a 4,5 unidades; Soca et al., 2014). Asimismo, la suplementación en el último mes de gestación disminuye los días de reinicio de la ciclicidad ovárica aumentando la probabilidad de preñez, sin modificar el peso de los terneros al nacimiento (Quintans, 2015). Por otro lado, vacas primíparas con alta oferta de forraje durante el pre y posparto, obtuvieron mayor porcentaje de preñez y mayor PV del ternero a los 205 días que vacas con baja oferta de forraje, demostrando que el manejo de la oferta de forraje es una buena herramienta para mejorar estas respuestas (Claramunt et al., 2017). De este modo, no solo la alimentación preparto influye en la performance del siguiente ciclo, sino que esta depende de la alimentación posparto, especialmente cuando se trata de vacas flacas (CC menor a 3,5; Wettermann et al., 2009). Richards et al. (1986) indicaron que el aumento en el consumo de energía durante el postparto, y el incremento de peso son esenciales para que vacas delgadas tengan un porcentaje de preñez aceptable. En este sentido, se ha demostrado que la nutrición postparto tiene mayor influencia en vacas primíparas que paren con CC sub-óptimas (short et al., 1990), pudiendo atenuar, en parte, los efectos negativos de una restricción alimenticia preparto y mejorar el PV del ternero al destete (109 vs. $101 \pm 2,8$ kg; Astessiano et al., 2008). En este contexto, la ganancia de CC posparto es esencial para las vacas que llegan al parto con CC subóptimas, las cuales retrasan el inicio a la ciclicidad.

Por otra parte, se ha demostrado que aumentos en el aporte energético por períodos cortos (flushing), antes o durante el entore, en combinación con el manejo del amamantamiento, incrementan el porcentaje de preñez temprana de vacas primíparas con CC sub-óptima (Soca et al., 2013), asociado a la recuperación del balance energético positivo consecuente con un mejor estado nutricional (Astessiano et al., 2013). Asimismo, el aumento en el plano nutricional (pastoreo de campo natural mejorado con *Lotus subbiflorous cv Rincón*) a los 48 días posparto produjo cambios en el metabolismo, favoreció la partición de energía consumida hacia las funciones de crecimiento, aumento de las reservas corporales y producción de leche en lugar de la función reproductiva (Astessiano et al., 2012).

2.2 CAMBIOS METABÓLICOS, ENDÓCRINOS Y DE EXPRESIÓN GÉNICA HEPÁTICA DURANTE LA TRANSICIÓN

La transición de gestante a lactante involucra importantes cambios internos para la vaca, más aún en condiciones pastoriles, donde las diferencias en la oferta de forraje durante el ciclo productivo pueden afectar el consumo de energía y/o los requerimientos de mantenimiento, determinando mecanismos de adaptación a los períodos de restricción alimenticia y/o BEN. Durante la gestación invernal estos cambios promueven la disponibilidad de glucosa y aminoácidos para el metabolismo del feto, y una creciente utilización de ácidos grasos no esterificados (NEFA) por los tejidos maternos (Vernon, 2005). Sin embargo, durante la lactancia, el flujo de nutrientes está direccionado hacia la glándula mamaria, evidenciando una reorganización hormonal, capaz de modificar las rutas metabólicas. Donde la capacidad de adaptación para sobrellevar el BEN dependerá de la capacidad de los diversos mecanismos metabólicos y endócrinos de mantener la homeostasis pudiendo afectar la eficiencia productiva y reproductiva de la vaca (Laporta et al., 2014; Claramunt et al., 2017). El estado metabólico se define como la cantidad de nutrientes y energía disponibles para el animal en un determinado momento y depende de la cantidad de alimento consumido, de las reservas corporales y del ritmo de utilización de esa energía (Blache et al., 2006). En este escenario, el hígado es el principal regulador e integrador del estado metabólico, dirigiendo tanto la regulación de vías metabólicas (gluconeogénesis, oxidación de ácidos grasos y ciclo de Krebs) como la expresión de genes candidatos en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y aminoácidos.

2.2.1 Movilización de reservas y metabolismo energético

La evaluación del perfil metabólico y hormonal es una herramienta muy útil para relacionar la nutrición con la fisiología, ya que cambian durante el parto y la lactancia según la alimentación y paridad, guardando un estrecho vínculo con la reproducción y por lo tanto con el rendimiento. Particularmente las concentraciones de NEFA y BHB son indicadores de la movilización de lípidos y de la oxidación de ácidos grasos, por lo que concentraciones elevadas sugieren déficit energético. El hígado en dichas condiciones, puede oxidar los NEFA para producir energía; sin embargo, cuando la lipólisis es excesiva puede ocurrir una acumulación de triglicéridos en los hepatocitos y el deterioro de la función hepática, lo que resulta en una elevada producción de cetonas (Roche et al., 2015), existiendo una correlación positiva entre la concentración de NEFA y BHB (Seifi et al., 2007). El aumento de los niveles de NEFA en sangre podría tener un efecto negativo sobre el desarrollo de los ovocitos y el rendimiento reproductivo (Walsh et al., 2007), mientras que los niveles elevados de BHB preparto se correlacionan con la pérdida de CC y, por tanto, con el retraso de la actividad lútea (Diskin et al., 2003). Asimismo, estudios en vacas de carne realizados por Sinclair et al. (1998) han encontrado una mayor concentración de BHB posparto para primíparas que para las mulíparas durante las primeras semanas posparto (señalando mayores necesidades nutricionales que las de otras categorías, lo que lleva a una movilización energética más intensa), siendo responsable un alto nivel de BHB que se asocia a un deterioro de la reproducción (Mulliniks et al., 2013).

Otros indicadores de la disponibilidad energética del animal y su estado metabólico, son los cambios en las concentraciones circulantes de glucosa, insulina e IGF-I, donde los niveles de glucosa en sangre representan el punto central en la regulación de la vía gluconeogénica (Bjerre-Harpot et al., 2012). Al momento del parto, se estimula la síntesis de glucosa, mediante la disminución de la concentración plasmática de insulina y la relación insulina/glucagón, inhibiendo su utilización en los tejidos y órganos periféricos (Meikle et al., 2013). En situaciones de BEN (transición), se observan concentraciones bajas de insulina y del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-1), existiendo aumentos graduales durante el posparto una vez que el balance energético se hace positivo

(Selim et al., 2014). Laporta et al. (2014) reportaron mayores concentraciones séricas de IGF-I desde los -165 hasta los 60 DPP en vacas de carne multíparas con alta oferta de forraje (4 y 2,5 kgMS/KgPV en promedio anual para alta y baja oferta respectivamente), asociado a una mayor ingesta de MS y disponibilidad de precursores, así como a un estado metabólico más activo que en las vacas de baja oferta de forraje. Asimismo, al inicio de la lactancia las concentraciones séricas de insulina e IGF-I disminuyeron, consistentes con lo sugerido por Bauman (2000), acerca de que los nutrientes se particionan hacia la glándula mamaria para la producción de leche.

La leptina es sintetizada y secretada por el tejido adiposo e informa al sistema nervioso central sobre el depósito total de grasa del cuerpo (Bartha et al., 2005), regula el consumo de nutrientes e interviene en el metabolismo energético, siendo el link entre el estado nutricional y el eje reproductivo (Delavaud et al., 2002). Los niveles altos y bajos de leptina inducen procesos anabólicos y catabólicos, respectivamente. En estudios cuantitativos realizados por Chilliard et al. (2001) sobre los factores que modifican la concentración plasmática de leptina, reportaron que la cantidad de grasa corporal explica los cambios de concentración en un 35–50 %, mientras que un 15–20 % de las variaciones son explicadas por el nivel de alimentación, estando relacionada la respuesta de la leptina plasmática a la ingesta de alimentos positivamente con la glucemia y negativamente con el 3-hidroxiacetil-CoA plasmático. Existe una relación positiva entre la adiposidad y la concentración plasmática de leptina en lactantes y rumiantes en crecimiento (Ingvarsen y Boisclair, 2001). Además de controlar el consumo de alimentos y el gasto energético, la leptina también participa en la regulación de la reproducción y el sistema inmunológico (Bartha et al., 2005). En vacas primíparas, una restricción en el consumo de forraje durante el invierno redujo la expresión de ARNm *leptina* en el tejido adiposo y la concentración en plasma (Hersom et al., 2004); asimismo, se ha reportado que estimula la producción de la glucosa hepática a través del aumento de la actividad de la glucosa-6-fosfatasa (G6PC) (Amstalden et al., 2000).

2.2.2 Movilización proteica

Otro indicador del BEN relacionado con el metabolismo proteico es la 3 metilhistidina (3-MH), la cual es liberada como consecuencia del catabolismo de las proteínas del músculo esquelético (actina y miosina) y no se metaboliza en el cuerpo, convirtiéndola en un muy buen indicador de movilización de proteínas (Houweling et al., 2012). Estudios realizados por Akamatsu et al. (2007) muestran cómo los niveles de 3-MH en el plasma de vacas lecheras se elevan alrededor del parto y posteriormente disminuyen a valores basales alrededor de 4 semanas después del parto. En vacas lecheras, la movilización de proteína muscular se produjo a partir de las dos semanas preparto y observaron que aquellas con menores concentraciones de 3-MH tuvieron mayor concentración de BHB, sugiriendo que una mayor degradación muscular podría restringir la producción de cuerpos cetónicos (Van Der Drift et al., 2012). La insuficiencia del metabolismo del colesterol y la aceleración de la degradación de la grasa corporal se producen antes del parto en las vacas con cetosis, y estas características se correlacionan con la aceleración de la degradación de las proteínas después del parto (Kokkonen et al., 2005). Otro indicador del metabolismo proteico es la concentración de urea en plasma, la cual refleja el balance entre la proteína degradable y la energía fermentable en el rumen. Altos niveles de urea en sangre para nuestro caso dan cuenta de un balance energético negativo más acentuado, pudiendo reducir las tasas de concepción, debido a los cambios que se producen en el pH a nivel de útero entre otros factores, alcanzando a dar lugar a problemas hepáticos y a la aparición tardía del primer celo (Fenwick et al., 2008).

2.2.3 Expresión génica hepática

La glucosa es un indicador de la disponibilidad energética del animal, donde los niveles en sangre representan el punto central en la regulación de la vía gluconeogénica, la cual se desarrolla principalmente en el hígado y es catalizada y regulada por varias enzimas. Estas enzimas se encuentran reguladas a múltiples niveles, pudiendo darse a nivel transcripcional o por modificaciones postraduccionales (Nuttall et al., 2008). Su estudio y análisis nos aproximarán a entender cómo el organismo regula la producción y utilización de la glucosa

en distintas etapas fisiológicas, bajo distintos planos nutricionales y como este se adapta a las distintas situaciones.

El principal precursor de la glucosa en rumiantes es el propionato, antes de entrar en el ciclo de Krebs, debe ser transformado en propionil-CoA, luego en metilmalonil-CoA y finalmente en succinil-CoA. Esta última reacción es catalizada por la enzima metilmalonil CoA mutasa (MMUT; Larsen y Kristensen, 2013), enzima clave de la gluconeogénesis y su expresión génica está aumentada durante la lactancia temprana en sistemas de alimentación con dietas totalmente mezcladas para vacas de leche (García-Roche, 2021). Resultados similares encontraron Laguna et al. (2017), los cuales afirman que los niveles de ARNm de MMUT no solamente difirieron según el grupo genético (encontrándose más elevado en vacas cruzas), sino que además mostraron un aumento significativo después del día 36 posparto.

Por otra parte, las enzimas piruvato carboxilasa (PC) y fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PCK1) son enzimas clave responsables de los primeros pasos de la gluconeogénesis que han sido ampliamente estudiadas a nivel de expresión génica por su importante regulación transcripcional (Greenfield et al., 2000). Se ha reportado mayor expresión de ARNm *PC* a los -165 DPP en vacas de cría multíparas con baja oferta comparado con alta oferta de forraje, sugiriendo que las vacas usaron más lactato y aminoácidos (menos propionato) como precursores gluconeogénicos (Laporta et al., 2014). Además, se observó una tendencia a una correlación negativa entre la expresión de esta enzima con el consumo de materia seca y los niveles de NEFA y BHB plasmáticos (Weber et al., 2013). La PCK cataliza la conversión de oxalacetato a fosfoenol piruvato y está bien establecido que la insulina disminuye el ARNm y la actividad de esta enzima al regular directamente la expresión del gen (O'Brien y Granner, 1990). El aumento de dos a cinco veces de la expresión hepática de ARNm *PCK1* durante la gestación invernal coincidió con concentraciones reducidas de glucosa e insulina (Drackley et al., 2001). La desaceleración del incremento de ARNm *PCK1* refleja el incremento del consumo de materia seca y la mayor utilización de propionato como sustrato gluconeogénico (Greenfield et al., 2000). Otra enzima importante en la regulación de esta vía es la *G6PC*, que cataliza la reacción final de la gluconeogénesis. La expresión hepática de *PCK1*, *PC* y *G6PC* aumentaron

marcadamente durante la gestación invernal en vacas de carne (Carriquiry et al., 2013; Laporta et al., 2014). Esta regulación coordinada refleja un incremento en la velocidad de la vía que deriva en una mayor capacidad gluconeogénica durante los períodos de BEN asociados a la mayor demanda de glucosa por parte del feto y a la necesidad de mantener su concentración en sangre (Greenfield et al., 2000).

La piruvato deshidrogenasa (*PDH*) es una enzima encargada de convertir el piruvato en acetil-CoA. Esta reacción hace que el piruvato no inicie la vía gluconeogénica y dichos carbonos que ahora forman parte del acetil-CoA ingresen al ciclo de Krebs. La actividad de la *PDH* puede ser modulada por quinasas (piruvato deshidrogenasa quinasa; *PDK*), las cuales fosforilan a la *PDH* inhibiéndola y promoviendo una mayor tasa gluconeogénica, con aumentos en la actividad de *PC*. La actividad de la *PDK* es estimulada rápidamente por el ATP, NADH y el acetil-CoA, y es inhibida por el ADP, el NAD⁺ y el piruvato de manera que se produce una inhibición por retroalimentación (Takubo et al., 2013). Se ha reportado el aumento de seis veces de la expresión del ARNm *PDK* en la gestación invernal de vacas de carne, sugiriendo la conservación de tres compuestos de carbono (lactato, alanina y piruvato) como sustratos primarios para la gluconeogénesis (Laporta et al., 2013). Asimismo, se ha demostrado en vacas lecheras en lactación temprana, menor actividad relativa de la *PDH* frente a la *PC*, reflejando una mayor contribución del piruvato al flujo de oxalacetato en comparación con las vacas en lactación media (García et al., 2015).

La enzima citrato sintasa (*CS*) cataliza la primera reacción del ciclo de Krebs, la condensación del oxalacetato y acetil-CoA, dando como producto el citrato. La importancia de su actividad radica en que esta reacción es considerada la principal vía de ingreso de carbono al ciclo, ya que la acetil-CoA se produce en concentraciones elevadas durante el catabolismo de glúcidos, lípidos y aminoácidos, y su oxidación produce la mayor parte de la energía metabólica (Rich, 2003). Estudios realizados por Van Dorland et al. (2009) reportaron mayor abundancia de ARNm de *CS* durante el parto en comparación con el posparto en vacas HB (grupo HB, BHB > 0,75 mmol/L a la cuarta semana posparto). Estos resultados están respaldados por el balance energético negativo que tuvieron en gestación, acompañados por altas concentraciones de NEFA en plasma (la movilización del tejido

adiposo genera un mayor suministro de ácidos grasos para la oxidación, formando así más acetil-CoA).

La enzima succinato deshidrogenasa (*SDH*) participa tanto en la cadena respiratoria como en el ciclo de Krebs. El poder reductor generado a partir de la oxidación del succinato será volcado a la cadena respiratoria. Dicha enzima regula el ciclo ya que es inhibida por el malonato y el oxalacetato (Rich, 2003). Se ha demostrado que la expresión de ARNm *SDHA* y *SDHD* en el hígado de vacas de carne no fue afectada por la oferta de forraje, el genotipo o su interacción (Casal et al., 2014). Si bien existe información que relaciona la expresión de dicha enzima con la eficiencia alimenticia y el consumo residual de alimento en novillos, o su expresión hepática en vacas de leche, poco se sabe sobre esta en una situación de pastoreo. Estudios realizados por Kennedy y Allen (2019) afirman que la administración de ácido propiónico a vacas lecheras durante el posparto tendió a aumentar las concentraciones hepáticas de isocitrato, citrato y fumarato, aumentó la concentración de succinato, pero no afectó las concentraciones de malato, oxalacetato ni acetil-CoA, sugiriendo que puede haber un cuello de botella presente en la *SDH*.

Una proteína clave durante el BEN que se produce como consecuencia de un consumo insuficiente, ya sea en la gestación invernal o durante la transición es la proteína quinasa activada por AMP (*AMPK*) (Carreta et al., 2020). Esta proteína desempeña un papel central a nivel de todo el organismo para traducir las señales endócrinas en respuestas adaptadas, destinadas a ahorrar energía (cuando existe un BEN) o a asignarla a diversas funciones, cuando el balance energético es favorable (Adam et al., 2015). Su activación, aumenta la tasa de vías catabólicas y disminuye la tasa de vías anabólicas, participando en la regulación de la glucólisis, la entrada de glucosa, la oxidación de lípidos, la síntesis de ácidos grasos, la síntesis de colesterol y la gluconeogénesis (Li et al., 2019). En este sentido, estudios realizados en vacas lecheras en transición revelaron que los NEFA aumentan la fosforilación de *AMPK α* , la cual a su vez aumentó la expresión y la actividad transcripcional del receptor α activado por el proliferador de peroxisomas (*PPAR α*). Asimismo, los NEFA también activan directamente el *PPAR α* independientemente de *AMPK α* y el *PPAR α* activado aumentó la expresión de genes lipolíticos para aumentar la

oxidación de lípidos (disminuyendo el contenido de triglicéridos significativamente). Los resultados de dicho estudio indican que los NEFA activan la vía de señalización de *AMPK α* para aumentar la oxidación de lípidos y disminuir la síntesis de estos, lo que genera más ATP para aliviar el BEN (Li et al., 2013). Estudios realizados por García-Roche et al. (2021) indican que la actividad de *AMPK* fue 1,8 veces mayor en lactancia temprana comparado con tardía, mientras que no se observaron cambios en la expresión hepática de esta enzima. Sin embargo, la relación *AMPK* activada/*AMPK* se correlacionó negativamente con la expresión hepática de ARNm *PC*. Otros trabajos realizados en vacas lecheras muestran que cuando el balance energético es desfavorable, medido a través de BHB, la vía de señalización *AMPK* se activa y la expresión de *PPAR α* aumenta significativamente (Deng et al., 2015). Resultados similares encontraron Li et al. (2013) quienes trabajaron con el metabolismo de lípidos en vacas lecheras utilizando hepatocitos y confirmaron que el aumento de la fosforilación de *AMPK α* aumentó la expresión y actividad transcripcional de *PPAR α* , aumentando la expresión de los genes de oxidación de lípidos, y por consiguiente su oxidación. Asimismo, Li et al. (2018) encontraron que la insulina disminuyó la fosforilación de *AMPK α* .

Por otra parte, como se mencionó recientemente en relación al metabolismo de los ácidos grasos, la familia de receptores nucleares activados por proliferadores peroxisomales (*PPAR*), controla la expresión de una amplia gama de genes que codifican enzimas que a nivel hepático participan de la captación, transporte y activación de lípidos (formación de acil-CoA), oxidación de ácidos grasos (particularmente β -oxidación), lipogénesis y cetogénesis (Han et al., 2017). Los activadores de *PPAR- α* incluyen una variedad de ácidos grasos, fosfolípidos oxidados y lipoproteínas lipolíticas presentes de forma endógena, así como también está regulado por modificación postraducciona mediante fosforilación y se han identificado varias proteínas quinasas. La activación de *PPAR- α* está estrechamente relacionada con el aumento de la capacidad oxidativa de ácidos grasos de cadena larga, por lo que en bovinos puede prevenir patologías como el hígado graso (Bionaz et al., 2015). Trabajos realizados por Angeli et al. (2019) en vacas lecheras en pastoreo durante el período de transición revelaron que *PPAR- α* aumentó el día 28 posparto. Asimismo, en hepatocitos bovinos tratados con insulina se reveló una inactivación de *AMPK α* , la cual

disminuyó los niveles de expresión de genes y proteínas *PPAR α* ; en consecuencia, el contenido de triglicéridos aumentó significativamente, por un aumento de la síntesis de lípidos y disminuciones en su oxidación (Li et al., 2018). No se encontraron cambios en la expresión de ARNm *PPAR- α* en vacas de carne en pastoreo durante la gestación e inicio de la lactancia (Laporta et al., 2014), aunque la vía oxidativa de *PPAR- α* se regula positivamente durante la gestación invernal y los genes regulados por *PPAR- α* implicados en la oxidación de ácidos grasos se regularon positivamente a lo largo del estudio.

3 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Incrementar el conocimiento sobre las relaciones entre el estatus metabólico y las respuestas fisiológicas, así como comprender los mecanismos moleculares que regulan la adaptación hepática al balance energético en vacas de carne en gestación y lactación temprana, con cambios en la oferta de forraje.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el efecto de la nutrición preparto y su interacción con la nutrición posparto (a través de cambios en la oferta de forraje de otoño y primavera-verano del campo natural) sobre la adaptación metabólica, las respuestas productivas y reproductivas de vacas primíparas en pastoreo, sobre:

- Los perfiles metabólicos (glucosa, NEFA y BHB) y endócrinos (insulina, leptina, IGF1) y la composición de tejido hepático (glucosa y glucógeno).
- Indicadores de movilización proteica (urea y 3MH).

- La expresión hepática de genes relacionados con la gluconeogénesis (*PC*, *PCK1*, *G6PC*, *PDH*, *PDK*), el ciclo de Krebs (*CS*, *SDH*, *MMUT*, el metabolismo lipídico (*PPAR α*) y la proteína reguladora *AMPK*.
- El reinicio de la actividad ovárica posparto y peso del ternero a través de mediciones de P4.
- Relacionar los perfiles metabólicos, endócrinos y de expresión génica con las respuestas productivas (PV y ganancia del ternero) y el reinicio a la ciclicidad.

3.3 HIPÓTESIS

La hipótesis que nos planteamos es que el manejo de la intensidad de pastoreo sobre campo natural, a través de la oferta de forraje, modifica el metabolismo energético de vacas de carne durante el ciclo anual de gestación-lactación. Cambios en la oferta de forraje de otoño y primavera-verano podrían reflejar adaptaciones del metabolismo hepático que mejoren s las respuestas productivas y reproductivas.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos propuestos se utilizaron datos y muestras colectadas de un experimento que se realizó en la Estación Experimental Facultad de Agronomía Salto (EEFAS), Universidad de la República, Uruguay (31 ° 23 ' S, 57 ° 18 ' W) durante los años 2011-2012. Los procedimientos con animales fueron aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA).

4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS

El experimento tuvo un diseño de bloques al azar con dos repeticiones espaciales (42 y 48 ha, bloque 1 y 2, respectivamente). Se utilizó un arreglo factorial de tratamientos de oferta de forraje diferido en el tiempo y dos tratamientos de oferta de forraje (alta y baja) preparto

y 2 tratamientos de oferta de forraje posparto. Los animales fueron asignados dentro de cada tratamiento según fecha probable de parto, PV y CC. Se utilizaron 40 vacas primíparas Hereford (5.6 ± 0.4 CC), con fecha probable de parto en primavera. A principios de otoño (-150 ± 12 DPP), las vacas fueron asignadas aleatoriamente a dos tratamientos de oferta de forraje, alta: 5 y 3 kg MS/kg PV (otoño e invierno, respectivamente), baja oferta de forraje 3 y 3 kg MS/kg PV otoño e invierno, respectivamente. A los 15 DPP, en primavera, la mitad de las vacas asignadas a alta oferta fueron reasignadas a baja oferta (2 kg MS/kg PV durante primavera-verano) mientras que la mitad de las vacas asignadas en baja oferta fueron reasignadas a alta oferta del campo natural (4 kg MS/kg PV durante primavera-verano), de manera de generar 4 tratamientos:

- 1) alta oferta durante todo el ciclo anual; A-AOF,
- 2) alta oferta en otoño-invierno y baja en primavera-verano; A-BOF,
- 3) baja oferta en otoño-invierno y alta en primavera-verano; B-AOF, y
- 4) baja oferta durante todo el ciclo anual; B-BOF.

El entore se realizó a los 85 DPP durante 90 días con toros Hereford andrológicamente evaluados previamente y con fertilidad probada en entores anteriores. La oferta de forraje de los tratamientos fluctuó a lo largo de las estaciones de la siguiente manera: otoño 5 y 3, invierno 3 y 3, primavera y verano 4 y 2 kg MS/kg PV para alta y baja oferta respectivamente. La oferta de forraje se ajustó mensualmente el método por el método de “Put-and-take” (Mott y Lucas, 1952) en base a estimaciones de la masa de forraje y estimando una estimación de la producción de forraje para la zona (Beretta et al., 2000). Se utilizaron animales volantes de la misma raza, estado fisiológico y peso vivo que las vacas experimentales.

4.2 MEDICIONES DE LA DISPONIBILIDAD DE FORRAJE

La masa de forraje (kg MS/ha) se evaluó mensualmente a través del método de rendimiento comparativo (Haydock y Shaw, 1975), en el cual la cantidad de materia seca de forraje es estimada en relación a cuadrículas de referencia. Dicho procedimiento consiste en primera

instancia en definir visualmente 5 cuadrículas (a las cuales se les asignaron rangos numéricos del 1 al 5) y fueron consideradas patrones de referencia. Luego de esto, observadores caminaron a lo largo de transectos, que cruzaban el potrero a evaluar y valoraron visualmente la masa de forraje (altura, cobertura y densidad) de las cuadrículas de muestreo, comparándola respecto a la cuadrícula de referencia, determinando de esta manera si la parcela a evaluar es similar a alguna parcela de referencia o entre cuales se encontraría la biomasa de esa muestra, calificándose a las áreas sin vegetación (afloramientos rocosos) con el cero. Posteriormente se realizó la cosecha de biomasa de cuadrículas, cortándose tres sitios similares por cada punto de la escala (se cortaron al nivel del suelo en 0,3-0,3 m), la biomasa cosechada en cada muestra se secó en la estufa y se pesó hasta tener un peso constante, para determinar la materia seca y finalmente las estimaciones obtenidas en las diferentes parcelas se llevan a materia seca.

4.3 DETERMINACIONES EN LOS ANIMALES

4.3.1 Condición corporal

La CC de los animales se midieron mensualmente desde el inicio del experimento (-150 DPP) hasta el destete definitivo (160 DPP). La CC fue evaluada usando una escala visual de 1 a 8 unidades para vacas de carne Hereford ([escala 1 —flaca— a 8 —gorda—, Vizcarra et al., 1986]).

4.3.2 Muestras de sangre

Las muestras de sangre se colectaron a los -90, -15, +75 y +180 DPP, dichos días corresponden a las fechas del 2 de junio, 3 de agosto, 29 de noviembre del año 2011 y 15 de febrero del siguiente año (2012) respectivamente. Los muestreos se realizaron a primera hora de la mañana por punción de la vena coxígea utilizando Vacutainer™ (10 ml de vidrio heparinizado). Inmediatamente terminado el sangrado, las muestras refrigeradas fueron llevadas al laboratorio donde se centrifugaron a 3000 RPM durante 15 minutos. El plasma fue almacenado a -20 °C hasta su posterior procesamiento en el Laboratorio de

Endocrinología y Metabolismo Animal de Facultad de Veterinaria. En dichas muestras se determinaron metabolitos y hormonas, mediante los siguientes procedimientos:

- NEFA, BHB, glucosa y urea por espectrofotometría utilizando kits comerciales previamente utilizados en rumiantes (WakoChemicals, Richmond, VA y Laboratorios Wiener, Buenos Aires, Argentina) en un autoanalizador VitalabSpectra 2.
- Insulina y progesterona se realizaron mediante radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida (Siemens HealthcareDiagnostics, Deerfield, IL) o en fase líquida IGF-1 y leptina mediante un ensayo inmunorradiométrico sensible (IRMA).

4.3.3 Muestras de tejido hepático

Se obtuvieron biopsias de hígado a los -90, -15, +75 y +180 DPP (500 mg aprox.) utilizando una aguja de biopsia de calibre 14 (Tru-Core®-II Automatic Biopsy Instrument; Angiotech, Lausanne, Suizterland) según lo descrito por Carriquiry et al. (2009). Las muestras de hígado se colocaron en un tubo de microcentrífuga con tapón de rosca, se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C. Las muestras de hígado fueron procesadas en el Laboratorio de Biotecnología y Endocrinología Animal de la facultad de Agronomía para la determinación de:

- Concentración de glucógeno y glucosa con espectrofotómetro utilizando kit comercial (Oxidasa-peroxidasa). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra, con volumen de muestras y reactivos ajustado a una microplaca de 96 pocillos y leído en un Multiskan EX (ThermoScientific, Waltham, MA, USA).
- Cuantificación de la expresión de ARNm de los genes de interés relacionados con la gluconeogénesis: *PC*, *PCK1*, *G6PC*, *PDH*, *PDK*, *CS*, *SDH*, *PropionilCoA*, *MMUT*, *AMPK* y *PPAR α* . La hipoxantinafosforibosiltransferasa y la β -actina fueron utilizadas como controles endógenos, previamente reportadas en tejidos de rumiantes (Carriquiry et al., 2009). Para ellos se aisló y purificó el ARN usando TRIzol® (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA, EUA), seguido por la precipitación con cloruro de litio y por el tratamiento con DNasa con un kit DNA-Free™ (AppliedBiosystems/Ambion,

Austin, TX, EUA). La concentración de ARN se determinó midiendo la absorbancia a 260 nm (espectrofotómetro NanoDrop ND-1000; NanodropTechnnologies Inc., Wilmington, DE, EUA), y la pureza e integridad por electroforesis en gel de agarosa al 1%. Para realizar la transcripción reversa se utilizó el kit SuperScript®III First-Strand Synthesis System. El ADNc se utilizó para las reacciones de PCR en tiempo real utilizando 7,5µL SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (ThermofisherScientificbaltics UAB, Vilnius, Lithuania), 0,4 µL primerses específicos de cada gen (OperonBiotechnologiesGmbH; Colonia, Alemania), y 2µL ADNc diluido (1:7,5 en agua libre de RNasa/DNasa) en un volumen final de 15µL. Las muestras se analizaron por duplicado en un PCR en tiempo real *StepOne*TM de 48 pocillos (Applied BiosystemsTM from Thermo Fisher Scientific, Singapore). Las condiciones de amplificación estándar fueron de 10 min a 95 °C y 40 ciclos de 15 s a 95 °C y 60 s a 60 °C. La expresión de cada gen objetivo se normalizó con la expresión promedio de *HPRT* y *β-actina*.

4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa estadístico SAS (SAS Institute, Cary, NC), donde los datos de hormonas, metabolitos, expresión de genes, CC y PV del ternero fueron analizados en un modelo mixto con medidas repetidas en el tiempo mediante el procedimiento MIXED, en el cual la unidad experimental fue el animal. El modelo incluyó el efecto del tratamiento (conteniendo la oferta de forraje de otoño y la oferta de forraje de primavera anidada a la de otoño), día de muestreo, y sus interacciones como efectos fijos, el bloque como efecto aleatorio y la fecha de parto como covariable. El tipo de modelo de covarianza para medidas repetidas fue UN (*unrestricted*). La separación de medias se realizó mediante el test de Tukey con $P < 0,05$. Los datos de las variables reproductivas fueron analizados mediante un procedimiento GENMOD, utilizando el mismo modelo.

5 RESULTADOS

5.1 VARIABLES VEGETALES

Se presenta la disponibilidad de forraje para ambas ofertas a lo largo de todo el período experimental en la figura 1, dicha disponibilidad fue el resultado del consumo por parte de los animales, el crecimiento de forraje y el remanente.

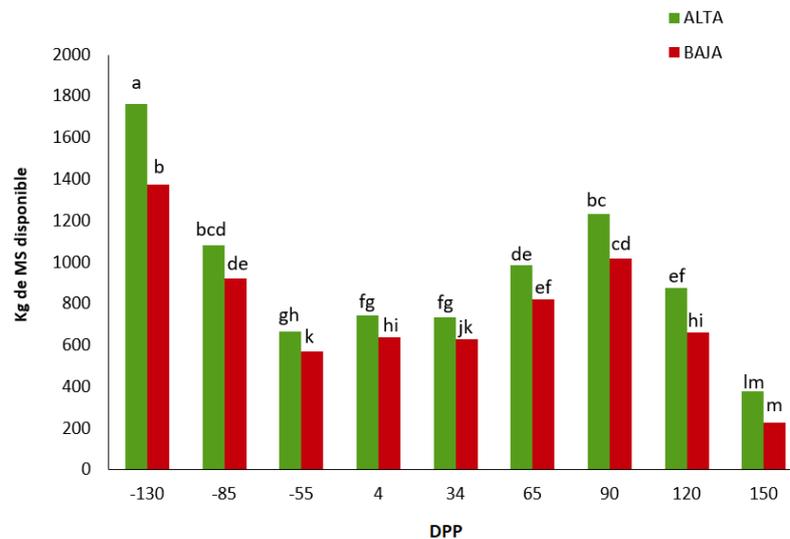


Figura 1: Masa de forraje disponible (kg en base seca) a lo largo de todo el periodo experimental para animales en alta oferta de forraje (ALTA; color verde) y baja oferta de forraje (BAJA; color rojo). Literales distintos muestran diferencias significativas con un $P < 0,05$. Datos obtenidos de Claramunt et al. (2017).

Es preciso tener en cuenta que el crecimiento de la masa forrajera no solo fue disminuido por las bajas temperaturas invernales, sino que, además, existió una escasez de precipitaciones en los meses de noviembre, diciembre y enero, donde el promedio de lluvias mensuales fue inferiores al promedio histórico (cuadro 1), reduciendo el crecimiento de forraje y como consecuencia el forraje disponible.

Mes	Temperaturas (C°)			Precipitación acumulada (mm)	
	Mínima	Media	Máxima	Mensual	Promedio (99-10)
Noviembre	16,1	22,5	29,0	72,3	121,0
Diciembre	16,4	23,2	30,1	41,5	114,9
Enero	19,3	26,5	33,5	50,1	120,0
Febrero	19,9	25,1	30,4	390,6	141,8

Cuadro 1: Datos experimentales (año 2011-2012) e históricos (para la serie de años 1999-2010) de temperatura (°C) y precipitaciones (mm) en los meses de noviembre, diciembre, enero y febrero brindados por la estación meteorológica de la Facultad de Agronomía-Salto.

5.2 VARIABLES PRODUCTIVAS

La CC fue afectada por los días y por la oferta de forraje. Durante el otoño ambos tratamientos aumentaron la CC ($P < 0,01$), siendo las vacas en A-AOF las que entraron al invierno con mayor CC ($P = 0,01$; 6,20 vs. 5,77 AOF y BOF, respectivamente). Al momento del parto (día 0) no hubo diferencias en la CC entre tratamientos, sin embargo, durante el posparto las vacas en B-BOF alcanzaron menor CC ($P \leq 0,05$) comparado con las vacas de A-AOF hasta los 180 DPP (3,09 vs. 3,51 unidades, respectivamente). Durante la gestación invernal y hasta los 60 DPP, todas las vacas disminuyeron la CC ($P < 0,01$) a excepción de B-AOF que luego del parto la mantuvo. Desde los 60 hasta los 100 DPP todas las vacas recuperaron CC ($P < 0,01$), mientras que a partir de los 100 DPP disminuyeron CC ($P < 0,05$). A partir de los 100 DPP si bien existió un descenso en la CC de todas las vacas, las del tratamiento B-AOF mantuvieron su superioridad. Cuadro 2.

	Tratamientos					P -valor					
	OO		Alta		Baja		DPP	OO	OP(OO)	OO*DPP	OP*DPP(OO)
	OP	Alta	Baja	Alta	Baja						
DPP						<.001	0,023	0,002	0,186	0,258	
-184		5,67 b		5,61 b							
-113		6,34 a		6,21 a							
-74		6,19 a		5,77 b							
-45		5,00 b		4,70 c							
0		3,95 c		3,82 c							
42	3,70 cd		3,57 d	3,87 c	3,66 d						
83	4,13 e		3,98 c	4,56 b	4,00 c						
112	3,87 e		3,69 d	4,04 c	3,67 d						
131	3,80 e		3,57 d	4,00 c	3,64 d						
160	3,44 d		3,05 e	3,58 d	3,14 e						

Cuadro 2: Condición corporal en vacas con diferente combinación de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

El PV de los terneros no fue diferente al nacimiento, pero si a los 180 DPP, fueron más pesados ($P < 0,01$) los terneros hijos de las vacas asignadas a alta oferta de forraje posparto, (186, 186, 160 y $152 \pm 7,3$ kg para A-AOF, B-AOF, A-BOF y B-BOF respectivamente).

5.3 HORMONAS Y METABOLITOS VINCULADOS A LA MOVILIZACIÓN DE RESERVAS

Durante el parto, las concentraciones de NEFA y BHB aumentaron ($P < 0,01$) desde -75 a -15 DPP en ambos tratamientos. Asimismo, a los -15 DPP la concentración de NEFA fue mayor ($P = 0,05$) en las vacas de B-BOF comparada con las vacas de A-AOF. En los primeros 100 DPP ambos metabolitos disminuyeron ($P < 0,01$) en todos los tratamientos (65,1 y 47,3 %, BHB y NEFA, respectivamente). Desde los 100 hasta los 180 DPP hubo una disminución ($P = 0,01$) de la concentración de BHB (24,8 %) en todos los tratamientos, y a partir de los 180 DPP los tratamientos con alta oferta de forraje tuvieron mayor concentración de NEFA ($P \leq 0,05$) respecto a los de baja oferta en el posparto. Cuadro 3.

Metabolitos- hormona	DPP	Tratamientos					DPP	P valor		
		OO	Alta		Baja			OO	OP(OO)	OP*DPP(OO)
		OP	Alta	Baja	Alta	Baja				
BHB (mmol/L)	-75		0,483 b		0,514 b	<0,001	0,87	0,94	0,05	
	-15		1,406 a		1,519 a					
	100		0,602 b	0,466 bc	0,512 b	0,455				
	180		0,465 bc	0,360 c	0,378 c	0,329 c				
NEFA (mmol/L)	-75		0,791 c		0,847 c	<0,001	0,22	0,78	0,02	
	-15		1,282 b		1,489 a					
	100		0,750 c	0,754 c	0,773 c	0,618 c				
	180		0,865c	0,664 d	0,853 c	0,670 d				
Leptina (ng/mL)	-75		4,092 b		5,362 b	0,07	0,13	0,41	0,34	
	-15		3,513 b		4,389 b					
	100		5,229 a	3,873 b	5,954 a	4,286 b				
	180		5,581 a	2,748 b	5,760 a	4,889 a				

Cuadro 3: Concentración de betahidroxibutirato (BHB) en mmol/L; de ácidos grasos no esterificados (NEFA) en mmol/L y de leptina en ng/mL-1; en vacas con diferente combinación de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

Las concentraciones de leptina no fueron afectadas por los tratamientos, pero hubo una tendencia ($P = 0,07$) a ser afectados por los DPP. A partir de los -15 a los 100 DPP incrementó solamente en los tratamientos A-AOF y B-AOF. Desde los 100 a los 180 DPP no hubo cambios significativos en los tratamientos, sin embargo, a los 180 DPP las vacas de alta oferta de forraje posparto tuvieron mayores concentraciones ($P \leq 0,05$) de leptina comparados con baja oferta de forraje ($5,6, 5,8, 2,7$ y $4,9 \pm 1,0$ ng/ml para A-AOF, B-AOF, A-BOF y B-BOF, respectivamente). Cuadro 3.

5.4 MOVILIZACIÓN PROTEICA

La concentración de urea fue afectada por los DPP, la oferta de forraje y la interacción ($P < 0,01$). Aumentó desde -75 a -15 DPP, disminuyó hasta los 100 DPP y finalmente incremento en todos los tratamientos. El efecto de la interacción ($P = 0,05$) muestra que en los primeros 100 DPP la disminución ($P < 0,01$) fue diferente para todos los tratamientos, en la cual las vacas con baja oferta de forraje otoñal descendieron las concentraciones de urea en mayor medida (2,1, 1,7, 2,4 y 3,5 mmol/L para A-AOF, A-BOF, B-AOF Y B-BOF respectivamente). El efecto de la oferta de forraje muestra que a los 180 DPP los tratamientos con alta oferta tuvieron mayores ($P = 0,05$) concentraciones comparado con los de baja oferta (8,0 y 7,0 mmol/L respectivamente en promedio). Cuadro 4.

Metabolitos	DPP	Tratamientos					DPP	P valor			
		Alta		Baja		OO		OP(OO)	OO*DPP	OP*DPP(OO)	
		OP	Alta	Baja	Alta						Baja
Urea (mmol/L)	-75		6,52 c		6,54 c	<0,001	0,441	0,889	0,17	0,05	
	-15		8,10 b		8,99 a						
	100		6,02 c	6,35 c	6,55 c						5,50 c
	180		7,95 b	7,14 c	8,05 b						6,96 c
3MH (mmol/L)	-75		8,91 b		8,23 b	0,005	0,623	0,043	0,915	0,621	
	-15		11,36 a		11,87 a						
	100		10,21 b	8,76 b	10,46 b						7,35 b
	180		11,35 a	11,10 a	10,81 a						10,62 a

Cuadro 4: Concentración de Urea (mmol/L; A) y tres metilhistidina 3MH (mmol/L; B); en vacas con diferente combinación de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

Las concentraciones de tres metil histidina (3MH) fueron afectadas por los DPP y la oferta de forraje ($P < 0,01$). Durante el invierno la concentración de 3MH aumentó ($P < 0,03$) en ambos tratamientos (36 %), mientras que hasta los 100 DPP las vacas asignadas a baja oferta de forraje (A-BOF y B-BOF) disminuyeron ($P \leq 0,05$) las concentraciones respecto

a la gestación invernada (10,2, 10,5, 8,8 y 7,3 $\mu\text{mol/L}$; A-AOF, B-AOF, A-BOF y B-BOF, respectivamente; cuadro 4).

La relación urea/3MH no mostró un efecto del tratamiento ni de los días durante el período experimental; sin embargo, desde los 100 a 180 DPP las vacas en B-AOF tendieron ($P = 0,1$) a aumentar dicha relación y a los 180 DPP las vacas de B-AOF y B-BOF tuvieron una mayor relación ($P = 0,05$) respecto a las vacas de A-AOF y tendieron ($P = 0,07$) a ser mayores que A-BOF.

5.5 METABOLISMO ENERGÉTICO

Las concentraciones de glucosa no fueron afectadas durante el parto. En los primeros 100 DPP existió una disminución para todos los tratamientos ($P < 0,05$). A los 180 DPP los tratamientos de alta oferta de forraje aumentaron los niveles de glucosa, mientras que, los de baja oferta de forraje disminuyeron los niveles. Cuadro 5.

Metabolito/ hormona	DPP	Tratamientos					DPP	P Valor			
		OO	Alta		Baja			OO	OP(OO)	OO*DPP	OP*DPP(OO)
		OP	Alta	Baja	Alta	Baja					
Glucosa($\mu\text{mol/L}$)	-75		3,345 a		3,334 a	0,637	0,88	0,059	0,549	0,257	
	-15		3,131 a		3,285 a						
	100		2,794 b	2,815 b	2,853 b	2,529 c					
	180		3,013 a	2,560 c	3,267 a	2,430 c					
Insulina(UI/L)	-75		9,275 a		7,910a	0,929	0,24	0,01	0,307	0,469	
	-15		8,143 a		7,154a						
	100		8,580 a	9,745 a	9,049 a	8,222 a					
	180		5,670 a	8,088 a	5,843 a	6,098 a					
IGF-I(ng/mL)	-75		155,270 a		142,160 a	<.001	0,87	0,1	0,281	0,508	
	-15		78,694 b		83,536 b						
	100		70,946 b	65,789 bc	87,983 b	58,059 bc					
	180		62,161 c	43,746 d	65,921 c	37,402 d					
Insulina/IGF-I	-75		0,062 c		0,052c	<.001	0,13	<.001	<.001	<.001	
	-15		0,098 b		0,122b						
	100		0,124 b	0,131 b	0,127 b	0,103 b					
	180		0,092 b	0,278 a	0,083 bc	0,158 b					
Glucosa/glucógeno	-75		0,310 b		0,463 b	0,211	0,08	0,002	0,812	0,108	
	-15		0,519 a		0,589 a						
	100		0,137 c	0,574 a	0,551 a	0,375 b					
	180		0,088 c	0,450 b	0,647 a	0,354 b					

Cuadro 5: Concentración de glucosa ($\mu\text{mol/L}$); Insulina (UI/L) e IGF-I (ng/mL) y la relación insulina/IGF-I y glucosa/glucógeno hepático, en vacas con diferente combinación

de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

Las concentraciones de insulina fueron afectadas ($P = 0,01$) por los días. Se mantuvieron estables durante el preparto hasta los 100 DPP en todos los grupos menos en las vacas B-AOF que incrementaron la concentración ($P = 0,02$) desde el -15 a los 100 DPP. A partir de los 100 DPP todos los tratamientos disminuyeron ($P < 0,05$) la concentración, mientras que el tratamiento A-BOF tendió ($P < 0,1$) a tener mayor concentración a los 180 DPP. Cuadro 5.

Las concentraciones de IGF-I fueron afectadas ($P < 0,01$) por los días, la oferta de forraje y la interacción. Durante el invierno, ambos tratamientos disminuyeron la concentración de IGF-I (45.3 %). En el posparto los tratamientos de alta oferta de forraje se mantuvieron estables, mientras que los de baja oferta de forraje disminuyeron y a los 180 DPP tuvieron menor concentración ($P < 0,03$) que los tratamientos de alta oferta de forraje. A los 100 DPP las vacas del tratamiento B-AOF tendieron ($P < 0,1$) a tener mayor concentración de IGF-I que el resto de los tratamientos. Cuadro 5.

La relación entre insulina/IGF-I estuvo afectada por los DPP y la oferta de forraje primaveral ($P < 0,01$). Durante el preparto se incrementó ($P = 0,05$) la relación para las vacas con baja oferta de forraje y luego del parto, en los primeros 100 DPP las vacas de A-AOF y A-BOF tendieron ($P = 0,08$) a incrementarla. Desde los 100 a los 180 DPP las vacas con alta oferta de forraje tendieron ($P = 0,06$) a disminuir, mientras que las de baja oferta aumentaron ($P < 0,01$). A los 180 DPP A-BOF tuvo una relación insulina/IGF-I mayor ($P < 0,01$), que los restantes tratamientos, mientras que B-BOF fue mayor que A-AOF y B-AOF ($P < 0,01$). Cuadro 5.

En lo que respecta a la glucosa hepática se observó una interacción entre los DPP y la oferta

de forraje ($P = 0,02$), indicando una disminución de la concentración a medida que transcurren los días durante el parto para las vacas asignadas a baja oferta de forraje. En los primeros 100 DPP mientras las vacas asignadas a A-AOF redujeron los niveles de glucosa hepática (54,3 %), las vacas en A-BOF aumentaron 58.2 % los niveles. A partir de ese momento, existió una tendencia ($P = 0,09$) a disminuir con los días. El glucógeno hepático disminuyó ($P = 0,02$) en el parto para ambos tratamientos y a los 100 DPP las vacas con alta oferta de forraje parto, aumentaron sus concentraciones de glucógeno (78 % en promedio). Por el contrario, las vacas asignadas a B-AOF y B-BOF no aumentaron los niveles de glucógeno hepático durante el parto. La relación glucosa/glucógeno tendió ($P = 0,06$) a ser mayor en las vacas con BOF a los -75 DPP, desde los -75 a los -15 DPP dicha relación se incrementó ($P = 0,04$; 67,5 %) para las vacas AOF, sin embargo, en los primeros 100 DPP las vacas A-AOF disminuyeron esta relación 3,8 veces. Existió un efecto de la oferta de primavera anidada a la de otoño ($P < 0,01$) y una tendencia a la interacción entre la oferta primaveral y los DPP ($P = 0,07$). A los 100 y a los 180 DPP las vacas de A-AOF tuvieron ($P < 0,05$) una relación más baja que las vacas en A-BOF y B-AOF (5,2 veces). Cuadro 5.

5.6 METABOLISMO HEPÁTICO DE LA GLUCOSA

La expresión de ARNm *PC* tuvo un efecto ($P = 0,04$) de los DPP, desde los -75 hasta los -15 DPP la expresión aumentó ($P < 0,05$) en ambos tratamientos (78 y 47 % para AOF y BOF, respectivamente). Durante el parto la expresión de este transcrita aumentó ($P < 0,05$) en las vacas de B-BOF y fue el tratamiento con mayor expresión (47,2 %). Cuadro 6.

mARN	DPP	Tratamientos					P Valor				
		OO	Alta		Baja		DPP	OO	OP(OO)	OO*DPP	OP*DPP(OO)
		OP	Alta	Baja	Alta	Baja					
PC	-75		0,679 c		0,675 c		0,042	0,924	0,328	0,584	0,936
	-15		1,206 a		0,972 b						
	100		0,818 b	0,890 b	0,824 b	1,215 a					
	180		0,888 b	1,004 b	0,886 b	1,386 a					
PCK	-75		0,243 b		0,106 bc		<,001	0,938	0,904	0,042	0,796
	-15		0,059 c		0,124 bc						
	100		0,220 b	0,245 b	0,137 bc	0,374 a					
	180		0,199 b	0,185 b	0,266 b	0,213 b					
PDH	-75		0,342 a		0,308 a		0,012	0,548	0,385	0,424	0,894
	-15		0,276 a		0,257 a						
	100		0,407 a	0,353 a	0,231 a	0,263 a					
	180		0,390 a	0,412 a	0,387 a	0,537 a					

Cuadro 6: Abundancia relativa de ARNm de *Piruvato carboxilasa* (PC; A); *Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa* (PCK; B) y *Piruvato deshidrogenasa* (PDH; C) en vacas con diferente combinación de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

La expresión de ARNm *PCK* tuvo un efecto ($P < 0,01$) de los DPP, y de la oferta de otoño en interacción con los DPP ($P = 0,04$). A los -75 DPP las vacas en AOF tendieron ($P = 0,09$) a tener mayor expresión, sin embargo, desde -75 a los -15 DPP la disminuyeron 4,1 veces ($P < 0,01$). A los -15 DPP las vacas en BOF tendieron a tener mayor expresión ($P = 0,08$). A partir de los -15 hasta los 100 DPP la expresión del transcripto aumentó significativamente ($P < 0,01$) para las vacas en A-AOF, A-BOF y B-BOF (3,7, 4,2 y 3,0 veces respectivamente), mientras que se mantuvo para B-AOF. Desde los 100 a 180 DPP las vacas en B-BOF disminuyeron ($P < 0,05$) su expresión, sin diferencias significativas entre tratamientos a los 180 DPP. Cuadro 6.

Hubo un efecto significativo de los DPP sobre la expresión de ARNm *PDH*, durante el

preparto se mantuvieron estables y a los 100 DPP las vacas en alta oferta de forraje tendieron ($P = 0,08$) a tener mayor expresión de dicho transcripto respecto a las vacas de baja oferta en el preparto. Desde los 100 a 180 DPP las vacas en baja oferta de forraje en el posparto tendieron ($P = 0,06$) a aumentar su expresión (Figura 7 C). No se observaron efectos significativos del tratamiento ni de los días sobre la expresión hepática de ARNm *PDK* ni *G6PC*. Cuadro 6.

La abundancia de ARNm *CS* fue afectada ($P < 0,01$) por la oferta de forraje durante el período experimental, desde los 100 a los 180 DPP disminuyó 54,5 % ($P \leq 0,02$) en vacas en B-AOF. Al finalizar el período experimental, los tratamientos con alta oferta de forraje posparto tuvieron una menor expresión de *CS* ($P < 0,01$). Asimismo, las vacas en B-BOF tuvieron ($P < 0,05$) mayor expresión que las vacas en A-BOF. Cuadro 7.

mARN	DPP	Tratamientos					P Valor				
		OO	Alta		Baja		DPP	OO	OP(OO)	OO*DPP	OP*DPP(OO)
		OP	Alta	Baja	Alta	Baja					
<i>CS</i>	-75		0,651 bc		1,044 b	0,259	0,189	<,001	0,852	0,113	
	-15		0,886 b		1,019 b						
	100	0,481 bc	0,944 b	0,736 b	1,266 b						
	180	0,330 c	0,906 b	0,335 c	1,938 a						
<i>SDH</i>	-75		0,407 a		0,328 ab	0,087	0,448	0,198	0,727	0,955	
	-15		0,270 b		0,289 ab						
	100	0,445 a	0,378 ab	0,385 ab	0,308 ab						
	180	0,482 a	0,300 ab	0,361 ab	0,323 ab						
<i>PCOA</i>	-75		0,489 a		0,579 a	0,009	0,509	0,135	0,908	0,636	
	-15		0,494 a		0,531 a						
	100	0,648 a	0,713 a	0,582 a	0,994 a						
	180	0,567 a	0,869 a	0,556 a	0,871 a						
<i>MMUT</i>	-75		0,308 ab		0,637 a	0,388	0,576	0,274	0,018	0,035	
	-15		0,389 ab		0,197 b						
	100	0,624 a	0,252 ab	0,277 ab	0,402 ab						
	180	0,180 b	0,361 ab	0,381 ab	0,650 a						

Cuadro 7: Abundancia relativa de ARNm de *Citrato sintasa* (*CS*; A); *Succinato deshidrogenasa* (*SDH*; B); *Propionil CoA* (*PCOA*; C) y *Metilmalonil CoA mutasa* (*MMUT*; D) en vacas con diferente combinación de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de

otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

Durante la gestación invernal la abundancia de ARNm *SDH* disminuyó 33,6 % ($P < 0,01$) en las vacas de AOF, sin embargo, a los 100 DPP aumentó ($P < 0,05$) en las vacas en A-AOF y a los 180 DPP fue mayor ($P = 0,05$) comparado con las vacas en A-BOF. Cuadro 7.

La expresión de ARNm de *Propionil CoA* fue afectada por los DPP ($P < 0,01$). A los 100 DPP tendió a aumentar ($P = 0,09$) la expresión en todos los tratamientos menos para las vacas en B-AOF las cuales mantuvieron su expresión respecto al parto. A los 180 DPP los tratamientos con baja oferta de forraje posparto tendieron a tener mayor expresión ($P = 0,07$) de dicho transcripto que los restantes tratamientos. Cuadro 7.

La abundancia de ARNm *MMUT* durante el parto fue afectada por la interacción de los días con la oferta de forraje ($P = 0,02$), disminuyendo ($P = 0,01$) 3,2 veces su expresión en los animales en BOF. A los -75 DPP los animales en BOF tendieron ($P = 0,1$) a tener una mayor expresión, sin embargo, tras la disminución, a los -15 DPP tendieron ($P = 0,07$) a tener una menor expresión que las vacas en AOF. Desde los 100 a los 180 DPP las vacas asignadas a A-AOF disminuyeron la expresión 3,5 veces. Cuadro 7.

Se observó una tendencia ($P = 0,07$) en el efecto de los días sobre la expresión de ARNm *AMPK* y un efecto ($P = 0,01$) de la oferta de forraje. Durante el parto y hasta los 100 DPP, no hubo cambios en la expresión de este transcripto; sin embargo, a los 180 DPP las vacas en A-AOF y B-AOF tuvieron menor ($P < 0,01$) expresión que las vacas en A-BOF y B-BOF. Cuadro 8.

	Tratamientos					P Valor				
	OO	Alta		Baja		DPP	OO	OP(OO)	OO*DPP	OP*DPP(OO)
	OP	Alta	Baja	Alta	Baja					
mARN DPP										
AMPK	-75		0,270		0,320	0,073	0,722	0,013	0,529	0,523
	-15		0,251		0,186					
	100		0,142	0,248	0,171	0,279				
	180		0,176	0,501	0,246	0,616				
PPAR α	-75		0,479		0,529	0,012	0,859	0,486	0,754	0,115
	-15		0,299		0,321					
	100		0,420	0,892	0,348	0,712				
	180		0,451	0,373	0,390	0,623				

Cuadro 8: Abundancia relativa de ARNm de *Proteína quinasa activada por AMP (AMPK)* y *Receptor alfa activado por proliferador peroxisomal (PPAR α)* en vacas con diferente combinación de oferta de forraje durante el ciclo productivo. DPP: días posparto; OO: oferta de forraje de otoño; OP: oferta de forraje de primavera-verano; OP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la oferta de forraje de otoño; OP*DPP(OO): oferta de forraje de primavera-verano anidada a la de forraje de otoño en interacción con los días; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con $P < 0,05$.

La expresión de ARNm *PPAR α* fue afectada ($P = 0,01$) por los DPP, disminuyó desde los -75 a los -15 DPP en ambos tratamientos; mientras que durante el posparto aumentó en los tratamientos de baja oferta de forraje (las vacas de A-BOF triplicaron y las de B-BOF duplicaron su expresión). A los 100 DPP los tratamientos con baja oferta de forraje en el posparto (A-BOF y B-BOF) se expresaron 1,8 veces más ($P < 0,03$) que los de alta oferta de forraje (A-AOF y B-AOF) y a los 180 DPP disminuyó su expresión ($P < 0,01$; 2,4 veces). Cuadro 8.

5.7 VARIABLES REPRODUCTIVAS

El reinicio a la actividad ovárica fue afectado por la oferta de forraje ($P = 0,04$), donde las vacas asignadas a B-AOF demoraron menos días en reiniciar la actividad ovárica, respecto

a las vacas con baja oferta de forraje durante el posparto como se puede apreciar en el cuadro 9.

Oferta forraje de otoño	Oferta de forraje de primavera-verano	Estimación de los días
Alta	Alta	126 ab
Alta	Baja	131 b
Baja	Alta	118 a
Baja	Baja	132 b

Cuadro 9: Días de reinicio de la actividad ovárica en vacas con diferente oferta de forraje durante todo el ciclo anual; diferentes literales (a, b y c) indican diferencias significativas con un $P < 0,05$.

6 DISCUSION

Las adaptaciones hormonales, metabólicas y hepáticas al balance energético negativo se han reportado ampliamente en vacas lecheras, tanto en sistemas estabulados como en sistemas mixtos. Sin embargo, hay poca información en vacas de carne primíparas en sistemas pastoriles, que estudien esas adaptaciones integrando cambios en la nutrición pre y posparto.

Los resultados indicaron que vacas primíparas en sistemas pastoriles con diferente oferta de forraje durante el preparto, adaptaron su metabolismo para suplir las mayores demandas de glucosa del útero grávido y el feto durante el último tercio de la gestación cuando la masa de forraje disminuyó (asociado al escaso crecimiento como consecuencia de las bajas temperaturas invernales) llegando al parto con igual CC y sin diferencias en el peso de los terneros.

Si bien todos los animales aumentaron la movilización de reservas energéticas y proteicas durante el preparto, fue más acentuado en las vacas con baja oferta de forraje, las cuales

durante el parto aumentaron la expresión de genes gluconeogénicos y reguladores de vías catabólicas (oxidativas), indicando la fuerte necesidad de producir glucosa asociado a los bajos niveles de reservas y la continua movilización de estas. Asimismo, sus terneros tuvieron un menor peso al destete. Particularmente, las vacas de B-AOF son las que tuvieron un peor estado metabólico durante el posparto temprano, mientras que, en el posparto tardío, dicha inferioridad además se observó en vacas de A-AOF reflejado a través de sus perfiles, sin embargo, ambos tratamientos tuvieron una mayor tasa de crecimiento de sus terneros.

6.1 PERÍODO DE GESTACIÓN

Durante el otoño, ambos tratamientos tuvieron buena disponibilidad de forraje comparado con otras épocas del periodo experimental (1423 vs 1148 Kg MS para alta y baja oferta de forraje, respectivamente), impactando positivamente en la evolución de la CC como consecuencia de que el balance entre requerimientos y consumo resultó positivo. La mayor disponibilidad de forraje para las vacas de alta oferta explicó la mayor CC que tuvieron durante el invierno en comparación con las vacas de baja oferta, consistente con Claramunt et al. (2017). La pérdida de la CC durante el invierno fue consistente con la disminución en la ingesta de forraje debido a la reducción de la masa de forraje (Chapman et al., 2007; Freetly et al., 2008) y con el último tercio de gestación donde las vacas que no alcanzan a suplir sus necesidades energéticas, movilizan grandes cantidades de reservas corporales para satisfacer las demandas del feto (Bell, 1995).

En ambos tratamientos los cambios metabólicos durante el invierno reflejaron la movilización de reservas corporales —medido a través de incrementos en las concentraciones de NEFA, BHB, urea y 3MH— y la movilización de las reservas de glucosa —disminución en las concentraciones de IGF-I, glucógeno hepático y aumento en la relación glucosa/glucógeno—, desdoblado el glucógeno hepático con el fin de cubrir las necesidades energéticas gestacionales (Laporta et al., 2013; Zhou et al., 2019). Sin embargo, las vacas asignadas a baja oferta de forraje tuvieron mayores concentraciones de NEFA, urea y 3MH comparado con las vacas asignadas a alta oferta, lo cual podría indicar que vacas asignadas a baja oferta tuvieron un menor consumo de alimento. Asimismo, el

catabolismo muscular que provee aminoácidos para la gluconeogénesis hepática está más activo en dichos animales (Hess et al., 2005; Astessiano et al., 2014), consistente con la movilización proteica gestacional generada por deficiencia de aminoácidos, los cuales no solo se usan para el crecimiento fetal, sino que también se catabolizan en los tejidos uterinos en este período (Bell, 1995). Asimismo, la movilización proteica se maximiza alrededor del parto, con el fin de proporcionar una mayor disponibilidad de precursores glucogénicos en el periodo de balance energético negativo (Van Der Drift et al., 2012).

La mayor expresión hepática de ARNm *PC* en ambos tratamientos durante el parto es consistente con lo reportada en vacas cruza pastoreando baja oferta de forraje (Laporta et al., 2013) y con la correlación negativa entre la expresión de *PC* y el consumo de materia seca, glucógeno y glucosa (Weber et al., 2013). El aumento en la expresión de este transcripto es una respuesta adaptativa a la restricción del consumo de alimento, coincidiendo con aumentos en las concentraciones de NEFA y con la movilización y oxidación de ácidos grasos en el hígado (White et al., 2011, Weber et al., 2013). Probablemente la deficiencia de oxalacetato limite el ciclo de Krebs durante el BEN, incentivando la expresión de dicho transcripto, el cual regula e inhibe a expresión de *SDH* (Rich, 2003) y proporciona parte del sustrato para la generación de energía, particularmente la oxidación de NEFA en el ciclo de Krebs (McCarthy et al., 2010). Sin embargo, la disminución de ARNm *PCK* y ARNm *SDH* en las vacas de alta oferta de forraje indicarían que no hay indicios de que existiera un aumento de la velocidad en la vía gluconeogénica para ninguno de los tratamientos (Velez et al., 2005). Asimismo, la disminución en la expresión de ARNm *SDH* podría ser una consecuencia de una disminución de la entrada de propiónico a esta vía, ya que la masa de forraje para estos animales fue fuertemente disminuida y por consiguiente podría disminuir el consumo de materia seca. Solo se identificó una disminución de la expresión de ARNm *MMUT* para vacas de baja oferta de forraje, los cuales también tuvieron una disminución en la masa de forraje disponible, aunque en menor medida de nuevo no se muestra en ningún lado. Al momento del parto, la CC no difirió entre tratamientos, probablemente como resultado de que en los últimos dos meses de gestación la diferencia en la masa de forraje entre tratamientos era escasa. Todos estos cambios resultan en el BEN característico de la gestación invernal en vacas de

carne en sistemas pastoriles reportado previamente (Laporta et al., 2014).

6.2 PERÍODO POSPARTO

Dado que el pasto es el principal o único alimento para animales en sistemas pastoriles, las escasas precipitaciones en los meses de noviembre, diciembre y enero generaron una disminución de la masa forrajera, afectando probablemente el consumo de materia seca. Al momento del parto no existieron diferencias significativas en el PV de los terneros, ya que dicho peso depende de la alimentación de la madre en el último tercio de gestación donde la oferta de forraje fue igual para todos los tratamientos (3 kgMS/kgPV) y las diferencias en la masa de forraje disponible se redujeron (Espasandín, 2010; Claramunt et al., 2017). Sin embargo, al destete, los terneros hijos de vacas con alta oferta de forraje posparto fueron más pesados, revelando una mayor tasa de crecimiento, probablemente dado por una mayor producción de leche de las madres y por una mayor ingesta de forraje por parte del ternero (Gutiérrez et al., 2012; Astessiano et al., 2014). Asimismo, se ha reportado una correlación positiva entre la proteína y la grasa de la leche con la ganancia de peso del ternero en los dos primeros meses de lactancia, sugiriendo que en nuestro estudio podría haber un mayor volumen de producción, y/o tratarse de leche con más proteína o grasa de las vacas A-AOF y B-AOF (Gutiérrez et al., 2012).

La pérdida de CC durante la lactación temprana fue de menor magnitud que durante el período gestacional (Astessiano et al., 2014; Claramunt et al., 2017), sin embargo, las vacas del tratamiento B-AOF fueron las únicas que no perdieron CC luego del parto. Estudios de Freetly et al. (2000) han demostrado que vacas que pierden CC a partir del segundo trimestre gestacional y comienzan a partir del primer mes de lactancia a consumir una dieta que les permite ganar CC hasta la época de entore, incrementan su peso con mayor rapidez respecto a aquellos animales que terminaron la gestación con una dieta de mantenimiento, lo cual indica una mayor eficiencia de estas vacas que sufren una restricción alimenticia previo a la parición y luego son alimentadas con dietas que les permitan tener un balance energético positivo.

A partir de los 60 DPP todos los animales recuperaron CC, explicado por incrementos en

la cantidad y calidad del forraje en primavera y a la disminución en los requerimientos energéticos (gestación vs. lactación postparto de producción) (Waterman et al., 2006; Laporta et al., 2014; NRC, 2000). Esto, junto con la disminución de las concentraciones de BHB, NEFA y urea a los 100 DPP explica el restablecimiento del balance energético positivo, observado en todos los tratamientos. Asimismo, se asocia a un uso más eficiente de los compuestos nitrogenados a nivel ruminal, debido a una mayor disponibilidad de energía en el forraje durante la primavera (Keim et al., 2013). Durante la primavera-verano la CC fue mayor para las vacas en alta oferta de forraje (A-AOF y B-AOF; 11.5% superior en promedio respecto a los restantes tratamientos), a pesar de tener un mayor gasto energético debido a una mayor producción de leche (observado a través de la mayor tasa de crecimiento de sus terneros; Astessiano et al., 2012). Las diferencias en la CC de los distintos grupos pueden explicarse por diferencias en el consumo (vacas en alta oferta de forraje consumen mayor cantidad de alimento), y/o por diferentes costos de actividad (Casal et al., 2014), ya que se ha reportado que vacas en baja oferta de forraje requieren mayor tiempo de pastoreo y mayor tasa de bocado que vacas en alta oferta de forraje (Scarlato et al., 2011). Sin embargo, las vacas con alta oferta durante el posparto tuvieron mayores concentraciones de NEFA y urea respecto a las vacas de baja oferta, indicando que si bien poseen una mayor CC, también poseen una mayor movilización de grasa y proteína con el fin de cubrir la demanda energética para la producción de leche.

La disminución de la 3 MH durante el posparto en todas las vacas con baja oferta de forraje, coincide con resultados obtenidos por Kokkonen et al. (2005), en los cuales se reporta una correlación positiva entre la concentración de NEFA y 3MH, indicando que la movilización proteica y la movilización lipídica suceden en simultáneo.

Con la recuperación del consumo durante el posparto, es esperable que mejore la disponibilidad de aminoácidos provenientes de la dieta, lo que podría influir en la reducción de la movilización proteica en la lactancia temprana (Prod'homme et al., 2004). En nuestro estudio las vacas en alta oferta de forraje tienen una mayor movilización de reservas corporales (tanto en términos de grasa como proteína) lo cual podría explicarse por su mayor producción de leche, la cual no fue medida directamente, pero está asociada al mayor peso vivo de sus terneros al destete y es consecuencia de las diferencias en la ingesta

de alimento y el balance energético (Veerkamp et al., 2003). Los niveles de glucosa en sangre disminuyen para todos los tratamientos, coincidiendo con Ingvarsen y Boisclair (2001) quienes, independientemente de la alimentación observaron disminuciones en las concentraciones de glucosa como consecuencia de una elevada demanda por la glándula mamaria para la lactogénesis. Las vacas asignadas a alta oferta de forraje durante el posparto tuvieron mayores niveles de glucosa y mayor relación glucosa/glucógeno a nivel hepático, indicando que dichos animales, los cuales poseen mayor producción de leche, tienen altos niveles de energía de una forma rápidamente disponible. Los tratamientos A-BOF y A-AOF incrementaron las concentraciones de glucógeno hepático en los primeros 100 DPP, sugiriendo que el aumento de las reservas hepáticas de glucosa dependería de la historia nutricional.

Las mayores concentraciones de leptina en las vacas con alta oferta de forraje durante el posparto sugieren un mejor estado nutricional de estos animales ya que se ha demostrado que existe una correlación positiva entre las concentraciones de leptina y las reservas corporales (Geary et al., 2003). Esto indicaría el restablecimiento del balance energético (Block et al., 2001), e influye sobre el sistema endócrino reproductivo ya que es un factor de señalización que regula la liberación de GnRH y por consiguiente el anestro posparto (D'Occhio et al., 2019), como ocurrió en las vacas de B-AOF.

La disminución en las concentraciones de IGF-I en vacas con baja oferta posparto es consistente con Quintans et al. (2010), asociado con una menor ingesta de materia seca, así como un estado metabólico menos activo que en las vacas de alta oferta (Laporta et al., 2013). En el mismo sentido, el aumento en la expresión de *PPAR α* , el cual regula la expresión de genes implicados en el metabolismo de los ácidos grasos (aumento de la capacidad oxidativa) adoptando un rol central en las adaptaciones moleculares necesarias para hacer frente a restricciones de alimentación (Loor, 2010), sin embargo para el caso de B-BOF particularmente se observaron menores concentraciones de NEFA y urea, registrando aumentos de la expresión ARNm *PC* a los 100 DPP, acompañado por incrementos en la expresión de ARNm *PCK*, sugiriendo una menor movilización de reservas corporales, así como proteica y una activación de la vía gluconeogénica. Esto

concuera con reportes elaborados por Van Dorland et al. (2009), en los cuales encuentran aumentos en la expresión de ARNm de *PC* y *PCK* en vacas que reducen su ingesta de alimento o han experimentado una escasez de energía poco después del parto. Según Greenfield et al. (2000) dichos cambios reflejan una adaptación a la mayor necesidad de glucosa, y sugieren un aumento del metabolismo potencial del lactato, el piruvato y los aminoácidos que contribuyen a la reserva de piruvato del hígado. Mientras que a los 180 DPP en las vacas alimentadas con baja oferta de forraje durante el posparto, mostraron una mayor expresión de *AMPK*, sugiriendo una activación de las vías catabólicas (Li et al., 2019), lo cual es consistente con el poco forraje disponible para estos animales y, por ende, el menor consumo de materia seca.

La mayor expresión hepática de ARNm *PCK* para todos los tratamientos a excepción de B-AOF, sugiere un aumento en la vía gluconeogénica, aumentando el uso de oxalacetato en la gluconeogénesis con el fin de suministrar glucosa para la producción de leche (Bauman, 2000) o reponer las reservas de dicha molécula (en forma de glucógeno), tras haber reestablecido el balance energético positivo. Posiblemente las vacas del tratamiento B-AOF tengan regulado el ritmo de la vía gluconeogénica a otro nivel, ya que se observó una disminución de la expresión ARNm *CS* en estas vacas, lo cual es otro indicador de que pudo haber una disminución de la entrada de piruvato al CK, sugiriendo que dicha enzima puede estar derivándose a la formación de glucosa en mayor medida para cubrir las necesidades de la lactancia (Laporta et al., 2014). La expresión de ARNm *SDH* aumentó para A-AOF, indicando un aumento en el flujo de piruvato hacia el acetyl CoA e incrementando el ritmo de la vía oxidativa.

Desde los 100 a los 180 DPP hubo una disminución de las concentraciones de BHB en todos los tratamientos como consecuencia de una menor movilización de reservas corporales, reflejado en la recuperación de la CC y consistente con la menor demanda energética ya habiendo transcurrido el pico de producción de leche. Asimismo, existió un incremento en las concentraciones de urea, coincidiendo con las disminuciones de las concentraciones de insulina y glucosa hepática para todos los tratamientos, las cuales reflejarían el menor consumo a consecuencia de la menor disponibilidad de masa forrajera (626 vs. 444 kgMS/ha en promedio para alta y baja OF de forraje respectivamente) causada

por la escasez de lluvias.

Particularmente el tratamiento B-AOF tendió a tener mayores concentraciones de insulina e IGF-I a los 100 DPP, lo que muestra una respuesta metabólica diferencial en las vacas de dicho tratamiento, incrementando las concentraciones hormonales en respuesta a la mejor alimentación. Asimismo, fueron las vacas que demoraron menos días en reiniciar la actividad ovárica, a pesar de no tener diferencias de CC al parto, indicando la importancia de la nutrición posparto y sugiriendo —en este caso— un menor impacto de la oferta de forraje durante el otoño-invierno. Dichos resultados son consistentes con investigaciones de Houghton et al. (1990) en las cuales vacas alimentadas con una dieta de baja en energía durante el preparto seguida de una dieta alta en energía en posparto, mostraron mayor porcentaje de celo a los 60 días, mientras que no hubo un efecto de la interacción de la nutrición pre y posparto sobre la tasa de preñez, siendo afectada únicamente por el consumo en el posparto, dado que vacas con una dieta elevada en energía durante posparto mostraron un mayor porcentaje de preñez respecto a aquellos animales que consumieron una dieta con bajos niveles energéticos durante el posparto. Richards et al. (1986) también indicaron que el aumento de la ingesta de energía tras el parto y el aumento de peso son esenciales para que las vacas delgadas tengan una tasa de preñez aceptable. Freetly et al. (2000) indicaron que vacas que sufren restricción alimenticia a partir del segundo trimestre gestacional y luego comienzan a ganar peso a partir del primer mes de lactación, no se diferenciaron de las vacas que nunca sufrieron restricción nutricional en cuanto a las tasas de preñez al final de la época de entore y sugieren, al igual que estudios realizados por Dunn y Kaltenbach (1980), Selk et al. (1988) y Osoro y Wright (1992) que las tasas de preñez dependen de la severidad de la restricción en el momento del parto, el nivel de realimentación, el momento de la realimentación en relación con el inicio de la época de entore y de la temporada de cría. En otras palabras, sugieren que el rendimiento reproductivo puede mantenerse en vacas que atraviesan weight-cycle, pudiendo ser una estrategia de manejo potencial para mejorar la utilización del forraje en pastoreo.

Se ha reportado, que el consumo de materia seca durante el posparto, se correlaciona positivamente con la concentración de la IGF-I en la sangre, aumentando linealmente hasta el día de la primera ovulación y acortando la duración del anestro (Roberts et al., 2005).

Dichos procesos no se observaron en vacas pertenecientes al tratamiento A-AOF posiblemente como producto de una capacidad diferencial de vacas pertenecientes al tratamiento B-AOF para utilizar los nutrientes de la dieta a través de los cambios en el metabolismo hepático durante el ciclo productivo anual (gestación/lactancia), convirtiendo a estas vacas, mediante distintas combinaciones nutricionales en animales más eficientes, respecto a los restantes tratamientos.

7 CONCLUSIONES

Las vacas en baja oferta de forraje durante todo el año tuvieron una menor performance productiva y reproductiva, reflejado en la menor CC, menor peso de los terneros a los 180 DPP y período más largo de reinicio de la ciclicidad ovárica. Asimismo, las menores concentraciones de glucosa e IGF-I en sangre, el aumento en la expresión génica de enzimas relacionadas a la gluconeogénesis y de los reguladores de vías catabólicas (oxidativas) durante el posparto, demuestran el impacto negativo de la subnutrición en las distintas etapas fisiológicas.

Las vacas del tratamiento A-BOF, si bien tuvieron una mejor nutrición preparto, respondieron de la misma manera (a nivel metabólico, endócrino y reproductivo) que los animales alimentados con baja oferta de forraje durante todo el año, sin obtener ventajas de su memoria nutricional/metabólica.

Las vacas con alta oferta de forraje durante todo el año tuvieron una mejor performance productiva y reproductiva, logrando mantener mayor CC y tener terneros más pesados al destete. Sin embargo, no se encontraron diferencias en los días de reinicio de la ciclicidad ovárica respecto a las vacas con baja oferta de forraje en el posparto a pesar de tener mayores concentraciones de glucosa e IGF-I al final del período (indicando recuperación del BEN). La expresión génica hepática indicó un menor ritmo en las vías oxidativas y un incremento en el ingreso de propiónico al CK, consistente con la mayor oferta de forraje.

Las vacas del tratamiento B-AOF, lograron tener similar performance que las vacas con alta oferta de forraje durante todo el año. Las mayores concentraciones de glucosa e IGF-I a los 100 DPP indicaron una recuperación del BEN antes que, para el resto de los

tratamientos, reflejándose en el reinicio de la ciclicidad más temprano. A nivel de expresión génica, durante el posparto se destaca la disminución de la expresión de ARNm *AMPK*, la cual desempeña un papel central a nivel de todo el organismo traduciendo señales endócrinas en respuestas adaptadas, destinadas a ahorrar energía o a asignarla a diversas funciones.

8 BIBLIOGRAFÍA

- Adam, L., Crane, J., James, S., Lally, J., Rebecca, F., Sally, K., Rebalka, I., Green, A., Kemp, B., Hawke, T., Schertzer, J., Steinberg, G. 2015. AMPK Activation of Muscle Autophagy Prevents Fasting-Induced Hypoglycemia and Myopathy during Aging. *Cell Metabolism*. 21. 883–890 p. Consultado el 18 noviembre del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.016>
- Akamatsu, H., Saitoh, Y., Serizawa, M., Miyake, K., Ohba, Y., Nakashima, K. 2007. Changes of serum 3-methylhistidine concentration and energy-associated metabolites in dairy cows with ketosis. *Journal of Veterinary Medical Science*. 69. 1091-1093 p.
- Altamirano, A., Da Silva, H., Durán, A., Echevarría, A., Panario, D., Puentes, R. 1976. Carta de reconocimiento de suelos del Uruguay: Tomo III. Montevideo: Ministerio de Agricultura y Pesca.
- Amstalden, M., García, M.R., Williams, S.W., Stanko, R.L., Nizielski, S.E., Morrison, C.D., Keisler, H., Williams, G.L. 2000. Leptin gene expression, circulating leptin, and luteinizing hormone pulsatility are acutely responsive to short-term fasting in prepubertal heifers: relationships to circulation insulin and insulin-like growth factor I. *Biology of Reproduction* 63.127-133 p.
- Angeli, E., Trionfini, V., Gareis, N.C., Matiller, V., Huber, E., Rey, F., Salvetti, N.R., Ortega, H.H., Hein, G.J. 2019. Protein and gene expression of relevant enzymes and nuclear receptor of hepatic lipid metabolism in grazing dairy cattle during the transition period. *Research in Veterinary Science*. 123. 223–231 p. Consultado el 15 de julio del 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.01.020>

Astessiano, A.L., Quintans, G., Soca, P., Trujillo, A.I., Marichal, M.J., Carriquiry, M, Pérez-Clariget, R. 2008. Efecto del flushing usando una cobertura de Lotus subbiflorus cv. Rincón sobre la respuesta reproductiva en vacas de carne de primera cría. Memorias de la XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.

_____, Pérez-Clariget, R., Quintans, G., Soca, P., Carriquiry, M. 2012. Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, hepatic gene expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *Journal Animal Physiology and Animal Nutrition*. 96. 535–544 p.

_____; Pérez-Clariget, R., Espasandín, A.C., López-mazz, C., Soca, P., Carriquiry, M. 2013. Metabolic, productive and reproductive responses to postpartum short-term supplementation in primiparous beef cows. *Revista Brasileira de Zootecnia* 42. 246–253 p.

_____; Pérez-Clariget R, Quintans G, Soca P, Meikle A, Crooker BA, Carriquiry M. 2014. Metabolic and endocrine profiles and hepatic gene expression in periparturient, grazing primiparous beef cows with different body reserves. *Livestock Science*. 170. 63- 71 p.

Bartha, T., Sayed-Ahmed, A., Rudas P. 2005. Expression of leptin and its receptors in various tissues of ruminants. *Domestic Animal Endocrinology*. 29. 193-202 p.

Bauman, D.E. 2000. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In *Ruman physiology: digestion, metabolism and growth and growth and reproduction*. CAB Publishing, New York, NY, USA. PJ Cronje. 311–327 p.

Bell, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal Animal Science*. 73. 2804-2819 p.

Beretta, E.J., Risso D.F., Montossi, F., Pigurina, G. 2000. "Campos in Uruguay." En: 'International symposium on grassland ecophysiology and grazing ecology.' Wallingford

- Oxon: CABI Publishing. 377-394 p.
- Bionaz, M.; Osorio, J., Looor, J. 2015. Nutrients, transcription factors, and techniques; Nutrigenomics in dairy cows. Triennial lactation symposium. Journal Animal Science 93. 5531–5553 p.
- Bjerre-harpot, V., Friggens, N.C., Thorup, V.M., Larsen, T., Damgaard, B.M., Ingvarsten, K.L., Moyes, K.M. 2012. Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological balance at different stages of lactation. Journal Dairy Science. 95. 2362-2380 p.
- Blache, D., Chagas, L.M., Martin G.B. 2006. Nutritional inputs into the reproductive neuroendocrine control system-a multidimensional perspective. Society of Reproduction and Fertility Supplement 64. 123- 139 p.
- Block, S.S., Butler, W.R., Ehrhardt, R.A., Bell, A.W., Van Amburgh, M.E, Boisclair, Y.R. (2001). Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. Journal Endocrinology. 339–348 p.
- Bransby D.I. 1989. Compromises in the design and conduct of grazing experiments. En: Mertens GC (Ed.) Grazing Research: design, methodology, and analysis. Madison, WI: CSSA (Crop Science Society of America and American Society of Agronomy). Special publication N.º 16. 53-67 p.
- Butler, S.T., Marr, A.L., Pelton, S.H., Radcliff, R.P., Lucy, M.C., Butler, W.R. 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle; effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. Journal Endocrinology. 176. 205-217 p.
- Carretta, M. D., Barría, Y., Borquez, K., Urra, B., Rivera, A., Alarcón, P., Hidalgo, M. A., Burgos, R. A. 2020. β -hydroxybutyrate and hydroxycarboxylic acid receptor 2 agonists

activate the AKT, ERK and AMPK pathways, which are involved in bovine neutrophil chemotaxis. *Science reports*, 10. 12491 p. Consultado el 19 septiembre del 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69500-2>

Carriquiry, M., Weber, W.J., Fahrenkrug, S.C., Crooker, B.A. 2009. Hepatic gene expression in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fattyacids in early lactation. *Journal Dairy Science*. 92. 4889-4900 p.

_____, Espasandín, A.C., Astessiano, A.L., Casal, A., Claramunt, M., Do Carmo, M., Gutiérrez, V., Laporta, J., Meikle, A., Scarlato, S., Perez-Clariget, R., Trujillo, A., Viñoles, V., Soca, P. 2013. Oferta de forraje del campo natural y resultado productivo de los sistemas de cría vacuna del Uruguay: II. Respuesta metabólica y potencial productiva del ternero. In: Seminario de Actualización Técnica 208: Cría Vacuna, INIA. 119-134 p.

Casal, A., Veyga, M., Astessiano, A.L., Espasandín, A.C., Trujillo, A. I., Soca, P., Carriquiry, M. 2014. Visceral organ mass, cellularity indexes and expression of genes encoding for mitochondrial respiratory chain proteins in pure and crossbred mature beef cows grazing different forage allowances of native pastures. *Livestock Science*. 167. 195–205 p.

Chapman, D.F., Parsons, A.J., Cosgrove, G.P. 2007. Impacts of spatial patterns in pasture on animal grazing behavior. Intake. and performance. *Crop. Science* 47. 399-415 p.

Chilliard, Y., Delavaud, C., Bonnet, M. 2005. Leptin expression in ruminants: nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domestic Animal Endocrinology* 29. 3-22 p. Consultado el 1 agosto del 2020. Disponible en: doi: 10.1016/j.domaniend.2005.02.026.

Claramunt, M., Fernandez-foren, A., Soca, P. 2017. Effect of herbage allowance on productive and reproductive responses of primiparous beef cows grazing on Campos grassland. *Animal Production Science* 58. 1615-1624 p.

- Delavaud, C., Ferlay, A., Falconnier, Y., Bocquier, F., Kann, G., Chilliard, Y. 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: Effect of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *Journal Animal Science* 80. 1317–1328 p.
- Deng, Q., Liu, G., Liu, L., Zhang, Y., Yin, L., Shi, X., Wang, J., Yuan, X., Sun, G., Li, Y., Yang, W., Guo, L., Zhang, R., Wang, Z., Li, X. 2015. BHBA influences bovine hepatic lipid metabolism via AMPK signaling pathway. *Journal Cell. Biochemical* 116. 1070- 1079 p. Consultado el 7 julio del 2021. Disponible en: doi: 10.1002/jcb.25062. PMID: 25558823.
- Diskin, M.G., Mackey, D.R., Roche, J.F., Sreenan, J.M. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science* 78. 345–370 p. Consultado el 3 de marzo del 2020. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(03\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00099-X).
- _____.; Kenny, D. 2014. Optimising reproductive performance of beef cows and replacement heifers. *Animal: an international Journal Animal bioscience* 8. 1-13 p.
- Do carmo, M. 2013. Efecto del destete temporario y suplementación energética de corta duración sobre el comportamiento reproductivo y productivo de vacas de cría primíparas. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Facultad de Agronomía, Uruguay. 62 p.
- _____., Cardozo, G., Jaurena, M., Soca, P. 2019. Demonstrating control of forage allowance for beef cattle grazing Campos grassland in Uruguay to improve system productivity. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*. 7. 35–47 p.
- D'occhio, M.J., Pietro, S., Baruselli, G. C. 2019. Influence of nutrition, body condition, and metabolic status on reproduction in female beef cattle: A review, *Theriogenology*. 125. 277-284 p.
- Drackley, J.K., Overton, T.R., Douglas, G. N. 2001. Adaptations of Glucose and Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows During the Periparturient Period *Journal*

- Dairy Science. 84. 100-112 p.
- Dunn, T.G., Kaltenbach, C.C. 1980. Nutrition and the postpartum interval of the ewe, sow and cow, *Journal Animal Science* 51. 29-39 p.
- Espasandín, A., Packer, I., Mello, M. 2001. Produção de leite e comportamento de amamentação em cinco sistemas de produção de gado de corte. (en línea). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 30. 702-708 p. Consultado el 2 junio del 2020. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v30n3/5237.pdf>
- Fenwick, M.A., Llewellyn, S., Fitzpatrick, R., Kenny, D.A., Murphy, J.J., Patton, J., Wathes, D.C. 2008. Negative energy balance in dairy cows is associated with specific changes in IGF-binding protein expression in the oviduct *Reproduction*.135-163 p.
- Freetly, H.C., Ferrell, C.L., Jenkins, T. G. 2000. Timing of realimentation of mature cows that were feed-restricted during pregnancy influences calf birth weights and growth rates. *Journal Animal Science* 78. 2790 p.
- _____, Nienaber, J.A., Brown-Brandl, T. 2008. Partitioning of energy in pregnant beef cows during nutritionally induced body weight fluctuation. *Journal Animal Science* 86. 370–377 p.
- García, M., Bequette B.J., Moyes K.M. 2013. Hepatic metabolic response of Holstein cows in early and mid-lactation is altered by nutrient supply and lipopolysaccharide in vitro. *Journal Dairy Science*. 98. 7102-7114 p. Consultado el 8 de marzo del 2020. Disponible en: doi: 10.3168/jds.2014-9034.
- García-Roche, M., Cañibe, G., Casal, A., Mattiauda, D., Ceriani, M., Jasinsky, A., Cassina, A., Quijano, C., Carriquiry, M. 2021. Glucose and Fatty Acid Metabolism of Dairy Cows in a Total Mixed Ration or Pasture-Based System During Lactation. *Front. Animal Science*.

Consultado el 6 de noviembre del 2020. Disponible en:
<https://doi.org/10.3389/fanim.2021.622500>

Geary, T.W., Mcfadin, E.L., Macneil, M.D., Grings, E.E., Short, R.E., Funston, R.N., Keisler D.H. 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. *Journal Animal Science*. 81. 1-8 p.

Greenfield, R.B., Cecava, M.J., Donkin, S.S. 2000. Changes in mRNA Expression for Gluconeogenic Enzymes in Liver of Dairy Cattle during the Transition to Lactation. *Journal Dairy Science*. 83. 1228-1236 p.

Guido, A., Varela, R.D., Baldassini, P., Paruelo, J. 2014. Spatial and Temporal Variability in Aboveground Net Primary Production of Uruguayan Grasslands. *Rangeland Ecology and Management*. 67. 30-38 p.

Gutiérrez, V., Espasandín, A.C., Astessiano, A.L., Casal, A., López-Mazz, C., Carriquiry, M. 2012. Calf fetal and early life nutrition on grazing conditions: metabolic and endocrine profiles and body composition during the growing phase. *Journal Animal Physiology and Animal Nutritional*. 97. 720–731 p. Consultado el 4 de noviembre del 2020. Disponible en: doi:10.1111/j.1439-0396.2012.01314.

Han, L., Shen, W.J., Bittner, S., Kraemer, F.B., Azhar, S. 2017. PPARs: regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part I: PPAR- α . *Future Cardiology*. 13. 259-278 p. Consultado el 1 de noviembre del 2021. Disponible en: doi: 10.2217/fca-2016-0059.

Haydock, K. P., Shaw, N. H. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 15. 663- 670 p.

Hersom, J., Wettemann, R.P., Krehbiel, C.R., Horn, G.W., Keisler, D.H. 2004. Effect of live

- weight gain of steers during winter grazing: III. Blood metabolites and hormones during feedlot finishing. *Journal Animal Science*. 82. 2059-2068 p.
- Hess, B.W., Lake, S.L., Gunter, S.A. 2005. Using glycerin as a supplement for foragefed ruminant. *Journal Animal Science*. 86. 392-400 p.
- 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 Animal Science*. 68. 1438-1446. Consultado el 4 de agosto del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.2527/1990.6851438x>
- Houweling, M., Van Der Drift, A., Jorritsma, R., Tielens, M. 2012. Technical note: Quantification of plasma 1- and 3-methylhistidine in dairy cows by high-performance liquid chromatography– tandem mass spectrometry. *Journal Dairy Science*. 95. 3125–3130 p. Consultado el 3 de abril del 2020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4769>
- Ingvarsen, K.L., Boisclair, Y.R. 2001. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domestic Animal Endocrinology*. 2. 215-250 p. Consultado el 18 de abril del 2020. Disponible en: doi: 10.1016/s0739-7240(02)00119-4. PMID: 11872319.
- Keim, J., Valderrama, X., Alomar, D., López, I. 2013. In situ rumen degradation kinetics as affected by type of pasture and date of harvest. *Science Agrícola*. 70. 405-414 p.
- Kennedy, K. M., Allen, M. S. 2019. Hepatic metabolism of propionate relative to meals for cows in the postpartum period. *Journal Dairy Science*. 102. 7997–8010 p. Consultado el 18 noviembre del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15907>

- Kokkonen, J., Taponen, T., Anttila, L., Syrjälä-qvist, C., Delavaud, Y., Chilliard, M., Tuori, A.T. 2005. Effect of body fatness and glucogenetic supplement on lipid and protein metabolization and plasma leptin in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 88. 1127-1141 p.
- Laguna, J. G., Cardoso, M. S., Lima, J. A., Reis, R. B., Carvalho, A.U., Saturnino, H. M., Teixeira, S. 2017. Expression of hepatic genes related to energy metabolism during the transition period of Holstein and F1 Holstein-Gir cows. *Journal Dairy Science*. 100. 9861–9870 p. Consultado el 18 noviembre del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12459>
- Laporta, J., Guilherme, J., Rosa, M., Naya, H., Carriquiry, M. 2013, Liver functional genomics in beef cows on grazing systems: novel genes and pathways revealed. *Physiology Genomics*. 46. 138–147 p.
- _____, Astessiano, A.L., López-Mazz, C., Soca, P., Espasandín, A.C., Carriquiry, M. 2014. Effects of herbage allowance of native grasslands in purebred and crossbred beef cows: metabolic, endocrine and hepatic gene expression profiles through the gestation-lactation cycle *Animal*. 8.1119-1129 p.
- Larsen, M., Kristensen, N.B. 2013. Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *Animal*. 7. 1640-1650 p.
- Lemaster, C. T., Taylor, R. K., Ricks, R. E., & Long, N. M. 2017. The effects of late gestation maternal nutrient restriction with or without protein supplementation on endocrine regulation of newborn and postnatal beef calves. *Theriogenology*. 87. 64–71 p. Consultado el 8 de abril del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.08.004>
- Li, X., Chen, H., Guan, Y., Li, X., Lei, L., Liu, J., Yin, L., Liu, G., Wang, Z. 2013. Acetic acid activates the AMP-activated protein kinase signaling pathway to regulate lipid metabolism in bovine hepatocytes. *PloS one*. 8. 672- 680 p. Consultado el 4 de marzo del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067880>.

_____, Li, Y., Ding, H., Dong, J., Zhang, R., Huang, D., Lei, L., Wang, Z., Liu, G., Li, X. 2018. Insulin suppresses the AMPK signaling pathway to regulate lipid metabolism in primary cultured hepatocytes of dairy cows. *Journal Dairy research*. 85. 157–162 p. Consultado el 15 de noviembre del 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S002202991800016X>

Li Y, Ding H, Dong J, Ur Rahman S, Feng S, Wang X, Wu J, Wang Z, Liu G, Li X, Li X. 2019. Glucagon attenuates lipid accumulation in cow hepatocytes through AMPK signaling pathway activation. *Journal Cell Physiology* 234. 6054-6066 p.

Loor, J.J. 2010. Genomics of metabolic adaptations in the peripartal cow. *Animal*. 4. 1110 – 1139 p.

Loudon, A. 1987. Nutritional effects on puberty and lactational infertility in mammals: some interspecies considerations. *Proceedings of the Nutrition Society*. 46. 203-216 p.

McCarthy, S.D., Waters, S.M., Kenny, D.A., Diskin, M.G., Fitzpatrick, R., Patton, J., Wathes, D.C., Morris, D.G. 2010. Negative energy balance and hepatic gene expression patterns in high-yielding dairy cows during the early postpartum period: a global approach. *Physiology Genomics*. 42. 188 –199 p.

Meikle, A., Adrien, M., Mattiauda D.A., Chilbroste, P. 2013. Effect of sward condition on metabolic endocrinology during the early postpartum period in primiparous grazing dairy cows and its association with productive and reproductive performance. *Animal Feed Science and Technology*. 186. 139– 147 p.

MGAP. DIEA 2019. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo: Dirección de Estadísticas Agropecuarias (UY). Consultado el 15 de noviembre del 2021. Disponible en: www.mgap.gub.uy/diea.

- Mott, G.O., Lucas, H.L. 1952. The design, conduct and interpretation of grazing trials in cultivated and improved pastures. In: International grassland congress, 6. 1952, Pasadena. Proceedings. Pasadena: Pennsylvania State College Press. 1380-1385 p.
- Mulliniks, J.T., Kemp, M.E., Endecott, R.L., Cox, S.H., Roberts, A.J., Waterman, R.C. 2013. Does β -hydroxybutyrate concentration influence conception date in young postpartum range beef cows. *Journal Animal Science*. 91. 2902–2909 p. Consultado el 15 de noviembre del 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-6029>.
- National Research Council (NRC). 2000. Nutrient requirements of beef cattle, 7th edition. National Academy Press, Washington, DC, USA. 234 p.
- Nuttall, F.Q., Ngo, A., Gannon, M.C. 2008. Regulation of hepatic glucose production and the role of gluconeogenesis in humans: is the rate of gluconeogenesis constant. *Diabetes Metabolism Reserch Rev*. 24. 438-458 p.
- O'brien, R.M., Granner, D.K. 1990. Pepck gene as model of inhibitory effects of insulin on gene transcription. *Diabetes Care*, 13. 327-339 p.
- 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 Animal Science*. 70. 1961-1966 p.
- Quintans, G., Rogi, G., Velazco, J. I. 2010. Efecto de un destete temporario con presencia del ternero y mantenimiento de la producción de leche (con ordeño diario) sobre variables reproductivas y productivas. En: Jornada de Divulgación de Producción Animal Pasturas (2009, Treinta y Tres). Trabajos presentados. Montevideo, INIA. 37-52 p.
- _____, Scarsi, A., Roig, G., Carriquiry, M., Banchemo, G. 2015. Influence of a short-term prepartum supplementation on beef cows and calves performance in pastoral conditions. *Animal Production Science*. 40. 733–748 p.

- Rich, P.R. 2003. The molecular machinery of Keilin's respiratory chain. *Biochemical Society Trans.* 31. 1095-105 p.
- 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 Animal Science.* 62. 300-306 p.
- Roberts, A.J., Klindt, J., Jenkins, T.G. 2005. Effects of varying energy intake and sire breed on duration of postpartum anestrus, insulin like growth factor-1, and growth hormone in mature crossbred cows. *Journal Animal Science.* 83. 1705-1714 p.
- Roche, J.R., Meier, S., Heiser, A., Mitchell, M.D., Walker, C.G., Crookenden, M.A. 2015. Effects of precalving body condition score and prepartum feeding level on production, reproduction, and health parameters in pasture-based transition dairy cows. *Journal Dairy Science.* 1–19 p.
- Scarlato, S. 2011. Conducta de vacas de cría en pastoreo de campo nativo: efecto de la oferta de forraje sobre la expresión del patrón temporal y espacial de pastoreo. Tesis MSc. Montevideo: Universidad de la República. 64 p.
- Seifi, H.A., Gorji-dooz, M., Mohri, M., Dalir-Naghadeh, B., Farzaneh, N. 2007. Variations of energy-related biochemical metabolites during transition period in dairy cows. *Comparative Clinical Pathology.* 16. 253–258 p.
- Selim, S., Roisin-fichter, C., Andry, J.B., Bogdanow, B., Sambou, R. 2014. Real-time PCR to study the effect of timing and persistence of fungicide application and wheat varietal resistance on *My cosphaerella graminicola* and its sterol 14 α -demethylation-inhibitor-resistant genotypes. *Pest Management Science.* 7060–69 p.
- Selk, G.E., Wettemann, R.P., Lusby, K.S., Oltjen, J.W., Mobley, S.L., Rasby, R.J., Garmendia,

- J.C. 1988. Relationships among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *Journal Animal Science*. 66. 3153-3159 p.
- Short, R.E., Bellows, R.A., Staigmiller, R.B., Berardinelli, J.G., Custer, E.E. 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal Animal Science*. 68. 799-816 p.
- Sinclair, K.D., Yildiz, S., Quintans, G., Gebbie, F.E., Broadbent, P.J. 1998. Annual energy intake and the metabolic and reproductive performance of beef cows differing in body size and milk potential. *Animal Science*. 66. 657–666 p. Consultado el 8 de mayo del 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1017/S135772980000922X>.
- Soca, P., Orcasberro, R. 1992. Propuesta de manejo del rodeo de cría en base a estado corporal, altura del pasto y aplicación de destete temporario. En: Jornada de producción animal. Evaluación física y económica de alternativas tecnológicas en predios ganaderos, Estación Experimental Mario A. Cassinoni Facultad de Agronomía. Universidad de la República Oriental del Uruguay. 54-56 p.
- _____, Espasandín, A., Carriquiry, M. 2013. Efecto de la oferta de forraje y grupo genético de las vacas sobre la productividad y sostenibilidad de la cría vacuna en campo natural. En: Soca, P.; Espasandín, A.; Carriquiry, M. eds. Efecto de la oferta de forraje y grupo genético de las vacas sobre la productividad y sostenibilidad de la cría vacuna en campo natural. INIA. 48. 9-12 p.
- _____, Carriquiry, M., Claramunt, M., Gestido, V., Meikle, A. 2014. Metabolic and endocrine profiles of primiparous beef cows grazing native grassland. Relationships between body condition score at calving and metabolic profiles during the transition period. *Animal Production Science*. 4. 78-80 p.
- Takubo, K., Nagamatsu, G., Kobayashi, C. I., Nakamura-Ishizu, A., Kobayashi, H., Ikeda, E., Goda, N., Rahimi, Y., Johnson, R. S., Soga, T., Hirao, A., Suematsu, M., Suda, T. 2013.

- Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells. *Cell stem cell*. 12. 49–61 p. Consultado el 9 de mayo del 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.10.011>
- Van Der Drift, S.M., Houweling, J. T., Schonewille, A. G., Tielens, M., Jorritsma, R. 2012. Protein and fat mobilization and associations with serum b- hidroxybutyrate concentrates in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 95. 4911–4920 p. Consultado el 25 de noviembre del 2020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-4771>
- Van Dorland, H.A., Richter, S., Morel, I., Doherr, M.G., Castro, N., Bruckmaier, R.M. 2009. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *Journal Dairy Science*. 92. 1924- 1940 p.
- Veerkamp, R.F., Beerda, B., Van Der Lende, T. 2003. Effects of genetic selection for milk yield on energy balance, levels of hormones, and metabolites in lactating cattle, and possible links to reduced fertility. *Livest. Prod. Sci*. 83. 257–275 p.
- Velez, J.C., Donkin, S.S. 2005. Feed restriction Induces pyruvate carboxylase but not phosphoenolpyruvate carboxykinase in dairy cows. *J. Dairy. Sci*. 88. 2938 –2948 p.
- Vernon, D. 2005. Can neurofeedback training enhance performance? An evaluation of the evidence with implications for future research. *Applied Psychophysiology and Biofeedback*. 30. 347-364 p. Consultado el 28 de noviembre del 2020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10484-005-8421-4>
- Vizcarra, J. A., Ibañez, W., Orcasberro, R. 1986. Repetibilidad y reproducibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas* 7. 45-47 p.
- Walsh, R.B., Walton, J.S., Kelton, D.F., Leblanc, S.J., Leslie, K.E., Duffield, T.F. 2007. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum

- dairy cows. *Journal Dairy Science*. 90. 2788–2796 p.
- Waterman, R.C., Sawyer, J.E., Mathis, C.P., Hawkins, D.E., Donart, G.B., Petersen, M.K. 2006. Effects of supplements that contain increasing amounts of metabolizable protein with or without Ca-propionate salt on postpartum interval and nutrient partitioning in young beef cows. *Journal Animal Science*. 84. 433–446 p.
- Weber, C., Hametner, C.H., Tuchscherer, A., Losand, B., Kanitz, E., Otten, W., Singh, S.P., Bruckmaier, R.M.B., Becker, F., Kanitz, W., Hammon, H.M. 2013. Variation in fat mobilization during early lactation differently affects feed intake, body condition, and lipid and glucose metabolism in high-yielding dairy cows *Journal Dairy Science*. 96. 165-180 p.
- Wettermann, R., Lents, C., Ciccioli, N., White, F., Rubio, I. 2009. Nutritional and suckling-mediated anovulation in beef cows. *Journal Animal Science*. 81. 23-30 p.
- White, H.M., Koser, S.L., Donkin, S.S. 2011. Characterization of bovine pyruvate carboxylase promoter 1 responsiveness to serum from control and feed restricted cows. *Journal Animal Science*. 89. 1763–1768 p.
- Zhou, Y., Zhou, B., Pache, L., Chang, M., Khodabakhshi, A. H., Tanaseichuk, O. 2019. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets. *Nature Communications*. 10. 1523 p.