

Efecto de la suplementación nutricional sobre el balance energético en vacas lecheras en trópico bajo¹

Rómulo Campos Gaona², Juan David Morales³, Natalia Espinosa⁴

Resumen

Introducción. La producción lechera intensiva o semi intensiva demanda alta oferta de alimentos para cumplir con los requerimientos nutricionales de la misma, éstos no logran ser proporcionados a la vaca recién parida en pastoreo, por la depresión del consumo, los cambios metabólicos y endocrinos ocurridos durante el periodo de transición. El menor consumo de alimento y el aumento en las exigencias para producción de leche, llevan al animal a un Balance Energético Negativo (BEN), el cual debe ser superado rápidamente para garantizar una mejor tasa reproductiva y una mayor producción de leche. **Objetivo.** Estudiar opciones de suplementación nutricional durante el periodo de transición, para reducir el Balance Energético Negativo. **Materiales y métodos.** Se emplearon 28 vacas adultas, en un sistema semi intensivo de producción de leche, ubicado en trópico bajo. Se formularon cuatro tratamientos: TT1, grupo control; TT2, grasa sobrepasante; TT3, nitrógeno no proteico encapsulado, y TT4,

monensina sódica. Se analizaron hormonas y metabolitos relacionados con energía, proteína y minerales. Mediante ultrasonografía, se determinó la dinámica folicular y la presencia de cuerpo lúteo, igualmente se evaluaron indicadores reproductivos y producción de leche. El periodo de muestreo hasta los 105 días posparto permitió el análisis de la primera fase de lactancia e incluir el periodo fisiológico en el cual se espera que la vaca lechera reanude su actividad reproductiva. **Resultado.** Se presentaron variaciones en los periodos correspondientes al periodo de transición para los principales indicadores del metabolismo energético. La reactivación ovárica mostró que no fue rápida, sin embargo, hubo efecto sobre los días abiertos y la eficiencia reproductiva. **Conclusión.** Las concentraciones de hormonas y metabolitos analizados no presentaron variaciones significativas. Se evidenció efecto de al menos un tratamiento frente al control; igualmente, se presentaron variaciones en algunos periodos analizados. El comportamiento reproductivo fue deficiente.

1 Artículo original derivado del proyecto de investigación “Efecto de la manipulación ruminal sobre el balance energético” realizado en 2016 y Financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia realizado entre 2016 y 2017.

2 *Médico Veterinario, DSc. Profesor Titular, Departamento de Ciencia Animal, Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Correo: rcamposg@unal.edu.co ORCID 0000-0002-8626-4888

3 Médico Veterinario Zootecnista, Coautor, Estudiante maestría Ciencias Agrarias, Línea Producción Animal Tropical. Correo: jdmoralesm@unal.edu.co. ORCID 0000-0002-2072-2081

4 Zootecnista, Coautora, Grupo de Investigación Hartón del Valle. Correo nespinosav@unal.edu.co ORCID 0000-0003-1607-0065

Autor para correspondencia: Rómulo Campos Gaona rcamposg@unal.edu.co

Recibido: 22/06/2018 Aceptado: 21/07/2020

Palabras clave: nutrición, ganado lechero, rumen, reproducción animal

Effect of nutritional supplementation over negative balance in dairy cows under tropical conditions

Abstract

Introduction. The intensive dairy production demand high food offers to fill the nutritional requirements of the lactation, these cannot be provided to the peripartum cow, by the depression of the consumption and metabolic and endocrine changes occurring during of the transition period. The lower consumption of dry matter and the energy demands for high milk production, take the animal to the Negative Energy Balance (NEBAL), which must be overcome quickly to ensure a better reproductive rate and a higher milk production. **Objective.** To explore different nutritional options during the transition period, in order to reduce negative energy balance. **Materials and methods.** 28 cows were used, in a semi-intensive dairy cows system, located in the tropics. Four treatments were used: TT1, control group; TT2, high energy density; TT3, non-protein nitrogen encapsulated, and TT4, monensin sodium. We analyzed hormones and metabolites related to energy, protein and minerals. By ultrasonography, it was determined the follicular dynamics and the presence of corpus luteum; likewise, we evaluated the reproductive indicators values and milk production. The sampling period up to 105 days postpartum allowed for the analysis of the first phase of lactation and covers the period in which it is expected that the dairy cow is in gestation. **Results.** Some variations were observed in the periods corresponding to the transition period for the main indicators

of energy metabolism. Ovarian reactivation showed that it was not rapid, however, there was an effect on open days and reproductive efficiency. **Conclusion.** The concentrations of hormones and metabolites analyzed did not show significant variations. The effect of at least one treatment against the control was evident; likewise, there were variations in some analyzed periods. Reproductive behavior was poor.

Keywords: nutrition, dairy cows, rumen, animal reproduction

Efeito da suplementação nutricional no balanço energético em vacas leiteiras nos baixos trópicos

Resumo

Introdução. A produção leiteira intensiva requer alta oferta de alimentos com os quais preencher os requerimentos nutricionais da vaca em lactação e sob pastejo, mesmo estes não consigam ser entregues na vaca recém-parida, pela depressão do consumo e as mudanças metabólicas e as endócrinas acontecidas durante o período de transição. O menor consumo de alimento e as grandes exigências para a produção do leite geram no animal o Balance Energético Negativo (BEN), o qual tem que ser superado com rapidez para garantir um melhor desempenho reprodutivo e uma maior produção leiteira. **Objetivo.** Estudar diferentes opções nutricionais durante o período de transição para reduzir o balanço energético negativo. **Materiais e métodos.** Foram empregadas 28 vacas num sistema não intensivo de produção de leite no tropico baixo. Foram analisados quatro tratamentos: TT1, grupo controle; TT2, energia de alta densidade; TT3, nitrogênio não proteico protegido, e TT4, monensina sódica. Analisaram-se hormônios e

metabolitos relacionados con energía, proteína e minerales. Foi avaliada a dinâmica produtiva e através de ultrassom foi determinada a atividade folicular e a presença de corpo lúteo. O período de amostragem até os 105 dias pós-parto, permitiu as análises na primeira fase da lactação e o período fisiológico no qual esperasse que a vaca fique prenha. **Resultados.** Foram apresentadas variações nos períodos correspondentes ao período de transição para os principais indicadores do metabolismo energético. A reativação ovariana mostrou que

ela não era rápida, empero melhorou os dias em aberto, afetando a eficiência reprodutiva. **Conclusão.** As concentrações de hormônios e metabolitos analisados não apresentaram diferenças significativas. Foi achado efeito de quanto menos um tratamento frente ao controle; igualmente, apresentaram-se variações em alguns dos períodos analisados. O comportamento reprodutivo foi deficiente.

Palavras-chave: nutrição, gado de leite, rúmen, reprodução animal

Introducción

El objetivo de un sistema de lechería bovina, debe estar encaminado a que las vacas produzcan un alto volumen de leche por lactancia y queden gestantes en el menor tiempo posible después del parto, o que su dinámica reproductiva permita alcanzar un producto nacido vivo por año (Berry *et al.*, 2014, pág. 3902). Los sistemas de bovinos lecheros en condiciones tropicales, basan su competitividad en el pastoreo y la adaptación fisiológica a las condiciones de estos sistemas (Noro *et al.*, 2012, pág.160).

El periodo de transición comprende las tres semanas finales de la gestación y las tres primeras semanas posparto, está marcado por intensos cambios endocrinos y metabólicos, asociados a la disminución en la ingestión de alimentos y el balance energético de los tejidos, el cual es función del consumo y gasto de energía para mantenimiento corporal y para la síntesis de leche (Seifi, Gorji-Dooz, Mohri, Dalir-Naghadeh y Farzaneh, 2007, pág. 255; Pushpakumara, Gardner, Reynolds, Beever y Wathes, 2003, pág. 1167); un incremento en las necesidades de nutrientes en este periodo, asociado con la disminución del apetito puede generar en las vacas Balance Energético Negativo (BEN), el cual es a menudo observado

entre la última semana de la gestación y los primeros dos meses posparto (Bisinotto *et al.*, 2012, pág. 262).

Para minimizar los efectos del BEN se han desarrollado estrategias alimenticias en las vacas en pastoreo durante el periodo del posparto temprano. Lo más usual es la suplementación con fuentes ricas en carbohidratos, pero éstos en altos volúmenes afectan la fermentación ruminal (Humer *et al.*, 2018, pág. 881); igualmente, se han empleado diversas fuentes de lípidos como aceites de pescado, semillas de oleaginosas (algodón, girasol o soya), así como grasas de sobrepaso como las grasas hidrogenadas o jabones de calcio de ácidos grasos (Duque, Olivera, Rosero y Gallo, 2013, pág. 3813). El incremento en la densidad energética de la dieta, favorece la producción láctea, previene desórdenes metabólicos, restaura la pérdida de condición corporal y mejora el desempeño reproductivo de la vaca (Salas, Herrera, Gutiérrez, Ku-Vera y Ake-Lopez, 2011, 386). El suministro de energía para las vacas lecheras sin efectos negativos sobre la fermentación ruminal es una opción que parcialmente se logra con grasas de sobrepaso (Lohrenz *et al.*, 2010, pág. 5870), esta adición se ha propuesto como una forma posible de disminuir la concentración de ácidos grasos libres y ayudar a prevenir la incidencia de cetosis (Garro, Mian y Cobos

Roldan, 2014, pág. 5); se considera que una mayor densidad energética puede también estimular el crecimiento de las papilas ruminales y así mejorar la absorción de los ácidos grasos volátiles, incrementando la insulina sanguínea y disminuyendo la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo (Pushpakumara *et al.*, 2003, pág. 1176).

Otra opción alternativa de manejo alimentar es el uso de moduladores ruminales, entre los que se destacan los ionóforos como la monensina (Sá Fortes *et al.*, 2008, pág. 183), o el uso de fuentes de nitrógeno no proteico a través de urea protegida (Goulart *et al.*, 2013, pág. 4). Los ionóforos tipo monensina, modifican el ambiente ruminal y la proporción de acetato-propionato, incrementan la concentración de lactato usado para síntesis de propionato por la vía del acrilato, disminuyen la deaminación y degradación de proteínas en el rumen, inhiben la síntesis de formiato en bacterias gram positivas, reducen la generación de metano, disminuyen la producción de ácido láctico en condiciones de acidosis, deprimen el crecimiento de las bacterias gram negativas productoras de succinato, inhiben el recambio del contenido ruminal, provocan una ligera inhibición de los protozoarios (Pinos y González, 2000, pág. 381) y logran mantener un pH interno adecuado sin gasto de energía adicional, lo que lleva a una reducción del crecimiento y la reproducción de algunas bacterias (Pereira de Sousa, 2016, pág. 14).

El Nitrógeno no proteico (NNP), ha sido considerado como una posibilidad para incrementar la síntesis de microbiota ruminal, en ausencia de fuentes de proteína cruda (Noro *et al.*, 2012, pág. 161). Una alternativa de manejo para la utilización de la urea en la alimentación de rumiantes es modificar la tasa de liberación de nitrógeno, haciéndola más lenta, de tal manera que se sincronice con la fermentación de los carbohidratos (Marichal,

Trujillo, Guerra, Carriquiry y Piaggio, 2009, pág. 56-58). La urea protegida permite controlar la degradación del nitrógeno, esta liberación lenta puede llegar hasta 24 a 36 horas después de la ingestión, proporcionando una mejor sincronía con la liberación de la energía de la dieta, haciendo más eficiente la conversión de nitrógeno en proteína microbiana y reduciendo el riesgo de intoxicación por la acumulación del amoniaco en el rumen (Zeitz *et al.*, 2018, pág. 8012).

Los indicadores productivos y reproductivos de los hatos en Colombia no son buenos. Se estima que el promedio nacional de producción de leche por vaca día es de 4,5 litros; para el departamento del Valle del Cauca la situación es algo diferente, con un promedio de 13,1 litros en ganadería semi intensiva y una capacidad de carga de 3,5 animales por hectárea, reflejan una mejor situación regional que la ganadería colombiana, donde el promedio nacional del intervalo entre partos se estima en 695 días y la tasa de natalidad en 51% (Finca SAS, 2018). En el país, al igual que ha sucedido en los escenarios internacionales la interacción nutrición-fertilidad, puede ser un área de trabajo que propicie cambios importantes en los sistemas productivos (Perdomo, Peña, Carvajal, Murillo, 2017, pág. 3; Roche, 2006, pág. 292).

El Balance Energético Negativo durante las primeras tres a cuatro semanas posparto, está altamente correlacionado con la producción de leche y el intervalo a la primera ovulación. Es conocido que las vacas con elevada condición corporal al parto pueden tener disminución del apetito y desarrollar un BEN más severo, que las vacas con condición corporal baja o moderada y consecuentemente presentarán incremento en la movilización de grasa y a una mayor acumulación de triglicéridos en el hígado, lo que se ha asociado a un largo intervalo entre el parto a la primera ovulación y a una reducción de la fertilidad (Roche, 2006, pág. 283). El BEN,

por tanto, puede prolongar el anestro posparto en las vacas lecheras (Benedet, Manuelian, Zidi, Penasa y De Marchi, 2019, pág. 1680). Aunque es claro que la disponibilidad de reservas de energía controla la función reproductiva al regular la secreción de GnRH, los mecanismos por los cuales el hipotálamo monitorea el estado energético del animal y la regulación de la función ovárica, aún no han sido bien establecidos (Mellouk *et al.*, 2019, pág. 2).

Con el fin de analizar alternativas de manejo que aumenten la eficiencia productiva y reproductiva, mediante la reducción del balance energético negativo, en vacas lecheras en pastoreo en trópico, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar cuatro suplementos nutricionales, dos de estos empleados como optimizadores de la fermentación ruminal, a través de indicadores metabólicos y de eficiencia productiva.

Materiales y Métodos

El procedimiento experimental fue avalado y autorizado por el comité de ética en investigación, de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

Ubicación geográfica

El proyecto se desarrolló en el departamento del Valle del Cauca, en una explotación comercial ubicada en 3°78' N, 76°46' O. La temperatura promedio, osciló entre 18 y 24°C, la zona agroecológica se clasifica como bosque seco tropical (BST) (Holdridge, 1987, pág. 9).

Selección de animales

Se seleccionaron 28 vacas: $\frac{3}{4}$ Holstein, $\frac{1}{4}$ cebú. Peso medio de 550 kilos, con más de tres partos, preñadas, con históricos de producción

mayor a 15 litros/día. Cada animal tenía una identificación única e irrepetible dentro del hato.

Suplementación experimental

Después de realizada la selección de los animales, se agruparon aleatoriamente en cuatro grupos, cada uno con siete individuos. El grupo uno (TT1): fue el grupo control, al cual no se le proporcionó ningún tipo de suplementación, recibió alimento concentrado y sal mineralizada, de acuerdo al manejo tradicionalmente en la explotación. El grupo dos (TT2): fue suplementado con un componente energético de alta densidad, conocido comercialmente como grasa sobrepasante; la dosis total por día fue de 300 gramos por animal y fue calculada de tal manera que no superó el 6% de la materia seca de la ración (Duque *et al.*, 2013, pág. 3814). El grupo tres (TT3), recibió suplementación con nitrógeno no proteico encapsulado de liberación lenta; se suministraron 200 gramos/vaca/día y la dosis fue calculada como el 1% de la materia seca de la ración (Calomeni, 2011, pág. 81). El grupo cuatro (TT4), recibió suplementación con monensina sódica. La dosis total fue de 300 mg de monensina/vaca/día (Heidinger, Moravek y Olarte, 2001, pág. 4). Todos los suplementos en los tratamientos fueron suministrados al momento del ordeño, dos veces por día, en forma oral. Los animales tuvieron acceso *ad libitum* a agua fresca y pastoreaban al menos 20 horas en praderas de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), cuya composición se presenta en la Tabla 1; dos veces al día se trasladaban al área de ordeño, donde permanecían en media, dos horas, allí recibían la suplementación base correspondiente a su producción lechera (Tabla 1).

Tabla 1. Composición del forraje y el suplemento base para el conjunto de los animales experimentales.

Suplemento concentrado base en la explotación	
Porcentaje de Nutriente	%
Proteína	18
Grasas	3
Carbohidratos	38
Fibra	16
Cenizas	10
Humedad	15
Pasto estrella (<i>Cynodon nlemfuensis</i>)	
Materia seca	18.87
Cenizas	9.53
Proteína	18.06
Extracto etéreo	2.32
Carbohidratos	5.22
FDN (fibra detergente neutra)	64.87
FDA (fibra detergente ácida)	33.63
LDA (lignina detergente ácida)	4.18
Hemicelulosa	31.24
Celulosa	29.45
NDT (nutrientes digeribles totales)	55.6

Fuente: elaborado por los autores

Obtención de datos

En cada animal, fueron recolectadas en total 10 muestras de sangre, distribuidas en el periodo experimental: dos durante el parto (30 y 15 días antes del parto) y ocho durante el posparto (la primera el día del parto, y en los días 15, 30, 45, 60, 75, 90 y 105). Los registros de producción se colectaron durante cada muestreo y fueron realizados exámenes ginecológicos mediante ultrasonografía, para

estudiar la actividad ovárica. Antes de la punción sanguínea, se evaluó la condición corporal (CC) en la escala 1-5, ésta siempre fue realizada por dos personas y la información se unificó como media aritmética de las evaluaciones.

A lo largo del periodo experimental, las muestras de sangre fueron colectadas en tubos vacutainer sin anticoagulante, siempre después del ordeño de la mañana, por punción de la vena coccígea media y se transportaron refrigeradas hasta el laboratorio, donde fueron centrifugadas a 5000 RPM durante 15 minutos para la extracción de suero que se depositó en viales, debidamente identificados y fueron almacenados a -20 °C para su análisis posterior.

Las muestras de leche se obtuvieron directamente del dispositivo de colecta fraccionada del equipo de ordeño y se transportaron en frascos estériles de 200 ml. Las determinaciones para sólidos totales (lactosa, grasa y proteína en leche), se realizaron utilizando el equipo analizador Boeco® modelo LAC-SA-90.

La dinámica ovárica se evaluó mediante el diámetro de crecimiento folicular, a partir de las mediciones sugeridas en 1992 por Lucy y colaboradores (Lucy *et al.*, 1992, pág. 3619), donde folículos tipo I, miden entre 3 a 5 mm; folículos tipo II, miden de 6 a 9 mm; folículos tipo III, miden entre 10 y 15 mm y folículos tipo IV, tienen un diámetro mayor a 15 mm.

Se realizó el análisis de ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas) a las hormonas Cortisol y Triyodotironina (T3). Los metabolitos NEFA, Beta-hidroxibutirato, proteína total, urea, colesterol, calcio, fósforo y magnesio fueron analizados por medio de pruebas enzimáticas colorimétricas con reactivos comerciales y equipo de lectura óptica automatizada o ambos de la casa RAYTO® (Shenzhen, China). La fase de

laboratorio se realizó mediante análisis único por metabolito (total de muestras) para disminuir el error interensayo. Dentro de cada prueba se analizó una muestra de control bovino 2 (Randox®), el cual se introdujo cada 15 muestras en el experimento y se usó como control de calidad intra ensayo.

Modelo estadístico

Los datos obtenidos fueron almacenados en una base de datos de Excel para ser procesados en el paquete estadístico SAS y fueron analizados bajo un diseño mixto de medidas repetidas en el tiempo (utilizando el procedimiento MIXED de SAS con la instrucción REPEATED) (SAS Institute, 2000), tomando como covariable la producción de leche estimada por lactancia. Para determinar la mejor estructura de covarianza se utilizaron el menor criterio de información Akaike (AIC) y el criterio de información bayesiano (BIC). Los tratamientos, los periodos y su interacción constituyeron los efectos fijos y el animal representó el efecto aleatorio. Adicionalmente se realizó un análisis descriptivo y desviación estándar. Para las variables asociadas a la reactivación ovárica, se realizó un análisis a través de tablas de

contingencia en donde se aplicó una prueba de Chi-Cuadrado para evaluar si existe relación entre dos variables. Se definió unificar en cada tratamiento los diez periodos evaluados, dado que la dinámica del ciclo estral, fisiológicamente presenta una periodicidad diferente (21 días), a la de los periodos experimentales (15 días).

Resultados

A. Indicadores del metabolismo energético, proteico, mineral, endocrino y Condición Corporal

En la Tabla 2, se presenta el análisis estadístico para los metabolitos estudiados, efecto del tratamiento asociado al tipo de suplementación, periodo (dos muestreos en el parto y ocho en posparto) y para la interacción entre los efectos principales, con una significancia de $p < 0,05$.

Tabla 2. Significancia estadística asociada a metabolitos, hormonas y condición corporal, para tratamientos, periodos y la interacción tratamiento-periodo en el proceso experimental.

Variable	Tratamiento	Periodo	Tratamiento *Periodo
BHB	0,0004	<0,0001	<0,0001
NEFA	0,0081	<0,0001	0,2586
Colesterol	0,0148	<0,0001	<0,0001
Triyodotironina (T3)	0,0144	<0,0001	<0,0001
Cortisol	0,001	<0,0001	<0,0001
Proteína total	0,0004	<0,0001	<0,0001
Urea	0,0095	0,0306	0,0166
Calcio	0,0017	<0,0001	<0,0001
Fósforo inorgánico	0,0052	0,0005	0,0257
Magnesio	<0,0001	<0,0001	0,0051
Condición corporal	0,0043	<0,0001	0,8836

Nota: Cuando $p < 0,05$ se considera que existe efecto estadístico.

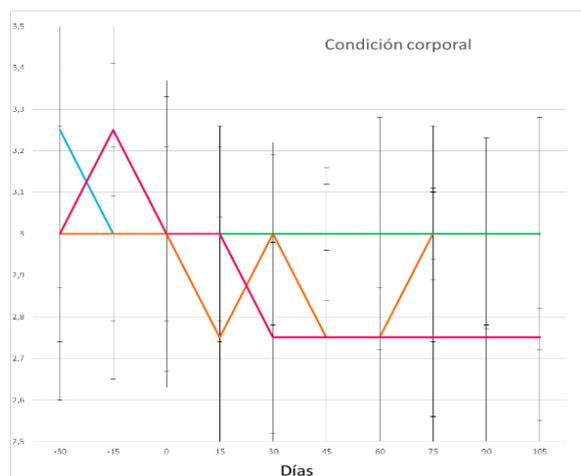
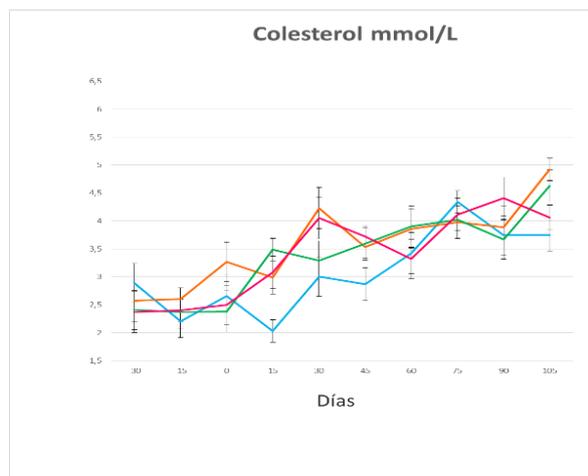
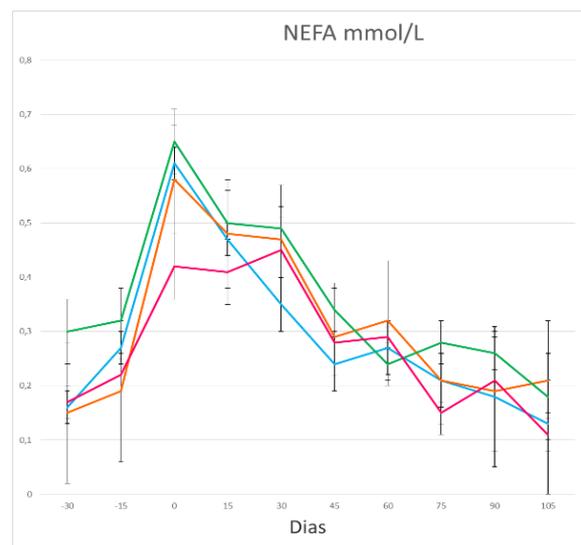
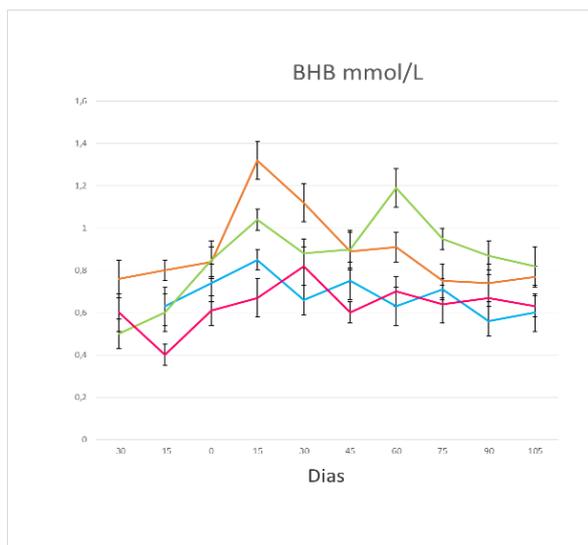
Fuente: Elaborado por los autores

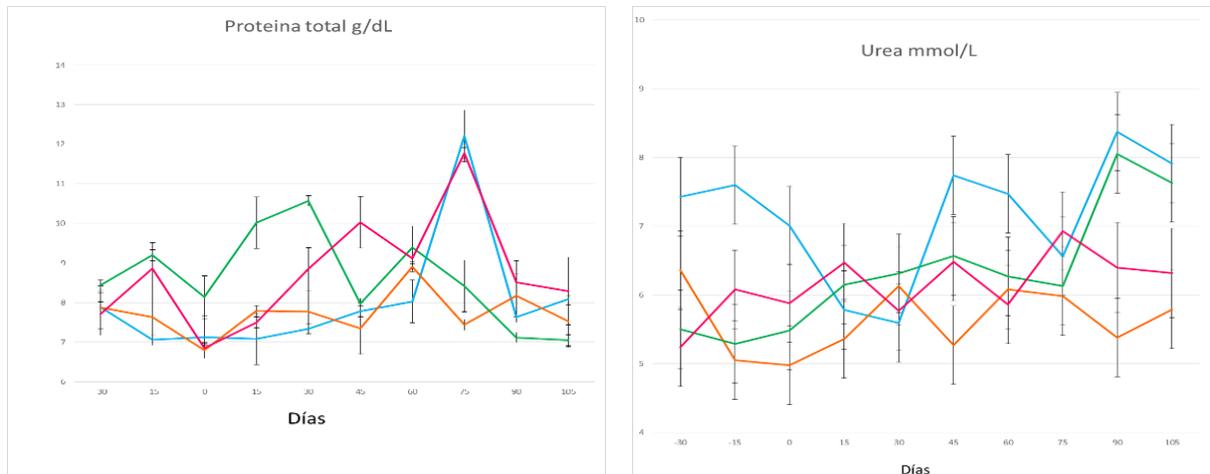
En la Figura 1, se presentan las variaciones en los metabolitos relacionados con los indicadores de energía, proteína y para condición corporal de los tratamientos experimentales durante el periodo analizado. La condición corporal (CC) presentó un comportamiento típico, en todos mostró una caída en el periodo posparto. En los grupos de tratamiento con suplementación experimental ésta se presentó en el posparto, el grupo control, la exhibió antes del parto.

Para las hormonas analizadas (Triyodotironina –T3- y cortisol), al igual que para los minerales: calcio, fósforo y magnesio, importantes para el estudio de los ajustes homeostáticos que ellos realizan para favorecer la eficiencia reproductiva (Wilde,

2006, pág. 241), la concentración durante el periodo experimental se muestra en la Figura 2. Los valores son indicativos de la respuesta fisiológica de tipo endocrino a la suplementación, al estrés y a la regulación del metabolismo basal.

Las determinaciones permiten analizar el comportamiento diferencial entre las suplementaciones ofrecidas, la interacción entre éstas y el periodo en el cual fueron obtenidas y el comportamiento contrastante entre los tratamientos y el grupo control. Todos los valores se presentan con su respectivo error estándar, así es posible ver el comportamiento dentro de los grupos suplementados.

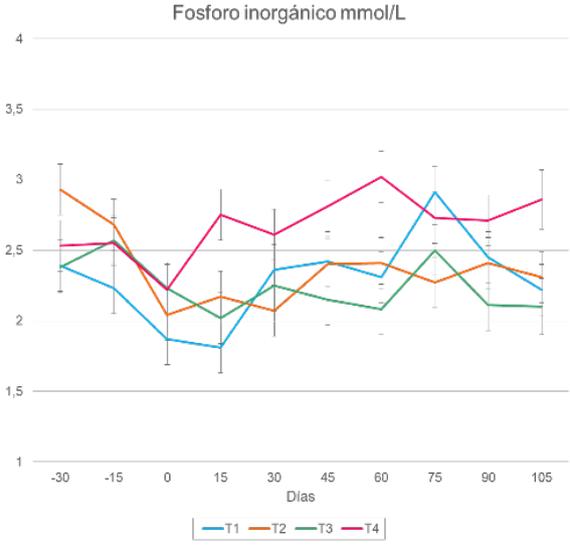
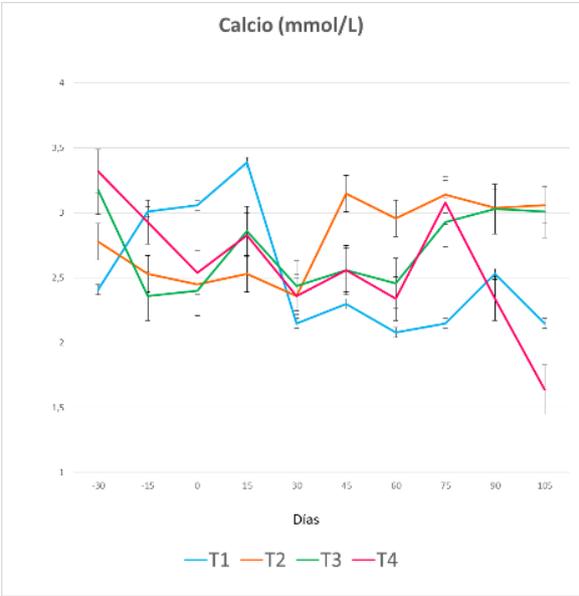




Fuente: Elaborado por los autores

Figura 1. Comportamiento de los indicadores del metabolismo energético y proteico, y de la condición corporal en el periodo de transición

y primera fase de la lactancia en vacas lecheras en pastoreo en trópico bajo.





Fuente: Elaborado por los autores

Figura 2. Comportamiento por periodo y tratamiento del calcio, fósforo, magnesio, T3 y cortisol, analizados durante el periodo de transición y primera fase de la lactancia en vacas lecheras en pastoreo en trópico bajo.

B. Dinámica Ovárica

En la Tabla 3, se muestran los resultados por detección ecográfica de las estructuras ováricas

indicativas de reactivación ovárica para cada grupo experimental.

Tabla 3. Frecuencia relativa de las estructuras ováricas determinadas por ecografía para cuatro tratamientos experimentales de suplementación nutricional en el periodo de transición y primera fase de la lactancia en vacas en pastoreo en trópico bajo.

°Estructuras Ováricas	Frecuencia Relativa				Chi-Cuadrado de Pearson p<0.05
	T1	T2	T3	T4	
Folículo Tipo I	0,89	0,95	0,94	0,86	0,1805
Folículo Tipo II	0,94	0,97	0,93	0,94	0,5590
Folículo Tipo III	0,99	0,99	0,99	1,00	0,7979
Folículo Tipo IV	0,81	0,99	0,87	0,79	0,0011
Cuerpo Lúteo Derecho	1,00	0,99	1,00	1,00	0,3844
Cuerpo Lúteo Izquierdo	0,94	1,00	0,99	0,99	0,0356

Fuente: elaborado por los autores

C. Indicadores reproductivos y de producción de leche

La Tabla 4, muestra el promedio de días abiertos (DA), porcentaje de preñez, servicios por concepción (SC), y la producción de leche estimada al final de la lactancia, estos indicadores muestran el efecto de los tratamientos sobre variables productivas y reproductivas. Se destaca el efecto de la suplementación sobre la producción de leche, indicando que la síntesis láctea requiere un alto aporte de nutrientes, no siempre proporcionados por el pastoreo.

Tabla 4. Indicadores reproductivos y de producción de leche para vacas en pastoreo en trópico bajo, para los diferentes tratamientos de suplementación.

GRUPO (TTO)	DA	% DE PREÑEZ	SC	PRODUCCION DE LECHE ESTIMADA
TT1	175,57	47	3,14	5.240 ^a
TT2	159,52	50	3,37	5380 ^{ab}
TT3	178,13	35	2,37	5740 ^c
TT4	118,29	57	1,28	5940 ^c

DA=Días abiertos; SC=Servicios por Concepción (Letras diferentes en columna, significan P<0,05)

Fuente: elaborado por los autores

Discusión

Los indicadores del metabolismo energético analizados para evaluar los cuatro tratamientos de suplementación fueron: betahidroxibutirato (BHB), colesterol y ácidos grasos no esterificados (NEFA), todos relacionados con el posible balance energético negativo (BEN) y sus efectos. Estadísticamente los NEFA mostraron significancia para periodo de muestreo y tratamiento, este metabolito, junto con el BHB, que mostró efecto en la interacción periodo*tratamiento, son utilizados como herramienta de diagnóstico para evaluar el grado de BEN en las vacas en periodo de transición (Quiroz Rocha *et al.*, 2009, pág. 386). Las bajas concentraciones de NEFA, muestran que los animales no presentaron un desbalance severo en energía y que existió un aporte básico para atender los requerimientos de mantenimiento e inicio de lactancia. Así mismo, los valores de BHB no mostraron elevada movilización de grasas corporales que pudieran incidir en la presentación de cetosis subclínica, patología derivada del BEN (Garro, Mian y Cobos Roldan, 2014, pág. 4). Las variaciones en NEFA y BHB a través del experimento se relacionan con los requerimientos metabólicos asociados al periodo de transición e inicio de lactancia y con el tipo de suplementación (Goulart *et al.*, 2013, pág. 3; Consentino *et al.*, 2008, pág 892). La monensina presentó el mejor efecto sobre el BEN; ya que en este grupo se presentaron las

concentraciones más bajas de BHB y NEFA, igualmente se evidenció menor cambio en la condición corporal. Frente al colesterol, la monensina también actuó, al presentar mayores valores en su concentración, lo que a su vez pudo incidir en la síntesis de hormonas esteroideas, como ha sido reportado (Seifi *et al.*, 2007, pág. 254). El tratamiento con grasa sobrepasante mostró altos valores de BHB y colesterol, en la mayoría de periodos indicando que el aporte extra de grasa, influencia el metabolismo lipídico, reduce la movilización corporal, pero a su vez no promueve un uso completo de las grasas, por lo cual la concentración de metabolitos asociados con lipólisis fue elevado (Domínguez *et al.*, 2007, pág. 44).

En todos los tratamientos la condición corporal disminuyó en el posparto temprano, revelando BEN. El grupo control mostró caída en la condición antes del parto, lo cual pudo deberse al manejo del grupo, al ser este el que inició el experimento y tuvo un mayor tiempo fuera del pastoreo. Así mismo, en el control se evidenció una disminución acelerada y marcada en la condición corporal y un periodo de recuperación más lento, en comparación con los otros tres tratamientos. En el grupo con urea protegida se observaron valores constantes, con un comportamiento menos oscilatorio, este es el grupo en el cual la caída de la CC es más tardía y su recuperación antecede a la del grupo con grasa sobrepasante y al control, los cuales presentaron la condición corporal más baja; en éstos, la CC descendió rápidamente y su caída fue dramática alcanzando un valor de 2,25 (escala 1-5) y su recuperación fue más lenta en los primeros 100 días posparto; la condición nunca fue superior a 2,75. Los resultados en CC encontrados guardan estrecha relación con otros trabajos en trópico bajo (Contreras y Sordillo, 2011, pág. 286). Se pudo observar que el grupo con monensina presentó un mejor comportamiento de la condición corporal, pues su caída fue tardía y su recuperación rápida,

seguido por el grupo con urea protegida, que presentó un buen comportamiento, pero perdió más condición corporal que el grupo con monensina.

El tratamiento con urea protegida afectó significativamente las concentraciones de proteínas totales y urea, sin embargo, no se alteraron los valores séricos de urea, igual comportamiento mostró el grupo control, lo que estaría indicando que en los periodos próximos al parto se presentan limitantes para la síntesis de proteína bacteriana y que la urea protegida de liberación lenta, aún bajo altos niveles proteicos en la dieta (Tabla 1), contribuye a mejorar los aportes de proteína bacteriana sin excesos o riesgos para la salud animal (Duque, Noguera y Restrepo, 2009, pág. 9). La monensina, también afectó la concentración sérica de proteína y urea; la grasa sobrepasante no mostró afectación, lo cual indica que la manipulación ruminal directa, afecta el metabolismo proteico en las vacas en pastoreo (Calomeni, 2011).

Tal como se ha demostrado en estudios previos se evidenció que el periodo de transición afecta el aporte de minerales, en especial calcio, fósforo y magnesio, estos fueron determinados para monitorear los mecanismos homeostáticos y homeorréticos necesarios para favorecer la eficiencia reproductiva (Wilde, 2006, pág. 242). Se encontró que el tratamiento con monensina originó un mayor valor en la concentración de calcio y fósforo, seguido por el tratamiento de grasa sobrepasante. Para magnesio, el tratamiento con urea protegida ocasionó el segundo mayor valor en la concentración, esto indica que los dos tratamientos con actividad directa en el rumen, afectan la absorción y concentración mineral. Se conocen diversas patologías como hipocalcemia e hipomagnesemia que originan alteraciones severas que afectan la producción lechera y la dinámica de la reproducción (Bisinotto *et al.*, 2012, pág. 261), pero las concentraciones

minerales halladas no evidenciaron situaciones críticas que pudiesen ocasionar problemas en el parto o sobre la actividad reproductiva (Benedet et al., 2019, pág. 1683). En la Tabla 2, se presenta la significancia estadística para los minerales durante los períodos de muestreo y en la Figura 2, su comportamiento en el tiempo. Se determinó que los tratamientos de suplementación afectan principalmente al calcio y al magnesio, mostrando que la monensina, generó la mayor concentración sérica de estos.

La suplementación afectó a los componentes endocrinos determinados (cortisol y T3); para ambos se presentó efecto en la interacción tratamiento*periodo (Tabla 2), el efecto periodo muestra su influencia en el comportamiento a lo largo de todo el experimento, donde se asociaron tres fases fisiológicas: final de gestación, periodo de transición y primera fase de lactancia. La concentración sérica de cortisol presentó una amplia oscilación, la cual ya ha sido reportada en este tipo de trabajos donde la homogeneidad del grupo experimental es una limitante, debido al número de animales requeridos para reducir variaciones asociadas a lactancia, edad, peso y que a su vez al inicio del experimento estén en similar fase de gestación (Campos, Hernández, Giraldo y González, 2009, pág. 792); por otra parte, los animales exhibieron diferente grado de adaptación al medio y tipo de respuesta a la manipulación, lo que posiblemente ocasionó la oscilación del cortisol; se observó que su concentración en algunos períodos experimentales, en especial en los días 90 y 105 del posparto, fue mayor que en aquellos más cercanos al parto como sería de esperar, probablemente en estos periodos el cambio en grupo de ordeño, balance energético y estado reproductivo se modificaron, llevando a que los animales manipulados respondieran individualmente con estrés, lo cual ocasionó en estos periodos mayores valores que los fisiológicos del parto, ya que en vacas múltiparas (mínimo tres partos), el estrés del parto en sí, se

esperaría no las afecte en alto grado (Campos et al., 2009, pág. 793).

Para la Triyodotironina hormona asociada al consumo de oxígeno y por ende a la homeostasis, se observaron diferencias en los tiempos de muestreo, lo cual está relacionado con los cambios fisiológicos regulatorios en el periodo de transición (Ninabanda, 2018, pág. 69); no se observó diferencia con mérito estadístico entre los grupos experimentales, mostrando que la hormona no respondió a los desafíos que alteraran su secreción, lo cual evidencia cierta adaptación metabólica y efecto de la utilización del yodo, presente en la sal mineralizada suministrada en el sistema de producción.

El análisis conjunto entre metabolitos e indicadores de eficiencia reproductiva, es un enfoque de trabajo empleado en bovinos (Goulart et al., 2013, pág. 4); la reactivación ovárica es un proceso fisiológico multifactorial, donde los componentes nutricionales como los analizados en el presente trabajo, inciden en el reinicio de la actividad reproductiva; para evaluar ésta se tuvieron en cuenta las estructuras ováricas, determinadas por ultrasonografía ovárica a partir del día 30 posparto como se presenta en la Tabla 3, los resultados encontrados son similares a otras investigaciones realizadas en trópico (Domínguez, Garmendia y Martínez, 2007, pág. 47). La frecuencia relativa de las estructuras ováricas fue mayor en grupos suplementados que en el control; así mismo, se encontró que el folículo IV fue la estructura con mayor relación de cambio y esto se relacionó con la ovulación y posterior formación del cuerpo lúteo; igualmente, se determinó en los animales experimentales de los tratamientos dos y tres una buena respuesta, similar a lo descrito por otros autores en trabajos en los que se evaluó la dinámica ovárica (Galvis, Agudelo y Saffon, 2007, pág. 20).

Con el fin de analizar el comportamiento reproductivo en conjunto, se emplearon los indicadores: días abiertos (DA), porcentaje de preñez y servicios por concepción (SC), los resultados presentados (Tabla 4), muestran que el grupo control y el grupo con urea protegida presentaron los menores porcentajes de preñez; así mismo, las vacas de estos grupos exhibieron menor frecuencia en folículos IV, lo que indica que éstas presentaron anestro posparto, lo cual llevó a una menor presencia de cuerpos lúteos; para el grupo tres esta situación debe asociarse con la mayor producción de leche, ya que la concentración de urea no indicó que existiera exceso de ésta, que pudiera afectar la reproducción. Para el control, se considera que las vacas tuvieron un mayor estrés en el período experimental. Para los grupos con grasa sobrepasante y monensina, los resultados reproductivos en conjunto fueron mejores ya que exhibieron mayores porcentajes de preñez, adicionalmente, monensina también mostró menor número de servicios por concepción, así mismo, registró mayor presencia de folículos tipo III y IV, y mayor presencia de cuerpos lúteos, lo que está en concordancia con trabajos que muestran la eficiencia de la suplementación energética frente al comportamiento reproductivo (Marín-Aguilar *et al.*, 2007, sp) y el mejor desempeño fisiológico cuando se produce manipulación de la microbiota ruminal (Consentino, Saladini y Schalch, 2008, pág. 893). En general, se aprecia que el comportamiento reproductivo es deficiente en todos los grupos, esto al parecer es una constante en el país (Finca SAS, 2018), donde el pastoreo es la principal forma de alimentación en vacas lecheras (Perdomo *et al.*, 2017, pág. 4). La opción de suplementación con monensina, presentó mejores indicadores, esto se explica por una mejor adaptación ruminal, y un aporte más eficiente de ácidos grasos volátiles de cadena corta, tal como ha sido descrito como respuesta a la manipulación con ionóforos (Pinos & González, 2000, pág. 382), indicando

que el ambiente ruminal incide indirectamente sobre la eficiencia reproductiva.

Frente a la producción de leche estimada por lactancia, el grupo control fue el que presentó una menor producción de leche, en éste se evidenció una diferencia importante, cuando se comparó con el grupo suplementado con monensina, el cual alcanza 700 litros/vaca/lactancia más que el grupo testigo; frente al grupo suplementado con grasa sobrepasante, la diferencia sería de 560 litros/vaca/lactancia y frente al grupo con urea protegida alcanzaría una producción adicional de 200 litros/vaca/lactancia. En todos se presentó diferencia estadística significativa, lo que indica que suplementar o manipular el rumen presentó efectos positivos sobre la producción de leche, principal factor de gasto energético y a su vez causa del balance energético negativo en vacas lecheras en pastoreo (Sá Fortes *et al.*, 2008, pág. 184).

Conclusiones

Dos de los cuatro tratamientos de la suplementación inciden directamente sobre el ambiente ruminal; el tratamiento con monensina mostró ventajas apreciables en la producción de leche y en la reducción de los días abiertos. La grasa sobrepasante, igualmente mejoró el comportamiento reproductivo con relación al grupo control, pero no superó al tratamiento con monensina. La urea de liberación lenta afectó negativamente el comportamiento reproductivo, si bien, no hubo diferencias en las estructuras ováricas, el porcentaje de preñez en este tratamiento fue el menor de los cuatro. La monensina, mejoró la producción de leche estimada por lactancia, en este tratamiento se calcularon 700 kilos más que el grupo control.

Declaración de conflictos de interés

Los autores manifiestan no tener conflictos de interés con ninguna de las partes interesadas en el presente ensayo.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al propietario, administrador y personal de la hacienda La Aventura (Buga-Valle) por facilitar el experimento y a la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, por la financiación del trabajo.

Referencias

- Benedet, A., Manuelian, C. L., Zidi, A., Penasa, M., & De Marchi, M. (2019). Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. *Animal*, 13(8), 1676–1689. <https://doi.org/10.1017/S175173111900034X>
- Berry, D. P., Coffey, M. P., Pryce, J. E., De Haas, Y., Løvendahl, P., Krattenmacher, N., ... & Macdonald, K. (2014). International genetic evaluations for feed intake in dairy cattle through the collation of data from multiple sources. *Journal of dairy science*, 97(6), 3894-3905. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030214002732>
- Bisinotto, R. S., Greco, L. F., Ribeiro, E. S., Martinez, N., Lima, F. S., Staples, C. R., ... & Santos, J. E. P. (2012). Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Anim Reprod*, 9(03), 260-272. [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v9n3/pag260-272%20\(AR529\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v9n3/pag260-272%20(AR529).pdf)
- Calomeni, D.G. (2011). Utilização de ureia encapsulada de liberação lenta na alimentação de vacas em lactação. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10135/tde-27092012-154006/>
- Campos, R., Hernández, E. A., Giraldo, L., & González, F. (2009). Cortisol e sua relação com a regulação endócrina no período de transição em vacas leiteiras sob condições do trópico colombiano. *Ciência Animal Brasileira*, 790-794. <https://www.revistas.ufg.br/vet/article/view/7904/5756>
- Consentino, R.M., Saladini, M., & Schalch, E., (2008). Efeitos da administração de monensina por meio de cápsulas de liberação controlada no desempenho de vacas Holandesas no início da lactação. *R. Bras. Zootec.*, v.37, n.5, p.890-895. <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v37n5/a17v37n5.pdf>
- Contreras, G. A., & Sordillo, L. M. (2011). Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34(3), 281–289. <https://doi.org/10.1016/J.CIMID.2011.01.004>
- Domínguez, C.E., Garmendia, J., & Martínez, Nelson (2007). Influencia de La Época de Parto, la Condición Corporal y la Suplementación sobre la Actividad Ovárica Postparto de Vacas Mestizas Bajo Pastoreo Mixto en el Norte del Estado Guárico, Venezuela. *Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias*, 48(1), 37-50. <http://www.scielo.org.ve/pdf/rfcv/v48n1/art05.pdf>
- Duque, M., Olivera, M., Rosero R., & Gallo, J., (2013). Efecto de la suplementación con grasas protegidas sobre parámetros

- productivos y reproductivos en vacas lactantes. *Rev. MVZ Córdoba* 18(3):3812-3821. <http://revistas.unicordoba.edu.co/revistamvz/mvz-183/v18n3a10.pdf>
- Duque, M., Noguera, R. R., & Restrepo, L. F. (2009). Efecto de la adición de urea protegida y sin protección sobre la cinética de degradación in vitro del pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). *Livestock Research for Rural Development*, 21(4), 1–13.
- Finca SAS, (2018). Departamento Técnico, Plataforma DCH, Alimentos Finca SAS, Buga.
- Galvis, D., Agudelo, D., & Saffon, A. (2007). Condición corporal, perfil de lipoproteínas y actividad ovárica en vacas Holstein en lactancia temprana. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(1), 16-29. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295023036003>
- Garro, C. J., Mian, L., & Cobos Roldan, M., (2014). Subclinical ketosis in dairy cows: prevalence and risk factors in grazing production system. *Animal physiology and animal nutrition*. 98:838–844. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jpn.12141/full>
- Goulart, M., Montagner, P., Silveira, M., Carneiro R., Schwegler, E., Moreira, M., Alves, R., Buttow, V., Schneider, A., Rohrig, V., Augusto, F., & Nunes, M., (2013). Composição do leite, pH do fluido ruminal e perfil metabólico de vacas leiteiras suplementadas com uréia de liberação lenta. *Acta Scientiae Veterinariae*. 41:1115. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289031817020>
- Heidinger, D. E., Morávek, V. R., & Olarte, S. (2001). Evaluación técnica y económica de la suplementación con monensina (Rumensin®) y/o levadura (Yea-Sacc1026) a vacas lecheras (Bachelor's thesis, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.). <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1484/1/CPA-2001-T044.pdf>
- Holdridge, L. R. (1987). Ecología basada en zonas de vida (No. 83). Agroamérica.
- Humer, E., Petri, R. M., Aschenbach, J. R., Bradford, B. J., Penner, G. B., Tafaj, M., ... & Zebeli, Q. (2018). Invited review: Practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 101(2), 872-888. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13191>
- Lohrenz, A. K., Duske, K., Schneider, F., Nürnberg, K., Losand, B., Seyfert, H. M., ... & Hammon, H. M. (2010). Milk performance and glucose metabolism in dairy cows fed rumen-protected fat during mid lactation. *Journal of dairy science*, 93(12), 5867-5876.. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030210006387>
- Lucy, M. C., Savio, J. D., Badinga, L., De La Sota, R. L., & Thatcher, W. W. (1992). Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of animal science*, 70(11), 3615-3626. <https://doi.org/10.2527/1992.70113615x>
- Marichal, M. D. J., Trujillo, A. I., Guerra, M. H., Carriquiry, M., & Piaggio, L. (2009). Comparación de las cinéticas de liberación de N-NH3 in vitro y de la degradación ruminal del N de la urea protegida, urea y subproductos agroindustriales. *Agrociencia*, Uruguay, 13(2), 52-59.

- Marín-Aguilar, A.M., Tinoco-Magaña, J. C., Herrera-Camacho, J., Sánchez-Gil, L.G., Sánchez-Parra, V. M., Solorio-Rivera, J. L., & García-Valladares, A. (2007). Reinicio de la actividad ovárica y nivel de metabolitos de lípidos en vacas lecheras suplementadas con aceite vegetal durante el posparto temprano. *Interciencia*, 32(3), 180-184. http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442007000300009
- Mellouk, N., Rame, C., Naquin, D., Jaszczyszyn, Y., Touzé, J. L., Briant, E., ... & Dupont, J. (2019). Impact of the severity of negative energy balance on gene expression in the subcutaneous adipose tissue of periparturient primiparous Holstein dairy cows: Identification of potential novel metabolic signals for the reproductive system. *PloS one*, 14(9), e0222954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222954>
- Ninabanda, J. J. (2018). Impacto del balance energético negativo en vacas lecheras tratadas con somatotropina recombinante bovina. *Revista Veterinaria*, 29(1), 68-72. <https://doi.org/10.30972/vet.2912794>
- Noro, M., Strieder Barboza, C., Kuschel Deramond, D., Pulido, R. G., & Wittwer Menge, F. G. (2012). Variaciones diarias de parámetros ruminales y sanguíneos en vacas lecheras a pastoreo de primavera suplementadas con dos fuentes de nitrógeno no proteínico. *Rev. Científica*, 22(2), 154-162. Recuperado de <http://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15702/15675>
- Perdomo, M. F., Peña, L. F., Carvajal, J. D., & Murillo, L. Y. (2017). Relación nutrición-fertilidad en hembras bovinas en clima tropical. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9), 1-19.
- Pereira de Sousa, V. L. (2016). Monensina Sódica (Dissertação de Mestrado). Universidade Fernando Pessoa Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal. Recuperado de: https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5831/1/PPG_28099.pdf
- Pinos Rodríguez, J. M., & González Muñoz, S. S. (2000). Efectos biológicos y productivos de los ionóforos en rumiantes. *Interciencia*, 25(8):379-385. <http://www.redalyc.org/html/339/33905004/>
- Pushpakumara, P.G.A., Gardner, N.H., Reynolds, C.K., Beever, D.E., & Wathes, D.C. (2003). Relationships between transition period diet, metabolic parameters and fertility in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 60:1165–1185. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X03001195>
- Quiroz Rocha, G. F., LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Wood, D., Leslie, K. E., & Jacobs, R. M. (2009). Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. *Canadian Veterinary Journal*, 50(4), 383–388. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2657519/>
- Roche, J. F. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, Volume 96, Issue 3, 282 – 296. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432006003800>
- Sá Fortes, R.V., Artunduaga, M.A.T., Carvalho, A.U., Coelho, S.G., Reis, R.B., & Lana, A.M.Q. (2008). Propilenoglicol ou monensina na dieta de vacas leiteiras no período de transição: saúde do úbere, produção e composição do leite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e*

Zootecnia, 60 (1):179-184. <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v60n1/a25v60n1.pdf>

Salas, G., Herrera, J., Gutierrez, E., Ku-Vera, J.C., & Ake-Lopez, J.R. (2011). Reinicios de la actividad ovárica posparto y concentración plasmática de metabolitos lípidos y progesterona en vacas suplementadas con grasa de sobrepeso. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Vol. 14. N°2:385-393. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tsa/v14n2/v14n2a34.pdf>

SAS/STAT software, Version [8] of the SAS System. Copyright © 2000 SAS Institute Inc.

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(4), 253-258. <https://doi.org/10.1007/s00580-007-0682-2>

Wilde, D. (2006). Influence of macro and microminerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 96 (3-4):240-249. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432006003770>

Zeit, J. O., Weber, A., Most, E., Windisch, W., Bolduan, C., Geyer, J., ... & Eder, K. (2018). Effects of supplementing rumen-protected niacin on fiber composition and metabolism of skeletal muscle in dairy cows during early lactation. *Journal of dairy science*, 101(9), 8004-8020. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14490>