

Revisión**Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario**

Meikle Ana^{1*}, Cavestany Daniel¹, Carriquiry Mariana², Adrien María de Lourdes¹, Artegoitia Virginia¹, Pereira Isabel⁶, Ruprecht Gretel¹, Pessina Paula¹, Rama Gonzalo^{1,5}, Fernández Andrea¹, Breijo Martín³, Laborde Daniel⁶, Pritsch Otto^{3,5}, Ramos Juan Manuel^{6,7}, de Torres Elena¹, Nicolini Paula¹, Mendoza Alejandro⁴, Dutour Joaquín², Fajardo Maite², Astessiano Ana Laura², Olazábal Laura⁸, Mattiauda Diego², Chilibroste Pablo²

¹Facultades de Veterinaria, ²Agronomía, ³Medicina, Universidad de la República, Montevideo y Paysandú. ⁴Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, ⁵Instituto Pasteur de Montevideo, ⁶Veterinarios profesión liberal Uruguay. ⁷Universidad de la Empresa, ⁸Laboratorio Tecnológico del Uruguay. Correo electrónico: anamei@adinet.com.uy

Recibido: 18/9/12 Aceptado: 27/3/13

Resumen

La transición del estado preñada no lactante al no preñado lactante es un período de cambios drásticos para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo a las fuertes exigencias que le demanda la producción. Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción y la calidad de la leche, de evitar enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez. La mejora nutricional, la selección genética y el manejo animal han aumentado la producción de leche en las últimas décadas, y esto se asocia a una disminución del desempeño reproductivo y al aumento de problemas sanitarios. Esta revisión resume trabajos realizados en los últimos años en Uruguay, enfatizando en el manejo diferencial de nutrientes, la respuesta en comportamiento ingestivo, los mecanismos endocrino-moleculares de la partición de nutrientes y su relación con la fertilidad en vacas lecheras. Se reportan experimentos que estudian la eficiencia productiva de diferentes biotipos lecheros y razas. Se describen trabajos en salud que identifican el período de transición como período de riesgo a enfermedades metabólicas, infecto-contagiosas y traumáticas. Se concluye que los estudios integrados en problemas de relevancia nacional es la respuesta necesaria a sistemas biológicos complejos como lo es la vaca lechera durante el período de transición en pastoreo.

Palabras clave: vaca lechera, período transición, pastoreo

Summary**Advances in Knowledge of the Dairy Cow During the Transition Period in Uruguay: a Multidisciplinary Approach**

The transition from pregnant non lactating condition to non pregnant lactating status is a period of dramatic changes for the cow, which has to adapt its metabolism to the strong requirements for milk production. From the equilibrium that the cow resolves this period will depend the capacity to maximize milk production and quality, to evade metabolic diseases and ensure the following pregnancy. The nutritional improvement, genetic selection and animal management have increase milk production in the last decades and this is associated with a decrease in the reproductive performance and in the increase of health diseases. This review summarizes the studies performed in the last years in Uruguay, with emphasis in nutritional management, ingestive behaviour, endocrine and molecular mechanisms of nutrient partitioning and its relation with fertility in dairy cows. Studies that investigate the productive efficiency of different dairy biotypes and breeds are reported. Studies in the cow's health that identify the transition period as a risk factor for metabolic, infections and traumatic diseases are included. We conclude that studies that integrate problems of national relevance are the appropriate methodology to investigate complex biological systems as is the dairy cow during the transition period under grazing conditions.

Key words: dairy cows, transition period, grazing

Producción de leche en Uruguay

En Uruguay, la producción de leche se ha incrementado en los últimos 30 años; sin embargo, el número de productores ha descendido significativamente, desapareciendo más de 2000 productores en los últimos 20 años, concomitantemente con un aumento de la escala de los tambos en términos de número de vacas en ordeño (DIEA, 2011). Las exportaciones de productos lácteos se aproximan al 70% en relación al volumen total disponible, fundamentalmente leche en polvo y quesos, por lo que cobra relevancia el contenido de sólidos de la leche. Consecuentemente las industrias han promovido el criterio de pago por sólidos. Estas condiciones son inmejorables para sentar las bases y generar las herramientas necesarias que permitan agregar valor a la materia prima para la elaboración de productos básicos especializados para nuestros mercados compradores.

En nuestro país, por tratarse de un sistema pecuario de base pastoril, la producción de leche acompaña la producción estacional de las pasturas, dándose en primavera el máximo de producción de leche (DIEA, 2011). Los sistemas de producción de leche exhiben un desbalance estructural entre oferta y demanda de nutrientes. Este desbalance se intenta corregir con suplementación, con reservas forrajeras y concentrados, derivando en sistemas con niveles crecientes de complejidad operativa, requerimientos de infraestructura y fundamentalmente de precisión en el manejo de los recursos alimenticios. El uso intensivo de pasturas mejoradas con concentrados y ensilados fueron uno de los factores clave que permitieron un salto productivo en las dos últimas décadas (DIEA, 2011). Las evaluaciones genéticas nacionales de la raza Holando indican que la genética del rodeo lechero uruguayo proviene predominantemente de América del Norte. La selección genética por producción de leche -asociada a la difusión del Holando de alta producción- a nivel mundial durante las últimas décadas ha sido un factor primordial en la mejora productiva internacional.

Aspectos limitantes del sistema de producción lechero uruguayo

La leche bovina juega un papel central en la nutrición humana y es un ingrediente que se consume globalmente en diferentes formas y destinos. Las principales líneas de investigación de la industria láctea internacional se focalizan en la valorización e innovación de productos por las propie-

dades de algunos componentes lácteos promoviendo los aspectos saludables y terapéuticos de la leche (Bauman *et al.*, 2006). Por ejemplo, el ácido linoleico conjugado (CLA) tiene propiedades como inhibidor de la carcinogénesis y de la aterogénesis, mejora la capacidad del sistema inmune, previene la obesidad y posee efectos antidiabéticos y mejoras en la mineralización ósea (Pariza *et al.*, 2001). Existen numerosos reportes al respecto, sin embargo, no se ha llegado a una conclusión final respecto de la seguridad y beneficios del CLA (Benjamin y Spener, 2009). El aumento en la ingesta de la pastura fresca resulta en un aumento de 2 a 3 veces en el contenido CLA en la leche (Dhiman *et al.*, 1999) y esto posiciona a nuestro sistema pastoril de producción de leche de forma ventajosa a nivel internacional. Actualmente el agregado de alguno de estos elementos en la leche se realiza a nivel industrial. La investigación nacional en calidad de leche en Uruguay respecto a la maximización de componentes nutraceuticos de forma natural ha sido escasa. Resulta entonces prioritario que Uruguay como «Marca País» genere un mensaje claro, sólido, inteligente y coherente acorde a esa imagen.

Por otro lado, el consumo de materia seca (MS) en sistemas de pastoreo es usualmente más bajo que en sistemas de confinamiento y podría ser insuficiente para sostener la alta producción de leche que podría lograrse con el potencial genético (Kolver y Müller, 1998; Chilibroste *et al.*, 2012a). En investigaciones nacionales el análisis de las curvas de lactancia sugiere que los animales no logran expresar su potencial productivo, seguramente en respuesta al desacople entre requerimientos-oferta de nutrientes y ambiente productivo (Chilibroste *et al.*, 2012a). A la complejidad mencionada del sistema pastoril de producción de leche se le debe agregar la escasa comprensión del comportamiento ingestivo de la vaca lechera durante la transición. Esto es especialmente relevante debido a la depresión del consumo que ocurre en las últimas semanas previas al parto (Grummer, 1995).

Producir un ternero a intervalos regulares es un prerrequisito para obtener una performance rentable de la lactación (Royal *et al.*, 2002) y el intervalo parto concepción (IPC) es el factor limitante. El aumento productivo ha provocado una disminución de los indicadores reproductivos; la información es consistente en señalar una disminución de 20 a 30% en las tasas de preñez desde la década del '60 al presente en diferentes países y un aumento de problemas reproductivos y sanitarios (Roche *et al.*, 2000; Lucy, 2001; Royal *et al.*, 2002). En Uruguay, estudios en 200 mil lactancias indicaron que el IPC aumentó de 131 a 150 días de

1997-2001 a 2001-2005 (Rovere *et al.*, 2007). Esto indica que la situación nacional actual no escapa a la de Holstein a nivel mundial, donde la presión por selección para producción de leche ha afectado los índices reproductivos. El síndrome de subfertilidad surge de la interacción del sistema de manejo, el biotipo y los procesos metabólicos que subyacen en ese aumento de la producción (Gutierrez *et al.*, 2006). Como forma de levantar estas restricciones, en los últimos años se ha introducido genética de Nueva Zelanda, debido a la similitud del sistema pastoril con el de nuestro país. Nueva Zelanda exporta alrededor del 90% de la producción, por lo que cobran importancia los sólidos en leche. La producción en Nueva Zelanda prioriza el manejo de pasturas -90% de la dieta- por lo que la mayoría de los predios presentan parición estacional, y se procuran vacas livianas, sanas y fértiles. A nivel nacional, la investigación al respecto es incipiente. Hay aún menos información con respecto a la asociación de marcadores moleculares genéticos (por ejemplo: cambios de un solo nucleótido) y parámetros productivos y reproductivos en leche, a pesar de que estos kits comerciales están en Uruguay y se utilizan para predecir comportamientos fenotípicos de interés.

El conflicto en el desempeño productivo vs el reproductivo está en gran parte condicionado por el manejo diferencial en el que se puede incidir especialmente durante el período de transición. A la alta demanda metabólica por producción de leche se le suma la disminución (~ 30%) del consumo previo al parto (Grummer, 1995) que promueve la movilización de reservas corporales, es decir, el balance energético negativo (BEN). Los cambios que ocurren durante este período están directamente relacionados a los **procesos** de adaptación del **sistema digestivo** a la alimentación que recibirán luego del parto y del **metabolismo**. Los cambios en el metabolismo de los tejidos/órganos del cuerpo necesarios para apoyar una función fisiológica específica (homeorhesis, Bauman y Currie, 1980), aseguran la uniformidad del flujo de nutrientes en apoyo de la lactancia. Esta partición de nutrientes es comandada por señales hormonales que en conjunto con los perfiles metabólicos pueden ser utilizados como herramientas predictivas del estado de salud de rodeo. En ese estado fisiológico las vacas lecheras de alta producción tienen una utilización de nutrientes por parte de la glándula mamaria superior a la del resto del cuerpo, a tal extremo que Brown (1969) ha sugerido que la vaca debe ser concebida como un apéndice de la ubre y no viceversa. Este tiempo de sub-alimentación experimentado por los animales al inicio de la lactancia no solo afecta la magnitud de la respuesta residual de pro-

ducción en toda la lactancia, sino que agrava el desempeño reproductivo. Es en este período que se concentran las enfermedades metabólicas o tecnopatías de la producción de leche actual. Del equilibrio con que la vaca resuelva este proceso dependerá la capacidad de maximizar la producción de leche, evitar enfermedades metabólicas y asegurar la siguiente preñez (Grummer, 1995).

La fragilidad del organismo se refleja en la actividad del sistema inmune de la vaca que está fuertemente deprimida alrededor del parto. Se ha descrito una disminución transitoria importante de células de defensa después del parto causado por un importante pasaje de neutrófilos hacia el tracto reproductivo. La capacidad de los linfocitos para responder y la producción de anticuerpos se ve también afectada alrededor del parto (Kehrli *et al.*, 1989), por lo que se reportó una disminución dramática de los niveles séricos totales de inmunoglobulinas G y M en el período entre la semana 8 previa al parto y la cuarta semana postparto (Herr *et al.*, 2011). Aún se desconoce el mecanismo exacto que determina la depresión del sistema inmunológico en el periparto pero se acepta que factores endócrinos y nutricionales estarían fuertemente involucrados (Goff y Horst, 1997; Vangroenweghe *et al.*, 2005). Estos hallazgos podrían explicar la alta incidencia de enfermedades infecciosas durante este período.

Finalmente, la presión por producción y el manejo a gran escala de los tambos ha aumentado significativamente los factores de riesgo que desencadenan varias de estas enfermedades. En esas circunstancias, el período de adaptación de las vacas a la dinámica de ordeño y cambios de manejo de la alta producción se puede ver comprometido. Pautas de comportamiento animal y diseño de instalaciones comienzan a jugar un importante rol como factores de riesgo de enfermedad y daño del bienestar animal. Uno de los problemas es el mantenimiento de los caminos y áreas de pasaje, así como los largos períodos que las vacas permanecen sobre el cemento de la sala de espera y las largas distancias que recorren para comer; esto representa un gran potencial traumático para el aparato locomotor. Por otra parte, la alimentación de estas máquinas metabólicas para producir grandes volúmenes de leche implica un gran desafío nutricional. En nuestras condiciones, las grandes variaciones en la disponibilidad de diferentes tipos de granos y la inestabilidad de los precios conspiran contra una adecuada planificación de la nutrición de las vacas y exponen al sistema a riesgos sanitarios. Cambios bruscos y desajustes en estos aspectos pueden ser el origen de brotes de acidosis, cojeras y otros tipos de patologías que

causan gran dolor, daño al animal y merma en la producción del rodeo.

Es por lo tanto el período de transición donde se concentran los problemas sanitarios del rodeo lechero y la base radica en la presión metabólica que implica los altos niveles de producción de leche potenciales del rodeo lechero actual desfasado de la capacidad de ingesta requerida. La clínica individual carece de efecto preventivo y representa un enfoque erróneo de las problemáticas sanitarias. Cuando las vacas se enferman, la leche ya se perdió y la intervención clínica –si bien necesaria– supone un esfuerzo tardío que en ocasiones tiene un magro impacto en controlar las pérdidas económicas que representan estas patologías (Ramos, 2007). Además, la buena imagen de la industria láctea pastoril asociada al bienestar animal y productos saludables se ve comprometida por la presencia de enfermedades en los rodeos lecheros actuales. El desafío de los sistemas de producción de leche al que se exponen los técnicos asesores no es posible de ser alcanzado por una sola disciplina. La necesidad de conocimiento original que permita comprender los procesos biológicos que subyacen a la relación ambiente-animal-producto es esencial para maximizar la relación costo-beneficio de la empresa. Esto es aún más relevante si se tiene en cuenta que la investigación de estos procesos se concentran en sistemas de estabula-

ción y que el sistema pastoril de producción de leche sudamericano tiene características particulares que limitan la transferencia del conocimiento generado en otros sistemas productivos, incluso pastoriles.

Modo conceptual de trabajo

En la Figura 1 se esquematiza la forma de trabajo propuesta para generar conocimiento original en lechería. Todos los experimentos han sido realizados en vacas lecheras de raza Holando, con la excepción de los experimentos en donde hemos abordado el estudio de líneas genéticas y cruza donde se especifica qué biotipos lecheros se han estudiado. Los recuadros indican los efectos o tratamientos (*inputs*) estudiados; el énfasis se ha puesto en manejo nutricional antes o después del parto, referido tanto a niveles de suplementación u oferta de pastura como tipo de nutriente. Hemos estudiado aspectos del manejo animal (hora de pastoreo, dominancia) y caracterizado las respuestas acorde a la categoría animal (edad, número de partos), e iniciado estudios respecto a la genética animal (cruza y biotipo lechero). Las variables de respuesta (*outputs*) económicas implican el producto (leche: cantidad y calidad en términos de grasa/proteína y de fracciones de caseínas y ácidos grasos) o parámetros reproductivos que son más difíciles de cuantificar (longitud del anestro posparto, tasas de preñez).

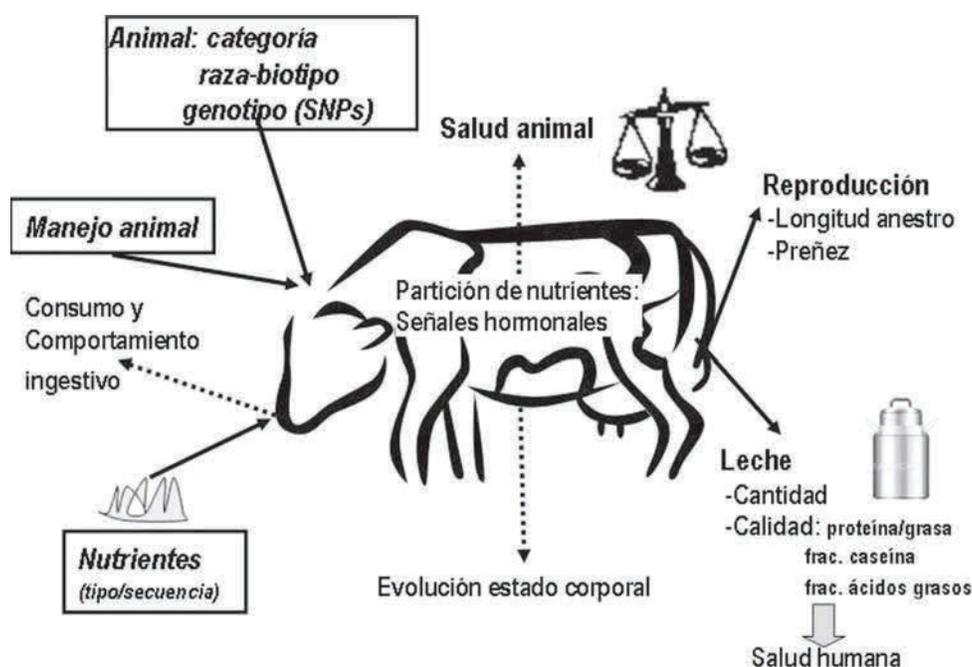


Figura 1. Esquema de forma de trabajo en vaca lechera en transición.

Las variables de respuesta que implican determinaciones en el animal como lo son el comportamiento ingestivo, la evolución de las reservas corporales (condición corporal, CC), los perfiles hormonales y metabólicos en sangre y la sensibilidad y/o respuesta de tejidos específicos permiten comprender cómo los diferentes *inputs* (efectos que se desean investigar) provocan los *outputs*. El estudio integrado de los mecanismos que implican la respuesta productiva a manejos animales diferenciales constituye el camino al desarrollo de tecnologías a ser transferidas a nuestro medio productivo. La investigación debe contemplar la repercusión a diferentes niveles de respuesta para así maximizar la rentabilidad del sistema productivo lechero, teniendo como eje primordial el mantenimiento de la salud y bienestar de los animales.

Período de transición: datos nacionales

En los experimentos realizados hemos observado que los perfiles metabólicos y endocrinos evidencian los cambios en CC durante el período de transición (Figura 2). La gran movilización en CC que ocurre en el pre y posparto temprano se acompaña de una pronunciada elevación de ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Meikle *et al.*, 2004; Cavestany *et al.*, 2005, 2009a; Adrien *et al.*, 2012; Rupprechter *et al.*, 2011), que se asociaron con una mayor abundancia de los transcritos en hígado de enzimas reguladoras de la β -oxidación (Carriquiry *et al.*, 2010). A este aumento de NEFA le sigue frecuentemente un aumento de b-hidroxibutirato (BHB) el cual refleja el déficit energético

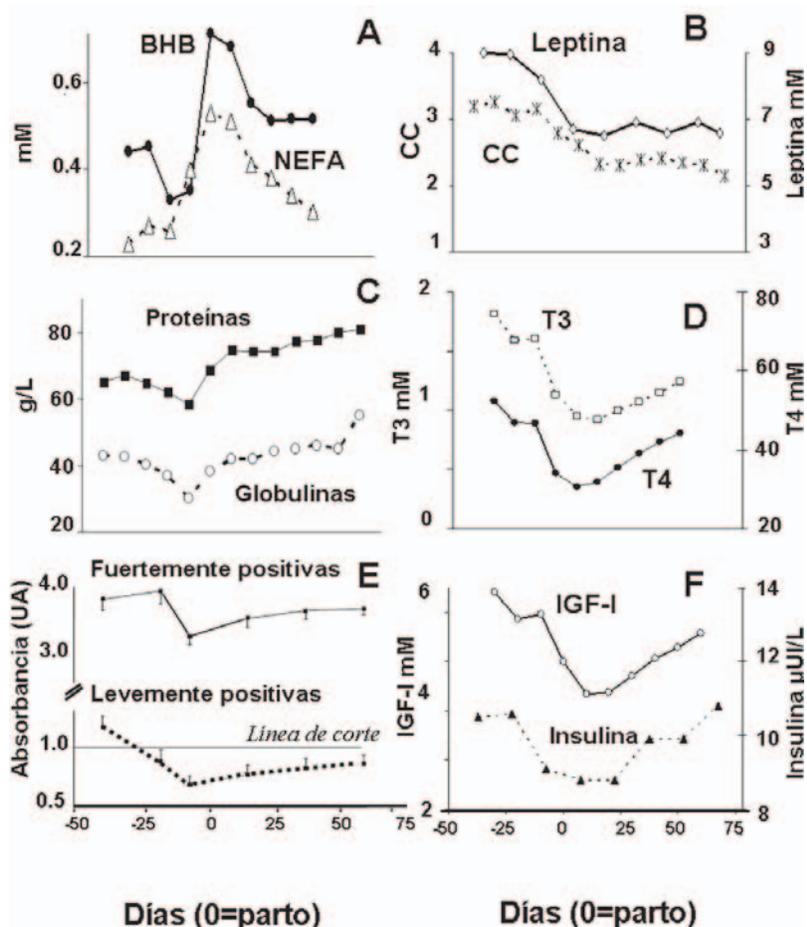


Figura 2. Perfiles metabólicos y endocrinos, y evolución de la Condición Corporal en el periparto. A) Ácidos grasos no esterificados (NEFA), mM) y β -hidroxibutirato (BHB, mM). B) Condición Corporal (CC) y leptina (nM). C) Proteínas totales plasmáticas (g/l) (línea entera) y globulinas (g/l) (línea punteada). D) Toroxina (T4, nM) y 3, 3,5-triiodotironina (T3, nM). E) Absorbancias relativas a los controles positivos del kit VMRD a *Leucosis bovina* (absorbancias mayores a 1 son positivas a Leucosis). F) IGF-I (nM) e insulina (μ U/ml). Modificaciones de Meikle *et al.*, 2004, Cavestany *et al.*, 2005 y Rama *et al.*, 2012..

(Figura 2A); si bien hay que recordar que pueden existir niveles elevados de BHB de origen ruminal debido a la hidroxilación del butirato ruminal.

La pérdida de CC es en general más abrupta en vacas primíparas que multiparas (Meikle *et al.*, 2004, 2005, 2006; Adrien *et al.*, 2012) y se acompaña con una disminución en las concentraciones de leptina (Figura 2B), lo cual es consistente ya que esta es sintetizada por los adipocitos y varía con cambios en el porcentaje de depósitos grasos (Delaud *et al.*, 2000). Las vacas lecheras frecuentemente pierden más del 60% de su grasa corporal durante la lactación temprana (Tamminga *et al.*, 1997). La leptina inhibe el consumo y aumenta la tasa metabólica, por lo que se sugiere que esta disminución es estratégica para estimular el consumo de la vaca lechera posparto y para disminuir el consumo periférico de nutrientes (disminución de la tasa metabólica). En el mismo sentido las hormonas tiroideas (T3, T4) disminuyen drásticamente antes del parto y las concentraciones observadas durante el posparto no se recuperan comparativamente con las del preparto (Meikle *et al.*, 2004).

Los metabolitos nitrogenados disminuyen alrededor del parto y están vinculados a la dieta (Cavestany *et al.*, 2005, 2009a; Meikle *et al.*, 2004, 2006; Pereira *et al.*, 2010b; Adrien *et al.*, 2012). Vacas con dietas pobres en proteína compensan en parte el déficit a través de la movilización de sus reservas corporales y la disminución de la eliminación renal de urea, lo que se refleja en pérdidas de peso, CC y disminución de la producción láctea. Por otro lado, el aumento de proteína plasmática durante el posparto está correlacionado positivamente con el consumo de MS que gradualmente se incrementa durante el posparto (Figura 2C). Las concentraciones de insulina y factor insulino-símil I (IGF-I) están disminuídas alrededor del parto (Figura 2F, Meikle *et al.*, 2004; Cavestany *et al.* 2009a; Pereira *et al.*, 2010b; Adrien *et al.*, 2012; Astessiano *et al.*, 2012), consistente con la reducción de la ingesta y el BEN que caracteriza este período. Estos datos son consistentes con el conocimiento generado respecto la partición de nutrientes del período de transición de la vaca lechera. La hormona del crecimiento (GH) es la hormona homeorrética o teleoforética por excelencia, que promueve el uso de estos nutrientes por la ubre, ya que «apaga» el consumo del combustible esencial (glucosa) por parte de los tejidos periféricos y promueve la movilización de las reservas corporales. Una de las estrategias utilizadas por la vaca lechera de alta producción es desacoplar el eje somatotrófico, es decir, insensibilización hepática a la GH (menores concentraciones del

receptor de GH, GHR) que se traduce en menores concentraciones de su mediador, el IGF-I, (Kobayashi *et al.*, 1999). Resultados nacionales (Astessiano *et al.*, 2012) demuestran que la expresión hepática de los transcritos de GHR-variante 1A e IGF-I disminuyeron del pre al posparto en vacas lecheras sobre pastoreo, pero en menor medida en vacas alimentadas con raciones totalmente mezcladas (TMR). El desacople del eje GH-IGF-I repercute en varios órganos y tejidos, pero se destaca que la falta de retroalimentación negativa sobre la GH, promueve una mayor concentración circulante de esta hormona, y por lo tanto una mayor acción teleoforética. Asimismo, menores concentraciones de IGF-I e insulina (Figura 2F), favorecen el catabolismo periférico que soporta la lactancia.

Por otro lado, insulina e IGF-I son las mismas hormonas que estimulan el desarrollo folicular y el reinicio a la ciclicidad ovárica luego del parto. Hemos demostrado que una mejor CC al parto (>3) se asocia con concentraciones de IGF-I más altas y anestros posparto más cortos (Meikle *et al.*, 2004). La relación insulina/GH/IGF-I y el día del nadir de balance energético influyen el crecimiento folicular y primera ovulación posparto (Beam y Butler, 1999). El reestablecimiento del BEN se refleja en el aumento de insulina e IGF-I, (Figura 2F) y se asocia con el comienzo del aumento de la ingesta y con el fin del desacople del eje somatotrófico.

Las vacas primíparas presentan mayor dificultad para recuperarse del BEN, reflejado esto a través del perfil metabólico y endócrino más desbalanceado y peores índices reproductivos que las multiparas (Meikle *et al.*, 2004, 2005; Cavestany *et al.* 2009a; Adrien *et al.*, 2012), proceso probablemente agravado por el estrés que implica su primera lactancia. Esto puede ser el resultado de que estos animales están en desarrollo, aunque también bajo condiciones pastoriles el efecto de dominancia por la disponibilidad de comida está presente (Grant y Albright, 2001). Además, se ha observado que la actividad de pastoreo durante el acceso a la pastura es baja y se observan muy bajas tasas de bocado en vacas primíparas recién paridas (Chilibroste *et al.*, 2012b).

La inmunodeficiencia que caracteriza al período de transición se puede observar en la disminución marcada de las globulinas (Figura 2E) y está asociada al marcado incremento de las patologías infecciosas reproductivas, mamarias, podales u otras (Blowey, 2005; de Torres, 2010). A nivel internacional hay acuerdo en que la incidencia de mastitis es más alta durante los primeros 70 días de lactación (Seegers *et al.*, 2003), lo que es consistente con estudios

nacionales (de Torres, 2010), en los que se encontró que el recuento celular por cuarto es significativamente más alto en el primer tercio de lactancia que en el segundo (odd ratio: 1.58). En un trabajo reciente, Rama *et al.* (2012) reportan que vacas positivas a Leucosis –es decir con densidades ópticas por encima de los controles positivos incluidos en los kits– presentaron una disminución en estos títulos que representan entre 40-60% de los niveles preparto iniciales (Figura 2E). Se demostró la existencia de falsos negativos desde el día -20 al +60, indicando que debe evitarse tomar muestras para diagnóstico serológico de enfermedades infecciosas en este período, al menos para Leucosis bovina. Además de las consideraciones respecto al diagnóstico, la inmunosupresión existente en este período podría modificar la carga de posibles patógenos presentes en la madre durante el periparto, es decir, el animal podría perder la capacidad de controlarlos, reactivando la infección y originando como consecuencia un aumento de su carga con las consecuencias obvias en el propio animal y en el rodeo.

Otras patologías se ven exacerbadas por el BEN que sufre la vaca lechera durante el período de transición. Ramos (2012) ha demostrado que para las condiciones productivas de Uruguay, las cojeras tienen mayor posibilidad de presentarse en la etapa de lactancia media (60-120 días posparto, dpp) respecto a la temprana (<60 días) o tardía (>120 dpp). Esto es consistente con estudios que demuestran que la condición corporal de las vacas está positivamente correlacionada con el espesor del cojinete plantar, el cual disminuye desde el primer mes de lactancia y alcanza su nadir a los 120 días posparto. La disminución del cojinete plantar –estructura compuesta fundamentalmente de tejido adiposo que disminuye presiones mecánicas en el pie– se asocia al aumento en la prevalencia de varias patologías podales (Bicalho *et al.*, 2009).

Nutrientes: énfasis en memoria metabólica y manejo nutricional diferenciales en el periparto

Los efectos del manejo nutricional sobre la producción de leche (cantidad y calidad) y los parámetros reproductivos han sido reportados exhaustivamente a nivel mundial. Sin embargo, los resultados son variables y frecuentemente contradictorios. Los diseños difieren en el grado de reservas corporales al parto (memoria metabólica), nivel de energía/proteína y fuente de la dieta, inclusión de nutrientes específicos, magnitud y duración del BEN, además de otros factores experimentales como raza, edad, momentos en

los cuales se aplica tratamientos nutricionales respecto al período de transición y a la toma de observaciones. Esto dificulta la comparación de resultados y la obtención de conclusiones prácticas de manejo, y es especialmente relevante en estudios sobre pastoreo controlado, debido a que la mayor parte de la información proviene de sistemas de producción de leche en condiciones de estabulación.

Todos nuestros experimentos han mostrado que vacas con mayor CC movilizan más reservas y presentan mayores concentraciones de NEFA que vacas con pobre CC en el preparto o al parto (Meikle *et al.*, 2004; Adrien *et al.*, 2012). En la Figura 3, se muestra la evolución de las vacas primíparas (L1) y multiparas (L2) con baja (low) o alta (high) CC, inducida nutricionalmente de los -100 a los -30 días preparto (Adrien *et al.*, 2012); a las tres semanas posparto no se encontraron diferencias de CC entre grupos.

Esta mayor oferta de reservas energéticas se visualizó en mayores producciones de leche corregida por grasa y de ácidos grasos polinsaturados (PUFA), como los omega 3 (4,8 vs 2,7 mg/g de ácido graso para alta y baja CC, respectivamente) y CLA (10,3 vs 7,3 mg/g de ácido graso para alta y baja CC, respectivamente) conocidos por su rol beneficioso en la salud humana. Las dietas pastoriles presentan una alta proporción de PUFA (50-75%) de los ácidos grasos totales (Dewhurst *et al.*, 2001), y por lo tanto hemos sugerido que vacas con alta CC presentan un mayor consumo de pasturas que no solo redundaría en contenidos más altos de PUFA ingeridos (Figura 3C, 3D), sino en una tasa de pasaje mayor que limita la hidrogenación ruminal de los mismos (Artegoitia *et al.*, 2012).

Las concentraciones de IGF-I durante el periparto y lactación temprana fueron mayores en las vacas multiparas de CC más alta inducida nutricionalmente (Adrien *et al.*, 2012). Las concentraciones de IGF-I se asociaron a su vez a un reinicio de la ciclicidad posparto más corto; las vacas con alta CC presentaron un anestro 15 días más corto que las de baja CC (Figura 3E, 3F, Adrien *et al.*, 2012). El reinicio a la ciclicidad ovárica afecta drásticamente los indicadores reproductivos de interés económico. En un estudio poblacional con determinaciones de progesterona en leche dos veces por semana durante los primeros 90 días posparto en aproximadamente 900 vacas lecheras se determinó que si un animal no reinicia la ciclicidad ovárica durante los primeros 60 días posparto presenta un alargamiento del intervalo parto primer servicio de 67 días (datos no publicados).

En nuestro país se han realizado numerosos trabajos de suplementación pre y posparto, pero relativamente po-

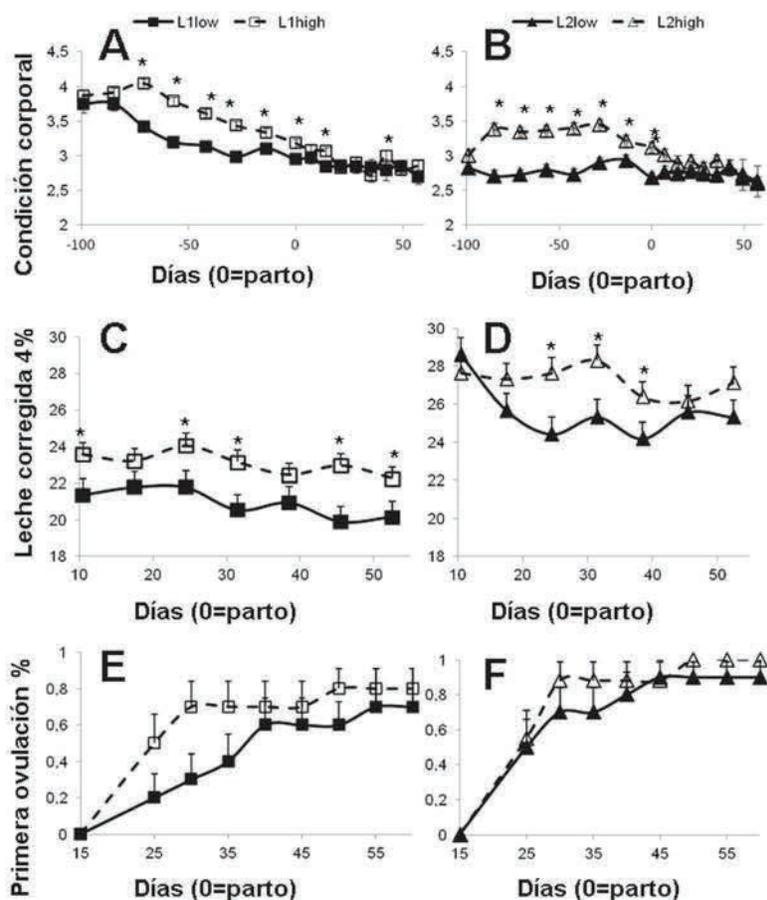
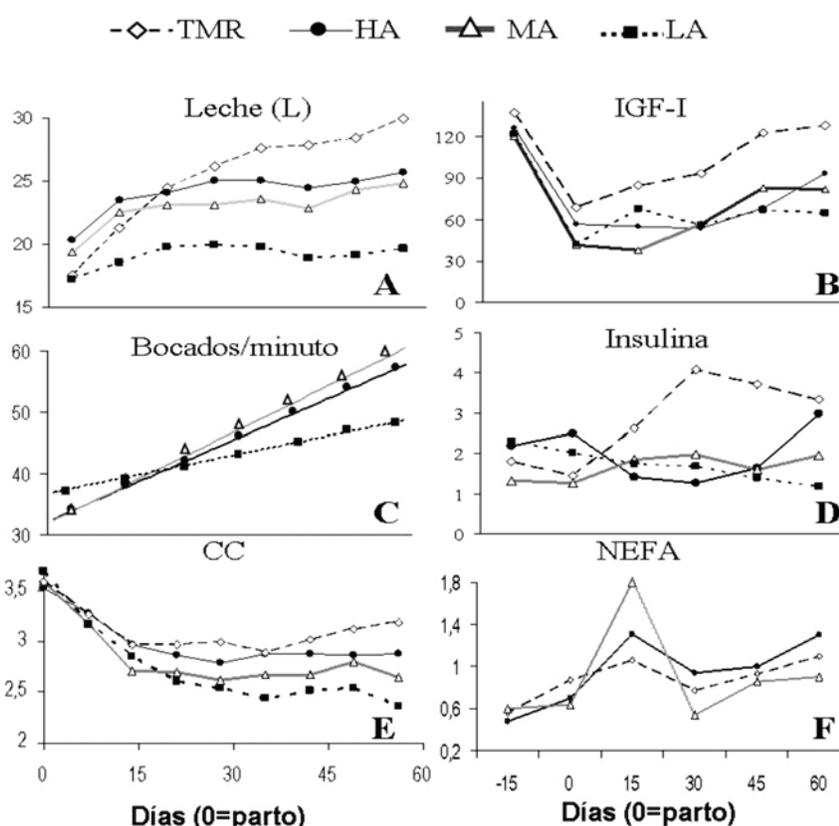


Figura 3. A/B) Evolución de la condición corporal. C/D) Leche corregida por grasa al 4%. E/F) Primera ovulación en vacas primíparas (L1) y múltiparas (L2) con alta (high) y baja (low) condición corporal un mes antes del parto. Gráficos insertos: ácidos grasos omega 3 (n-3) y ácido linoleico conjugado (CLA). Asteriscos $P < 0,05$ a vs b $P < 0,05$. Adrien *et al.*, 2012 y Artegoitia *et al.*, 2012.

cos trabajos incluyeron la determinación del anestro y los perfiles endócrinos. Ofertas de forraje diferenciales (7,5, 15 y 30 kg de materia seca (MS)/vaca/día) y TMR proporcionada *ad libitum* provocaron niveles de producción de leche y CC acorde a la oferta de nutrientes (Figura 4A, E, Chilbroste *et al.*, 2012b).

En dos experimentos distintos, se observó que la producción de las vacas TMR fue mayor que los grupos a pastoreo y esto fue consistente con una mayor densidad de nutrientes (Meikle *et al.*, 2012; Fajardo *et al.*, 2012), reflejándose en mayores concentraciones de insulina e IGF-I (Figura 4B, 4D; Meikle *et al.*, 2012). No se encontraron diferencias en producción de leche entre vacas con altas (HA) y medias (MA) ofertas de forraje (30 y 15 kg MS/vaca/día,

respectivamente), pero estas fueron mayores a vacas con bajas (LA) ofertas de forraje (7,5 kg MS/vaca/día). La probabilidad de pastoreo aumentó linealmente en vacas HA (0,39 min/100 min/día) y MA (0,44 min/100 min/día) a una tasa más alta que vacas LA (0,22 min/100 min/día) (Chilbroste *et al.*, 2012b). La tasa de bocado fue mayor en vacas HA y MA respecto LA. La baja de oferta de forraje modificó el comportamiento ingestivo ya que pastorearon menos tiempo y a menores tasas de bocado. Esto se reflejó a partir de la segunda semana posparto en la producción de leche, la cual fue menor que en los otros grupos (Figura 4A). Sin embargo, el grupo de media oferta (MA) mantuvo una producción de leche comparable con el grupo de alta (HA), y observando el perfil endocrino-metabólico (Figura



4B, 4D) se puede sugerir que compensó esta producción con una movilización mayor de reservas (Figura 4E). Las concentraciones más altas de NEFA (Figura 4F) y más bajas de urea (datos no mostrados) en el grupo MA respecto vacas TMR y HA durante el primer mes posparto fue consistente con el reinicio a la ciclicidad ovárica posparto demorado en vacas MA (datos no mostrados).

Otros reportes nacionales han utilizado la suplementación estratégica para la mejora de los índices reproductivos. Cavestany *et al.* (2009a), suministrando una suplementación energética durante tres semanas preparto a vacas multiparas, reportaron una mayor producción de leche y un anestro 12 días más corto en el grupo suplementado, asociado a una mayor concentración preparto de IGF-I, insulina y leptina. Estos resultados se confirmaron en un experimento posterior (Cavestany *et al.*, 2009b), donde una suplementación energética durante tres semanas preparto redujo la longitud del anestro preparto en vacas multiparas en 15 días, aunque no hubo efecto en vacas primíparas. Por otra parte, la adición de la semilla de girasol a la dieta

durante los primeros dos meses posparto promovió la ovulación en vacas primíparas, pero esto no se observó en vacas multiparas (Mendoza *et al.*, 2008), confirmando una vez más la relevancia de la categoría animal en el desempeño reproductivo, aún en respuesta a tratamientos nutricionales. Los autores atribuyeron estos efectos a una densidad energética mayor y/o a la presencia de elementos nutracéuticos en la semilla del girasol.

Líneas genéticas, cruza y marcadores moleculares

En función de las consideraciones realizadas, respecto de los objetivos de producción definidos en nuestro país, resulta de interés la evaluación comparativa productiva y reproductiva de vacas de diferentes líneas genéticas. Se estudió el desempeño de vacas Holando Uruguayo (HU) y crza Holstein Friesien Neocelandesa (HU-HFNZ) seleccionadas por mérito económico en la lactancia previa en un mismo ambiente productivo. La producción acumulada de

leche, grasa, proteína y sólidos totales a 305 días de lactancia no fueron afectadas por la línea genética; sin embargo, las vacas HU produjeron $0,5 \pm 0,23$ L/d más de leche que las HU-HFNZ en los primeros 240 días de lactancia (Pereira *et al.*, 2010a). Los porcentajes de grasa y lactosa fueron mayores y los de proteína tendieron a ser mayores en las vacas HU-HFNZ que en las HU. Las vacas HU fueron 49 ± 3 kg más pesadas que las HU-HFNZ y produjeron menos sólidos en leche por kg de peso metabólico. El porcentaje de preñez a los primeros 40 días de servicio fue mayor y la preñez general tendió a ser mayor en las vacas HU-HFNZ que en las HU. Las concentraciones de los ácidos grasos no esterificados y de β -hidroxibutirato aumentaron en torno al parto y fueron mayores en las vacas HU (Pereira *et al.*, 2010b). La eficiencia -producción de sólidos de leche por peso metabólico- fue mayor en las vacas HU-HFNZ fundamentalmente debido al menor peso vivo de estas, así como también el desempeño reproductivo. Las diferencias en las variables endócrinas y metabólicas observadas en ambas líneas genéticas sugieren una partición de nutrientes y energía diferente; en la que las vacas HU utilizan mayor energía proveniente de las reservas corporales, mientras que en las HU-HFNZ habría un menor gasto de energía de mantenimiento (Pereira *et al.*, 2010b).

La información generada respecto a cruza lecheras es incipiente; hemos estudiado el comportamiento productivo y reproductivo de vacas primíparas de hijas de madres Holando Uruguayas y padres Holando americano (HA), y de vacas primíparas cruza Holando Uruguayo con Holando Neozelandés (HNZ), Sueca Roja y Blanca (RBS) y Jersey (J) (Dutour *et al.*, 2010a, 2010b). La producción de leche del grupo HA ($17,5 \pm 0,37$ kg/día) fue superior a las cruza RBS y J ($16,0 \pm 0,36$ kg/día y $15,1 \pm 0,35$ kg/día, respectivamente), mientras que no difirió significativamente del grupo HNZ ($17,0 \pm 0,36$ kg/día). Sin embargo, cuando se analizó la producción de leche según el peso metabólico no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos genéticos. El grupo J fue significativamente más liviano que el resto de los genotipos, los cuales no variaron entre ellos. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos genéticos para varios indicadores reproductivos, pero las cruza J presentaron mayor proporción de vacas preñadas a los 21 y 42 días de inicio del período de inseminación.

Finalmente y como se mencionó anteriormente, si bien los kits comerciales de marcadores moleculares están disponibles en Uruguay y son utilizados en algunos sistemas

de producción, no hemos encontrado estudios al respecto. Nuestros avances respecto a marcadores moleculares, caracteres fenotípicos de interés y endocrinología metabólica se han centrado en la hormona del crecimiento (GH-Alul) y su mediador, el IGF-I (IGF-I-Snab I) (Ruprechter *et al.*, 2011). Estos marcadores no presentaron efectos relevantes en parámetros productivos. Sin embargo, un sitio polimórfico (transición T (alelo A) por C (alelo B) ubicado en la región promotora del gen IGF-I y detectado por la Snab I) se asoció con el intervalo parto-primer servicio en vacas primíparas, presentando las vacas genotipo BB intervalos más largos (Ruprechter *et al.*, 2011). Estos resultados son consistentes con estudios anteriores en los que las vacas BB presentaron anestros más largos (datos no publicados). Los hallazgos más relevantes se centraron en los efectos encontrados de los genotipos de GH e IGF-I sobre los perfiles endócrinos y metabólicos, constituyendo el primer reporte internacional que encuentra asociación en vacas lecheras durante el período de transición.

Consideraciones finales

De este documento se desprende la complejidad del sistema biológico que implica la vaca lechera en transición y el medio ambiente productivo. Se demuestra que el manejo nutricional y la genética tienen impactos de relevancia en la endocrinología metabólica durante el período de transición que se asocia con desempeños reproductivos diferenciales. Se debe considerar que contribuir en la mejora de un parámetro productivo no implica necesariamente la mejora de la eficiencia económica. Aspectos que usualmente no se toman en cuenta, tales como las variables reproductivas, la salud animal, así como también el mantenimiento a largo plazo del ecosistema pastoril, son parte de la respuesta existente a los manejos realizados por el hombre en el sistema lechero.

Agradecimientos

La primera autora quiere dedicar este trabajo y agradecer a la profesora Dra. Elsa G. Garófalo por su esfuerzo y constancia rigurosa en la construcción de nuestra comunidad científica y al profesor Dr. Mats Forsberg por su apuesta generosa en la formación de jóvenes uruguayos. En este trabajo se incluyen parcialmente resultados de 11 tesis de posgrado recientes o en marcha, los estudiantes respectivos son coautores del mismo.

Bibliografía

- Adrien ML, Mattiauda DA, Artegoitia V, Carriquiry M, Motta G, Bentancour O, Meikle A. 2012. Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*, 6(2): 292-299.
- Artegoitia V, Meikle A, Olazábal L, Damián JP, Adrien ML, Mattiauda D, Bermudez J, Torre A, Carriquiry M. 2012. Milk casein and fatty acid fractions in early lactation are affected by nutritional regulation of body condition score at the beginning of the transition period in primiparous and multiparous cows under grazing conditions [pre-print]. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*.
- Astessiano AL, Chilibröste P, Fajardo M, Laporta J, Gil J, Mattiauda D, Meikle A, Carriquiry M. 2012. Hepatic expression of GH-IGF axis genes in Holstein cows with different nutritional managements during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 95(E-Suppl 2): 348.
- Bauman DE, Mather IH, Wall RJ, Lock AL. 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science*, 89: 1235-1243.
- Bauman DE, Currie WB. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63: 1514-529.
- Beam SW, Butler WR. 1999. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 54: 411-424.
- Benjamin S, Spener F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits *Nutrition and Metabolism*, 18: 6-36.
- Bicalho RC, Machado VS, Caixeta LS. 2009. Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion. *Journal of Dairy Science*, 92: 3175-3184.
- Blowey RW. 2005. Factors associated with lameness in dairy cattle. *Farm Animal Practice*, 27: 159-160
- Brown RE. 1969. The conversion of nutrients into milk. En: Swan H, Lewis D. [Eds]. Third nutrition conference for feed manufacturers. London: The University of Nottingham. pp. 23-59.
- Carriquiry M, Adrien L, Artegoitia V, Mattiauda D, Meikle A. 2010. Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in dairy cows on grazing conditions: hepatic expression of fatty acid metabolism genes. *Journal of Dairy Science*, 93(E-Suppl 1): 390.
- Cavestany D, Kulcsár M, Crespi D, Chilliard Y, La Manna A, Balogh O, Keresztes M, Delavaud C, Huszenicza G, Meikle A. 2009a. Effect of prepartum energetic supplementation on productive and reproductive characteristics, and metabolic and hormonal profiles in dairy cows under grazing conditions. *Reproduction in Domestic Animals*, 44: 663-671.
- Cavestany D, Viñoles C, Crowe MA, La Manna A, Mendoza A. 2009b. Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-based system. *Animal Reproduction Science*, 114: 1-9.
- Cavestany D, Blanc JE, Kulcsar M, Uriarte G, Chilibröste P, Meikle A, Febel H, Ferraris A, Krall E. 2005. Studies of the transition cow under and pasture-based milk production system: metabolic profiles. *Journal of Veterinary Medicine A*, 52: 1-7.
- Chilibröste P, Soca P, Mattiauda D. 2012a. Estrategias de alimentación en Sistemas de Producción de Leche de base pastoril. En: Pasturas 2012: Hacia una ganadería competitiva y sustentable. Balcarce: INTA. pp. 91-100.
- Chilibröste P, Mattiauda D, Soca P, Bentancour O, Meikle A. 2012b. Effect of herbage allowance on grazing behaviour and productive performance of early lactation primiparous Holstein cows. *Animal Feed Science and Technology*, 173: 201-209.
- de Torres E. 2010. Estudio de la evolución del recuento celular y el aislamiento bacteriano durante la lactancia en vacas lecheras [Tesis de Maestría]. Montevideo: Facultad de Veterinaria. 85p.
- Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, Keisler DH, Gertler A, Kann G. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *Journal of Endocrinology*, 165: 519-526.
- Dewhurst RJ, Scollan ND, Youell SJ, Tweed JKS, Humphreys M. 2001. Influence of species, cutting date and cutting interval on the fatty acid composition of grasses. *Grass Forage Science*, 56: 68-74.
- Dhiman TR, Anand GR, Satter LD, Pariza MW. 1999. Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 82: 2146-2156.
- DIEA. 2011. Anuario Estadístico Agropecuario 2011. [En línea]. Montevideo: MGAP. 246p. Consultado 8 mayo 2013. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/Dieaanterior/Anuario2011/DIEA-Anuario-2011-web.pdf>.
- Dutour EJ, Laborde D, Chilibröste P. 2010a. Producción y composición de leche de vacas primíparas de diferentes grupos raciales en un sistema pastoril. *Revista Argentina Producción Animal*, 30(1): 106-107.
- Dutour EJ, Laborde D, Meikle A, Chilibröste P. 2010b. Comportamiento reproductivo de vacas primíparas de diferentes grupos raciales en un sistema pastoril. *Revista Argentina Producción Animal*, 30(1): 108.
- Fajardo M, Mattiauda D, Meikle A, Carriquiry M, Gil J, Motta G, Guala G, Ortega G, Pelaez D, Sorhouet P, Souza F, Chilibröste P. 2012. Performance of Holstein dairy cows under different feeding strategies in early lactation *Journal of Dairy Science*, 95(E-Suppl 2): 367.
- Goff JP, Horst RL. 1997. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80: 1260-1268.
- Grant RJ, Albright JL. 2001. Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 84(E. Suppl.): E156-E163.
- Grummer RR. 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73: 2820-2833.
- Gutierrez CG, Gong JG, Bramley TA, Webb R. 2006. Selection on the predicted breeding value for milk production delays ovulation independently of changes in follicular development milk production and body weight. *Animal Reproduction Science*, 95: 193-205.
- Herr M, Bostedt H, Failing K. 2011. IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology*, 75: 377-385.
- Kehrli ME, Nonnecke BJ, Roth JA. 1989. Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *American Journal of Veterinary Research*, 50: 215-220.
- Kobayashi Y, Boyd CK, Bracken CJ, Lamberson WR, Keisler DH, Lucy MC. 1999. Reduced growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, 140: 3947-3954.
- Kolver ES, Müller LD. 1998. Performance and nutrient intake of high producing Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 81: 1403-1411.
- Lucy MC. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science*, 84: 1277-1285.

- Meikle A, Adrien L, Mattiauda D, Chilibruste P. 2012. Sward condition on metabolic endocrinology during early postpartum in primiparous grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(E-Suppl 2): 289.
- Meikle A, Kulcsar M, Crespi D, Chilliard Y, La Manna A, Balogh O, Keresztes M, Delavaud C, Huszenicza G, Cavestany D, Chilibruste P. 2006. Suplementación energética posparto, perfiles endocrinos y longitud del anestro posparto en vacas lecheras. En: XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría 2006. Paysandú: Santa Elena. pp. 179-181.
- Meikle A, Cavestany D, Ferraris A, Blanc EJ, Elizondo F, Chilibruste P. 2005. Efecto del manejo de la alimentación durante el período de transición sobre la primera ovulación posparto en vacas primíparas y múltiparas. En: XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú: Santa Elena. pp. 226-227.
- Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibruste P. 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*, 127: 727-737.
- Mendoza A, La Manna A, Crespi D, Crowe MA, Cavestany D. 2008. Whole sunflower seeds as a source of polyunsaturated fatty acids for grazing dairy cows: Effects on metabolic profiles and resumption of postpartum ovarian cyclicity. *Livestock Science*, 119: 183-193.
- Pariza MW, Park Y, Cook ME. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Lipid Research*, 40(4): 283-298.
- Pereira I, Laborde D, Carriquiry M, Lopez Villalobos N, Meikle A. 2010a. Productive and reproductive performance of Uruguayan Holstein and Uruguayan Holstein x New Zealand Holstein Friesian cows in a predominantly pasture-based system. *Proceedings New Zealand Society of Animal Production*, 70: 306-310.
- Pereira I, Laborde D, Carriquiry M, López-Villalobos N, Meikle A. 2010b. Blood metabolic profiles in Uruguayan Holstein and Uruguayan Holstein x New Zealand Holstein-Friesian dairy cows. *Proceedings New Zealand Society of Animal Production*, 70: 311-315.
- Rama G, Pritsch O, Adrien ML, Moratorio G, Meikle A. 2012. Análisis del descenso de anticuerpos en el periparto y su impacto en el diagnóstico serológico de la Leucosis Enzootica Bovina. *Veterinaria Montevideo*, 48(185): 11-17.
- Ramos JM. 2012. Factores de riesgo para la enfermedad podal en sistemas de producción de leche pastoriles y cortisol como indicador de estrés en la enfermedad podal [Tesis de Maestría]. Montevideo: Facultad de Agronomía. 130p.
- Ramos JM. 2007. El riesgo de la rutina. *Infortambo*: 9-96.
- Roche JF, Mackey D, Diskin MD. 2000. Reproductive management of postpartum cows. *Animal Reproduction Science*, 60-61: 703-712.
- Rovere G, Sotelo F, Valena J, Slavica J. 2007. Mejoramiento Lechero y el monitoreo reproductivo de los tambos uruguayos [Cd-Rom]. En: IX Congreso Holstein de las Américas; abril 2007; Colonia, Uruguay.
- Royal MD, Flint APF, Woolliams JA. 2002. Genetic and phenotypic relationships among endocrine and traditional fertility traits and production traits in Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 958-967.
- Rupprechter G, Carriquiry M, Ramos J, Pereira I, Meikle A. 2011. Metabolic and endocrine profiles and reproductive parameters in dairy cows under grazing conditions: effect of polymorphisms in somatotropic axis genes. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53: 35-40.
- Seegers H, Fourichon Ch, Beaudeau F. 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34: 475-491.
- Tamminga S, Luteijn PA, Meijer RGM. 1997. Changes in composition and energy content of liveweight loss in dairy cows with time after parturition. *Livestock Production Science*, 52: 31-38.
- Vangroenweghe F, Lamote I, Burvenich C. 2005. Physiology of the periparturient period and its relation to severity of clinical mastitis. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(2): 283-293.