

METABOLISMO DE LA VACA DE CARNE Y SU CRÍA EN PASTOREO DE CAMPO NATIVO: UN ENFOQUE ENDÓCRINO-MOLECULAR

Proyecto FPTA-262 Evaluación de la variación de la oferta de forraje del campo natural, del grupo genético y de la suplementación preparto sobre la respuesta productiva-reproductiva de la vaca de carne y su cría

Directora del Proyecto: Mariana Carriquiry¹

Equipo de trabajo: Mariana Carriquiry, Ana Espasandín, Pablo Soca, Ana Laura Astessiano, Alberto Casal, Verónica Guitérrez, Jimena Laporta, Carlos López-Mazz, Raquel Pérez-Clariget
Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR
Alejandro Bielli. Departamento de Morfología y Desarrollo, Facultad de Veterinaria, UdelaR
Ana Meikle. Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, UdelaR
Hugo Naya. Bioinformática, Instituto Pasteur Montevideo
Graciela Quintans. INIA Treinta y Tres. Carolina Viñoles. INIA Tacuarembó
Antonia Scarsi. Facultad de Ciencias Agrarias, UDE
Guilherme J. M. Rosa. Quantitative Genetics and Genomics, University of Wisconsin-Madison

¹Ing.Agr., PhD. Prof. Adj, Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR

Título: METABOLISMO DE LA VACA DE CARNE Y SU CRÍA EN PASTOREO DE CAMPO NATIVO: UN ENFOQUE ENDÓCRINO-MOLECULAR

Directora del Proyecto: Mariana Carriquiry

Equipo de trabajo: Mariana Carriquiry, Ana Espasandín, Pablo Soca, Ana Laura Astessiano, Alejandro Bielli, Alberto Casal, Verónica Guitérrez, Jimena Laporta, Carlos López-Mazz, Ana Meikle, Hugo Naya, Graciela Quintans, Raquel Pérez-Clariget, Antonia Scarsi, Guilherme J. M. Rosa, Carolina Viñoles

Serie: FPTA N° 43

© 2013, INIA

Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia del Tecnología del INIA

Andes 1365, Piso 12. Montevideo - Uruguay
<http://www.inia.org.uy>

Quedan reservados todos los derechos de la presente edición. Esta publicación no se podrá reproducir total o parcialmente sin expreso consentimiento del INIA.

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Integración de la Junta Directiva

Ing. Agr., MSc., PhD. Álvaro Roel - Presidente

D.M.T.V., PhD. José Luis Repetto - Vicepresidente



D.M.V. Álvaro Bentancur

D.M.V., MSc. Pablo Zerbino



Ing. Agr. Joaquín Mangado

Ing. Agr. Pablo Gorriti



FONDO DE PROMOCIÓN DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA

El Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA) fue instituido por el artículo 18º de la ley 16.065 (ley de creación del INIA), con el destino de financiar proyectos especiales de investigación tecnológica relativos al sector agropecuario del Uruguay, no previstos en los planes del Instituto.

El FPTA se integra con la afectación preceptiva del 10% de los recursos del INIA provenientes del financiamiento básico (adicional del 40/00 del Impuesto a la Enajenación de Bienes Agropecuarios y contrapartida del Estado), con aportes voluntarios que efectúen los productores u otras instituciones, y con los fondos provenientes de financiamiento externo con tal fin.

EL FPTA es un instrumento para financiar la ejecución de proyectos de investigación en forma conjunta entre INIA y otras organizaciones nacionales o internacionales, y una herramienta para coordinar las políticas tecnológicas nacionales para el agro.

Los proyectos a ser financiados por el FPTA pueden surgir de propuestas presentadas por:

a) los productores agropecuarios, beneficiarios finales de la investigación, o por sus instituciones.

b) por instituciones nacionales o internacionales ejecutoras de la investigación, de acuerdo a temas definidos por sí o en acuerdo con INIA.

c) por consultoras privadas, organizaciones no gubernamentales o cualquier otro organismo con capacidad para ejecutar la investigación propuesta.

En todos los casos, la Junta Directiva del INIA decide la aplicación de recursos del FPTA para financiar proyectos, de acuerdo a su potencial contribución al desarrollo del sector agropecuario nacional y del acervo científico y tecnológico relativo a la investigación agropecuaria.

El INIA a través de su Junta Directiva y de sus técnicos especializados en las diferentes áreas de investigación, asesora y facilita la presentación de proyectos a los potenciales interesados. Las políticas y procedimientos para la presentación de proyectos son fijados periódicamente y hechos públicos a través de una amplia gama de medios de comunicación.

El FPTA es un instrumento para profundizar las vinculaciones tecnológicas con instituciones públicas y privadas, a los efectos de llevar a cabo proyectos conjuntos. De esta manera, se busca potenciar el uso de capacidades técnicas y de infraestructura instalada, lo que resulta en un mejor aprovechamiento de los recursos nacionales para resolver problemas tecnológicos del sector agropecuario.

El Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria contribuye de esta manera a la consolidación de un sistema integrado de investigación agropecuaria para el Uruguay.

A través del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA), INIA ha financiado numerosos proyectos de investigación agropecuaria a distintas instituciones nacionales e internacionales. Muchos de estos proyectos han producido resultados que se integran a las recomendaciones tecnológicas que realiza la institución por sus medios habituales.

En esta serie de publicaciones, se han seleccionado los proyectos cuyos resultados se considera contribuyen al desarrollo del sector agropecuario nacional. Su relevancia, el potencial impacto de sus conclusiones y recomendaciones, y su aporte al conocimiento científico y tecnológico nacional e internacional, hacen necesaria la amplia difusión de estos resultados, objetivo al cual se pretende contribuir con esta publicación.

CONTENIDO

	Pág.
METABOLISMO DE LA VACA DE CARNE Y SU CRÍA EN PASTOREO DE CAMPO NATIVO: UN ENFOQUE ENDÓCRINO-MOLECULAR.....	9
1. EFECTO DE LA ASIGNACIÓN DE FORRAJE DE CAMPO NATIVO EN VACAS DE CARNE DE DIFERENTE GRUPO GENÉTICO I: PERFILES ENDÓCRINOS Y EXPRESIÓN HEPÁTICA DE GENES DEL EJE SOMATOTRÓFICO	17
2. GENÓMICA FUNCIONAL DE LAS ADAPTACIONES METABÓLICAS DEL HÍGADO DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: VACAS DE CARNE PURAS Y SUS CRUZAS EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE DE CAMPO NATIVO	27
3. CARACTERÍSTICAS FOLICULARES Y EXPRESION UTERINA DE VACAS DE CARNE PURAS Y CRUZAS EN DOS EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE DE DE CAMPO NATIVO	41
4. PRODUCCION DE LECHE DE VACAS PURAS Y CRUZAS PASTOREANDO ALTA Y BAJA OFERTA DE FORRAJE DEL CAMPO NATIVO	47
5. NUTRICIÓN DEL TERNERO DURANTE LA ETAPA FETAL Y EL PRIMER AÑO DE VIDA EN SISTEMAS DE PASTOREO: IMPACTO EN EL CRECIMIENTO, COMPOSICIÓN CORPORAL Y CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO MUSCULAR	53
6. EFECTO SOBRE LA EDAD Y EL PESO VIVO A LA PUBERTAD Y LA FERTILIDAD DE TERNERAS HIJAS DE VACAS ADULTAS MANEJADAS DURANTE LA GESTACIÓN EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE: 4 y 2.5 kg MS/kgPV	61
7. EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN CORTA PREPARTO EN LA EXPRESIÓN HEPÁTICA DE LOS GENES DEL EJE SOMATOTRÓFICO EN VACAS MULTIPARAS Y PRIMIPARAS PARA CARNE	67
8. SUPLEMENTACION PREPARTO Y SU IMPACTO EN LOS TERNEROS: EJE SOMATOTROFICO Y SU RELACION CON EL CRECIMIENTO Y POTENCIAL REPRODUCTIVO	81

M. Carriquiry*

*Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR.

METABOLISMO DE LA VACA DE CARNE Y SU CRÍA EN PASTOREO DE CAMPO NATIVO: UN ENFOQUE ENDÓCRINO-MOLECULAR

Proyecto FPTA 262

Período de Ejecución: Ene.2009-Dic.2011

INTRODUCCIÓN

La cría de bovinos de carne en nuestro país involucra 7.5 millones de cabezas y 7.6 millones de hectáreas, que significan el 51% de las hectáreas ganaderas (bovinos y ovinos) (DIEA, 2011). La producción de carne basada en ecosistemas pastoriles (campo nativo), resulta en importantes aportes a la economía nacional y han tenido, en los últimos años, un fuerte incremento. Este aumento de la producción se explica fundamentalmente por un aumento de la faena basado en el aumento de eficiencia de la recría con disminución de la edad de faena y aumento de la disponibilidad de vaquillonas, que ha permitido aumentar la faena de vacas sin afectar en número de vacas entoradas. Sin embargo, este proceso parece agotarse, por lo tanto es necesario aumentar la producción de terneros por vaca entorada para seguir aumentando la tasa de extracción (<http://www.inia.org.uy/online/site/31583811.php>). Es así que el reducido porcentaje de destete, que durante las últimas tres décadas ha sido 64% (DIEA, 2011), afecta el resultado físico-económico de la empresa y limita la expansión exportadora del complejo cárnico uruguayo.

Uruguay cuenta con alternativas de bajo costo que combinan manejos del recurso forrajero, del estado corporal, del amamantamiento (destete temporario y precoz), de la suplementación pre y posparto en vacas primíparas y multíparas (Perez-Clariget *et al.*, 2007; Quin-

tans *et al.*, 2008; Simeone y Beretta, 2002; Rovira y Frachia, 2005; Soca *et al.*, 2008; Astessiano *et al.*, 2011), así como el manejo del genotipo de los animales (Espasandin *et al.*, 2010) que buscan incrementar los porcentajes de preñez y destete con el objetivo de incrementar así el ingreso económico del sistema criador. Sin embargo, la investigación sobre los mecanismos biológicos que explican esta respuesta es escasa. Asimismo, el aumento de las prácticas de forestación y agricultura ha provocado una mayor competencia entre rubros, trayendo como consecuencia una elevada carga animal por hectárea y un aumento en el precio de la tierra y de las categorías de recría y cría (DIEA, 2011). En este marco, la investigación en producción animal debe incorporar el conocimiento de los procesos y mecanismos que operan a diversas escalas para mejorar la eficiencia de la productividad sin deteriorar el ambiente. Es necesaria la generación de nuevos conocimientos sobre los mecanismos internos metabólicos, endócrinos y/o moleculares para intentar mejorar el comportamiento productivo y reproductivo, atenuar la variabilidad climática y/o efecto año, e incrementar la eficiencia global de utilización de vacas de cría pastoreando campo nativo.

En nuestros sistemas de producción, la cría se lleva a cabo principalmente en pastoreo de campo nativo, en el cual la producción estacional, las variaciones climáticas intra e inter-anales, y las diferencias en la calidad de la pastura ofrecida (Berreta *et al.*, 2000), determi-

nan que el aporte de nutrientes a la vaca resulte la principal limitante del proceso (Wright *et al.*, 1992). Esto provoca fluctuaciones en el estado nutricional de la vaca en momentos críticos del ciclo productivo que impactan negativamente sobre el comportamiento reproductivo de los rodeos de cría (Orcasberro, 1994).

El largo del anestro posparto (período comprendido entre el parto y el primer celo) es considerado como la mayor limitante en el comportamiento reproductivo de la vaca de cría tanto a nivel nacional (Quintans, 2008) como internacional (Hess *et al.*, 2005). Se han reportado duraciones del período de anestro mayores a 120 días en vacas primíparas (Quintans y Vázquez, 2002) o de 92 días en promedio en vacas adultas paridas (Quintans *et al.*, 2004). De manera similar, en ocho años de monitoreo del entore, llevado a cabo entre la mitad y el final del segundo mes del período de servicio, dependiendo del año, se encontraron en promedio de 9 a 35% de las vacas con cría al pie en anestro (de Nava, 2008). Esto significa que un alto porcentaje de las hembras entre al entore sin ciclar. Además, para que los ciclos productivos-reproductivos sean exitosos, una vaca de cría no solo debe comenzar a ciclar sino también quedar preñada. Las tasas de fertilización en ganado de carne, son generalmente altas (entre 90 y 100%) pero solo 70% de todas las fertilizaciones resulta en un ternero nacido, resultando 30% de las mismas pérdidas embrionarias, de las cuales casi el 65% ocurre entre los días 6 y 18 del preñez, sugiriéndose que el mayor problema se encuentra en defectos en el mecanismo de reconocimiento materno (Diskin y Morris, 2008).

Por otra parte, el plano nutricional de las vacas de cría, no solo afecta su eficiencia reproductiva, sino también la productividad futura de la cría. El concepto de programación fetal se refiere a que el estímulo materno durante el desarrollo fetal influye la fisiología del feto, el crecimiento, la salud y el desempeño posnatal (Barker *et al.*, 1993). Ciminski (2002), mostró mejores tasas de crecimiento desde el nacimiento hasta la faena en novillos nacidos de vacas suplementadas con proteína durante el último trimestre de gestación. Sin embargo, Staker *et al.* (2006) reportó que la suple-

mentación preparto afectó el peso al destete pero no la ganancia diaria posdestete o el peso de la carcasa. Los datos relacionados con el efecto de la nutrición en gestación en ganado de carne, sobre la capacidad reproductiva de la progenie son limitados (Martin *et al.*, 2008). Una restricción del 65% del requerimiento de energía durante los últimos 100 días de preñez en vaquillonas de primera cría, disminuyó el peso vivo de los terneros y redujo el porcentaje de destete cuando se comparó con vaquillonas alimentadas de acuerdo a sus requerimientos (NRC, 1970). La edad a pubertad de vaquillonas nacidas de vacas de primera cría que fueron restringidas en su consumo de energía durante la gestación se incrementó 19 días (Corah *et al.*, 1975). De manera similar, Martin *et al.* (2008) demostraron que la nutrición de la madre durante los últimos tres meses de gestación afectó el peso posdestete y la fertilidad de la progenie hembra.

En condiciones pastoriles, a diferencia de la vaca de leche en estabulación donde el consumo de materia seca y energía no es limitante, las diferencias en la asignación de forraje de las pasturas nativas pueden afectar el consumo de energía de la vaca (Chapman *et al.*, 2007) y/o los requerimientos de mantenimiento (Brosh *et al.*, 2007). En particular, la baja producción invernal de forraje, coincide con el momento en el que las vacas se encuentran en gestación avanzada o inicio de lactancia y determina un período de balance energético negativo (BEN), debido a que los requerimientos de gestación e inicio de lactancia no son satisfechos por el consumo de energía (Bell, 1995). La capacidad del animal para adaptarse y sobrellevar períodos de BEN depende de la capacidad de los mecanismos endócrinos y metabólicos de mantener la homeostasis (equilibrio de las condiciones internas; Chilliard *et al.*, 1998). El control del metabolismo de la hembra rumiante durante la gestación y lactación involucra principalmente la regulación homeorética. La homeorhesis refiere a la regulación que involucra cambios coordinados de largo plazo en el metabolismo de los tejidos y órganos para apoyar un estado y función fisiológica (crecimiento, gestación, lactación, pubertad, entre otros) de manera de lo-

grar un nuevo equilibrio homeostático (mantenimiento constante del condiciones internas). La partición (flujo direccional) de los nutrientes durante la preñez y lactancia, involucra cambios homeoréticos para asegurar el correcto crecimiento del feto y desarrollo de la glándula mamaria o producción de leche. Este control implica mecanismos de corto plazo, fundamentalmente modificaciones en la actividad enzimática, y de largo plazo que involucran cambios en la expresión génica regulando la velocidad de síntesis de las enzimas involucradas en el metabolismo animal (Bauman, 2000).

Es así que, este trabajo se enmarcó en el área de la comprensión de los mecanismos que regulan la partición de nutrientes y la homeostasis del metabolismo energético en vacas de carne en respuesta a diferentes estrategias de alimentación, relacionado estos mecanismos con las respuesta productivas y reproductivas. En este sentido, Loor (2010) plantea que importantes avances podrían lograrse con la integración de datos generados a nivel del ARNm, proteínas, metabolitos y tejidos en diferentes estrategias de alimentación y con vacas de diferente mérito genético de manera de poder mejorar los modelos metabólicos existentes y proveer de herramientas para la manipulación de procesos complejos que puedan tener un impacto económico en el largo plazo.

Este proyecto buscó continuar la línea de investigación del proyecto «Estudio de la mejora en la eficiencia bioeconómica de la cría vacuna mediante la combinación de diferentes recursos genéticos y ofertas de forraje en pastoreo de campo natural» (INIA-FPTA 242). El mismo tenía como objetivo evaluar medidas estratégicas (combinación de diferentes recursos genéticos y oferta de forraje) con el fin de clarificar los mecanismos de largo plazo que afectan la eficiencia reproductiva del ganado de carne y medidas tácticas (suplementación posparto de corta duración: flushing en vacas de primera cría) buscando levantar restricciones/variabilidad de la oferta de forraje del campo natural. Adicionalmente, se planteó complementar la información obtenida en el proyecto «Efec-

to de una suplementación corta durante el parto sobre variables productivas y reproductivas en vacas primíparas y multíparas» (INIA-Treinta y Tres) que tenía como objetivo la utilización suplementaciones de corta duración durante el último tercio de gestación sobre el eje reproductivo de las vacas de cría.

Es así que, se pretendió abordar los siguientes aspectos no considerados o contemplados en proyectos anteriores:

1. Identificación de factores genéticos involucrados en la interacción nutrición-producción-reproducción y su relación con las variables metabólicas y endocrinas en vacas de cría.
2. Evaluación del efecto de las medidas estratégicas sobre el ovario y el ambiente uterino de vacas de cría.
3. Identificación del efecto del manejo nutricional durante la gestación y lactancia temprana de las madres (medidas estratégicas y alternativa táctica) sobre el potencial de crecimiento y reproducción de los terneros/as (fetal programming).

OBJETIVO GENERAL

Contribuir al incremento de la eficiencia reproductiva de los rodeos ganaderos del Uruguay mejorando los resultados biológicos-económicos de la cría vacuna sin comprometer la sustentabilidad del sistema.

OBJETIVO ESPECÍFICO

Generar propuestas estratégicas y alternativas tácticas que mejoren las respuestas productivas- reproductivas de las vacas de carne y sus crías, clarificando los mecanismos de largo plazo involucrados en la interacción nutrición-genética-producción- reproducción e identificando genes candidatos que participan en esta interacción en nuestros sistemas pastoriles.

Este objetivo específico se tradujo en 4 productos:

Producto 1: Determinar el efecto de la oferta de forraje en primavera- verano-otoño del campo natural, en vacas multíparas de distintos tipos genéticos (Hereford y Angus, puros y cruza), sobre los cambios temporales en el perfil de expresión génica hepática como resultado del inicio del amamantamiento y su impacto sobre el crecimiento, desarrollo y características del folículo ovárico y sobre el ambiente materno para el mantenimiento de la preñez, determinando la relación entre los cambios de expresión génica, el balance energético y las variables metabólicas, endocrinas, productivas y reproductivas e identificando genes candidatos que estén relacionados con las respuestas productivas y reproductivas.

Producto 2: Determinar el efecto de la oferta de forraje en primavera- verano-otoño del campo natural, en vacas multíparas de distintos tipos genéticos (Hereford y Angus, puros y cruza) sobre el potencial de crecimiento y de capacidad reproductiva futura de las crías nacidas.

Producto 3: Determinar el efecto la suplementación preparto sobre los cambios temporales en la expresión hepática de genes relacionados con el eje GH-IGF como resultado del inicio del amamantamiento y su relación con el balance energético y con las variables metabólicas, endocrinas, productivas y reproductivas en vacas de cría.

Producto 4: Determinar el efecto de la suplementación preparto sobre el potencial de crecimiento y de capacidad reproductiva futura de las crías nacidas.

ESTRATEGIA Y METODOLOGÍA

Para obtener los productos esperados, se ejecutaron dos experimentos que se realizaron en la Estación Experimental Bernardo Rosengurtt (EEBR) de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República desde mayo 2009 a octubre 2010 (**Experimento 1**) y en la «Unidad Experimental Palo a Pique» perteneciente a la Estación Experimental INIA Treinta y Tres desde julio de 2008 a marzo de 2009 (**Experimento 2**).

Experimento 1. Diseño experimental, animales y tratamientos

El experimento presentó un diseño de bloques completos al azar (según tipo de suelo, bloque 1: 32 ha y bloque 2: 15 ha) con un arreglo factorial de ofertas de forraje (alta y baja, 2.5 vs. 4 kg MS/kgPV en promedio, respectivamente) variables a lo largo del año y grupo genético (GG, Aberdeen Angus y Hereford-puros, PU; y sus respectivas cruza, CR), determinando así cuatro tratamientos: CR-alta, CR-baja, PU-alta y PU-baja. La asignación de forraje se ajustó mensualmente después de medir la cantidad de forraje disponible en cada parcela (Haydock y Shaw, 1975) a través del ingreso de animales volantes (Mott, 1960) de similar grupo genético y condición fisiológica en caso de ser necesario. Los animales

pertenecían o eran descendientes del rodeo experimental generado como parte de un experimento dialéctico que se llevó a cabo durante 10 años en la EEBR (Espasandin *et al.*, 2010). Las vacas se manejaron como un grupo contemporáneo y pastorearon en el mismo tratamiento nutricional (alta o baja oferta de forraje) desde mayo de 2007, habiendo gestado y amamantado un ternero por año desde esa fecha hasta el 2009. Luego del diagnóstico de gestación (abril de 2009) se seleccionaron 32 vacas de cría multíparas preñadas ($n = 8$ por tratamiento) y se agruparon según la fecha probable de parto. Luego del destete, a los 195 ± 10 días posparto, las vacas fueron sacrificadas en frigorífico (mayo de 2010).

Particularidades del Experimento 1 relacionadas con el Producto 2

Se utilizaron 40 terneros hijos de las vacas puras (Hereford y Angus: PU) y cruza F1 (HA y AH: CR) pastoreando las ofertas de forraje altas y bajas (2.5 vs. 4 kg MS/kgPV en promedio, respectivamente). Los padres de los terneros fueron raza Hereford o Angus, determinando que los terneros hijos de vacas puras fueran cruza F1 mientras que los hijos de vacas cruza fueran retro-cruza. Se incluyó terneros nacidos durante la parición de primavera de 2009 (desde octubre a noviembre). Asimismo, los terneros también fueron sometidos al efecto de la oferta de forraje desde la concepción hasta el destete (abril de 2010; 142 ± 15



días) momento en el que se finalizó el tratamiento diferencial entre los animales. Se evaluaron 10 terneros ($n=5$ machos y cinco hembras) por tratamiento. Los terneros machos fueron castrados al destete (142 ± 15 días). Luego del destete, todos los terneros (machos y hembras) fueron manejados como grupo contemporáneo, pastorearon juntos y fueron suplementados con una ración con 16% de proteína hasta alcanzar 150 kg peso vivo, teniendo siempre acceso total a agua. Luego de alcanzar 150 kg en promedio, se retiró el suplemento y estos terneros fueron alimentados únicamente con pastura nativa hasta los 380 días de edad (octubre de 2010).

Experimento 2. Diseño experimental, animales y tratamientos

Experimento 2a (multíparas)

Inicialmente se seleccionaron por fecha probable de parto 34 vacas multíparas cruce Aberdeen Angus-Hereford con CC entre 4 y 5 unidades (u) de la escala 1 a 8 (Vizcarra *et al.*, 1986). A los sesenta días preparto las vacas fueron asignadas en forma aleatoria a dos tratamientos nutricionales: i) vacas pastoreando campo natural (CON); ii) vacas suplementadas durante el preparto (SUP). Una vez paridas las vacas y teniendo en cuenta la dispersión de las fechas de parto, el número final de animales empleado fue de 26 (CON= 13; SUP= 13). La suplementación duró $40 \pm 1,3$ días y el suplemento consistió en afrechillo de arroz entero (89% MS; 15,2% PC; 13,8% FDA; 31,7% FDN; 15,1% EE; 10,5% C en BS;

1,80 McalENm/kg MS) al 1% del PV (4,5 kg/a/d). Todos los animales fueron manejados en un mismo potrero sobre campo natural con buen acceso a aguadas durante todo el período experimental. Los animales suplementados, fueron llevados diariamente (en la mañana) a los comederos que se encontraban en una sub-división dentro del mismo potrero. Una vez finalizado el consumo de la ración, volvían al potrero con el resto de los animales. No se registró rechazo del suplemento ofrecido. Las vacas fueron servidas con monta natural a los $60 \pm 1,3$ días pp y el período de entore duró $60 \pm 1,3$ días. Los terneros fueron destetados a los $180 \pm 1,3$ días de edad.

Experimento 2b (primíparas)

A los sesenta días preparto 32 vacas primíparas cruce Aberdeen Angus-Hereford con CC entre 4,3 y 5,8 u fueron divididas en dos bloques por sus fechas probables de parto y asignadas en forma aleatoria a dos tratamientos nutricionales: i) vacas pastoreando campo natural (CON); ii) vacas suplementadas durante el preparto (SUP). Una vez paridos los animales y teniendo en cuenta la dispersión de las fechas de parto, el número final de animales utilizados fue de 25 vacas (CON= 14; SUP= 11). La suplementación duró $36 \pm 1,6$ días pp y el suplemento consistió en una mezcla de 68% de grano de sorgo más 32% de un alimento proteico comercial en base seca (88% MS; 18,0% PC; 11,8% FDA; 19,3% FDN; 2,7 EE; 1,3 C; 1,59 McalENL/kg MS) al 1% del PV (4,5 kg/a/d). Las vacas fueron manejadas en forma conjunta, en un potrero, sobre campo natural con buen acceso a aguadas durante todo el período



do experimental. Al igual que el Experimento 2a, los animales suplementados, fueron llevados diariamente a los comederos en el horario de la mañana y no se registró rechazo del concentrado. Las vacas fueron servidas con monta natural a los 60 ± 3 días pp y el período de entore duró 60 ± 3 días. Los terneros fueron destetados a los 180 ± 3 días de edad.

Particularidades del Experimento 2 relacionadas con el Producto 4

Se utilizaron 10 terneros machos hijos de vacas múltiparas de biotipo cruzado

(n= 5 por tratamiento, control vs. suplementado) y 20 terneros (machos y hembras) hijos de primíparas de biotipo cruzado (n= 5 por tratamiento y sexo). Los terneros fueron sometidos al tratamiento nutricional durante la etapa fetal (último mes de gestación). Los terneros machos fueron castrados al destete (142 ± 15 días). Luego del destete, todos los terneros (machos y hembras) fueron manejados como grupo contemporáneo, pastorearon juntos y fueron suplementados

Esta publicación comprende los siguientes capítulos que recogen los principales resultados obtenidos:

PRODUCTO 1:

1. EFECTO DE LA ASIGNACIÓN DE FORRAJE DE CAMPO NATIVO EN VACAS DE CARNE DE DIFERENTE GRUPO GENÉTICO I: PERFILES ENDÓCRINOS Y EXPRESIÓN HEPÁTICA DE GENES DEL EJE SOMATOTRÓFICO
J. Laporta, A.L. Astessiano, C. López-Mazz, P. Soca, A.C. Espasandin, M. Carriquiry
2. GENÓMICA FUNCIONAL DE LAS ADAPTACIONES METABÓLICAS DEL HÍGADO DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: VACAS DE CARNE PURAS Y SUS CRUZAS EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE DE DE CAMPO NATIVO
J. Laporta, G.J.M. Rossa, H. Naya, M. Carriquiry
3. CARACTERÍSTICAS FOLICULARES Y EXPRESION UTERINA DE VACAS DE CARNE PURAS Y CRUZAS EN DOS EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE DE DE CAMPO NATIVO
M. Carriquiry, C. Viñoles, A. L. Astessiano, A. Meikle.
4. PRODUCCION DE LECHE DE VACAS PURAS Y CRUZAS PASTOREANDO ALTA Y BAJA OFERTA DE FORRAJE DEL CAMPO NATIVO
A. C. Espasandin, V. Gutiérrez, A. Casal, O. Cáceres, V. Cal, M. Carriquiry

PRODUCTO 2:

5. NUTRICIÓN DEL TERNERO DURANTE LA ETAPA FETAL Y EL PRIMER AÑO DE VIDA EN SISTEMAS DE PASTOREO: IMPACTO EN EL CRECIMIENTO, COMPOSICIÓN CORPORAL Y CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO MUSCULAR
V. Gutiérrez, A.C. Espasandin, P. Machado, A.L. Astessiano, A. Casal, C. López-Mazz, A. Bielli, M. Carriquiry
6. EFECTO SOBRE LA EDAD Y EL PESO VIVO A LA PUBERTAD Y LA FERTILIDAD DE TERNERAS HIJAS DE VACAS ADULTAS MANEJADAS DURANTE LA GESTACIÓN EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE: 4 y 2.5 kg MS/kgPV
C. López-Mazz, P. Soca, G. Quintans, M. Carriquiry

PRODUCTO 3:**7. EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN CORTA PREPARTO EN LA EXPRESIÓN HEPÁTICA DE LOS GENES DEL EJE SOMATOTRÓPICO EN VACAS MULTIPARAS Y PRIMIPARAS PARA CARNE**

A.Scarsi, A.L. Astessiano, J. Laporta, G. Quintans, M. Carriquiry

PRODUCTO 4:**8. SUPLEMENTACION PREPARTO Y SU IMPACTO EN LOS TERNEROS: EJE SOMATOTROFICO Y SU RELACION CON EL CRECIMIENTO Y POTENCIAL REPRODUCTIVO**

M. Carriquiry, J. Laporta, A. Astessiano, F. Pereyra, A. Scarsi, G. Quintans, R. Perez-Clariget

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los funcionarios de la Estación Experimental B. Rosengurtt: D. Bentancor, O. Cáceres, J. Cáceres, M. Cáceres, V. Cal, a los funcionarios de la Unidad Palo a Pique de INIA Treinta y Tres, y al los estudiantes F. Arramberri, F. Barla, F. Bideau, M. García-Pintos que con su participación, empeño y dedicación en el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- ASTESSIANO, A.L.; PÉREZ-CLARIGET, R.; QUINTANS, G.; SOCA, P.; CARRIQUIRY, M.** 2011. Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, hepatic gene expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* DOI:10.1111/j.1439-0396.2011.01178.x.
- BARKER, D. J. P.; MARTYN, C. N.; OSMOND, C.; HALES, C. N.; FALL, C. H. D.** 1993. Growth in utero and serum cholesterol concentration in adult life. *BMJ* 307:1524-1527.
- BAUMAN, D.E.** 2000. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: *Ruman Physiology: Digestion, Metabolism and Growth and Growth and Reproduction*. Edited by P.J. Cronje. CAB Publishing, New York, NY, 311-327.
- BERRETA, E.; RISSO, D.; MONTOSI, F.; FIGURINA, G.** 2000. Campos in Uruguay. In: Lemaire G, Hogdson J de Moraes A, Nabinger C, Carvalho PC, eds. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. New York, USA: CAB International 377-394.
- BELL, A.W.** 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73, 2804-2819.
- BROSH, A.** 2007. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: A review. *Journal of Animal Science* 85, 1213-1227.
- CHAPMAN, D.F.; PARSONS, A.J.; COSGROVE, G.P.; BARKER, D.J.; MAROTTI, D.M.; VENNING, K.J.; RUTTER, S.M.; HILL, J., THOMPSON A.N.** 2007. Impacts of spatial patterns in pasture on animal grazing behavior, intake, and performance. *Crop Science* 47, 399-415.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M.** 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction, Nutrition, Development* 38,131-52.
- CIMINSKI, L. A.** 2002. Weaning date and protein supplementation effects on cow/calf productivity. MS Thesis, Univ. Nebraska, Lincoln.
- CORAH, L. R.; DUNN, T. G.; KALTHENBACH, C. C.** 1975. Influence of prepartum nutrition on the reproductive performance of beef females and the performance of their progeny. *J. Anim. Sci.* 41:819-824.
- DE NAVA, G.** 2008. Un tratamiento para la inducción de la ovulación en vacas con cría al pie asociado a inseminación artificial de tiempo fijo. Serie Técnica 174. 182-188p. INIA. Uruguay.
- DIEA.** 2011. Anuario estadístico Agropecuario. MGAP. 246p.
- DISKIN, M.G.; MORRIS, D. G.** 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod. Domest. Anim.* 43(2):260-267.

- ESPASANDIN, A.C.; CIRIA, M.; FRANCO, J.B.; PEREYRA, F.; GIMENO, D.** 2010. Heterosis and productive and reproductive performance in Angus, Hereford and F1 reciprocal crossed cows on grazing systems of Uruguay. Proceedings of the XVI World Buiatrics Congress. Chile.
- HAYDOCK, K.P. SHAW, N.H.** 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry 15, 663-670.
- HESS, B.W.; LAKE, S.L.; SCHOLLJEGERDES, E. J.; WESTON, T. R.; NAYIGIHUGU, V.; MOLLE, J. D. C.; MOSS, G. E.** 2005. Nutritional controls of beef cows reproduction J. Anim. Sci. 83 (E. Suppl.): E90-E106.
- LOOR, J.J.** 2010. Genomics of metabolic adaptations in the peripartal cow. Animal 4:7 1110-1139.
- MARTIN, J. L.; VONNAHME, K. A.; ADAMS, D. C.; LARDY, G. P.; FUNSTON, R. N.** 2008. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. J. Anim. Sci. 85:841-847.
- MOTT.** 1960. Grazing pressure and the measurement of pasture production, Proceedings of the 8th International Grassland Congress.
- NRC.** 2000. Nutrient Requirements of Beef Cattle: Seventh Revised Edition: Update 2000. Washington, D.C: National Academy Press, 234.
- PÉREZ-CLARIGET, R.; CARRIQUIRY, M.; SOCA, P.** 2007. Estrategias de manejo nutricional para mejorar la reproducción en ganado bovino. XX Reunión Latinoamericana de Producción Animal, 21-15 octubre, Cuzco, Perú.
- ORCASBERRO, R.** 1994. Estado corporal, control del amamantamiento y performance reproductiva de rodeos de cría. En: INIA, Serie Técnica Nro. 13, pp. 158-169.
- QUINTANS, G.; VÁZQUEZ, A. I.** 2002. Effect of premature weaning and suckling restriction with nose plates on the reproductive performance of primiparous cows under range conditions. Proc. Sixth International Symposium in Domestic Ruminants. Crieff, Scotland (Abstract A65).
- QUINTANS, G.; VIÑOLES, C.; SINCLAIR, K. D.** 2004. Follicular growth and ovulation in postpartum beef cows following calf removal and GnRh treatment. Anim. Reprod. Sci. 80:5-14
- QUINTANS, G.** 2008. La alternativa para incrementar la tasa de procreo: disminución del anestro posparto. Serie Técnica 174. 99-109p. INIA. Uruguay
- QUINTANS, G.; BANCHERO, G.; M. CARRIQUIRY, M.; BALDI, F.** 2008. Condición corporal y restricción del amamantamiento en vacas de carne. II. Efecto de la producción de leche y crecimiento de terneros. Memorias XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
- ROVIRA Y FRACHIA.** 2005. Investigación en Uruguay sobre la eficiencia reproductiva de los rodeos de cría: 1963-2005. Tesis Ing.Agr. Facultad de Agronomía Universidad de la República. Uruguay. Montevideo 2005.
- SIMEONE, A.; BERETTA, V.** 2002. Destete Precoz en ganado de carne. Montevideo: Ed. Hemisferio Sur. 119 p. ISBN: 9974-645-28-9.
- SOCA, P.; OLMOS, F.; ESPASANDÍN, A.; BENTANCUR, D.; PREYRA, F.; CAL, V.; SOSA, M.; DO CARMO, M.** 2008. Herramientas para mejorar la utilización del campo natural, el ingreso económico de la cría y atenuar los efectos de la variabilidad climática en sistemas de cría vacuna del Uruguay. A. Impacto en cambios en la estrategia de asignación de forraje sobre la productividad de diversos grupos genéticos bajo pastoreo del campo natural. Serie Técnica 174. pp.110-120 INIA. Uruguay.
- STALKER, L. A., ADAMS, D. C.; KLOPFENSTEIN, T.J.; FEUZAND, D.M.; FUNSTON, R. N.** 2006. Effects of pre- and postpartum nutrition on reproduction in spring calving cows and calf feedlot performance. J Anim Sci 84:2582-2589.
- WRIGHT, L.A.; RHIND, A.M.; WHYTE, T.K.** 1992. A note on the effects of pattern of food intake and body condition on the duration of the post-partum anoestrous period and LH profiles in beef cows. Animal Production 54, 143-146.

J. Laporta*,
A.L. Astessiano*,
C. López-Mazz*,
P. Soca*,
A.C. Espasandin*,
M. Carriquiry*

*Departamento de Producción
Animal y Pasturas, Facultad
de Agronomía, UdelaR.

EFFECTO DE LA ASIGNACIÓN DE FORRAJE DE CAMPO NATIVO EN VACAS DE CARNE DE DIFERENTE GRUPO GENÉTICO I: PERFILES ENDÓCRINOS Y EXPRESIÓN HEPÁTICA DE GENES DEL EJE SOMATOTRÓFICO

INTRODUCCIÓN

La capacidad de adaptación de los rumiantes a estos períodos de Balance Energético Negativo (BEN), depende de su sistema endocrino y de mecanismos metabólicos para mantener la homeostasis (Chilliard *et al.*, 1998). En este contexto, el desacople de eje somatotrófico [hormona del crecimiento (GH) -factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I)] juega un papel clave en la regulación endocrina de la partición de nutrientes. Este desacople se ha asociado con un estado de resistencia del hígado a la GH, como consecuencia de la reducción de la expresión de ARNm de los receptores de GH (GHR), en particular de su isoforma-1A (GHR-1A) (Kobayashi *et al.*, 1999; Radcliff *et al.*, 2003), a una disminución en las concentraciones circulantes de insulina (Mashek *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2003), y a cambios en la circulación y/o expresión hepática de las proteínas de unión a la IGF (IGFBP2 y IGFBP3; Loor *et al.*, 2005; Roberts *et al.*, 1997; Carriquiry *et al.*, 2009a).

La mayoría de la información científica relacionada con el desacople GH-IGF-I se ha generado en vacas lecheras alimentadas *ad-libitum* asociado al (BEN) durante el período de transición. Sin embargo, hay estudios que demuestran que los mecanismos detrás del desacople del eje aún no están del todo claros y poco estudiados en ganado de carne. Por ejemplo, la expresión del ARNm GHR1A y/o IGF-I no cambió en vacas lactantes sometidas a restricción ali-

menticia (Rhoads *et al.*, 2007), durante el periparto de vacas de carne alimentadas *ad libitum* (Jiang *et al.*, 2005; Schneider *et al.*, 2010), o en las vacas de leche de baja producción (Lucy *et al.*, 2009).

La asignación de forraje afecta el consumo de energía (Chapman *et al.*, 2007) y los requerimientos de mantenimiento (costo energético de pastoreo, Brosh *et al.*, 2007) impactando en el balance energético de vaca. En los sistemas de cría, la mayor asignación de forraje se asoció con incrementos en el PV y la CC, mayor producción de leche y mayor PV de los terneros (Nicol 1979; Soca *et al.*, 2008). Además, el genotipo animal afecta la eficiencia de consumo (Jenkins y Ferrel, 1994) y podría determinar diferencias en los mecanismos adaptativos (comportamiento social y de pastoreo, Provenza *et al.*, 2003) que eventualmente podrían impactar en la eficiencia productiva y reproductiva (Cundiff *et al.*, 1974a y 1974b; Espasandin *et al.*, 2010). En este sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar el sistema endocrino y los perfiles hepáticos de ARNm del eje somatotrófico a lo largo del ciclo de gestación y lactancia en vacas de carne de diferente genotipo sometidas a diferentes asignaciones de forraje de campo natural, y explorar posibles asociaciones con el desempeño productivo y reproductivo en el posparto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el marco del **Experimento 1** (EEBR). Los detalles

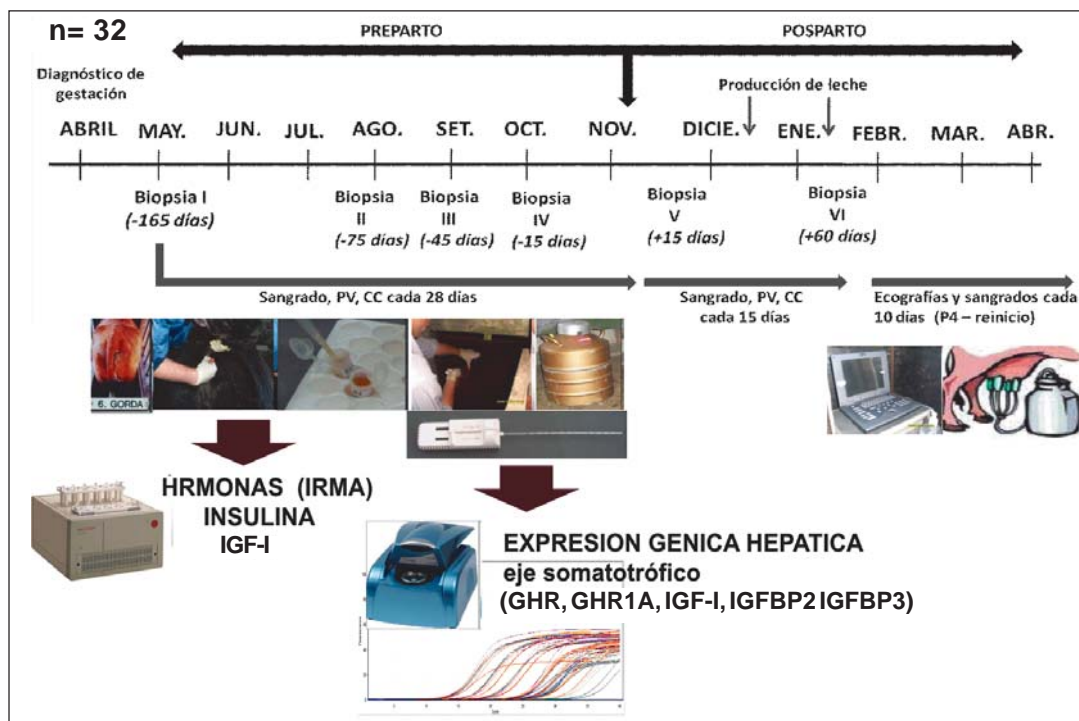


Figura 1. Protocolo experimental. Variables analizadas: peso vivo, condición corporal, peso vivo del ternero al nacer, producción de leche en los 60 días, reinicio de la ciclicidad ovárica, concentraciones séricas de NEFA, glucosa, insulina e IGF-I y expresión génica de GHR, GHR1A, IGF-I e IGFBP-2 y -3.

del protocolo experimental y de las mediciones realizadas se presentan en la Figura 1. Se evaluaron ocho vacas (réplicas biológicas) por tratamiento (CR-alta, CR-baja, PU-alta, PU-baja).

Extracción de ARN y PCR en tiempo real

Se extrajo el ARN total del tejido hepático, se trató con DNasa y se sintetizó cDNA (transcripción reversa) para medir la expresión de ARNm de GHR, GHR-1A, IGF-I, IGFBP3 e IGFBP2 usando PCR en tiempo real. La expresión de dos genes controlol hipoxantina fosforribosil transferasa (HPRT) y β -actina (ACTB).

Cálculos y análisis estadístico

Se estimó el consumo individual de energía de los animales usando los requerimientos de mantenimiento estimados según NRC (2000) para la gestación

y la lactancia (Smit *et al.*, 2005). Los datos fueron analizados utilizando el programa SAS (SAS 9,0 V, SAS Institute Inc., Cary, NC). Los datos de PV, CC, hormonas, y expresión génica fueron analizados como medidas repetidas, utilizando el procedimiento MIXED. El modelo incluyó la asignación de forraje (alta y baja), el genotipo (CR y PU), los días (medida repetida) y sus interacciones como efectos fijos, el bloque como efecto aleatorio y la fecha del parto como covariable. El peso del ternero al nacer y la producción de leche promedio se analizaron con el mismo modelo sin el efecto de los días. El inicio de la actividad ovárica (días) fue analizado con el mismo modelo mediante el procedimiento GENMOD con la distribución de Poisson. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey, y las diferencias se consideraron significativas a $P \leq 0,05$ y tendencias a $0,05 < P \leq 0,10$. Se estimaron coeficientes de correlación de Pearson para describir las relaciones entre las variables utilizando el procedimiento CORR.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Peso vivo y condición corporal

- El consumo de energía estimado durante la gestación (desde -165 días hasta el parto) y lactancia (desde el parto a los 60 días) fue mayor para que las vacas en alta que en baja asignación de forraje (40,8 vs 36,6 MJ ENm/día y 62,0 vs 53,0 MJ ENm/d de gestación y lactancia, respectivamente, $P < 0,003$) y para las vacas CR que las PU (39,9 vs 37,4 MJ ENm/día y 61,0 vs 54,0 MJ ENm/día para gestación y lactancia, respectivamente, $P < 0,044$).
- El PV y la CC fueron mayores en las vacas en alta que en baja asignación de forraje (448 vs 405 ± 11 kg y 4,3 vs 3,7 ± 0,1 unidades $P < 0,018$, respectivamente) y en las vacas CR que en las PU (443 vs 410 ± 11 kg y 4,1 vs 3,9 ± 0,1 unidades; $P < 0,059$) durante el período evaluado, y ambas variables se vieron afectadas por los días ($P < 0,001$).
- El PV disminuyó los dos primeros meses del invierno (-165 a -105 días), aumentó notablemente antes del parto (de -45 a -15 días), disminuyó posterior a parto (+15 días), y luego aumentó a los + 60 días llegando a los valores iniciales de finales de otoño. La CC disminuyó 0,5 unidades durante los primeros dos meses del invierno (hasta los -105 días), alcanzó el nadir al parto, se mantuvo baja y estable hasta +30 días, e incrementó posteriormente hasta los + 60 días sin alcanzar los valores de finales de otoño (Figura 2 A y B).

Concentraciones de insulina e IGF-I

- Las concentraciones séricas de insulina fueron mayores ($P = 0,027$) para las vacas en alta que en baja asignación de forraje (11 vs 7,7 ± 1 uUI/ml) y estuvieron afectadas por los días ($P < 0,001$). La insulina fue alta a los -165 días, disminuyó notablemente durante la gestación-invernal (-165 a -45 días), se mantuvo baja hasta los días

-15, y luego incrementó ligeramente a los + 15 días, aunque sin recuperar a los + 60 días las concentraciones iniciales de finales de otoño (Figura 2 C). Hubo una interacción entre GG y los días ($P < 0,033$), las vacas CR tuvieron mayores concentraciones de insulina a los -165 días que el resto.

- La concentración sérica de IGF-I fue mayor ($P = 0,005$) en las vacas en alta que en baja asignación de forraje (78,7 vs 44 ± 8 ng/ml), fue afectada por los días ($P < 0,001$), y tendió a ser afectada ($P = 0,080$) por la interacción entre la asignación y los días. La IGF-I fue alta a los -165 días, disminuyó a los -45 días, aumentó a los días -15, y luego volvió a disminuir hasta los + 60 días, sin llegar a las concentraciones iniciales de finales del otoño (Figura 2 D). La disminución durante el invierno, y el aumento a los días -15 días sólo se observó en las vacas en alta asignación de forraje. Las concentraciones de insulina e IGF-I se correlacionaron positivamente ($P < 0,001$, $r = 0,39$, $n = 60$) y ambas se correlacionaron con la CC ($P < 0,001$, $r > 0,47$, $n = 157$).

Durante la gestación-invernal, todas las vacas, independientemente del tratamiento, movilizaron sus reservas corporales, evidenciado por la disminución en el peso corporal y la CC durante este período. Además esto coincidió con un drástico aumento en las concentraciones de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y una disminución de la glucosa (datos no presentados) e insulina. Esto refleja la existencia de un período de NEB, probablemente como consecuencia de la disminución del consumo de forraje (debido a la reducida masa de forraje y la altura en invierno, Chapman *et al.*, 2007), y el aumento de las necesidades energéticas de pastoreo (Brosh *et al.*, 2007), sumado a los elevados requerimientos por parte del feto durante la gestación (Bell, 1995). Las concentraciones de insulina e IGF-I en suero disminuyeron con el inicio de la lactancia, como ya se observó en otros trabajos en vacas de leche (Lor *et al.*, 2005; Kobayashi *et al.*, 1999; Mashek *et al.*, 2001; Carriquiry *et al.*, 2009b) y vacas de carne (Quintans *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2010; Lake *et al.*, 2006) favoreciendo la partición de los nu-

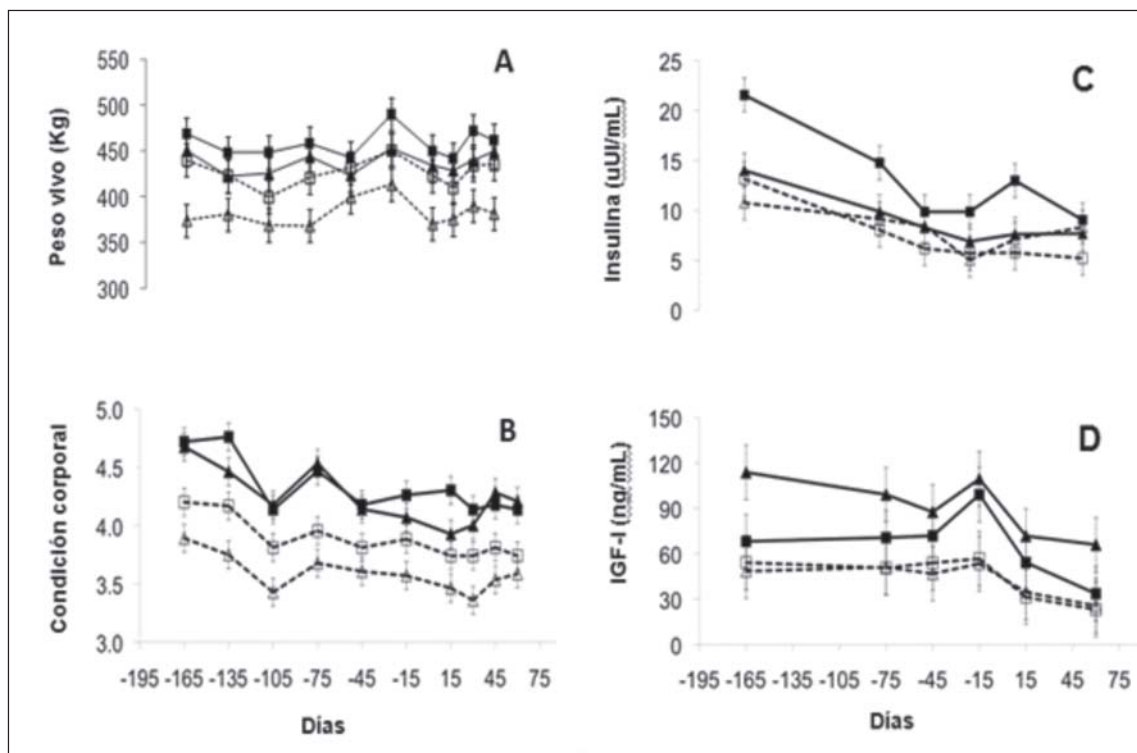


Figura 2. Peso vivo (A) , condición corporal (B), concentraciones séricas de insulina (C) e IGF-I (D) a lo largo del año (-165 a + 60 días en relación al parto) en vacas de genotipo puro (Hereford y Aberdeen Angus, triángulos) y sus cruza (F1, cuadrados) pastoreando asignaciones de forraje: alta (símbolos enteros y líneas sólidas) y baja (símbolos abiertos y las líneas discontinuas).

trientes hacia la glándula mamaria para la producción de leche (Bauman, 2000).

De acuerdo con la mayor requerimiento de energía estimado para las vacas en alta asignación de forraje, (y aunque la magnitud de las pérdidas de CC durante el invierno no difirieron drásticamente entre los grupos) la insulina en suero y las concentraciones de IGF-I fueron mayores en las vacas en alta durante todo el periodo evaluado. Esto es consistente con resultados anteriores (Lake *et al.*, 2006; Quintans *et al.*, 2010) que determinaron una mayor concentración de IGF-I e insulina durante el post-parto en vacas de carne de condición moderada que las flacas. Sin embargo, a pesar de la insulina disminuyó durante el invierno para todas las vacas, los niveles séricos de IGF-disminuyeron sólo en las vacas en alta asignación. Esto refleja un mejor estado metabólico y una mejor capacidad de adaptación a los cambios en las condiciones ambientales (nutrición, Chilliard *et al.*, 1998) en las vacas CR en lata asignación de forraje de campo natural.

Expresión hepática del eje somatotrófico

- La expresión hepática de GHR no fue afectada por la asignación de forraje, el grupo genético ni los días. Sin embargo, hubo una interacción entre la asignación y los días ($P=0,082$) y entre la asignación, el grupo genético y los días ($P=0,021$). La expresión de este transcrito disminuyó entre los -165 y -45 días, se mantuvo estable hasta los +60, aunque sin alcanzar los valores de finales del otoño. Sin embargo, esta disminución en la expresión de ARNm de GHR en invierno (-45 días) sólo fue evidente en las vacas en alta asignación, ya que en las vacas en baja la expresión de GHR no varió. Además su expresión fue mayor a los -165 días en las vacas de genotipo CR en alta asignación que en el resto de los grupos (Figura 3A)
- La expresión hepática de GHR-1A no fue afectada por la asignación de fo-

- rraje, el grupo genético o su interacción, pero se vio afectada por los días ($P=0,003$), ya que disminuyó entre los -165 a -45 días, manteniendo su expresión baja y estable en la peri y post-parto (Figura 3B).
- La expresión hepática de IGF-I no se vio afectada por la asignación de forraje, el GG o los días, pero no hubo una interacción entre la asignación de forraje y los días en la abundancia de este transcrito ($P=0,048$). En las vacas en alta asignación la expresión de IGF-I disminuyó entre -165 y -45 días, se mantuvo baja y estable hasta +15 días, y tendió a aumentar ($P=0,072$) a los +60 días. Por el contrario, en las vacas en baja se mantuvo estable, y tendió a disminuir ($P=0,075$) sólo a los -15 días (Figura 4A).
 - La expresión de hepática de IGFBP3 no se vio afectada por la asignación de forraje, el grupo genético, o su interacción, pero se vio afectada por los días ($P=0,007$; Figura 4B) y por la interacción entre GG y los días ($P=0,021$).
 - La expresión de hepática de IGFBP2 tendió a ser menor ($P=0,084$) en las vacas en alta que en baja asignación de forraje (15,02 vs 8,57 \pm 3,4) y se vio afectada por los días ($P<0,001$; Figura 4C). Las expresiones hepáticas de IGFBP2 e IGFBP3 mostraron patrones opuestos durante la gestación-invernal y un patrón similar durante el período de lactancia.
 - La expresión hepática de GHR-1A se correlacionó con la expresión de IGF-I

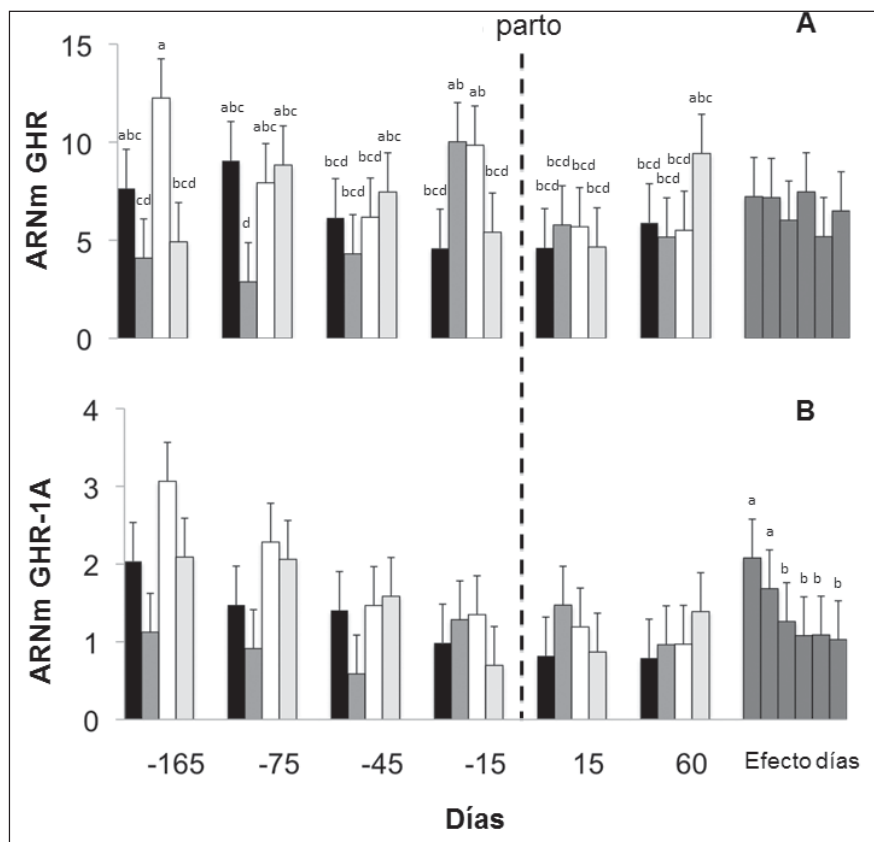


Figura 3. Patrón temporal de expresión génica hepática (ARNm) del receptor de hormona de crecimiento (GHR, A) y su variante GHR-1A (GHR-1A, B), determinada por PCR en tiempo real. Columnas negras representan las vacas PU-altas, columnas de color gris oscuro representan PU-baja, las columnas blancas representan CR-alta, y las columnas de color gris claro representan CR-baja. Las letras sobre las columnas indican diferencias en las medias para la interacción entre asignación de forraje, genotipo y días para GHR ($P=0,021$) y para el efecto de los días para GHR-1A ($P=0,003$).

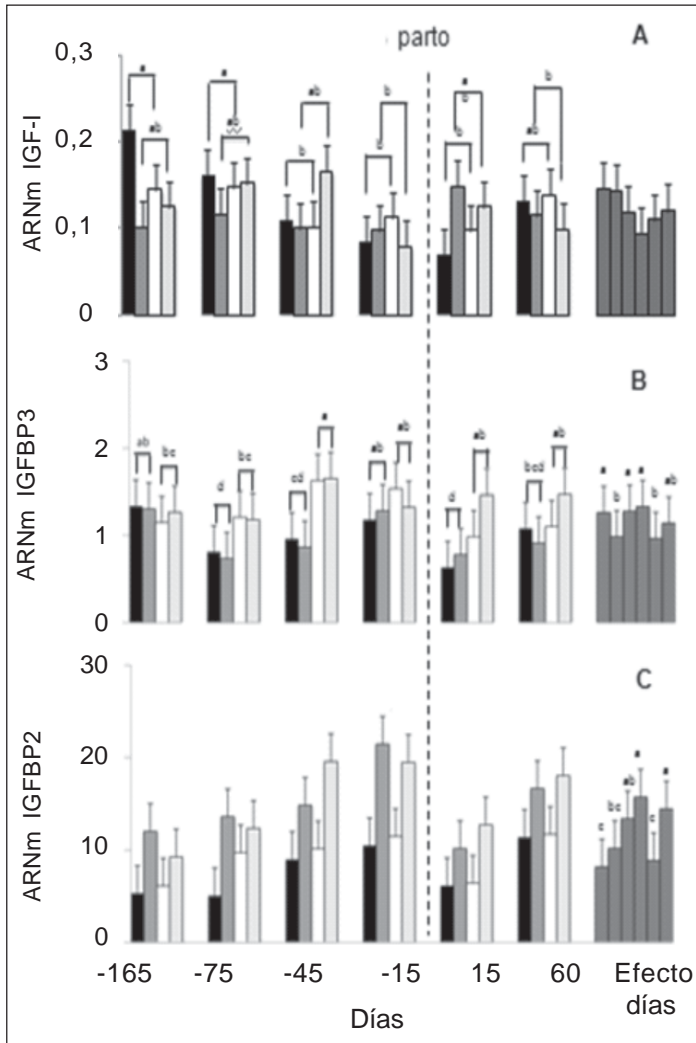


Figura 4. Patrón temporal de expresión génica hepática (ARNm) de IGF-I (A) y sus proteínas de unión IGFBP3 (B) e IGFBP2 (C), determinada por PCR en tiempo real. Las columnas negras representan las vacas PU-altas, columnas de color gris oscuro representan PU-baja, las columnas blancas representan CR-alta, y las columnas de color gris claro representan CR-baja. Las letras sobre las columnas indican diferencias en las medias para la interacción entre la asignación de forraje y los días para IGF-I ($P=0,048$), para la interacción entre el genotipo de la vaca y los días para IGFBP3 ($P=0,021$), y para el efecto de los días para IGFBP3 e IGFBP2 ($P<0,007$).

($P<0,001$, $r=0,29$, $n=163$) y la de IGFBP3 ($P<0,001$, $r=0,37$, $n=163$). Las concentraciones de insulina e IGF-I se correlacionaron negativamente con la expresión del transcritto IGFBP2 ($P<0,001$, $r=-0,37$, $n=56$ y $P=0,011$, $r=-0,26$, $n=156$, respectivamente).

En el presente estudio, la expresión hepática de GHR e IGF-I disminuyó du-

rante la gestación-invernal sólo en las vacas en alta asignación (de acuerdo con las concentraciones circulantes de IGF-I), mientras que ambas expresiones se mantuvieron sin cambios para las vacas en baja asignación. La disminución durante el invierno se asoció con una mayor expresión de estas transcripciones en las vacas en alta a los -165 días que, junto con su mayor CC, y la mayor concentración sérica de insulina e IGF-I reflejan un mejor estado metabólico de estas vacas a finales de otoño, en comparación con las vacas baja asignación de forraje.

La disminución de los transcritos GHR e IGF-I durante el BEN de inicio de la lactancia en las vacas lecheras, ha sido explicada por una reducción en la expresión de la variante 1A: GHR-1A (Kobayashi *et al.*, 1999). Esto es consistente con nuestros resultados para las vacas en alta asignación durante la gestación-invernal (reducción de los transcritos GHR, GHR-1A e IGF-I, y la reducción de los niveles séricos de IGF-I), así como con la correlación positiva entre GHR-1A y el ARNm de IGF-I determinada aquí. Sin embargo, el ARNm GHR-1A también disminuyó para las vacas e baja asignación, mientras que el ARNm de GHR total e IGF-I y los niveles séricos de IGF-I se mantuvieron sin cambios durante el invierno. Estos resultados sugieren un posible papel de otras variantes del transcritto GHR (es decir, GHR-1B o 1C) como un mecanismo compensatorio o mecanismos independientes de la transcripción de GHR-1A para las vacas en baja asignación (Kobayashi *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2003).

Las proteínas de unión IGFBPs (1-6) están involucrados en la conversión, el transporte y la modulación de la actividad de IGF-I. En particular, la IGFBP3 tiene un importante papel funcional en el eje somatotrópico, ya que forma un complejo (IGFBP3/IGF-I) con la IGF-I circulante que aumenta su vida media y acción en sangre (Rajaram *et al.*, 1997; Jones y Clemmons, 1995). Se ha propuesto que la IGFBP3 puede representar un mecanismo plausible por el cual la insulina regula concentraciones de IGF-I (Loor *et al.*, 2005; Carriquiry *et al.*, 2009b). De hecho, en este estudio la disminución de la abundancia de ARNm IGFBP3 durante la gestación coincidió con el mayor des-

censo de las concentraciones de insulina (-75 días).

Por el contrario, se ha propuesto que IGFBP2 inhibe la acción de la IGF impidiendo la unión a sus receptores (Rajaram *et al.*, 1997; Jones y Clemmons, 1995). Se ha propuesto que la expresión de IGFBP2 cambia dramáticamente en respuesta a los cambios en el estado nutricional particularmente respondiendo a las restricciones de alimento en ratas y humanos (Rajaram *et al.*, 1997). En este estudio la expresión de este transcripto aumentó dramáticamente en las vacas en baja asignación de forraje durante el invierno.

De acuerdo con nuestros resultados, la expresión de los transcriptos GHR, GHR-1A e IGF-I no cambió durante el parto o la lactancia temprana en vacas de carne (Jiang *et al.*, 2005; Schneider *et al.*, 2010) o en vacas lecheras de baja producción (Lucy *et al.*, 2009) lo que sugiere que el inicio de la lactancia no significa un reto energético de las vacas de carne, y que el mecanismo molecular que explica la disociación de el eje GH-IGF-I en las vacas de leche al comienzo de la lactancia probablemente esté relacionado con la selección genética para la producción de leche. Sin embargo, en concordancia con nuestros resultados, Schneider *et al.* (2010) reportó que las concentraciones de IGF-I circulantes disminuyeron después del parto en vacas de carne. Schneider *et al.* (2010) reportó, en contraposición a lo reportado por otros autores en vacas lecheras (Kobayashi *et al.*, 1999; Carriquiry *et al.*, 2009b), que las concentraciones de IGF-I no se correlacionaron con la expresión hepática de GHR, GHR-1A o IGF-I. Estos resultados indican que otros componentes del eje somatotrópico, como la disminución en la proporción de IGFBP2/IGFBP3 como se reporta en este trabajo, podrían explicar la reducción en las concentraciones circulantes de IGF-I en vacas de carne después del parto como ha sido sugerido por Roberts *et al.* (1997).

Parámetros productivos y reproductivos

- El peso del ternero al nacer no fue diferente debido a la asignación de forraje, el grupo genético, o su interacción y promedió 35 ± 2 kg.
 - La producción de leche durante los primeros 60 días fue mayor para que las vacas en alta que en baja asignación de forraje y para las CR que las PU (5,42; 4,37; 4,54 y $3,52 \pm 0,35$ kg para CR-alta, PU-alta, CR-baja y PU-baja, respectivamente, $P < 0,031$).
 - El inicio de actividad ovárica fue antes en las vacas en alta que en baja asignación de forraje y para las CR que las PU (82, 125, 150 y 175 ± 13 días para CR-alta, PU-alta, CR-baja y PU-baja, respectivamente, $P < 0,032$).
 - La producción de leche durante los primeros 60 días de lactancia se correlacionó positivamente con la expresión hepática de GHR a finales del otoño (-165 días, $P < 0,001$, $r = 0,52$, $n = 28$) y negativamente con la expresión de IGFBP2 ($P = 0,017$, $r = -0,19$, $n = 163$). El inicio de actividad ovárica se correlacionó positivamente con la abundancia de ARNm de IGFBP2 a lo largo del año ($P = 0,003$, $r = 0,29$, $n = 160$).
- Las vacas que alta asignación de forraje tuvieron un mejor estado metabólico y fueron capaces de adaptarse mejor a los cambios en la disponibilidad de nutrientes y el suministro de energía a través del ciclo de gestación-lactación, sin disminuir su estado, su capacidad productiva (producción de leche) y reproductiva (comienzo de la actividad luteal). Las concentraciones en sangre de insulina e IGF-I son indicativos de la disponibilidad de energía y proporcionan señales de corto o largo plazo que median los efectos de la nutrición sobre la reproducción (Bossis *et al.*, 2000). De acuerdo con trabajos anteriores, el inicio de la actividad luteal se correlacionó negativamente con la CC y con las concentraciones de insulina e IGF-I (Quintans *et al.*, 2010; Meikle *et al.*, 2004; Sinclair *et al.*, 2008) y positivamente con la expresión hepática de ARNm de IGFBP2 (Roberts *et al.*, 1997). De hecho, el inicio de la actividad ovárica más corta determinada para las vacas en alta asignación se asoció con mayores CC e insulina e IGF-I en suero y con menor expresión de IGFBP2 durante el ciclo de gestación y lactancia. El inicio de la actividad luteal

más corta lútea de las vacas CR que las vacas PU se asoció a un mejor estado metabólico (mayor BCS, insulina sérica y abundancia de ARNm hepático del transcrito GHR), sobre todo a finales de otoño (-165 días) y con una mayor expresión de ARNm de IGFBP3. Estos resultados apoyan el concepto de una «memoria metabólica» que influye en el rendimiento reproductivo (Chilliard *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

Los cambios más notorios en relación con el sistema endocrino y la expresión hepática del eje somatotrfico se produjeron durante la última mitad de la gestación durante el invierno, con el inicio de la BEN, y estuvieron fuertemente modulados por las diferencias en la asignación de forraje. A diferencia de lo que típicamente ocurre en la vaca de leche, en este estudio, se observaron pocos cambios en la CC y los perfiles endocrinos y moleculares durante el periparto, especialmente en comparación con los grandes cambios que ocurren durante la gestación. Las diferencias más significativas a lo largo del tiempo en el sistema endocrino y la expresión del ARNm hepático de GH-IGF-I se observó en vacas que pastoreaban alta asignación de forraje y en las vacas de genotipo cruza, lo que sugiere un desempeño adaptativo más eficiente en estos grupos, probablemente debido a un mejor estado metabólico (mejor alimentación) y el efecto de la heterosis y/o una combinación de ambos factores. Tanto la producción de leche y el inicio de la actividad luteal se vieron afectados por asignación y el grupo genético y estas respuestas se asociaron con perfiles endocrinos y de expresión génica hepática diferenciales a través del ciclo de gestación-lactación en ganado de carne en nuestros sistemas pastoriles.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, V.G.; BATELLO, C.; BERRETTA, E.J.; HODGSON, J.; KOTHMANN, M., LI, X.; MCIVOR, J.; MILNE, J.; MORRIS, C.; PEETERS, A.; SANDERSON, M.** 2011. An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science* 66, 2-28
- BAUMAN, D.E.** 2000. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: *Ruman Physiology: Digestion, Metabolism and Growth and Growth and Reproduction*. Edited by P.J. Cronje. CAB Publishing, New York, NY, 311-327.
- BERRETTA, E.; RISSO, D.; MONTOSI, F.; FIGURINA, G.** 2000. Campos in Uruguay. In: Lemaire G, Hogdson J de Moraes A, Nabinger C, Carvalho PC, eds. *Grassland ecophysiology and grazing ecology*. New York, USA: CAB International 377-394.
- BELL, A.W.** 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73, 2804-2819.
- BOSSIS, I.; WETTEMANN, R.P.; WELTY, S.D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L.J.** 2000. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: Ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biology of Reproduction* 62, 1436-1444.
- BROSH, A.** 2007. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: A review. *Journal of Animal Science* 85, 1213-1227.
- BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S.H.; RADCLIFF, R.P.; LUCY, M.C.; BUTLER, W. R.** 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *Journal of Endocrinology* 176, 205-217.
- CARRIQUIRY, M.; WEBER, W.J.; FAHRENKRUG, S.C.; CROOKER, B.A.** 2009a. Hepatic gene expression in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *Journal of Dairy Science* 92, 4889-4900.
- CARRIQUIRY, M.; WEBER, W. J.; DAHLEN, C.R.; LAMB, G.C.; BAUMGARD, L.H.; VICINI, J.L.; CROOKER, B.A.** 2009b. Production response of multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed diets enriched with n-3 or n-6 fatty acids. *Journal of Dairy Science* 92, 4852-4864.
- CASTAÑO, J.; CERONI, M.; GIMÉNEZ, A.; FUREST, J.; AUNCHAYNA, R.** 2010. Caracterización agroclimática del

- Uruguay: 1980 - 2009. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. In: http://www.inia.org.uy/gras/agroclima/cara_agro/index.html (last login: October 2011).
- CHAPMAN, D.F.; PARSONS, A.J.; COSGROVE, G.P.; BARKER, D.J.; MAROTTI, D.M.; VENNING, K.J.; RUTTER, S.M.; HILL, J.; THOMPSON A.N.** 2007. Impacts of spatial patterns in pasture on animal grazing behavior, intake, and performance. *Crop Science* 47, 399–415.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M.** 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction, Nutrition, Development* 38, 131-52.
- CHILLIARD, Y.; DELAUAUD, C.; BONNET, M.** 2005. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domestic Animal Endocrinology* 29, 3-22.
- CUNDIFF, L.V.; GREGOR, Y.; KE, KOCH, R.M.** 1974a. Effects of heterosis on reproduction in Hereford, Angus and Shorthorn cattle. *Journal of Animal Science* 38, 711-727.
- CUNDIFF, L.V.; GREGORY, K.E.; SCHWULST, F.J.; KOCH, R.M.** 1974b. Effects of heterosis on maternal performance and milk production in hereford, angus and shorthorn cattle. *Journal of Animal Science* 38 728-745.
- ESPASANDIN, A.C.; CIRIA, M.; FRANCO, J.B.; PEREYRA, F.; GIMENO, D.** 2010. Heterosis and productive and reproductive performance in Angus, Hereford and F1 reciprocal crossed cows on grazing systems of Uruguay. *Proceedings of the XVI World Buiatrics Congress*. Chile.
- HAYDOCK, K.P.; SHAW, N.H.** 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 15, 663-670.
- JENKINS, T.G.; FERREL, C.L.** 1994. Productivity through weaning of nine breeds of cattle under varying feed availabilities: I. Initial Evaluation. *Journal of Animal Science* 72, 2787-2797.
- JONES, J.I.; CLEMMONS, D.R.** 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological actions. *Endocrinology Reviews* 16, 3–34.
- JIANG, H.; LUCY, M.C.; CROOKER, B.A.; BEAL, W.E.** 2005. Expression of growth hormone receptor 1A mRNA is decreased in dairy cows but not in beef cows at parturition. *Journal of Dairy Science* 88, 1370-1377.
- KOBAYASHI, Y.; BOYD, C.K.; BRACKEN, C.J.; LAMBERSON, W.R.; KEISLER, D.H.; LUCY, M.C.** 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.
- KOBAYASHI, Y.; BOYD, C.K.; MCCORMACK, B.L.; LUCY, M.C.** 2002. Reduced Insulin-Like Growth Factor-I after Acute Feed Restriction in Lactating Dairy Cows is Independent of Changes in Growth Hormone Receptor 1A mRNA. *Journal of Dairy Science* 85, 748–754.
- LAKE, S.L.; SCHOLLJEGERDES, E.J.; HALLFORD, D.M.; MOSS, G.E.; RULE, D.C.; HESS, B.W.** 2006. Effects of body condition score at parturition and postpartum supplemental fat on metabolite and hormone concentrations of beef cows and their suckling calves. *Journal of Animal Science* 84, 1038-1047.
- LOOR, J.J.; DANN, H.M.; EVERTS, R.E.; OLIVEIRA, R.; GREEN, C.A.; JANOVICK, GURETZKY, N.A.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; LEWIN, H.A.; DRACKLEY, J.K.** 2005. Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveals complex adaptive mechanisms in hepatic function. *Physiological Genomics* 23, 217-226.
- LUCY, M.C.; VERKERK, G.A.; WHYTE, B.E.; MACDONALD, K.A.; BURTON, L.; CURSONS, R.T.; ROCHE, J.R.; HOLMES, C.W.** 2009. Somatotropic axis components and nutrient partitioning in genetically diverse dairy cows managed under different feed allowances in a pasture system. *Journal of Dairy Science* 92, 526–539.
- MASHEK, D.G.; INGVAARTSEN, K.L.; ANDERSEN, J.B.; VESTERGAARD, M.; LARSEN, T.** 2001. Effects of a four-day hyperinsulinemic-euglycemic clamp in early and mid-lactation dairy cows on plasma concentrations of metabolites, hormones, and binding proteins.

- Domestic Animal Endocrinology 21, 169–185.
- MEIKLE, A.; KULCSAR, M.; CHILLIARD, Y.; FEBEL, H.; DELAUAUD, C.; CAVESTANY, D.; CHILIBROSTE P.** 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127, 727-737.
- MOTT.** 1960. Grazing pressure and the measurement of pasture production, *Proceedings of the 8th International Grassland Congress*.
- NICOLL, G.B.** 1979. Influence of pre and post-calving pasture allowance on hill country beef cow and calf performance. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 22, 417-424.
- NRC.** 2000. *Nutrient Requirements of Beef Cattle: Seventh Revised Edition: Update 2000*. Washington, D.C: National Academy Press, 234.
- PROVENZA, F.; VILLALBA, J.; DZIBA, L.; ATWOOD, S.; BANNER, R.** 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research* 49, 257–274.
- QUINTANS, G.; BANCHERO, G.; CARRIQUIRY, M.; LÓPEZ, C.; BALDI, F.** 2010. Effect of body condition and suckling restriction with and without presence of the calf on cow and calf performance. *Animal Production Science* 50, 931–938.
- RADCLIFF, R.P.; MCCORMACK, B.L.; CROOKER, B.A.; LUCY, M.C.** 2003. Growth hormone (GH) binding and expression of GH receptor 1A mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86, 3933-3940.
- RAJARAM, S.; BAYLINK, D.J.; MOHAN, S.** 1997. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocrine Reviews* 18, 801–831.
- ROBERTS, A.J.; NUGENT, R.A.; KLINDT, J.; JENKINS, T.G.** 1997. Circulating Insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *Journal of Animal Science* 75, 1909–1917.
- RHOADS, R.P.; KIM, J.W.; VAN AMBURGH, M.E.; EHRHARDT, R.A.; FRANK, S.J.; BOISCLAIR, Y.R.** 2007. Effect of nutrition on the growth hormone responsiveness of liver and adipose tissue in dairy cows. *Journal of Endocrinology* 195, 49-58.
- SCHNEIDER, A.; MACHADO PFEIFER, L.F.; TEIXEIRA HAX, L.; PALUDO, G.R.; BURKERT DEL PINO, F.A.; LAURINO DIONELLO, N.J.; CORRÊA, M.N.** 2010. Insulin-like growth factor and growth hormone receptor in postpartum lactating beef cows. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45, 925-931.
- SINCLAIR, K.D.** 2008. Lactational anoestrus in cattle: lessons from the suckled beef cow. *Cattle Practice* 16, 24-31.
- SMIT, H.J.; TAWHEEL, H.Z.; TAS, B.M.; TAMMINGA, S.; ELGERSMA, A.** 2005. Comparison of techniques for estimating herbage intake of grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 88, 1827-36.
- VIZCARRA, J.A.; IBAÑEZ, W.; ORCASBERRO, R.** 1986. Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas* 86-7, 45-47.
- WANG, Y.; ELESWARAPU, S.; BEAL, W.E.; SWECKER, W.S.; AKERS, R.M.; JIAN, G. H.** 2003. Reduced serum insulin-like growth factor (IGF) I is associated with reduced liver IGF-I mRNA and liver growth hormone receptor mRNA in food-deprived cattle. *The Journal of Nutrition* 133, 2555-2560.

J. Laporta*,
G.J.M. Rossa**,
H. Naya***,
M. Carriquiry*

*Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR.

**Department of Animal Sciences and Department of Biostatistics & Medical Informatics, University of Wisconsin, Madison, USA

***Instituto Pasteur Montevideo.

GENÓMICA FUNCIONAL DE LAS ADAPTACIONES METABÓLICAS DEL HÍGADO DURANTE LA GESTACIÓN Y LA LACTANCIA: VACAS DE CARNE PURAS Y SUS CRUZAS EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE DE DE CAMPO NATIVO

INTRODUCCIÓN

En nuestros sistemas de producción de carne, pastoreo de campo nativo a cielo abierto, los últimos meses de gestación y el parto transcurren durante el invierno o inicio de primavera, cuando la cantidad y la calidad de las pasturas limita el consumo de energía (Chapman *et al.*, 2007) y aumenta el costo energético de pastoreo (Brosh *et al.*, 2007). Esto determina la aparición de un balance energético negativo (BEN) y como consecuencia la pérdida de condición corporal (CC) previo al parto (Quintans *et al.*, 2010) para sostener las demandas por parte del feto y de la glándula mamaria (Bell, 1995). Esta tensión nutricional y metabólica podría contribuir al bajo rendimiento reproductivo observado en nuestros sistemas de producción (Quintans *et al.*, 2008; Laporta *et al.*, 2012, sin publicar).

La capacidad de los animales para adaptarse y sobrellevar estos períodos de BEN depende de la capacidad de su sistema endócrino y metabólico de mantener la homeostasis. La regulación metabólica y endocrina depende, en parte, del control de la transcripción de redes de genes, que afectan a la síntesis de enzimas reguladoras claves en dichos procesos. El hígado es un órgano metabólicamente activo y juega un rol central

en el metabolismo intermediario. El ambiente (incluyendo la nutrición) tanto endócrino, autócrino y parácrino, así como las señales metabólicas y hormonales gobiernan la tasa de transcripción de ARNm (Loor, 2010) y son responsables, en parte, de los cambios en la expresión de ciertos genes a nivel hepático (McCarthy *et al.*, 2010). En particular, la preñez y la lactancia son etapas fisiológicas muy demandantes para la vaca durante las cuales ocurren grandes alteraciones en el metabolismo hepático debido a una mayor necesidad de nutrientes por la glándula mamaria y el feto (Bell, 1995).

¿QUÉ ES UN MICROARREGLO? CUÁL ES SU UTILIDAD EN INVESTIGACIÓN?

La actividad y expresión de los genes influye sobre los procesos biológicos que ocurren en el animal. Los estudios genómicos, como la tecnología de microarreglos, proveen una herramienta para explorar los mecanismos genéticos que gobiernan la variación fenotípica observable, para el estudio de vías metabólicas regulatorias y el descubrimiento de nuevos genes candidatos ya que nos permite

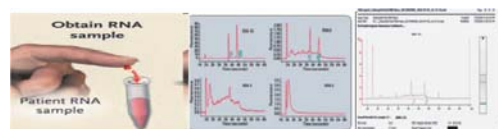
monitorear en paralelo y de forma masiva los niveles de expresión (cantidad de ARN) de miles de genes simultáneamente. Su gran utilidad en investigación radica en que los patrones de expresión conjunta pueden usarse para la caracterización molecular de fenómenos biológicos (Walsh y Henderson, 2004), lo que nos permite ahondar nuestro conocimiento sobre dichos procesos y en el largo plazo poder intervenir sobre los mismos. Es así que esta gran masa de información genómica provee una nueva visión sobre cómo funcionan los sistemas biológicos, permitiendo la identificación de genes involucrados en las respuestas biológicas.

La tecnología de microarreglos combina dos técnicas: hibridación de ácidos nucleicos y detección por fluorescencia. Básicamente, un microarreglo es un soporte sólido en el cual se encuentran inmovilizados, en un área pequeña, miles de genes (secuencias de nucleótidos) de manera ordenada y posición conocida llamados 'spots'. Cada secuencia de nucleótidos en un spot se corresponde o 'representa' un gen diferente. La muestra 'blanco' se marca con colorantes fluorescentes (Cy3-verde y/o Cy5-rojo), luego se produce la reacción de afinidad en la que se hibridan las hebras de DNA de las muestras marca-

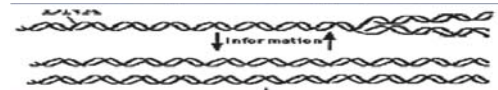
das con sus complementarias inmovilizadas en la superficie del microarreglo. Luego de sucesivos lavados, se detecta la fluorescencia mediante un escáner. De esta manera, sólo en los spots donde haya ocurrido hibridación habrá fluorescencia y la intensidad de la fluorescencia detectada será proporcional al nivel de expresión del gen en particular. Esto posibilita tener una visión instantánea de actividad de genomas completos o de un grupo selecto de genes. La Figura 1 resume los principales pasos involucrados en un diseño de microarreglos. Información detallada de la tecnología de microarrays, incluyendo sus fortalezas y limitantes, puede encontrarse en dos revisiones, Knudsen (2002) y Causton *et al.* (2003).

Varios estudios utilizaron esta tecnología para evaluar el transcriptoma hepático en vacas lecheras durante la gestación (Herath *et al.*, 2004), el parto y la lactancia temprana (Loor *et al.*, 2005), durante periodos de balance energético negativo o restricción alimenticia (Loor *et al.*, 2006, McCarthy *et al.*, 2010), y enfermedades metabólicas como la cetosis (Loor *et al.*, 2007). En ganado de carne, se ha utilizado para estudiar los perfiles de expresión en el músculo (Hocquette *et al.*, 2007), en la glándula pituitaria anterior (Roberts y MacLean, 2011), y el

1. Extracción de ARN de la muestra y control de calidad (RIN, integridad)



2. Síntesis de ADNc, síntesis de ARNc y amplificación



3. Marcate con fluorocromo verde (Vy3) y/o rojo (Cy5)



4. Purificación y control de marcado



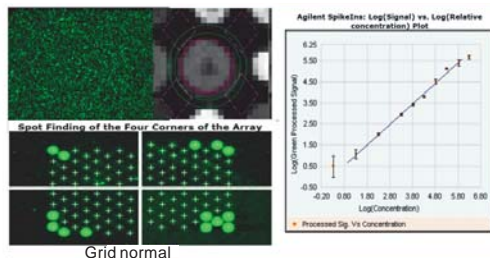
5. Fragmentación, hibridación e incubación (17 h a 65 °C). Lavados (sucesivos buffers)



6. Escaneado



7. Análisis de imagen



8. Análisis estadístico e interpretación de resultados

Figura 1. Resumen de los pasos necesarios en un experimento de microarreglos.

endometrio (Forde *et al.*, 2009). Connor *et al.* (2010) estudió el perfil de expresión hepática durante los períodos de restricción alimenticia en novillos Angus y Timperio *et al.* (2009) entre dos razas contrastantes seleccionadas para los rasgos de la leche o la carne. Sin embargo, no existen estudios que se centren en la comprensión de cómo la nutrición (asignación de forraje de campo natural) y el genotipo de vaca (puras y cruza) podrían afectar a los mecanismos de regulación hepática durante la gestación y la lactancia temprana en vacas de carne en pastoreo. En este sentido, nuestro principal **objetivo** en este estudio fue evaluar la transcriptómica hepática asociada a los cambios en el balance energético a lo largo del año en vacas de carne de diferente genotipo pastoreando dos asignaciones de forraje, con el fin de identificar los aspectos moleculares (genes y vías metabólicas) de regulación implicados en estos procesos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el marco del **Experimento 1** (EEBR) y los detalles del protocolo experimental y de las mediciones realizadas se presentan a continuación (Figura 2). Se evaluaron cuatro vacas (réplicas biológicas) por tratamiento (CR-alta, CR-baja, PU-alta, PU-baja).

Extracción de ARN y Preparado, hibridación y escaneado de microarreglos. Se extrajo el ARN total del tejido

hepático y trató con ADNasa de acuerdo a Carriquiry *et al.* (2009) y se evaluó la calidad previo a su utilización en los microarreglos (RIN promedio obtenidos de las muestras fueron de $6,7 \pm 0,4$, aptas para la aplicación de la tecnología de microarreglos). Se realizó un diseño de un color ó canal usando microarrays de expresión (Agilent 4 x 44K bovino (v2); G2519F), que contiene 43.803 sondas que representan 17.123 genes. Todo los procedimientos hibridación, amplificación y marcado de la sonda, se llevaron a cabo siguiendo el protocolo del fabricante. Brevemente, se realizó la amplificación y marcado de 600 ng de ARN total. Se sintetizó ARN copia y la amplificación se realizó con la transcriptasa inversa y T7 oligo (dT) primer. Todas las muestras fueron marcadas con un fluorocromo verde (cianina 3-marcadas Cy3). Luego se purificó, se fragmentó e hibridó en los correspondientes arrays. Los arrays se incubaron durante la noche (17h) a 65°C , luego se lavaron para eliminar el cARN no hibridado, y luego se escanearon (G2505B, Agilent Technologies de Santa Clara, CA, EE.UU.). Las imágenes fueron procesadas mediante el Agilent Software versión 9.5 (FE, Agilent Technologies, Redwood City, CA, EE.UU.). Para evaluar la calidad de los datos obtenidos se verificó la reproducibilidad y linealidad de los controles. Todos los procedimientos fueron realizados en la plataforma integrativa del Institut Pasteur, Montevideo.

Análisis estadístico y filtrado de datos. El análisis estadístico se realizó mediante GeneSpring (GS) 11.5X soft-

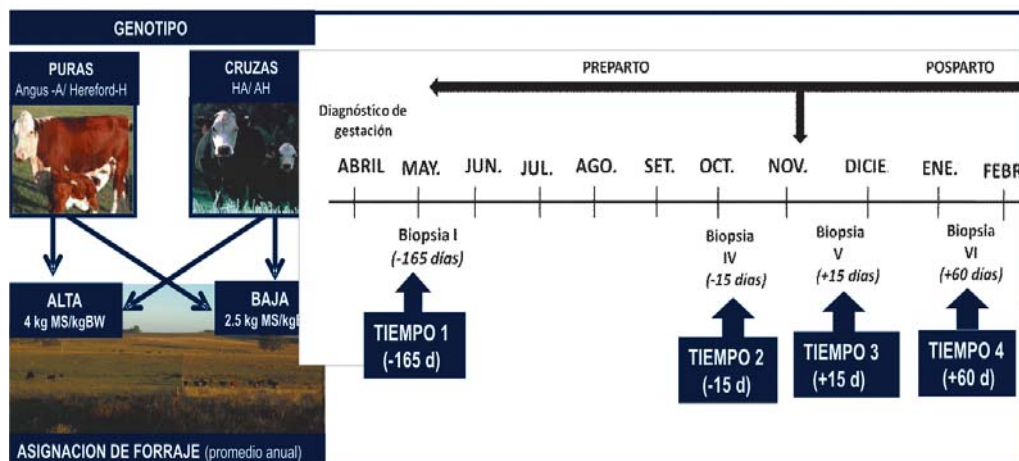


Figura 2. Resumen gráfico de los tratamientos y el protocolo experimental de trabajo. Fecha de parto promedio: 13 de noviembre (día 0 del experimento).

ware (Agilent Technologies silicio Genética, Redwood City, CA, EE.UU.). Se realizó una normalización por-array y por-gen de los datos crudos mediante el cambio de percentil (75th) y mediante la transformación de la línea base a la mediana de todos los genes representados, respectivamente. Se realizó un filtrado de los datos basado en los valores obtenidos en el Feature Extraction (D-detectado, ND-no detectados y C-comprometidos). Datos de intensidad negativa y por debajo del ruido de fondo fueron clasificados como ND, e intensidades saturadas o valores extremos se clasificaron como C. Sólo las sondas que contenían 75% de los datos D fueron aceptadas. Las sondas que no cumplan con estos criterios se eliminaron del análisis.

Para identificar los genes expresados diferencialmente (GDE) se realizó un ANOVA de tres vías. Los valores de probabilidad se ajustaron por el número de comparaciones el cual contempla la tasa de falsos positivos (false discovery rate-FDR, Benjamini y Hochberg, 1995). Los GDE se agruparon jerárquicamente y se visualizan en clusters (conglomerados) para evaluar los genes co-expresados. Para entender mejor los cambios que se produjeron a nivel del transcriptoma, se realizó un análisis de vías metabólicas (*Gene Set Enrichment Analysis* GSEA; Subramanian *et al.*, 2005) mediante la base de datos MsigDB <http://www.broadinstitute.org/gsea/msigdb/>, una colección de 880 conjuntos de genes (vías metabólicas) de diversas fuentes.

Validación de los resultados por q-PCR Para validar los resultados obtenidos por microarrays, se cuantificó la expresión de 9 genes a través del tiempo mediante PCR en tiempo real.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Genes expresados diferencialmente

Encontramos 4784 GDE (FDR=0,1), 4663 que cambiaron a lo largo del tiempo (272 genes con cambios $\geq 2,5$ en al menos uno de los tiempos evaluados. El Cuadro 1 muestra alguno de los GDE más significativos. Sólo un gen (ABCA4,

binding gap ATP, sub-familia, NM_174221) varió debido a la asignación de forraje (sub-expresado 1,6 veces en las vacas pastoreando alta asignación, en comparación con las bajas). Si bien no hubo interacción entre el tiempo con la asignación de forraje ni con el genotipo animal, la interacción entre este último y la asignación fue significativa (148 genes, 74 con cambios $\geq 2,0$, datos no presentados en este trabajo).

Por tanto, el factor que más contribuyó a la alteración de la expresión génica hepática durante el ciclo de gestación-lactación en las vacas de carne en condiciones pastoriles fue el tiempo (efecto de los días), evidenciado por más de 4000 GDE. Esto probablemente se debió a los dramáticos cambios en cantidad y calidad de la pastura a lo largo del año (limitante del consumo de energía) y los cambios en el estado fisiológico de vaca, transición desde la preñez (otoño-invierno), el parto (primavera) y lactancia (Primavera-Verano). Varios autores (Meikle *et al.*, 2004; Looor *et al.*, 2005; McCarthy *et al.*, 2010) han descrito y caracterizado que los mayores cambios metabólicos, hormonales y moleculares en vacas lecheras de producción ocurren durante el periparto (transición desde el parto al inicio de la lactancia, típicamente -15 a +15 días), momento en el cual las vacas lecheras experimentan un BEN corto pero intenso. Nuestros resultados en vacas de carne demuestran que la carga metabólica del hígado durante este período no es esencial, ya que no se observaron cambios en términos de genes expresados diferencialmente. Por el contrario, en nuestro estudio, la mayor actividad del hígado se observó durante el período de gestación-invernal (-165 a -15 días), mientras que el período de lactancia (15 y 60 días), no implicó un desafío metabólico para la vaca de carne, probablemente asociado a la baja producción de leche (Quintans *et al.*, 2010, Laporta *et al.*, 2012 enviado).

Genes relacionados al metabolismo energético intermediario

La glucosa es una fuente primaria de energía para ciertos tejidos animales y el principal precursor para la síntesis de la

Cuadro 1. Subconjunto de transcritos expresados diferencialmente (FDR = 0,1) con cambios de expresión e^a a 2.5 veces al menos en uno de los 4 tiempos evaluados (-165, -15 días preparto, +15 y +60 días postparto)

Gen	Símbolo	p-valor ¹	Tasa de cambio entre tiempos		
			² -165 vs. -15	-15 vs. +15	+15 vs. +60
Cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21, Cip1)	CDKN1A	4.73E-10	3.059	-1.073	2.341
Inhibin, beta A	INHBA	9.07E-10	5.083	-1.143	1.363
Cyclin D1	CCND1	2.39E-09	-3.773	1.113	1.055
Pyruvate dehydrogenase kinase, isozyme 4	PDK4	7.03E-09	-6.378	1.713	-1.110
Adrenergic, beta-2-, receptor, surface	ADRB2	2.96E-08	-3.305	1.379	1.093
Glucose-6-phosphatase, catalytic subunit	G6PC	4.88E-08	-3.193	1.639	1.196
DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 11	DNAJB11	7.30E-08	3.320	-1.147	1.384
Heat shock 70kDa protein 5 (glucose-regulated protein, 78kDa)	HSPA5	4.00E-07	3.194	-1.212	1.791
Chemokine (C-C motif) ligand 26	CCL26	1.10E-06	3.169	1.443	2.841
Chemokine (C-C motif) ligand 24	CCL24	1.73E-06	5.499	1.369	1.116
Inhibitor of DNA binding 1, dominant (-)helix-loop-helix protein	ID1	1.06E-05	3.030	1.087	1.127
Cell division cycle 16 homolog (S. cerevisiae)	CDC16	1.79E-05	1.322	-1.001	3.085
Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (soluble)	PCK1	2.31E-05	-3.170	1.408	-1.063
Solute carrier family 25, member 30	SLC25A30	2.557E-05	-3.487	1.567	-1.666
Stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase)	SCD	4.637E-05	1.076	-2.233	4.230
S100 calcium binding protein G	S100G	5.374E-05	-7.948	1.096	-1.092
Chemokine (C-X-C motif) ligand 16	CXCL16	6.878E-05	1.032	-1.140	3.457
Malic enzyme 3, NADP(+)-dependent, mitochondrial	ME3	1.094E-04	1.142	-1.215	3.036
Enolase-phosphatase 1	ENOPH1	1.592E-04	-1.304	1.028	3.121
P21 protein (Cdc42/Rac)-activated kinase 4	PAK4	4.503E-04	-1.175	1.413	3.086
Chemokine (C-X-C motif) ligand 2	CXCL2	4.629E-04	3.059	-1.647	1.191
Apolipoprotein A-IV	APOA4	4.978E-04	-3.150	1.930	-1.823
Fibroblast growth factor 21	FGF21	2.030E-03	4.062	1.208	1.166

¹p-valores sin corregir del análisis ANOVA de 3 vías. ²-165, -15, +15 y +60 días en relación al parto (días 0). ³Signo negativo: gen está menos expresado en el primer tiempo, signo positivo: gen más expresado en el primer tiempo de la comparación -

lactosa en la glándula mamaria. El hígado suministra hasta el 90% de los requerimientos de glucosa en los ruminantes a través de la gluconeogénesis hepática (Nafikov *et al.*, 2007). El metabolismo oxidativo de la glucosa en la mitocondria está regulado por el complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH). La enzima piruvato deshidrogenasa quinasa isoenzima 4 (PDK4) inactiva dicho complejo mediante la fosforilación de una de sus subunidades, lo que reduce la conversión de piruvato (producidos a partir de la oxidación de la glucosa y los aminoácidos) a acetil-CoA contribuyendo a la regulación del metabolismo de la glucosa. En este estudio, la expresión del ARNm de *PDK4* aumentó seis veces durante el período de gestación-invernal, lo que sugiere que una mayor expresión de *PDK4*, si se traduce a mayor cantidad de proteína, estaría contribuyendo a la conservación de lactato, alanina y piruvato (al disminuir la conversión de piruvato a acetil-CoA) que pueden servir como sustratos primarios para la gluconeogénesis (Harris *et al.*, 2002). Por otra parte, y en el mismo sentido de nuestros resultados, Kwon y Harris (2004) reportaron que la insulina y la ingesta de alimento regulan negativamente la expresión de este gen y que su nivel de expresión actuaría como un marcador del estado lipídico (a través de la producción de acetil-CoA; Holness y Sugden, 2003). De esta manera, la regulación de la actividad de la PDH, sería de gran importancia tanto en el metabolismo de glucosa como en el metabolismo de los lípidos en ganado de carne.

La expresión hepática de enzimas clave en la gluconeogénesis hepática piruvato carboxikinasa PCK1 (también conocida como PEPCKc-citosólica), la glucosa-6-fosfatasa (G6PC) y piruvato carboxilasa (PC) aumentaron marcadamente (3, 3 y 1,6 veces, respectivamente) durante la gestación invernal. Esta regulación coordinada refleja una mayor capacidad gluconeogénica durante los períodos de BEN asociados a la mayor demanda de glucosa por parte del feto y a la necesidad de mantener su concentración en sangre (Greenfield *et al.*, 2000). Además, la disminución del flujo de propionato durante el invierno (como consecuencia de una reducción en el consumo

de alimento/menor disponibilidad de forraje) podría explicar el aumento en la expresión de estos transcritos (Drackley *et al.*, 2001). Estos resultados reflejan una reducción de la disponibilidad de glucosa acoplada a la necesidad del mantenimiento de su homeostasis durante períodos de BEN.

Un aspecto clave en la respuesta metabólica a períodos de BEN implica la dependencia de los ácidos grasos como fuente de energía (McCarthy *et al.*, 2010). En este estudio, varios genes y vías metabólicas relacionados con el metabolismo de lípidos y ácidos grasos estuvieron diferencialmente expresados a lo largo del tiempo. Varios autores han reportado un aumento en la transcripción de enzimas clave involucradas en este proceso en vacas lecheras durante períodos de BEN asociado a aumentos de AGNE y disminución de insulina a nivel sanguíneo (Loor *et al.*, 2005; 2006; 2007; van Dorland *et al.*, 2009; McCarthy *et al.*, 2010). En este trabajo encontramos un aumento en genes implicados en la β -oxidación a nivel mitocondrial como la *acil-CoA deshidrogenasa* (ACAD, que cataliza el paso inicial en cada ciclo de β -oxidación). Sin embargo, encontramos además un aumento no solo de la enzima involucrada en la oxidación de ácidos grasos de cadena muy larga (ACADVL, 3 veces más, también reportado por Loor *et al.* (2005, 2006) y McCarthy *et al.* (2010) durante el período de transición en las vacas lecheras), sino también de ácidos grasos de cadena media (C-4 a C-12, ACADM, 1,6 veces más) y corta (C-2 a C-3 de cadena corta, ACADS, 1,6 veces más). Por primera vez en ganado de carne reportamos un aumento de las enzimas clave de la β -oxidación peroxisomal y microsomal de ácidos grasos de cadena muy larga y de cadena ramificada. La expresión hepática de *ACOX1*, *acil coenzima A-oxidasa 2 de cadena ramificada* (*ACOX2*) y *enoil-coenzima A, hidratase/3-hydroxyacyl coenzima A deshidrogenasa* (*EHHADH*) aumentaron 1,5, 2 y 2,8 veces, respectivamente, durante el período de gestación-invernal. Este hallazgo revela el papel clave de la β -oxidación peroxisomal (previamente reportada en ganado leche; Grum *et al.*, 1994; 1996) también en ganado de carne. Por otra parte el transcripto *P450 familia*

4, subfamilia A, polipéptido 11 (CYP4A11) involucrado en la ω -oxidación de ácidos dicarboxílicos en los microsomas (Kohjima *et al.*, 2007) aumentó 2,7 veces durante la gestación invernal.

Durante las altas tasas de oxidación de ácidos grasos, el hígado genera grandes cantidades de acetil-CoA que exceden la capacidad de entrada al ciclo de Krebs. En este sentido, encontramos un aumento (2,5 veces durante la gestación invernal) en la expresión del transcripto 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A sintetasa 2 (HMGCS2), enzima clave en la síntesis de cuerpos cetónicos (β -hidroxi-butilato y acetoacetato) en la mitocondria, que luego se oxidan en otros tejidos para producir energía y que permiten lidiar con el exceso de acetil-CoA generado (Voet y Voet, 2004).

Encontramos además una serie de transportadores de solutos (SLC) involucrados en la entrada y la salida de ácidos grasos (SLC27A1, A2), glucosa (SLC2A6, A8, SLC5A8), aminoácidos (SLC38A10, SLC43A2) y de ácidos mono carboxílicos (SLC16A1, A5, A8, A11), que participan en la división de suministro de energía en varios tejidos. Dichos transportadores aumentaron su expresión entre los -165 a -15 días (gestación invernal) lo que sugiere un metabolismo/transporte de solutos en las células hepáticas muy activo durante este período.

Esta expresión de enzimas claves en la oxidación de ácidos grasos a nivel mitocondrial, peroxisomal (β -oxidación) y microsomal (ω -oxidación) así como en la síntesis de cuerpos cetónicos como fuente alternativa de energía señalan una acción coordinada a varios niveles con el objetivo final de hacer frente al aumento marcado de AGNE (resultantes de la movilización de tejido adiposo) durante la gestación invernal en vacas de carne (Laporta *et al.*, 2012 enviado, Quintans *et al.*, 2010; Astessiano, 2011).

Vías metabólicas

Complementamos el análisis anterior utilizando el enfoque GSEA para identificar y caracterizar las rutas metabólicas (grupos de genes que comparten la función biológica común, Subramanian *et*

al., 2005) que se encienden o apagan a lo largo del año. Sesenta y seis conjuntos de genes fueron identificados mediante este método (Cuadro 2). Se identificaron diversas vías implicadas en el metabolismo intermediario (ácidos grasos y metabolismo de la glucosa, confirmando los resultados encontrados respecto a los GDE y discutidos previamente) y de la renovación y diferenciación celular (proliferación, crecimiento y apoptosis) que se encontraban encendidas (más expresadas) y apagadas (menos expresadas) durante el período de gestación invernal, respectivamente. Más del 80% del total de los genes identificados en cada una de las vías metabólicas encontradas se encontraban representados (expresados) en este estudio.

Por primera vez reportamos la participación de vías metabólicas relacionadas al ciclo celular involucradas en el período de BEN invernal en ganado de carne. El crecimiento y proliferación celular requiere una coordinación compleja entre señales estimuladoras (nutrientes y factores de crecimiento) y señales inhibitoras (estrés intra y extracelular). La vía metabólica de mTOR responde a señales incluyendo nutrientes (glucosa y aminoácidos), energía (ATP y AMP), y factores de crecimiento, y es co-regulada por la vía IGF-1/AKT para garantizar un nivel razonable de nutrientes y un señal positiva para el crecimiento, división celular y síntesis proteica (Feng, 2010). En este trabajo la vía metabólica IGF-1/mTOR se encontraba apagada (expresión disminuida entre -165 y -15 días), junto a la disminución de glucosa e insulina (Laporta *et al.*, enviado) que ocurren durante este período. En particular, se ha observado que la vía mTOR regula la síntesis de proteínas a través de la modulación de la transcripción del mRNA, la biosíntesis ribosomal, y control de la traducción. En el presente estudio, el nivel de expresión de vías que participan en la transcripción y la traducción se encontraba también reducido en gestación invernal (ej.: ARN polimerasa).

Según Feng (2010), el estrés nutricional no solo inhibe la vía mTOR/IGF-I sino también resulta en la fosforilación transitoria (activación) de la proteína p53 que regula negativamente el crecimiento y la división celular en respuesta al estrés

Cuadro 2. Análisis conjunto de genes de enriquecidos (GSEA) para el parámetro de tiempo (FDR = 0,25)

Vía metabólica	n/m ¹	-165 vs. -15 ²		-15 vs. +15		+15 vs. +60		ES	database
		p-valor	ES	p-valor	ES	p-valor	ES		
Glycolysis and Gluconeogenesis	52/62	0.002	-0.593	0.670	0.238	0.066	0.489	0.066	KEGG
Metabolismo de ácidos grasos	38/42	0.004	-0.716	0.606	0.284	0.661	0.252	0.661	KEGG
Biosíntesis de hormonas esteroideas	33/55	0.031	-0.573	0.259	0.463	0.463	0.328	0.463	KEGG
Metabolismo de aminoácidos	28/31	0.008	-0.617	0.054	0.549	0.616	0.308	0.616	KEGG
Metabolismo de los glicerolípidos	38/49	0.022	-0.486	0.120	0.414	0.297	-0.343	0.297	KEGG
Metabolismo de propionato	28/33	0.041	-0.635	0.735	0.278	0.556	0.351	0.556	KEGG
ARN polimerase	25/29	0.112	0.515	0.026	0.505	0.799	0.242	0.799	KEGG
Proteasoma	41/48	0.020	0.635	0.135	-0.462	0.016	0.621	0.016	KEGG
Vía de señalización-PPAR	61/69	0.002	-0.633	0.111	0.364	0.026	0.425	0.026	KEGG
Vía de señalización -TGFβ	63/86	0.012	0.405	0.819	0.197	0.206	0.292	0.206	KEGG
Diabetes	15/25	0.029	0.594	0.375	0.373	0.346	-0.384	0.346	KEGG
Vía metabólica IGF1-MTOR	19/20	0.024	0.554	0.227	0.414	0.126	0.505	0.126	Biocarta
Transportadores SLC – aa y oligopéptidos	30/48	0.012	-0.470	0.006	0.594	0.393	-0.347	0.393	Reactome
Apoptosis	111/129	0.058	0.390	0.971	0.156	0.060	0.398	0.060	Reactome
Ciclina E – transición G1/S ciclo celular	53/58	0.012	0.602	0.314	-0.354	0.014	0.581	0.014	Reactome
Expresión génica	382/425	0.038	0.386	0.383	0.241	0.232	0.309	0.232	Reactome
Transición M/G1 ciclo celular	54/61	0.039	0.517	0.809	-0.216	0.049	0.503	0.049	Reactome
Metabolismo de lípidos y lipoproteínas	193/228	0.033	-0.432	0.128	0.347	0.135	0.360	0.135	Reactome
Reparación del AND independiente de p53	40/43	0.018	0.648	0.303	-0.387	0.018	0.630	0.018	Reactome
Synthesis of bile acids and salts	16/19	0.009	-0.767	0.176	0.483	0.852	0.252	0.852	Reactome
Transcripción	135/197	0.025	0.427	0.594	0.221	0.907	0.171	0.907	Reactome
Estabilización de P53	44/46	0.043	0.601	0.207	-0.404	0.020	0.591	0.020	Reactome

¹n=número de genes en el conjunto de datos analizados; m=número total de genes en el conjunto de genes originales. ²-165, -15, +15 y +60 días relativos a el parto.

(Lavin y Gueven de, 2006, Feng, 2010). Contrariamente a esto, la estabilización de p53 también se encontraba apagada durante este período, lo que indica que sus acciones estarían inactivas. Por lo tanto, la comunicación entre estas dos vías metabólicas p53 y mTOR/ GF-I parece estar interrumpida durante la gestación invernal en vacas de carne sometidas a pastoreo. Aún más, esta disminución en la expresión de la vía p53 es consistente con los hallazgos correspondientes a la disminución en el control del ciclo celular (transición G1/S y M/G1) y la apoptosis. Esta disminución de la estabilización de p53 es consistente con las vías de disminución relacionada con la detención del ciclo (transición G1/S y M/G1) y la apoptosis, aumentándose así la capacidad proliferativa celular y la prevención de la apoptosis y la senescencia (Stewart y Pietenpol, 2000; Lavin y Gueven, 2006).

Este patrón de expresión coordinado de inhibición probablemente tenga un impacto negativo en el crecimiento del tejido y los mecanismos de reparación durante la preñez. McCarthy *et al.* (2010) también reportaron una disminución en la expresión de los dichas vías proporcionando evidencia que el crecimiento y proliferación celular están comprometidos en vacas lecheras durante el BEN. Además, en el presente estudio, la vía de señalización del factor de crecimiento TGF- β (que participan tanto en regulación positiva y negativa de la proliferación y diferenciación celular, la respuesta inmune y los procesos de apoptosis (Chen *et al.*, 2003) también estuvo disminuida durante la gestación invernal

Análisis de Clusters

Con el fin de explorar los patrones de co-regulación de los GDE en el tiempo se agruparon jerárquicamente y se visualizaron en un mapa (Figura 3A). Diferentes grupos de genes co-regulados a través del tiempo se pueden observar en la figura. Por ejemplo, si observamos lo que ocurre en el tiempo 1 (-165 días) hay un grupo de genes cuya expresión se encuentra en color verde, otro grupo en color rojo y el resto de los genes en color negro (sub-expresado, sobre-expresado o no expresados o apagados en ese

momento en particular, respectivamente). Ese mismo grupo de genes varía sus niveles de expresión en los demás tiempos, genes que se encontraban prendidos en el tiempo 1 se apagan y viceversa en el tiempo 2 (-15 días). Este análisis nos permitió hallar grupos de genes (datos no presentados en este trabajo) que se expresan de manera coordinada o conjunta y que podrían compartir una función similar.

Realizamos además un t-test entre las dos asignaciones de forraje (alta vs. baja) y encontramos 225 GDE de los cuales 47 presentaron diferencias \geq a 2 entre asignaciones. El análisis de clusters para estudiar el perfil de expresión de los 47 GDE entre las dos asignaciones de forraje se presenta en la Figura 3B. Claramente se observan dos grupos de genes con patrones similares de expresión. El grupo *a* con 28 genes fuertemente encendidos en las vacas de alta asignación de forraje y apagados en las vacas en Baja asignación (incluyendo la *fosfatasa enolasa*, ENOPH1 y *aldolasa C*, ALDOC, que participan en el metabolismo de la glucosa), y el grupo *b*, que contiene 19 genes con un patrón opuesto de expresión, estando apagados en alta y encendidos en baja asignación de forraje.

Grupo genético y oferta de forraje

Tanto el análisis de clústeres como el de vías metabólicas, identificaron dos transcritos *aldolase C* (ALDOC) y *enolase fosfatasa-1* (ENOPH1) 2 veces más expresados, así como el metabolismo intermedio de vías relacionadas con la gluconeogénesis y el metabolismo del piruvato encendidas en las vacas que pastoreaban alta asignación de forraje. Esto podría asociarse probablemente a un mayor consumo de MS, y como consecuencia una mayor disponibilidad de precursores gluconeogénicos, y una mayor actividad metabólica hepática por parte de estos animales. Por otra parte, dos transcritos que codifican para las enzimas de la síntesis de ácidos grasos *de novo* (FASN) y la hidrólisis de diacilglicerol (DAGLB) se encontraban expresados 2,5 veces más en las vacas en alta asignación Sin embargo, el significado

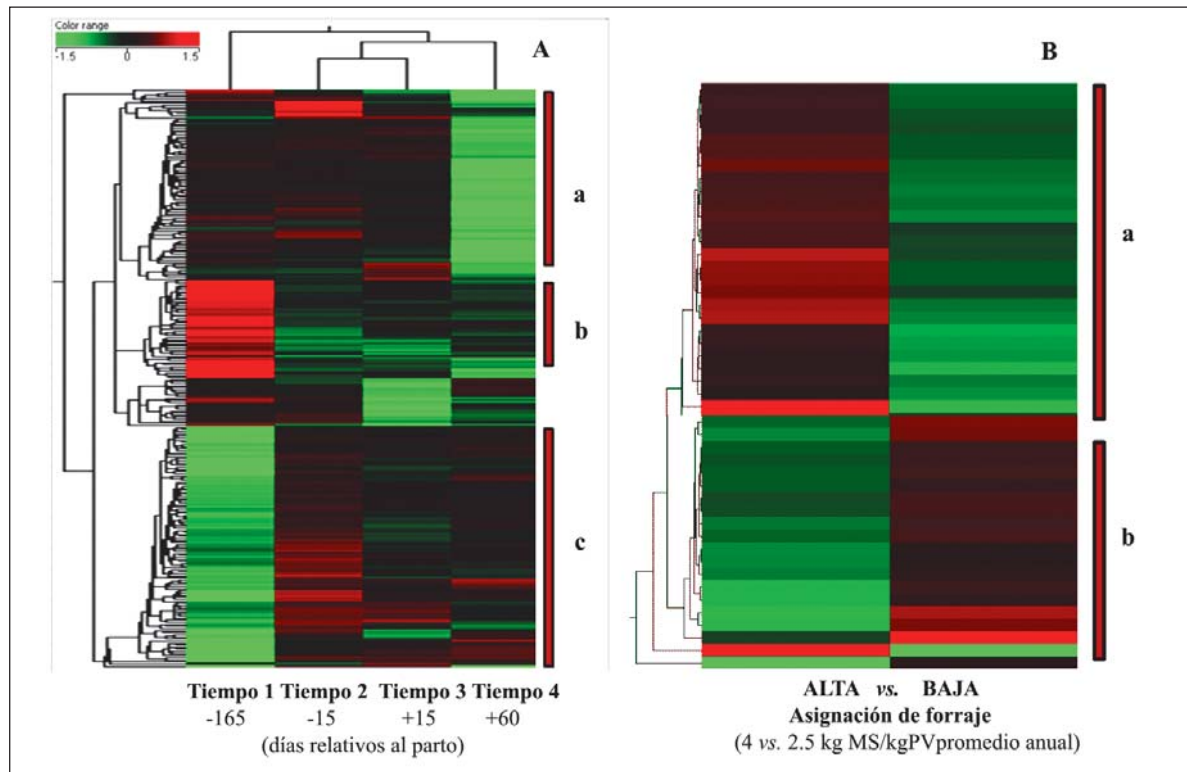


Figura 3. Los genes expresados diferencialmente se agruparon jerárquicamente y se muestra en un mapa de intensidad (cluster): **A)** 272 gens diferencialmente expresados a lo largo del tiempo (con cambios $>2,5$ en al menos alguno de los tiempos evaluados) resultantes del ANOVA. Se observan 3 clusters (grupos de genes a, b y c) con patrones similares de expresión a lo largo del tiempo. **B)** genes diferencialmente expresados según la asignación de forraje (alta y baja 4 y 2,5 kg MS/kg PV, promedio anual respectivamente) resultantes de un t-test no pareado. Se observan dos clusters a y b. El nivel de expresión está representado por una escala de color de verde (bajo) a rojo (alto) como se indica en la barra de escala en la esquina superior izquierda. Dendrogramas para las distancias de los genes se muestran a la izquierda.

biológico de este hallazgo no es claro y requiere mayor estudio.

Se observaron solo pequeños cambios en la expresión génica hepática debido al genotipo animal, lo que sugiere que las diferencias fenotípicas en el ciclo de gestación, la lactancia de las vacas de carne (mayor producción de leche y más corto el anestro posparto, Laporta *et al.*, datos no presentados) no se asocian en gran medida a las diferencias de transcripción. Sólo dos genes se encontraron diferencialmente expresados entre las vacas CR y PU, la *proteína transmembrana 149* (TMEM149) y el *fat mass and obesity-associated protein gen* (FTO). Poritsanos *et al.* (2010) reportaron mayor expresión de ARNm de este gen en el hígado de los ratones en ayuno y sugirieron que este transcrito puede participar en la regulación del metabolismo de la glucosa. La mayor expresión de ARNm

de FTO en las vacas CR que en las PU pueden asociarse o explicar las diferencias metabólicas y mecanismos de adaptación diferenciales a los períodos de BEN entre los genotipos, ya que una mayor expresión de ARNm de enzimas gluconeogénicas (PC y PCK1) entre CR y PU se reportado (Laporta *et al.*, enviado). Sin embargo, la expresión y función de estos genes en el hígado de vaca de carne requiere un mayor análisis.

Validación por RT-PCR

Los patrones de expresión génica de 10 genes detectados por el análisis de microarrays en el tiempo: *factor de crecimiento similar a la insulina-1* (IGF-1), *proteína de unión a la IGF-1-tipo 2 y 3* (IGFBP2 e IGFBP3), *acyl-CoA oxidase-1* (ACOX), *acyl-CoA dehidrogenasa de ácidos grasos de cadena larga* (ACAD-

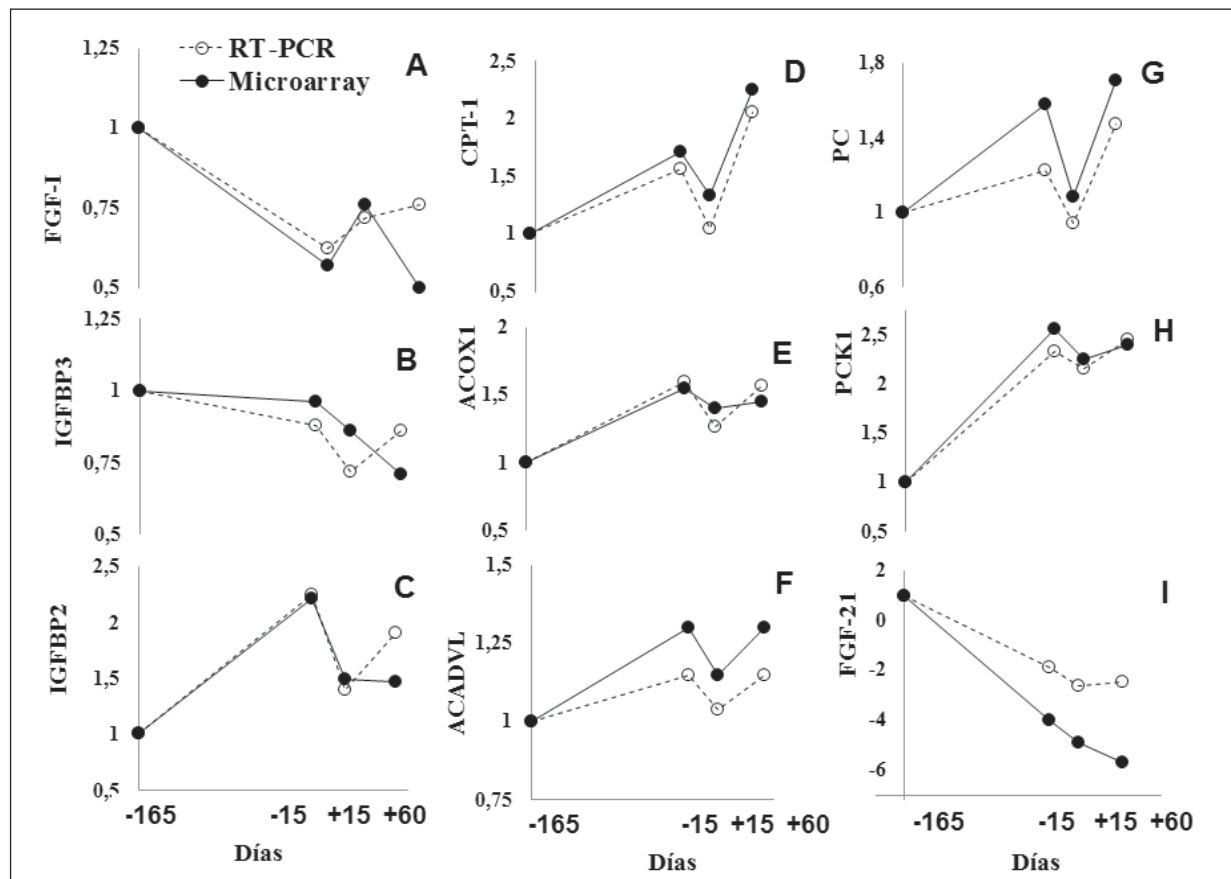


Figura 4. Comparación de los patrones de expresión (cambios relativos al día -165) observados mediante dos técnicas: microarrays (línea entera, círculo entero) y PCR en tiempo real (RT-PCR; línea punteada, círculo abierto) para 9 genes diferencialmente expresados a lo largo del tiempo (-165 a +60 días relativos al parto). Transcritos de A to I: *factor de crecimiento similar a la insulina IGF-1*, *proteína de unión a la IGF-tipo 2 y 3 (IGFBP2 e IGFBP3)*, *carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT-1)*, *acyl-CoA oxidase-1 (ACOX)*, *acyl-CoA dehidrogenasa de cadena larga (ACADVL)*, *pyruvate carboxylase (PC)*, *phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (PCK1)*, y *factor de crecimiento fibroblástico-21 (FGF-21)*.

VL), *carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT-1)*, *pyruvate carboxylase (PC)*, *phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (PCK1)*, y el *factor de fibroblástico-21 (FGF-21)* fueron muy similares cuando se evaluaron por RT-PCR (Figura 4) verificando la validez de los resultados obtenidos en este experimento. Hubo pequeñas discrepancias en los patrones de expresión al utilizar ambas técnicas sólo en 1 o 2 puntos en el tiempo en dos de los genes evaluados, propio de las diferentes sensibilidades de ambas técnicas en la cuantificación de la expresión cuantitativa (RT-PCR) y semicuantitativa (microarreglos).

CONCLUSIONES

- ✓ Las vacas de carne en condiciones pastoriles representativas de nuestro país experimentan cierto estado de BEN durante el período de gestación invernal evidenciándose esto a nivel molecular.
- ✓ Encontramos una mayor expresión de genes asociados con el catabolismo de los lípidos y la síntesis de glucosa, el crecimiento y la reparación celular durante este período.
- ✓ La mayor asignación de forraje de campo nativo aumentó la expresión de genes a nivel hepático, sobre todo

de genes asociados con el metabolismo energético y el metabolismo de la glucosa.

- ✓ La aplicación de esta nueva tecnología de microarreglos ha generado información novedosa y muy valiosa en lo que respecta a la regulación metabólica hepática en ganado de carne ya que ha puesto de manifiesto que también a nivel molecular los grandes cambios en los patrones de expresión génica hepática tienen lugar sobre todo durante el período de gestación invernal donde los requerimientos energéticos superan el consumo.
- ✓ Esta información contribuye al conocimiento de la biología del balance de energía en ganado de carne en pastoreo, poniendo de manifiesto por primera vez numerosos genes y vías metabólicas que pueden ser objeto de futuros estudios y nuevas líneas de investigación en el área.

BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, V.G.; BATELLO, C.; BERRETTA, E.J.; HODGSON, J.; KOTHMANN, M., LI, X.; MCIVOR, J.; MILNE, J.; MORRIS, C.; PEETERS, A.; SANDERSON, M.** 2011. An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science* 66, 2-28.
- ASTESSIANO, A.L.; PÉREZ-CLARIGET, R.; QUINTANS, G.; SOCA, P.; CARRIQUIRY, M.** 2011. Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, hepatic gene expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* DOI:10.1111/j.1439-0396.2011.01178.x.
- BELL, A.W.** 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73: 2804-2819.
- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y.** 1995. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society (B)* 57:963-971.
- BROSH, A.** 2007. Heart rate measurements as an index of energy expenditure and energy balance in ruminants: A review. *Journal of Animal Science* 85:1213-1227.
- CARRIQUIRY, M.; WEBER, W.J.; FAHRENKRUG, S.C.; CROOKER, B.A.** 2009. Hepatic gene expression in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *Journal of Dairy Science* 92:4889-4900.
- CASTAÑO,, J.; CERONI, M.; GIMÉNEZ, A.; FUREST, J.; AUNCHAYNA,, R.** 2010. Caracterización agroclimática del Uruguay: 1980 - 2009. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay. In:http://www.inia.org.uy/gras/agroclima/cara_agro/index.html (last login: October 2011).
- CAUSTON, H. C.; QUACKENBUSH, J.; BRĂZMA, A.** 2003. Book Review, *Microarray Gene Expression Data Analysis: A. Beginners Guide*.
- CHAPMAN, D.F.; PARSONS, A.J.; COSGROVE, G.P.; BARKER, D.J.; MAROTTI ,D. M.; VENNING, K.J.; RUTTER,, S.M.; HILL, J.; THOMPSON, A.N.** 2007. Impacts of Spatial Patterns in Pasture on Animal Grazing Behavior, Intake, and Performance. *Crop Science* 47: 399-415.
- CHEN, H.H., ZHAO S., SONG J.G.** 2003. TGF- β 1 suppresses apoptosis via differential regulation of MAP kinases and ceramide production *Cell Death and Differentiation*. 10:516–527. doi:10.1038/sj.cdd.4401171
- CONNOR, E.E.; KAHL, S.; ELSASSER, T.H.; PARKER, J.S.; LI, R.W.; VANTASSELL, C.P.; BALDWIN, R.L.; BARAO, S.M.** 2010. Enhanced mitochondrial complex gene function and reduced liver size may mediate improved feed efficiency of beef cattle during compensatory growth. *Functional and Integrative Genomics* 10:39-51.
- DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; DOUGLAS, G. N.** 2001. Adaptations of Glucose and Long-Chain Fatty Acid Metabolism in Liver of Dairy Cows During the Periparturient Period *J. Dairy Sci.* 84:E100-E112.
- FENG, Z.** 2010. Regulation of the IGF-1/AKT/mTOR Pathways and the Endosomal Compartment. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2:a001057, p. 53.
- FORDE, N.; CARTER, F.; FAIR, T.; CROWE, M.A.; EVANS, A.C.O.; SPENCER, T.E.; BAZER, F.W.; MCBRIDE, R.; BOLAND,**

- M.P.; O'GAORA, P.; LONERGAN, ROCHE J.F.** 2009. Progesterone-Regulated Changes in Endometrial Gene Expression Contribute to Advanced Conceptus Development in Cattle. *Biology of Reproduction*. 81:784-794.
- GREENFIELD, R.B.; CECAVA, M.J.; DONKIN, S.S.** 2000. Changes in mRNA Expression for Gluconeogenic Enzymes in Liver of Dairy Cattle during the Transition to Lactation. *Journal of Dairy Science* 83:1228-1236.
- GRUM, D.E.; HANSEN, J.R.; DRACKLEY, J.K.** 1994. Peroxisomal α -oxidation of fatty acids in bovine and rat liver. *Comparative Biochemistry and Physiology* 109: 281-292.
- GRUM, D.E.; DRACKLEY, J.K.; YOUNKER, R.S.; LACOUNT, D.W.; VEENHUIZEN, J.J.** 1996. Nutrition During the Dry Period and Hepatic Lipid Metabolism of Periparturient Dairy Cows. 79 (10): 1850-1864.
- HARRIS, R.A.; BOWKER-KINLEY, M.M.; HUANG B.; WU, P.** 2002. Regulation of the activity of the pyruvate dehydrogenase complex. *Advances in Enzyme Regulation* 42:249-59.
- HAYDOCK, K. P.; SHAW N. H.** 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 15: 663-670.
- HERATH, C.B.; SHIOJIMA, S.; ISHIWATA, H.; KATSUMA, S.; KADOWAKI, T.; USHIZAWA, K.; IMAI, K.; TAKAHASHI, T.; HIRASAWA, A.; TSUJIMOTO, G.; HASHIZUME, K.** 2004. Pregnancy-associated changes in genome-wide gene expression profiles in the liver of cow throughout pregnancy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 16, 666-680.
- HOCQUETTE, J.F.; LEHNERT, S.; BARENDSE, W.; CASSAR-MALEK, I.; PICARD, B.** 2007. Recent advances in cattle functional genomics and their application to beef quality. *Animal*. 1:159-173.
- HOLNESS, M.J.; SUGDEN, M.C.** 2003. Regulation of pyruvate dehydrogenase complex activity by reversible phosphorylation. *Biochemical Society Transactions* 31:1143-1151.
- KOHJIMA, M.; ENJOJI, M.; HIGUCHI, N.; KATO, M.; KOTOH, K.; YOSHIMOTO, T.; FUJINO, T.; YADA, M.; YADA, R.; HARADA, N.; TAKAYANAGI, R.; NAKAMUTA, M.** 2007. Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Medicine*. 20: 351-358.
- KNUDSEN, S.** 2002. A Beginning Microarray Data Analysis: Biologist's Guide to Analysis of DNA Microarray Data. John Wiley & Sons 144 pág. ISBN0471224901. J. Bao Jian Fan, and Yuk Fai Leung. *Cell Science* 116: 1649-1650.
- KWON, H.S.; HARRIS R. A.** 2004. Mechanisms responsible for regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 gene expression. *Advances in Enzyme Regulations* 44:109-121.
- LAPORTA, J.; ASTESSIANO, A.L.; LÓPEZ-MAZZ, C.; SOCA, P.; ESPASANDIN, A.C.; CARRIQUIRY, M.** 2012. Effects of herbage allowance of native grasslands in beef cows of different genotype: I. Endocrine profiles and hepatic expression of somatotrophic axis genes. *Enviado a Animal*.
- LAVIN, M.F.; GUEVENN.** 2006. The complexity of p53 stabilization and activation. *Cell Death and Differentiation*. 13, 941-950.
- LOOR, J.J.** Genomics of metabolic adaptations in the periparturient cow. 2010. *Animal* 4:7 1110-1139.
- LOOR, J.J.; EVERTS, R.E.; BIONAZ, M.; DANN, H.M.; MORIN, D.E.; OLIVEIRA, R.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; DRACKLEY, J.K.; LEWIN, H.A.** 2007. Nutrition-induced ketosis alters metabolic and signaling gene networks in liver of periparturient dairy cows. *Physiological Genomics*. 32, 105-116.
- LOOR, J.J.; BIONAZ, H.M.; JANOVICK-GURETZKY, N.A.; EVERTS, R.E.; OLIVEIRA, R.; GREEN, C.A.; LITHERLAND, N.B.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; LEWIN, H.A.; DRACKLEY, J.K.** 2006. Plane of nutrition parturum alters hepatic gene expression and function in dairy cows as assessed by longitudinal transcript and metabolic profiling. *Physiological Genomics*. 27, 29-41.
- LOOR, J.J.; DANN, H.M.; EVERTS, R.E.; OLIVEIRA, R.; GREEN, C.A.; JANOVICK GURETZKY, N.A.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; LEWIN, H.A.; DRACKLEY, J.K.** 2005. Temporal gene expression profiling of liver from periparturient dairy cows reveals complex adaptive mechanisms in hepatic function. *Physiological Genomics*. 23: 217-226.

- McCARTHY, S.D.; WATERS, S.M.; KENNY, D.A.; DISKIN, M.G.; FITZPATRICK, R.; PATTON, J.; WATHES, D.C.; MORRIS, D.G.** 2010. Negative energy balance and hepatic gene expression patterns in high-yielding dairy cows during the early postpartum period: a global approach. *Physiological Genomics*. 42A3:188-99.
- MEIKLE, A.; KULCSAR, M.; CHILLIARD, Y.; FEBEL, H.; DELAVALD, C.; CAVESTANY, D.; CHILIBROSTE, P.** 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*. 127: 727-737.
- MOTT.** 1960. Grazing pressure and the measurement of pasture production, Proceedings of the 8th International Grassland Congress.
- NAFIKOV, R.A.; BEITZ, D.C.** 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *Journal of Nutrition*. 137: 702-705.
- PORITSANOS, N. J.; SANLEW, P.; MIZUNO, T. M.** 2010. Relationship between blood glucose levels and hepatic Fto mRNA expression in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 400: 713-717.
- PROVENZA, F.; VILLALBA, J.; DZIBA, L.; ATWOODS.; BANNER, R.** 2003. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research* 49: 257-274.
- QUINTANS, G.; BANCHERO, G.; CARRIQUIRY, M.; LÓPEZ, C.; BALDI, F.** 2010. Effect of body condition and suckling restriction with and without presence of the calf on cow and calf performance. *Animal Production Science*. 50:931-938.
- QUINTANS, G.** 2008. La alternativa para incrementar la tasa de procreo: disminución del anestro posparto. Serie Técnica INIA Uruguay. 174: 99-109.
- ROBERTS, A.J.; MCLEAN, D.J.** 2011. Differential gene expression in anterior pituitary glands from anestrus and cycling. *J. Anim. Sci.* 89:1035-1041.
- SAS.** (2002). Statistical Analysis Systems Institute. SAS Version 9. SAS Institute, Cary, NC.
- STEWART, Z. A.; PIETENPOL J.A.** 2001. p53 Signaling and Cell Cycle Checkpoints. *Chem. Res. Toxicol.* 14(3), pp 243-263.
- SUBRAMANIAN, A.; TAMAYO, P.; MOOTHA, V.K.; MUKHERJEE, S.; EBERT, B.L.; GILLETTE, M.A.; PAULOVICH, A.; POMEROY, S.L.; GOLUB, T.R.; LANDER, E.S., et al.** 2005. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102(43):15545-15550.
- TIMPERIO, A.M.; D'ALESSANDRO, A.; PARISET, L.; D'AMICI, G.M.; VALENTINI, A.; ZOLLA, L.** 2009. Comparative proteomics and transcriptomics analyses of livers from two different Bos taurus breeds: «Chianina and Holstein Friesian». *Journal of Proteomics*. 73: 309-322.
- VANDORLAND, H.A.; RICHTER, S.; MOREL, I.; DOHERR, M.G.; CASTRO, N.; BRUCKMAIER, R.M.** 2009. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92:1924-1940.
- VOET, D.; VOET J. G.** 2004. Fundamentals of Biochemistry. 3rd ed. John Wiley and Sons, New York, NY. Hegardt, F. G. 1999. Mitochondrial 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase: A control enzyme in ketogenesis. *Biochemistry Journal*. 338:569-582.
- WALSH, B.; HENDERSON D.** 2004. Microarrays and beyond: What potential do current and future genomics tools have for breeders? *Journal of Animal Science* 82: 292-299.

M. Carriquiry*,
C. Viñoles**,
A.L. Astessiano*,
A. Meikle***

*Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR.

**Programa Nacional de Investigación Producción de Carne y Lana INIA Tacuarembó.

***Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, UdelaR.

CARACTERÍSTICAS FOLICULARES Y EXPRESIÓN UTERINA EN VACAS DE CARNE PURAS Y CRUZAS PASTOREANDO DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE DE CAMPO NATURAL

INTRODUCCIÓN

El pobre estado nutricional de las vacas al parto e inicio del entore, el amamantamiento y presencia del ternero, que determinan el largo periodo de anestro posparto, y la mortalidad embrionaria temprana (Hess *et al.*, 2005), afectan las tasas de preñez y se reflejan en el reducido porcentaje de destete (64%) que caracteriza a la ganadería nacional. En nuestros sistemas extensivos de producción, basados en el pastoreo de campo natural, se han reportado duraciones del período de anestro de 92 días en promedio en vacas adultas paridas (Quintans *et al.*, 2004). Esto significa que un alto porcentaje de las hembras entre al entorar sin ciclar. Además, para que los ciclos productivos-reproductivos sean exitosos, una vaca de cría no solo debe comenzar a ciclar sino también quedar preñada. Las tasas de fertilización en ganado de carne, son generalmente altas (entre 90 y 100%) pero solo 70% de todas las fertilizaciones resulta en un ternero nacido, resultando 30% de las mismas pérdidas embrionarias, de las cuales casi el 65% ocurre entre los días 6 y 18 del preñez, sugiriéndose que el mayor problema se encuentra en defectos en el mecanismo de reconocimiento materno preñez (Diskin y Morris, 2008).

El eje hipotálamo-hipofisario-gonadal tiene un rol dominante en la regulación de la reproducción, sin embargo, su correcto funcionamiento requiere la integración de señales periféricas que indican el

estatus fisiológico y nutricional de la vaca e identifica a la misma como pronta para concebir y llevar adelante una gestación. Es así que, se ha reportado que el estatus y/o plano nutricional de la hembra bovina modifica la función ovárica y la fertilidad, se ha demostrado que una disponibilidad reducida de glucosa e insulina estaba relacionada a una menor frecuencia de pulsos de LH y baja producción de IGF-I por el hígado el que reduce la capacidad de respuesta de los ovarios a las gonadotropinas afectando el crecimiento folicular y la capacidad esteroidogénica, y la ovulación, así como la calidad y viabilidad del oocito y embrión (Beam y Butler, 1998; Webb *et al.*, 2003; Wathes *et al.*, 2003; Hess *et al.*, 2005). En particular se ha reportado que el microambiente folicular juega un rol crítico en determinar el destino del folículo (Fortune *et al.*, 2004) y la calidad del oocito (Sutton *et al.*, 2003).

Por otra parte, se ha reportado que la mayor causa de mortalidad embrionaria en la etapa de preimplantación se debe a problemas en la señalización entre el embrión y la madre, lo que conduce a un desarrollo asincrónico, con retraso en el crecimiento del embrión (Goff, 2002; Thatcher *et al.*, 2003). Una sincronía estricta entre el ambiente materno y el embrión es esencial para asegurar la supervivencia embrionaria: tanto el endometrio como el embrión, sintetizan y secretan a la interfase embrio-maternal una multitud de factores de crecimiento, proteínas, citoquinas, hormonas y otras

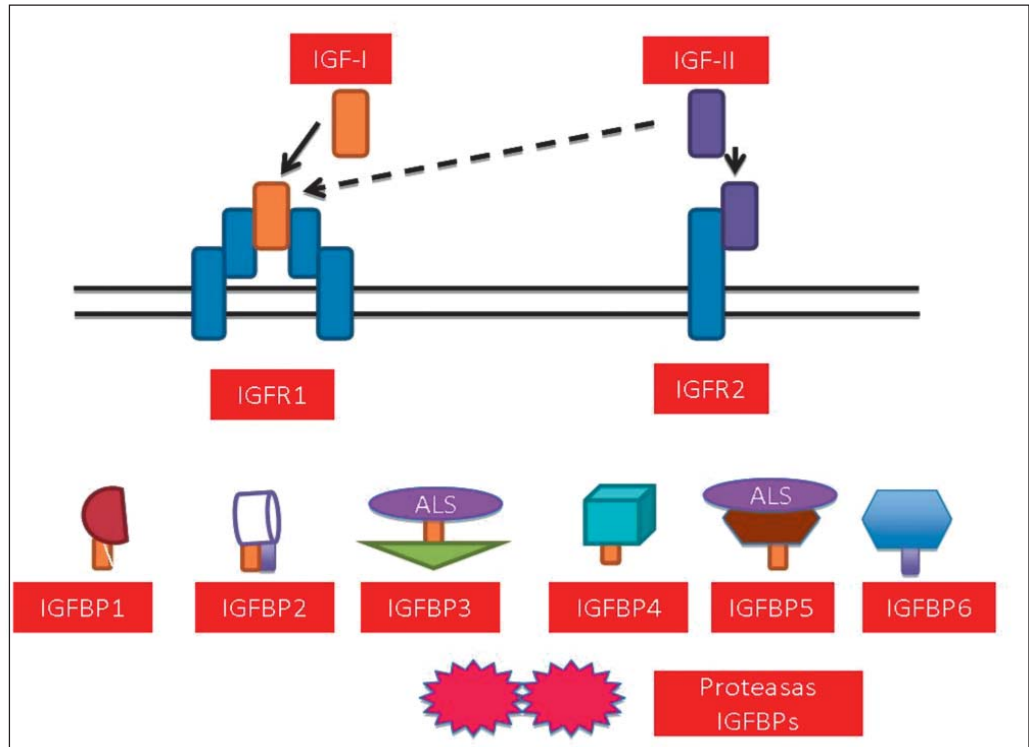


Figura 1. Representación gráfica del sistema IGF. La acción de IGF-I e IGF-II es fundamentalmente mediada por el IGF1R (con mayor afinidad a IGF-I que IGF-II) y modulada por las IGFBPs que presentan diferente afinidad a IGF-I o IGF-II.

sustancias que afectan a ambas partes, ya sea en forma autocrina o paracrina, y que determinan dicha sincronía (Martal *et al.*, 1997). Entre los factores de crecimiento promotores del desarrollo embrionario, la familia IGF tiene un rol primordial (Figura 1). Muchos miembros de esta familia se expresan localmente en el endometrio (Sosa *et al.*, 2010) y pueden afectar la proliferación, diferenciación y actividad metabólica de este tejido (Thiesen *et al.*, 1994).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la oferta de forraje del

campo nativo sobre el reinicio de la ciclicidad ovárica, el tamaño folicular, la composición del líquido folicular, la calidad del oocito y la expresión uterina en el posparto de vacas de carne puras y cruas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo fue realizado en el marco del Experimento 1. Detalles del protocolo experimental se presentan a continuación (Figura 2).

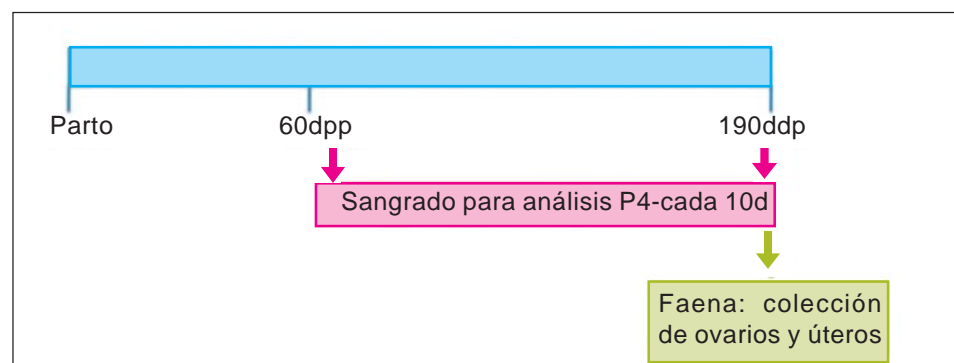


Figura 2. Detalle del protocolo experimental.

* Se colectaron muestras de sangre cada 10 días desde los 60 ± 15 días posparto (dpp) hasta el momento del sacrificio (190 ± 15 dpp) para la determinación de las concentraciones de progesterona en sangre por RIA. El largo del anestro posparto fue determinado como el intervalo entre el parto y la primera muestra luteal de P4 ($P4 > 1$ ng/mL).

* Al momento de la faena:

✓ Se colectaron los ovarios de las vacas ciclando ($n = 16$ y 12 para alta y baja oferta de forraje, respectivamente), se disecaron el folículo de mayor tamaño presente en la superficie y se aspiró su líquido folicular para la determinación de las concentraciones de glucosa, NEFA, colesterol y urea por espectrofotometría y de estradiol17 (E2) y P4 por RIA.

✓ Los folículos mayores 5mm fueron clasificados en saludables o atrésicos según el color, irrigación y presencia/ausencia del ovocito y el complejo cumulus-ovocito fue aspirado y clasificado en base al número de capas de células del cumulus y al aspecto del citoplasma, usando una escala del 1 (mejor calidad) al 3 (peor calidad; Gordon, 2003).

✓ Se colectaron muestras de tejido uterino de todas las vacas que presentaron al menos dos ovulaciones previas ($n = 8$ y 6 para alta y baja oferta de forraje, respectivamente). del tercio superior del cuerno uterino ipsilateral al cuerpo lúteo para la determinación de la expresión de ARNm de los receptores de estrógenos- α ($ER\alpha$), P4 (PR) y del eje GH-IGF-I (receptor de GH (GHR), IGF1, IGF2, IGFBP2, IGFBP3, IGFBP4, IGFBP5, IGFBP6, y del receptor tipo 1 de IGF (IGF1R) por medio de PCR en tiempo real usando SYBR-Green y como controles endógenos, HPRT y β -actina.

* Los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA) en un diseño de bloques al azar. Las variables de tamaño folicular, composición del líquido folicular, calidad del ovocito y expresión uterina fueron analizadas utilizando el procedimiento MIXED con un modelo que incluyó la

oferta de forraje como efecto fijo y el genotipo y bloque como efectos aleatorios. En el caso de la composición del líquido folicular el tamaño del folículo fue incluido como covariable. La probabilidad de reinicio de la ciclicidad ovárica fue analizada usando el procedimiento GENMOD, con la distribución Poisson y la transformación log especificadas. El modelo incluyó la oferta de forraje, el genotipo, la interacción entre oferta de forraje y genotipo y el bloque como efectos aleatorios y la fecha de parto como covariable. Se utilizó el test de Tukey para la separación de medias y las mismas se consideraron diferentes cuando $Pd + 0,05$ y se declaró tendencia cuando $0,05 < Pd + 0,10$.

RESULTADOS

* La probabilidad de ciclicidad a los 60, 90 y 120 dpp fue mayor en las vacas pastoreando alta que baja oferta de forraje y en cruza que puras y (Figura 3). El largo del anestro posparto fue de 125 y 172 ± 13 días y de 82 y 150 ± 13 días para vacas puras y cruza pastoreando alta y baja oferta de forraje, respectivamente.

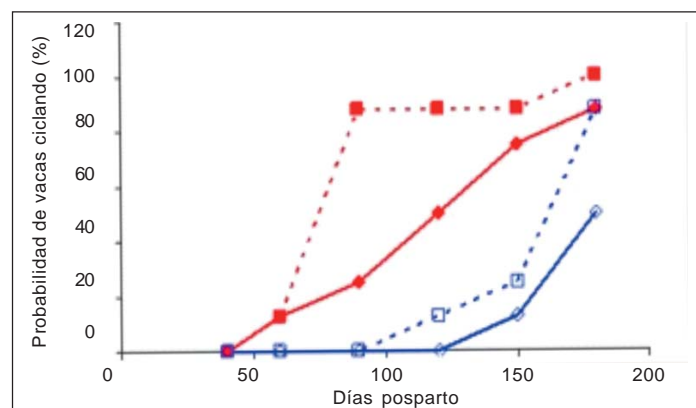


Figura 3. Probabilidad de vacas ciclando de vacas de carne puras (azul) y cruza (rojo) pastoreando alta (línea punteada) y baja (línea entera) oferta de forraje del campo nativo.

* La condición corporal al momento de la faena no difirió entre vacas de alta y baja oferta de forraje y promedió $3,9 \pm 0,1$ unidades.

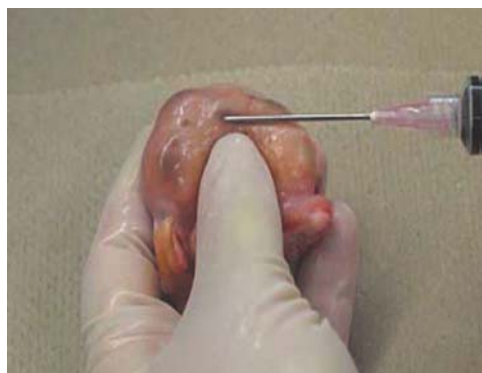
* El tamaño del folículo ovulatorio fue mayor en vacas pastoreando alta que baja oferta de forraje pero la oferta de

forraje no afectó la calidad del folículo ni del complejo cúmulo-ovocito (Cuadro 1).

* Las concentraciones de glucosa, NEFA, colesterol y urea, y E2 no fueron afectadas por la oferta de forraje pero la concentración de P4 fue mayor en vacas de alta que baja oferta de forraje (Cuadro 1). Mayores cocentraciones de P4 en el líquido folicular del folículo preovulatorio podrían afectar el potencial de desarrollar embriones (Aparicio *et al.*, 2011).

* A medida que aumentó el tamaño del folículo las concentraciones de glucosa y urea aumentaron ($3,5 \pm 1,3$ mg/dL de glucosa , $1,0 \pm 0,45$ mg/dL de urea) y de P4 disminuyeron ($-18,3 \pm 6,7$ ng/mL).

* La expresión uterina de ARNm de ER α , PR, GHR, IGF1, IGF1R, IGFBP3, IGFBP5 e IGFBP6 no fue afectada por la oferta de forraje del campo nativo (Cuadro 2).



* Sin embargo, la expresión uterina de ARNm de de IGFBP2 tendió a ser menor y la de ARNm de IGFBP4 fue menor en vacas pastoreando alta que baja oferta de forraje (Cuadro 2). Estas IGFBPs han sido asociadas a efectos inhibitorios de las IGFs y en particular, debido a su afinidad a efectos inhibitorios de la IGF-II. Estos resultados sugerirían un efecto negativo de la baja oferta de forraje sobre el desarrollo embrionario potencial y sobre la implantación embrionaria (Wathes *et al.*, 2011).

Cuadro 1. Tamaño folículo preovulatorio, calidad del folículo y del complejo cúmulo-ovocito y composición del líquido folicular en vacas de carne puras y cruza pastoreando alta y baja oferta de forraje del campo nativo

	Oferta de forraje		SE	Valor-P
	Alta	Baja		
Tamaño folículo preovulatorio (mm)	12,0	8,9	1,1	0,030
Porcentaje de folículos atrésicos (%)	20	37,5		0,363
Calidad del complejo cúmulo-ovocito	2,05	2,11	0,40	0,919
Composición líquido folicular				
Glucosa (mg/dL)	19,6	24,3	5,5	0,563
NEFA (mmol/L)	0,96	0,72	0,32	0,598
Colesterol (mg/dL)	83,1	87,2	14,4	0,706
Urea (mg/dL)	18,5	18,3	2,0	0,946
Estradiol (pg/mL)	216040	246567	55906	0,222
Progesterona (ng/mL)	126,4	47,0	30,0	0,099
Estradiol:Progesterona (pg/ng)	5401	4685	1503	0,808

Cuadro 2. Expresión génica uterina de vacas de carne puras y cruza pastoreando alta y baja oferta de forraje del campo nativo

Gen ¹	Oferta de forraje		SE	Valor-P
	Alta	Baja		
ER α	1,67	1,64	0,28	0,205
PR	1,11	1,02	0,20	0,748
GHR	0,09	0,13	0,02	0,316
IGF1	1,40	1,59	0,34	0,619
IGF2	0,24	0,39	0,09	0,128
IGFR1	0,77	0,92	0,13	0,475
IGFBP2	0,15	0,30	0,08	0,092
IGFBP3	2,23	1,36	0,74	0,447
IGFBP4	1,25	2,52	0,97	0,017
IGFBP5	0,11	0,11	0,02	0,871
IGFBP6	4,11	3,80	0,84	0,808

¹ER α =receptor de estrógenos- α , PR = receptor progesterona, GHR= receptor hormona de crecimiento, IGF= factor de crecimiento similar a la insulina 1 y 2, IGFR = receptor IGF tipo 1, IGFBP= proteínas de unión de las IGF 2 a 6.

CONCLUSION

Estos resultados sugieren que el efecto de la nutrición sobre la performance reproductiva puede estar mediado tanto a nivel del ovario, modificando no solo el reinicio de la actividad cíclica sino también el tamaño del folículo ovulatorio y el ambiente al que está expuesto el oocito, así también como a nivel uterino, a través de cambio en la expresión de IGFBPs que podrían regular los efectos de la IGF-I e IGF-II sobre el crecimiento embrionario a nivel local.

BIBLIOGRAFÍA

- APARICIO, I.M.; GARCIA-HERREROS, M.; O'SHEA, L.C.; HENSEY, C.; LONERGAN, P.; FAIR, T.** 2011. Expression, Regulation, and Function of Progesterone Receptors in Bovine Cumulus Oocyte Complexes During In Vitro Maturation Biol Reprod 84 (5) 910-921.
- BEAM, S.W.; BUTLER, W.R.** 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. J. Dairy Sci. 81:121-131.
- DISKIN M.G.; PARR M.H.; MORRIS D.G.** EMBRYO death in cattle: an update. Reprod Fertil Dev. 2011;24(1):244-51.
- FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; YANG, M.Y.** 2004. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. Anim Reprod Sci 82-83:109-126
- GOFF, A.K.** 2002. Embryonic signals and survival. Reprod Domest Anim 37 (3), 133-9.
- HESS, B.W.; LAKE, S.L.; SCHOLLJEGERDES, E. J.; WESTON, T.R.; NAYIGHUGU, V.; MOLLE, J. D. C.; MOSS, G. E.** 2005. Nutritional controls of beef cows reproduction J. Anim. Sci. 83 (E. Suppl.):E90-E106.
- MARTAL, J.; CHENE, N.; CAMOUS, S.; HUYNH, L. et al.** 1997. Recent developments and potentialities for reducing embryo mortality in ruminants: the role of IFN-tau and other cytokines in early pregnancy. Reprod Fertil Dev 9 (3), 355-80.
- QUINTANS, G.; VIÑALES, C.; SINCLAIR, K. D.** 2004. Follicular growth and ovulation in postpartum beef cows following calf removal and GnRH treatment. Anim. Reprod. Sci. 80:5-14.

- SOSA, C.; CARRIQUIRY, M.; CHALAR, C.; CRESPI, D.; SANGUINETTI, C.; CAVESTANY, D.; MEIKLE, A.** 2010. Endometrial expression of leptin receptor and members of the growth hormone-Insulin-like growth factor system throughout the estrous cycle in heifers. *Animal Reproduction Science* Vol. 122, Issue 3, Pages 208-214.
- SUTTON, M.L.; GILCHRIST, R.B.; THOMPSON J.G.** 2003. Effects of in vivo and in vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. *Human Reproduction Update* 9 35-48.
- THATCHER, W.W.; GUZELOGLU, A.; MEIKLE, A.; KAMIMURA, S.; BILBY, T.; KOWALSKI, A.A.; BADINGA, L.; PERSHING, R.; BARTOLOME, J.; SANTOS, J.E.P.** Regulation of embryo survival in cattle.
- REPRODUCTION**(Cambridge, England) Supplement 2003. 61():253-66.
- THISSEN J.P.; KETELSLEGERS J.M.; UNDERWOOD L.E.** 1994. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocr Rev* 15:80-101.
- WATHES, D. C.; TAYLOR, V. J.; CHENG, Z.; MANN, G. E.** 2003. Follicle growth, corpus luteum function and their effects on embryo development in postpartum dairy cows. *Reprod. Suppl.* 61:219-237.
- WATHES, D.C.; CHENG, Z.; FENWICK, M.A.; FITZPATRICK, R.; PATTON, J.** 2011 Influence of energy balance on the somatotrophic axis and matrix metalloproteinase expression in the endometrium of the postpartum dairy cow *Reproduction* 141(2): 269-281.
- WEBB, R.; NICHOLAS, B.; GONG, J. G.; CAMPBELL, B. K.; GUTIERREZ, C. G.; GARVERICK, H.A.; ARMSTRONG, D. G.** 2003. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reprod. Suppl.* 61:71-90.

A. C. Espasandín*,
V. Gutiérrez*,
A. Casal*,
O. Cáceres*,
V. Cal*,
M. Carriquiry*

*Departamento de Producción
Animal y Pasturas, Facultad
de Agronomía, UdelaR.

PRODUCCIÓN DE LECHE DE VACAS PURAS Y CRUZAS PASTOREANDO ALTA Y BAJA OFERTA DE FORRAJE DEL CAMPO NATIVO

RESUMEN

Desde el parto y hasta el destete fue estimada mensualmente la producción de leche de 32 vacas puras (Angus y Hereford) y Cruzas (F1 recíprocas) en pastoreo de campo natural en alta y baja oferta. Las determinaciones se realizaron mediante ordeño con máquina portátil, con previa inyección de oxitocina. En cada ordeño se extrajeron muestras para determinar la composición química. Utilizando los datos de producción y composición se estimó la energía retenida en la leche producida en los diferentes escenarios planteados. Las variables fueron analizadas mediante modelos mixtos con medidas repetidas en el tiempo. Las vacas Cruza produjeron mayor cantidad de leche en comparación a las Puras, especialmente en altas ofertas de forraje. La leche total producida en la lactancia de estos genotipos alcanzó valores de 980, 924, 896 y 644 kg para los genotipos Cruzas y Puras en Alta oferta y Cruzas y Puras en Baja oferta, respectivamente. Se observan interacciones heterosis x ambiente, siendo de 9 y 43% para las ofertas alta y baja, respectivamente. La energía retenida en la leche presenta tendencias semejantes a la producción. La producción de leche se reduce únicamente en los genotipos puros ante bajas ofertas de forraje, probablemente debido a cambios en la partición de la energía.

INTRODUCCIÓN

La producción y composición de la leche en vacas de cría es un rasgo importante, no sólo como determinante del crecimiento del ternero, sino como inidicadora del gasto energético y capacidad de producción de las vacas. Ha sido demostrada la variación existente entre diferentes razas especializadas en producción de carne, así como la influencia del manejo y la alimentación ofrecida en los diferentes sistemas de producción (Mondragón *et al.*, 1983; Yokoi *et al.*, 1997). Asimismo, el genotipo y el sexo del ternero al cual la vaca amamanta, tienen influencia en la producción de leche materna (Day *et al.*, 1987).



El volumen de leche producido a lo largo de la lactancia, y la concentración de sólidos (grasa, proteína y lactosa) influyen los requerimientos energéticos de las vacas de cría, especialmente durante los primeros meses de lactancia (Jenkins y Ferrell, 1994). En sistemas pastoriles esta etapa coincide con el período de entore si es que se busca alcanzar la producción de un ternero destetado/vaca entorada/año. La caracterización de las lactancias mediante el estudio de las curvas de producción contribuye en el entendimiento de los sistemas de producción, permitiendo predecir la producción de leche en diferentes estadios de la lactancia. Algunos autores detallan la importancia de encontrar modelos que describan adecuadamente la lactancia bajo diversas condiciones ambientales, o de diferentes recursos genéticos. En los últimos años el foco se ha dirigido hacia la estimación de valores genéticos para los requerimientos energéticos de mantenimiento. Para este propósito, la American Red Angus Association asume la curva de Wood como descriptora de la lactancia en esta raza (Evans, 2001).

Han sido propuestas varias ecuaciones para describir la lactancia en vacas de leche (Wood, 1967, Grossman y Koops, 1988) las que son utilizadas a menudo para describir la leche producida en vacas de razas carniceras. Espasandin y Alencar (2003) trabajando con vacas de carne, encontraron que curvas no lineales propuestas por Jenkins y Ferrell (1984) resultaron más ajustadas en la descripción de las lactancias de vacas Nelore y Canchim.

En función de lo expuesto, este trabajo tuvo el objetivo de caracterizar las lactancias de vacas cruzas y puras en pastoreo de campo natural en ofertas altas y bajas.

MATERIAL Y METODOLOGÍA

Desde el parto hasta el destete, la producción de leche fue estimada en 6 momentos en 32 vacas múltiparas, 8 de cada uno de los tratamientos experimentales descritos en capítulos anteriores: alta puras, alta cruzas, baja pura, baja cruzas. Los momentos de muestreo co-

rrespondieron a: 15 ± 5 , 33 ± 7 , 46 ± 16 , 67 ± 16 , 101 ± 16 , 130 ± 16 días pos parto.

La producción de leche fue estimada mediante ordeño con máquina portátil, y aplicando inyección previa de oxitocina (20 UI). En cada momento de muestreo, durante la mañana se efectuaba el primer ordeño para el vaciado de las ubres. A partir de 6 horas luego del vaciado, se ordeñaban nuevamente, siendo pesada la leche producida y extrayendo una muestra para analizar su composición química.



Para cada vaca se determinaron las horas de producción de leche mediante la diferencia horaria entre el ordeño vespertino y el matutino. Asumiendo una producción lineal, en función de las horas transcurridas entre vaciado y ordeño, y de la producción obtenida, fue extrapolada la leche producida en 24 horas.



Utilizando los datos de composición química (porcentaje de grasa, proteína y lactosa), fue estimada la energía reteni-



da en la leche producida por las combinaciones entre genotipos x ofertas, estudiadas. La producción diaria de leche en los diferentes momentos y la energía contenida fueron analizadas mediante un modelo de medidas repetidas en el tiempo, considerando los efectos fijos, genotipo de la vaca, genotipo del ternero anidado en la raza materna, sexo del ternero y los días post parto, en tanto la vaca y el bloque se asumieron como aleatorios. Se obtuvieron las medias de mínimos cuadrados para cada mes de lactancia.

Con base en las estimaciones realizadas por mejoramiento lechero (INML), fueron estimadas las producciones de leche totales por lactancia considerando las producciones estimadas en cada control y los días transcurridos entre controles.

Se estimó la heterosis lograda en Alta y baja ofertas de forraje de acuerdo a la fórmula propuesta por Shull (1914):

$$\text{Heterosis (\%)} = ((\text{Producción Cruzas} - \text{Producción Puras}) / \text{Producción Puras}) * 100$$

RESULTADOS

Las vacas cruzas produjeron mayor cantidad de leche en comparación a las puras y especialmente cuando se encontraban pastoreando altas ofertas de forraje. En todos los casos, el pico de producción de leche fue alcanzado durante el primer mes de lactancia, siendo similar en las vacas cruzas independientemente de la oferta de forraje (media de $7,9 \pm 0,6$ kg/día), así como en las vacas puras pastoreando en altas asignaciones. Mientras tanto, las vacas puras ante bajas asignaciones producen significativamente menos leche a largo de la lactancia, siendo el pico de máxima producción significativamente menor, con 5,7 kg/día (Figura 1).

Por su parte, la leche total producida en la lactancia de estos genotipos alcanzó valores de 980, 924, 896 y 644 kg para los genotipos Cruzas y Puras en Alta oferta y cruzas y puras en baja oferta, respectivamente. Una vez más queda evidenciada la diferencia en producción entre cruzas y puras en ambientes restringidos (280 litros).

Estas diferencias son conocidas como heterosis individuales de las vacas de cría, las que igualaron el 9 y el 43% en las ofertas alta y baja respectivamente. Estos resultados difieren a los observados por Casal *et al.* (2009) con vacas primiparas de las mismas razas, en donde las mayores producciones de leche correspondieron a las vacas Angus, con picos

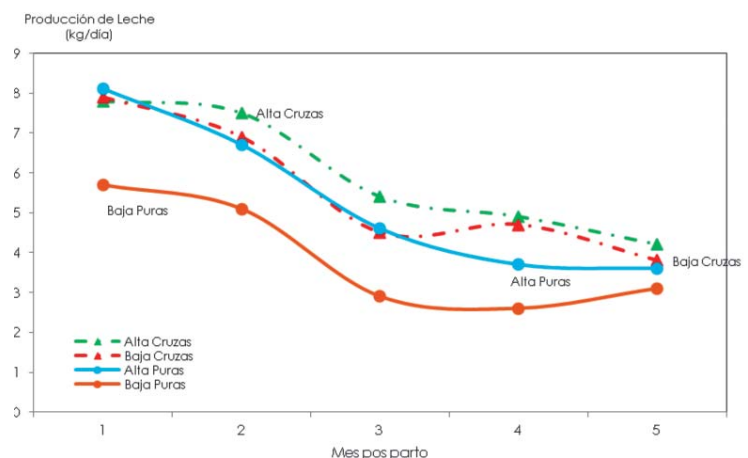


Figura 1. Producción de leche de vacas puras y cruzas pastoreando alta y baja oferta de forraje

Cuadro 1. Energía retenida en la leche (Mcal/día) producida durante la lactancia por vacas cruzas y puras en alta y baja oferta de forraje

Mes pos parto	Combinaciones Ofertas x Genotipos			
	Alta Cruzas	Alta Puras	Baja Cruzas	Baja Puras
1	4,8	6,2	5,1	3,5
2	5,0	4,3	4,5	3,4
3	3,3	2,9	2,7	1,8
4	3,1	2,4	2,7	1,5
5	2,6	2,3	2,2	1,8

de 5,8 kg/día, significativamente superiores a las cruza (5,2 kg/día) y a las Hereford puras (5,0 kg/día). No obstante, Gioia y Licha (2008) habían observado producciones superiores en las vacas cruza. Estas tendencias sugieren la variabilidad de la producción de leche entre genotipos y años, fenómeno conocido como interacción genotipo x ambiente.

En base a la producción y composición de leche, se estimó la energía retenida en esta producción, conforme se presenta en el cuadro 1.



Si bien la concentración de grasa y proteína aumenta en la medida que disminuye la producción de leche con el avance de la lactancia, la energía retenida en la leche también disminuye. Las mayores producciones energéticas en leche se observan durante los primeros dos meses de lactancia. Nuevamente, es notoria la diferencia observada para las vacas puras en baja oferta, quienes

limitan sus producciones ante estas restricciones. Sin embargo, las cruza aún en bajas ofertas mantienen producciones similares a las realizadas por cruza y puras en alta oferta. Probablemente, existan mecanismos de regulación diferentes entre genotipos, asociados con la partición de la energía.

IMPLICANCIAS

La producción de leche difiere con los genotipos y las ofertas de forraje. Las vacas cruza presentan producciones superiores a las de razas puras, siendo de mayor magnitud esta diferencia (heterosis) cuando la oferta de forraje es restrictiva. Estas respuestas diferenciales probablemente sean asociadas a diferencias en los mecanismos de partición de la energía, priorizando diferentes funciones los distintos genotipos ante cambios ambientales. Ante ofertas bajas, las vacas puras reducen su producción de leche casi a la mitad de lo que su potencial posibilita.

BIBLIOGRAFÍA

CASAL, A.; GRAÑA, A.; GUTIÉRREZ, V. 2009. Producción y composición de leche de vacas de las razas hereford, angus y sus cruza F1 mediante el uso de dos técnicas diferentes. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Departamento de Documentación y Biblioteca p.41.

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; CLUTTER, A.C.; WOLFE, P.L.; ZALESKY, D.D.; NIELSEN, M.K.; KINDER, J.E. 1987. Suckling behavior of calves with dams varying in milk production. J. Anim. Sci., 65, 207-1212.

- EVANS, J.L.** 2001. Genetic prediction of mature weight and mature cow maintenance energy requirements in Red Angus cattle. PhD Diss. Colorado State Univ., Fort Collins.
- GIOIA, S.; LICHA, F.** 2008. Tesis de grado: Producción de leche en vacas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruza. Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Documentación y Biblioteca p.72.
- GROSSMAN, M.; KOOPS, W.J.** 1988. Multiphasic analysis of lactation curves in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* (71): 1598-1608.
- JENKINS, T.G.; FERRELL, C. L.** 1984. A note on lactation curves of crossbred cows. *Anim. Prod.* 39, 479-482.
- JENKINS, T.; FERRELL, C.,** 1994. Productivity though weaning of nine breed of cattle under varying feed availabilities: I. Initial Evaluation. *J. Anim. Sci.*, 72, 2787-2797.
- MONDRAGÓN, I.; WILTON, J.W.; ALLEN, O.B.; SONG, H.** 1983. Stage of Lactation Effects, Repeteabilities and Influences on Weaning Weights of Yield and Composition of Milk in Beef Cattle. *Canadian J. Anim. Sci.*, 63, 751-761.
- SHULL, G.H.** 1914. Duplicate genes for capsule form in *Bursa bursa pastoris*. *Zeitschr indukt Abstammungs- und Vererbungslehre* 12: 97-149.
- WOOD, P.D.P.** 1967. Algebraic models of the lactation curves for milk, fat and protein production with estimates of seasonal variation. *Anim. Prod.* (22), 35.
- YOKOI, N.; MORIYA, K.; SASAKI, Y.** 1997. A measure for predicting genetic merit for milking and nursing ability in beef cattle. *Anim. Sci.*, 65, 39-43.

V. Gutiérrez*,
A.C. Espasandín*,
P. Machado**,
A.L. Astessiano*,
A. Casal*,
C. López-Mazz*,
M. Carriquiry*

*Departamento de Producción Animal y Pasturas. Facultad de Agronomía, UdelaR.

**Departamento de Morfología y Desarrollo. Facultad de Veterinaria, UdelaR.

NUTRICIÓN DEL TERNERO DURANTE LA ETAPA FETAL Y EL PRIMER AÑO DE VIDA EN SISTEMAS DE PASTOREO: IMPACTO EN EL CRECIMIENTO, COMPOSICIÓN CORPORAL Y CARACTERÍSTICAS DEL TEJIDO MUSCULAR

INTRODUCCIÓN

La producción de carne está basada en el proceso de crecimiento y desarrollo del músculo esquelético de los animales (Lefaucheur y col., 1998), el cual comienza durante las primeras etapas del desarrollo embrionario (Du y col., 2010). Tanto en la etapa fetal como postnacimiento, el crecimiento y desarrollo muscular depende de diversos factores dentro de los cuales la nutrición y genética animal son las más importantes, modifican el número y diámetro de las fibras, la cantidad de adipocitos (Rehfeldt y col., 1999), afectando en consecuencia al tamaño y composición de la masa muscular (Feve, 2005; Rehfeldt y col., 1999). Es así que, siendo la cría bovina el inicio de la cadena de producción de carne, la nutrición de las madres durante la gestación y lactancia impactan sobre el crecimiento y desarrollo de los terneros afectando la cantidad y calidad de la carne producida (programación del desarrollo: Du y col., 2010; Funston y col., 2010; Wu y col., 2006).

En Uruguay, donde la cría se realiza en sistemas en condiciones pastoriles, las variaciones climáticas anuales e interanuales, particularmente precipitaciones

y temperatura, y las diferencias en el crecimiento estacional, la calidad y cantidad de la pastura ofrecida (Berreta y col., 2000) determinan períodos de balance energético negativo en los animales debido a que el consumo de energía no es suficiente para satisfacer los requerimientos (gestación, lactancia, crecimiento) de las vacas y terneros (NRC, 2000; Soca y col., 2007; Astessiano y col., 2011).

Asimismo, a nivel nacional, se encontró un efecto en la producción de carne debido al genotipo materno, obteniendo mayores pesos al destete en terneros criados por vacas cruzas en comparación a puras (Gimeno y col., 2002; Espasandín y col., 2010), y al momento de la faena los animales de raza cruce obtuvieron mayores rendimientos (Franco y col., 2002; Espasandín y col., 2010).

El crecimiento del tejido muscular se refleja en el aumento de la cantidad de células presentes (fibras musculares) debido al aumento de la proteína acumulada durante el período fetal, y el aumento de tamaño de las fibras musculares durante la etapa posnatal (Rehfeldt y col., 1999) por medio del incremento del contenido de ácidos nucleicos (ADN y ARN) y de la proteína acumulada por

unidad de ácido nucleico (Lawrence y Fowler, 1998). Este crecimiento es regulado por diferentes hormonas como la hormona de crecimiento (GH), los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF: IGF-I, -II, etc.), sus proteínas de unión (IGFBP) (Hyatt y col., 2007) y la insulina. Las hormonas actúan por medio de los receptores (receptores de GH: GHR y de IGF tipo 1; IGF1R) en el tejido blanco relacionándose la cantidad y afinidad de los mismos directamente a la acción hormonal (Lawrence y Fowler, 1998). Asimismo, existen diversos factores de transcripción que van a regular la diferenciación de adipocitos (PPAR- γ y SREBP1; Azain, 2004; Yu y col., 2006), y esto se ha correlacionado con el contenido de grasa intramuscular (Wang y col., 2009) por lo que la manipulación en estos factores de transcripción podría potencialmente ser usada para incrementar la deposición de grasa intramuscular (Wang y col., 2009). Por otra parte, existen otros factores de transcripción que durante el período fetal regulan la

cascada miogénica requerida para la miogénesis primaria, y en el período post-natal actúan para activar la regeneración de las fibras musculares dañadas (Pax 3 y Pax7; Relaix y col., 2006; Bonnet y col., 2010).

El **objetivo** de este trabajo fue evaluar el efecto de la oferta de forraje en campo natural desde la concepción al destete, y el genotipo materno en el crecimiento del ternero, perfil metabólico y endócrino, y la composición corporal en los terneros durante el primer año de vida (Figura 1).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el marco del **Experimento 1** (EEBR) y los detalles del protocolo experimental y de las mediciones realizadas se presentan en la figura). Se evaluaron 40 terneros por tratamiento (hijos de AO-CR, BO-CR, AO-PU, BO-PU, n=5 por sexo y tratamiento).

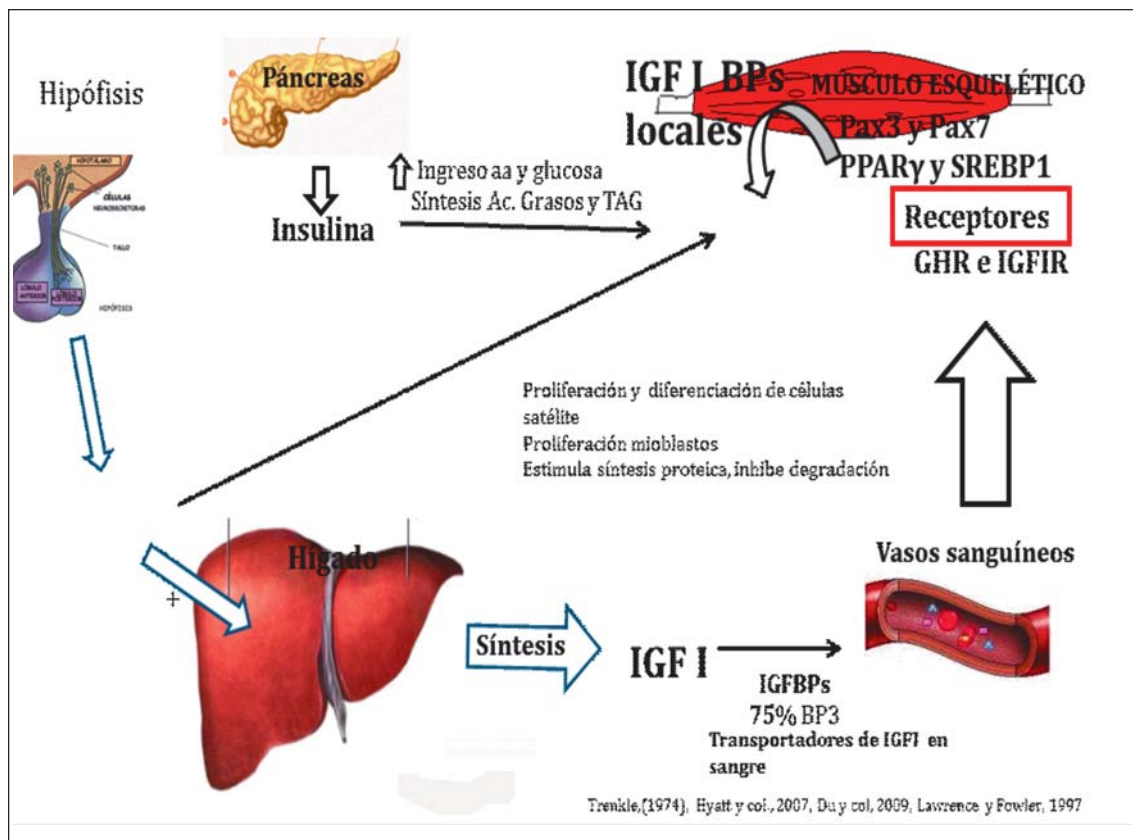


Figura 1. Señales endocrinas involucradas en la interacción nutrición-crecimiento.

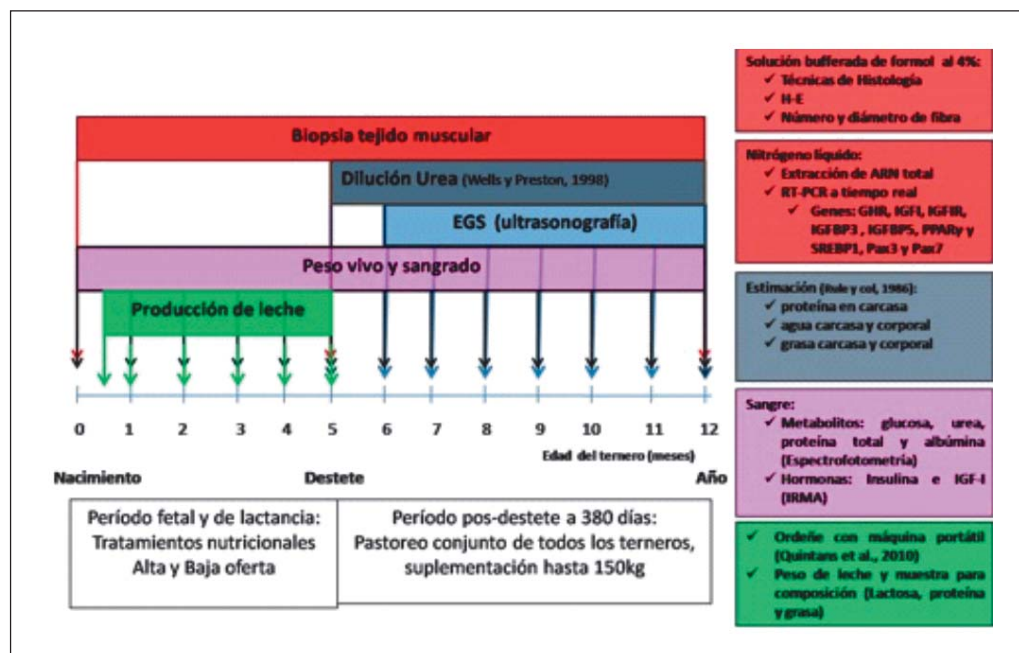


Figura 2. Protocolo experimental.

Diseño y Análisis estadísticos. Se utilizó un diseño de bloques al azar con medidas repetidas. Los datos de producción y composición de leche, PV, concentraciones de hormonas y metabolitos, composición corporal, características histológicas y de expresión de genes en el músculo semitendinoso se analizaron usando un análisis de medidas repetidas utilizando el PROC MIXED del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2001). El modelo incluyó la oferta de forraje, genotipo materno, edad (medida repetida), sus interacciones, y sexo del ternero como efectos fijos y el bloque, ternero y genotipo paterno como efecto aleatorio, utilizando la edad del ternero como covariable. Para calcular la diferencia entre las medias se realizó el test de Tukey, considerando diferente a las medias con valores de $P \leq 0,05$ y se declararon tendencias cuando $0,05 < P \leq 0,10$. Los datos se expresan en media \pm EEM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- ♦ La producción de leche fue mayor en vacas de AO respecto a BO (6,0 vs. $5,2 \pm 0,3$ L/d) y en vacas CR vs. PU (6,2 vs. $5,0 \pm 0,3$ L/d) durante los primeros 3 meses. Como estableció Blanc y col. (2000) la producción de leche varía con la ali-

mentación y el grupo genético de la vaca. En particular, la producción de leche fue menor en vacas BO-PU en comparación a los restantes grupos ($5,8, 6,3, 6,1$ y $4,3 \pm 0,4$ L/día para AO-PU, AO-CR, BO-CR y BO-PU, respectivamente). La producción de grasa, proteína y lactosa fue mayor en vacas en AO que BO (0,19 vs. $0,14 \pm 0,01$ kg/d, $0,17$ vs. $0,14 \pm 0,01$ kg/d y $0,30$ vs. $0,24 \pm 0,02$ kg/d, respectivamente). Por otro lado, la producción de proteína y lactosa fueron mayores en vacas CR que PU ($0,17$ vs. $0,14 \pm 0,01$ kg/d y $0,29$ vs. $0,24 \pm 0,02$ kg/d).

- ♦ El PV de los terneros no difirió al nacimiento, pero desde el nacimiento a los 380 días de edad, fue menor para BO-PU que para los otros tres grupos (Figura 3), esto se asoció a mayores ganancias diarias en los terneros en AO que BO e hijos de CR que PU. Varios autores han reportado una correlación positiva entre producción de leche, ganancia diaria de peso y PV de los terneros en bovinos de carne (Totusek y col., 1973). El enlentecimiento en el crecimiento posdestete podría explicarse principalmente por la disminución en la disponibilidad de forraje del campo nativo característico del período invernal (Berreta y col., 2000).

- ♦ Los porcentajes estimados de agua corporal (EBW) y agua (AC) y proteína (PC) en carcasa, disminuyeron desde el destete hasta los 380 días (de 66,9 a 60,8 ± 0,8% y de 64,5 a 58,8 ± 0,7%, de 19,6 a 17,9 ± 0,3%, y de, respectivamente). Inversamente, los porcentajes estimados de grasa corporal (EBF) y en carcasa (GC) incrementaron durante el mismo período de tiempo (8,5 a 16,5 ± 1,2%, y de 7,6 a 15,7 ± 1,1%, respectivamente).
 - ♦ Los porcentajes estimados de EBW y PC tendieron a ser mayores en AO que BO y esto fue mas marcado en hijos de CR que PU (Cuadro 1). Por lo contrario, los porcentajes de EBF y GC tendieron a ser menores en AO que BO y esto fue mas evidente en hijos de CR que PU (Cuadro 1) . Como establece Di Marco (2000) existiría una mayor proporción de grasa en carcasa en los animales durante la realimentación en los casos de restricciones severas donde se puede afectar el crecimiento del tejido magro e incrementa el depósito de grasa por un menor tamaño del animal.
 - ♦ Las concentraciones de proteína total en plasma al nacimiento fueron mayores en BO que AO
- (Figura 3A). Hammer y col. (2007) demostraron que la subnutrición durante la gestación puede llevar a un incremento en la IgG sérica de los terneros durante las primeras 24 h, por un aumento en la transferencia de IgG intestinal, pudiendo sugerir que el sistema gastrointestinal fetal pueda ser programado de forma más eficiente en la extracción de nutrientes y macromoléculas durante el período postnatal (Funston y col., 2010). Sin embargo, **las concentraciones de glucosa al nacimiento fueron mayores en terneros en AO que BO** (Figura 3B), denotando el mejor estado nutricional de las madres (Bell 1995).
- ♦ A su vez, **las concentraciones de proteína total fueron mayores durante los primeros 60 d en hijos de CR que PU y las concentraciones de glucosa fueron durante los primeros 120 días fueron mayores en AO que BO y en CR que PU**. Estas diferencias en concentraciones de proteína total y glucosa durante la lactancia se asociaron a la mayor producción de leche de las madres.
 - ♦ Las concentraciones de insulina en plasma al nacimiento fueron menores en los terneros AO-CR

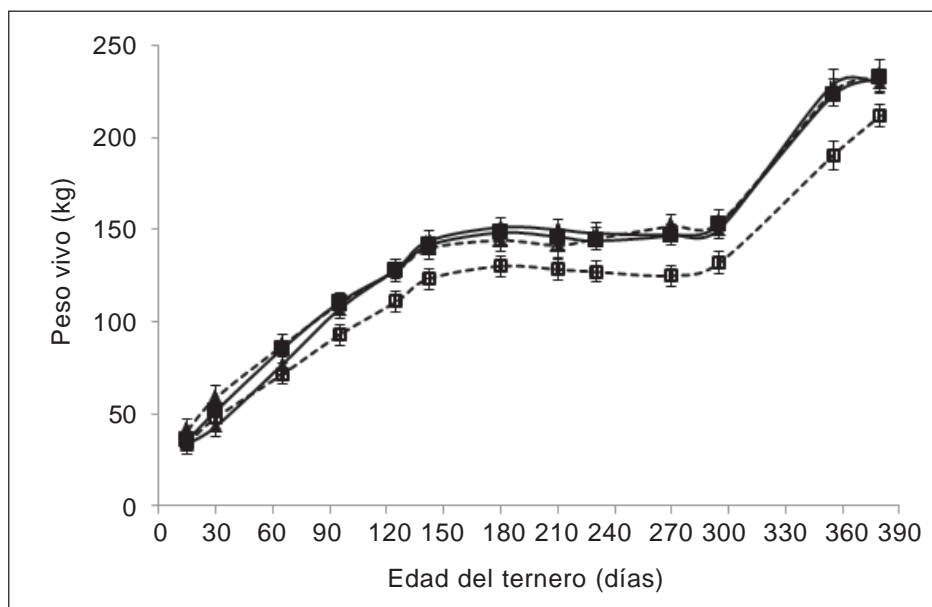


Figura 3. Peso vivo de los terneros hijos de vacas puras (cuadrados) y cruza (triángulos) pastoreando en alta (línea entera) y baja (línea punteada) oferta de forraje del campo nativo.

Cuadro 1. Efecto de la oferta de forraje durante la etapa fetal y de lactancia, y el genotipo materno en la estimación de la composición corporal en terneros

	Terneros				Valor p ¹				
	AOPU ¹	BOPU	AOCR	BOCR	DE	OF	GM	OFxGM	Edad
EBW% ²	64,1 ab	63,8 ab	65,8 a	61,9 b	1,7	0,097	0,369	0,140	<0,001
EBF%	11,4 ab	11,9 ab	8,9 b	14,4 a	1,2	0,089	0,380	0,146	<0,001
PC%	18,8 ab	18,6 ab	19,3 a	18,1 b	0,4	0,083	0,390	0,151	<0,001
AC%	61,8 ab	61,7 ab	63,1 a	60,0 b	1,0	0,113	0,350	0,131	<0,001
GC%	11,9 ab	12,9 ab	9,6 b	15,5 a	1,7	0,060	0,285	0,167	<0,001

¹OF: Oferta de forraje (alta y baja: 4 y 2,5 kg MS/kg PV en promedio respectivamente; AO vs. BO). GM: genotipo materno (puras: Hereford y Angus vs. Cruzas F1; PU vs. CR).

²Estimación de la composición corporal (expresado como porcentaje del peso vivo) por técnica de la dilución de urea (Wells and Preston, 1998); EBW%: Agua corporal. EBF%: Grasa corporal. PC%: Proteína en carcasa. AC%: Agua en carcasa. GC%: Grasa en carcasa.

que en los otros tres grupos y a los 380 días fueron mayores en los terneros AO-PU que en los otros tres grupos de terneros (Figura 4C). Mientras que las concentraciones de IGF-I en plasma fueron menores en los terneros BO-PU que en los otros tres grupos durante todo el período evaluado (Figura 4D). Los cambios en perfil

de insulina e IGF-I desde el nacimiento a los 380 días reflejaron a las diferencias en consumo de energía y proteína diario, causado por las variaciones en la disponibilidad y altura del forraje a lo largo del año (Kamiya y col., 2009; Bartlett y col., 2006; Abdelsamei y col., 2005). Las menores concentraciones de IGF-I en BO-PU fueron consistentes con el menor

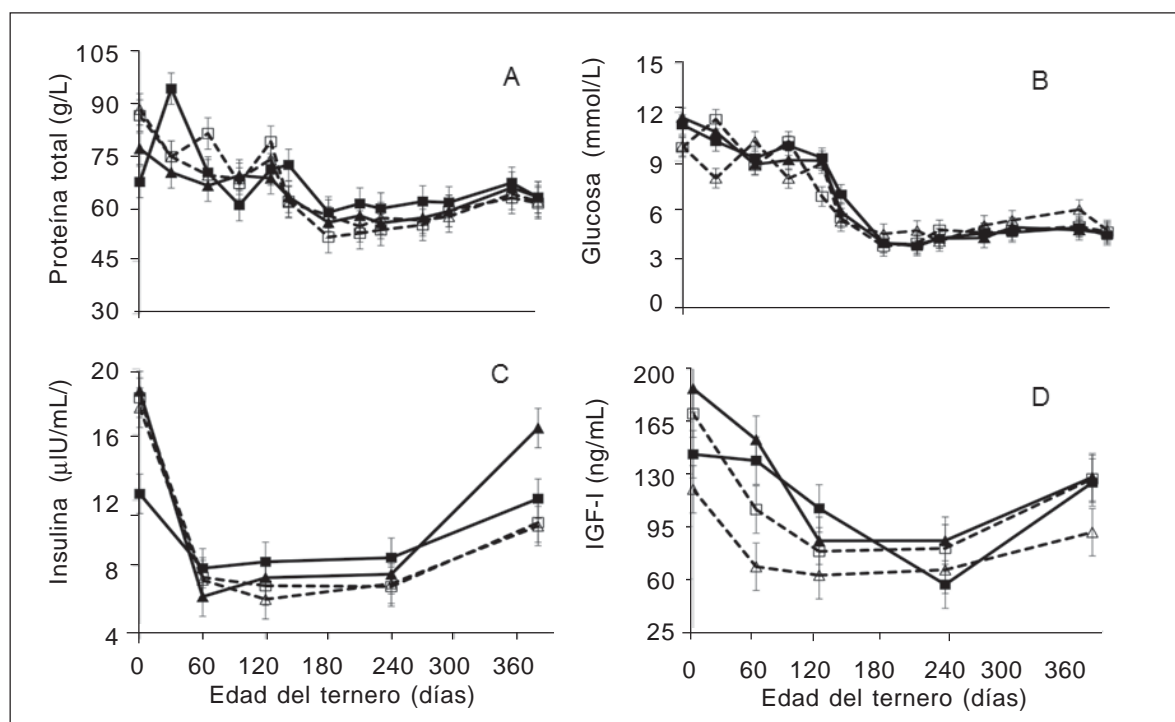


Figura 4. Concentración de proteína total (A), glucosa (B), insulina (C) e IGF-I (D) plasmática de terneros hijos de vacas puras (Hereford y Angus, triángulos) y cruza (F1, cuadrados) en alta (línea entera) y baja (línea punteada) oferta de forraje del campo nativo

PV en este grupo de animales (Nkrumah y col., 2007).

- ♦ A nivel del músculo *Semitendinoso*, la expresión de ARN de genes involucrados en el desarrollo la hipertrofia y síntesis proteica de la fibras musculares, en la actividad de las células satélite y en la adipogénesis intramuscular se incrementaron desde el nacimiento hasta el destete o a los 380 días o del destete hasta los 380 días de vida de los terneros (Figura 5).
- ♦ La expresión de ARNm de *GHR* e *IGFBP3* no fue afectada por la oferta de forraje ni por el genotipo de la madre (Figura 5).
- ♦ La expresión de ARNm de *IGF1* fue menor en hijos de CR que PU,

siendo esta diferencia más evidente en BO-CR al nacimiento y en BO- y AO-CR a los 380 días (Figura 4). Paralelamente, la expresión de ARNm de *IGF1R* tendió a ser mayor en terneros hijos de CR que PU al nacimiento pero menor a los 380 días, siendo estas diferencias mas evidente entre terneros AO-CR y AO-PU. La expresión de ARNm de *IGFBP5* fue menor en terneros AO-CR que AO-PU a los 380 días (Figura 4). Si bien la expresión de ARNm de *IGF1* en músculo fue menor en CR que PU, la expresión diferencial de ARNm de *IGF1R* e *IGFBP5* indicaría un mayor potencial de acción del IGF-I (síntesis proteica) a nivel local (Clemmons 2009).

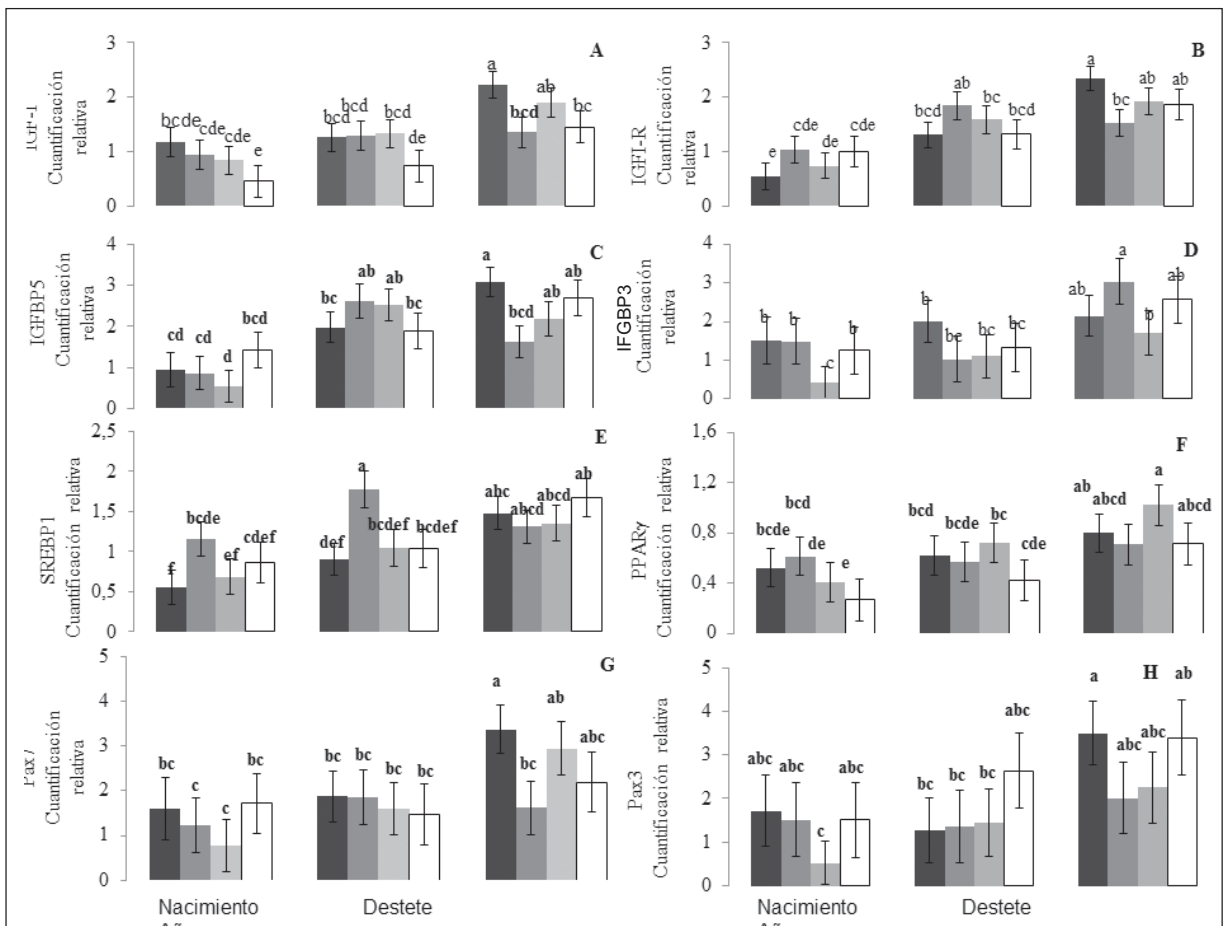


Figura 5. Expresión relativa de genes candidatos en el músculo *Semitendinoso*, involucrados en el desarrollo del tejido muscular, de la adipogénesis intramuscular y de la actividad de las células satélite en terneros hijos de vacas puras (Hereford y Angus) en baja (barra gris claro) y alta (barra negra) oferta de forraje y cruza (F1) en alta (barra gris oscuro), y baja (barra blanca) oferta de forraje del campo nativo.

- ♦ **La expresión de ARNm de PPAR γ en el músculo *Semitendinoso* fue mayor en AO que BO al nacimiento y tendió a ser menor en terneros hijos de CR que PU, siendo las diferencias mas marcadas en hijos de vacas en BO que AO. Sin embargo la expresión de ARNm de SREBP1 al nacimiento y destete fue máxima en terneros AO-CR, mínima en AO-PU e intermedia en terneros BO-CR y BO-PU, no habiendo diferencias en la expresión de este transcrito a los 380 días (Figura 5). Ambos factores de transcripción, PPAR γ y SREBP1, están involucrados en la adipogénesis y controlan los genes relacionados en el metabolismo lipídico, por lo que un incremento en estos factores estimularía la adipogénesis intramuscular (Yu y col., 2006; Bennett y col., 2008).**
- ♦ La expresión de ARNm de los factores de transcripción Pax3 y Pax7 no fue afectada por la oferta de forraje ni por el genotipo de la madre (Figura 4)

CONCLUSIÓN

Las diferencias entre los tratamientos (oferta de forraje x genotipo materno) tuvieron efectos de corto y largo plazo sobre el crecimiento, la composición corporal, y la expresión de genes en el músculo *Semitendinoso* en terneros lo cual podría afectar el potencial de producción de carne de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- ABDELSAMEI, A.H.; FOX, D.G.; TEDESCHI, L.O.; THONNEY, M.L.; KETCHEN, D.J.; STOUFFER, J.R. 2005: The effect of milk intake on forage intake and growth of nursing calves. *J. Anim. Sci.* 83:940-947.
- ASTESSIONO, A.L.; PÉREZ-CLARIGET, R.; QUINTANS, Q.; SOCA, P.; CARRIQUIRY, M. 2011. Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, hepatic gene expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *J. Anim. Physiol. Anim. Prod.* DOI: 10.1111/j.1439-0396.2011.01178.x
- AZAIN, M.J. 2004: Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *J. Anim. Sci.* 82:916-924.
- BARTLETT, K.S.; MCKEITH, F.K.; VANDEHAAR, M.J.; DAHL, G.E.; DRACKLEY, J.K. 2006. Growth and body composition of dairy calves fed milk replacers containing different amounts of protein at two feeding rates. *J. Anim. Sci.* 84:1454-1467.
- BENNETT, G.L.; SWIGER, L.A.; PRESTON, R.L.; CAHILL, V.R. 1982. Evaluation of urea space and ultrasonic measurement as selection criteria for beef animal composition. *J. Anim. Sci.* 54:553-558.
- BELL, A.W. 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73, 2804-2819.
- BERRETTA, E.; RISSO, D.; MONTOSI, F.; FIGURINA, G. 2000: Campos in Uruguay. In: Lemaire, G.; Hogdson, J.; de Moraes, A.; Nabinger, C.; Carvalho, F. (Editores). *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. CAB International. pp. 377-394.
- BONNET, M.; CASSAR-MALEK, I.; CHILLIARD, Y.; PICARD, B. 2010: Ontogenesis of muscle and adipose tissue and their interactions in ruminants and other species. *Animal* 4:1093-1109.
- CLEMMONS, D.R. 2009: Role of IGF-I in skeletal muscle mass maintenance. *Trends Endocrin. Metab.* 20(7): 349-356.
- DI MARCO, O.N. 2000: Crecimiento de vacunos para carne. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Mar del Plata, Argentina.
- DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K.R.; ZHU, M.; FORD, S.P.; NATHANIELSZ, P.W. 2010. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J. Anim. Sci.* 88:51-60.
- ESPASANDÍN, A.C.; CIRIA, M.; FRANCO, J.B.; PEREYRA, F.; GIMENO, D. 2010. Heterosis and productive and reproductive performance in Angus, Hereford and F1 reciprocal crossed cows on grazing systems of Uruguay. *Proceedings XVI World Buiatrics Congress*. Santiago, Chile.

- FEVE, B.** 2005: Adipogenesis: cellular and molecular aspects. *Best. Pract. Res. Clin. Endocrin. Metab.* 19:483-499.
- FRANCO, J.; FEED, O.; GIMENO, D.; AGUILAR, I.; AVENDAÑO, S.** 2002. Calidad de la canal. En: Seminario de Actualización técnica INIA: Cruzamientos en bovinos de carne, Tacuarembó, 23 de Agosto 2002, p.: 31-37.
- FUNSTON, R.N.; LARSON, D.M.; VONNAHME, K.A.** 2010. Effect of maternal nutrition on conceptus growth and offspring performance: Implications for beef cattle production. *J. Anim. Sci.* 88:205-215.
- GIMENO, D.; AGUILAR, I.; FRANCO, J.; FEED, O.** 2002. Rasgos productivos y reproductivos de hembras cruza. En: Seminario de Actualización técnica INIA: Cruzamientos en bovinos de carne, Tacuarembó, 23 de Agosto 2002, p: 11-30.
- HYATT, M.A.; GOPALAKRISHNAN, G.S.; BISPHAM, J.; GENTILI, S.; MCMILLEN, I.C.; RHIND, S.M.; RAE, M.T.; KYLE, C.E.; BROOKS, A.N.; JONES, C.; BUDGE, H.; WALKER, D.; STEPHENSON, T.; SYMONDS, M.** 2007. Maternal nutrient restriction in early pregnancy programs hepatic mRNA expression of growth-related genes and liver size in adult male sheep. *J. Endocrin.* 192: 87-97.
- KAMIYA, M.; MATSUZAKI, M.; ORITO, H.; KAMIYA, Y.; NAKAMURA, Y.N.; TSUNEISHI, E.** 2009. Effects of feeding level of milk replacer on body growth, plasma metabolite and insulin concentrations, and visceral organ growth of suckling calves. *J. Anim. Sci.* 80:662-668.
- LAWRENCE T.J.L.; FOWLER, V.R.** 1998. Growth of farm animals. Ed. CAB International, Oxon, Reino Unido.
- LEFAUCHEUR, L.; HOFFMAN, R.K.; GERRARD, T.E.; OKAMURA, C.S.; RUBINSTEIN, N.; KELLY A.** 1998. Evidence for three adult fast myosin heavy chain isoforms in type II skeletal muscle fibers in pigs. *J. Anim. Sci.* 76:1584-1593.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL NRC.** 2000. Nutrient requirements of Beef Cattle. 7ma edición. Ed. National Academy Press. Washington D. C., USA.
- NKRUMAH, J. D.; SHERMAN, E. L.; LI, C.; MARQUES, E.; CREWS, D. H.; BARTUSIAK, R. JR; MURDOCH, B.; WANG, Z.; BASARAB, J. A.; MOORE, S. S.** 2007. Primary X genome scan to identify putative quantitative trait loci for feedlot growth rate, feed intake, and feed efficiency of beef cattle. *Journal of Animal Science* 85, 3170-3181.
- REHFELDT, C.; STICKLAND, N.C.; FIEDLER, I.; WEGNER, J.** 1999. Environmental and genetic factors as sources of variation in skeletal muscle fiber. *Number. Basic Appl. Myol.* 9 5: 235-253.
- RELAIX, F.; MONTARRAS, D.; ZAFFRAN, S.; GAYRAUD-MOREL, B.; ROCANCOURT, D.; TAJBAKHS, S.; MANSOURI, A.; CUMANO, A.; BUCKINGHAM, M.** 2006. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J. Cell Physiol.* 172: 91-102.
- SOCA, P.M.; DO CARMO, M.; CLARAMOUNT, M.** 2007. Beef cows rearing systems of native pasture without agricultural financial assistance: research to sustainable calf production with low cost and easy instrumentation. *Avances Prod. Anim.* 32:3-26.
- TOTUSEK, R.; ARNETT, D.W.; HOLLAND, G.L.; WHITEMAN, J.V.** 1973. Relation of estimation method, sampling interval and milk composition to milk yield of beef cows and calf gain. *J. Anim. Sci.* 37:153-158.
- WANG, Y.H.; BOWER, N.I.; REVERTER, A.; TAN, S.H.; DE JAGER, N.; WANG, R.; MC WILLIAM, S.M.; CAFÉ, L.M.; GREENWOOD, P.L.; LEHNERT, S.A.** 2009. Gene expression patterns during intramuscular fat development in cattle. *J. Anim. Sci.* 87:119-130.
- WU, G.M.; BAZER, F.W.; WALLACE, J.M.; SPENCER, TE.** 2006. Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *J. Anim. Sci.* 84:2316-2337.
- YU, H.; LIU, B.H.; MERSMANN, H.J.; DING, S.T.** 2006. Porcine peroxisome proliferator-activated receptor gamma induces trans-differentiation of myocytes into adipocytes. *J. Anim. Sci.* 84:2655-2665.

C. López-Mazz*,
P. Soca*,
G. Quintans**,
M. Carriquiry*

*Departamento de Producción
Animal y Pasturas, Facultad
de Agronomía, UdelaR.

**INIA Treinta y Tres.

EFECTO SOBRE LA EDAD Y EL PESO VIVO A LA PUBERTAD Y LA FERTILIDAD DE TERNERAS HIJAS DE VACAS ADULTAS MANEJADAS DURANTE LA GESTACIÓN EN DOS ASIGNACIONES DE FORRAJE: 4 y 2,5 kg MS/kgPV

INTRODUCCIÓN

En Uruguay, la cría y recría de las terneras y vaquillonas de producción para carne se realiza mayoritariamente en sistemas pastoriles, constituyendo la pastura natural el componente central de la alimentación animal. En los últimos diez años, un 75% (DIEA, 2011) de las casi cuatro millones de vacas que integran el rodeo bovino nacional (DICOSE, 2011), quedan preñadas durante el servicio, pero solo un 64% destetan un ternero en el otoño siguiente al parto. Este histórico bajo porcentaje de procreo incide sobre los indicadores físicos y económicos de los predios ganaderos, comprometiendo la sustentabilidad y expansión exportadora del complejo cárnico uruguayo (Pereira y Soca, 2000). Los sistemas pastoriles en los cuales se realiza esta actividad, están afectados por la alta variabilidad climática dentro y entre años, lo que determina variaciones importantes en la producción y composición del forraje. Como consecuencia, en el invierno, las vacas que están gestando, están expuestas a una restricción nutricional variable según los años, pero que en todos los casos determina una pérdida de peso y condición corporal, y una disminución del aporte energético al ternero en un período importante de su crecimiento y desarrollo. Estudios epidemiológicos realizados en humanos (Barker, D., 1994), han establecido una relación entre el estatus nutricional de la madre durante la gestación y el aporte energé-

tico al feto en este momento. Esta restricción nutricional en momentos estratégicos del desarrollo fetal afecta la estructura corporal y el metabolismo, lo cual se traduce en alteraciones permanentes en el crecimiento y el desarrollo en la vida posnatal temprana y adulta. La restricción en el consumo de energía y proteína, afecta la disponibilidad y transferencia de nutrientes de la madre al feto comprometiendo su potencial crecimiento (Kind *et al.*, 2006). Restricciones nutricionales al inicio de la gestación afectarían el desarrollo de la placenta, mientras que en la fase tardía de la misma, coincidiendo con el invierno en sistemas de cría a pastoreo, se comprometería el desarrollo de los órganos y sistemas relacionados con el crecimiento y la reproducción (Larson *et al.*, 2009; Funston *et al.*, 2010). También se ha postulado que las señales endócrinas y metabólicas que regulan la función del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal serían afectadas por la mala nutrición maternal (Rhind, 2004).

Estudios desarrollados en ovinos demuestran la existencia de un efecto de la subnutrición maternal sobre el desarrollo testicular, la cantidad de células de Sertoli y la fertilidad en la vida adulta de los machos (Bielli *et al.*, 2002), y un compromiso en el desarrollo folicular en las hembras (Rae *et al.*, 2001). Un balance energético negativo debido a un consumo de energía que no es capaz de cubrir los requerimientos fisiológicos durante momentos estratégicos de la preñez,

determina bajos niveles de glucosa, insulina, leptina y IGF-I en los corderos al momento del parto (Pérez-Clariget *et al.*, 2003).

E studios realizados en humanos y en ratas indican una relación entre la subnutrición en etapas tempranas del desarrollo embrionario y la edad a la pubertad (van Weissenbruch, M., 2005). En nuestros sistemas de cría bovina el momento en el cual la hembra alcanza la pubertad, afecta, la performance reproductiva en etapas pos-puberales tempranas, como el futuro potencial reproductivo de la vaquillona. La edad a la primera ovulación está influenciada por factores como el genotipo, estación del año, la nutrición, el peso vivo, la tasa de ganancia de PV pre y pos-destete, la condición corporal y la bioestimulación (Kinder *et al.*, 1995; Quintans y Roig, 2008). La disminución de la edad al primer servicio de las vaquillonas afecta directamente la eficiencia reproductiva, productiva y económica de la cría, permitiendo incrementar el número de vientres y mejorar la estructura y el potencial biológico de las hembras que componen el rodeo. Sin embargo, es escasa la información nacional sobre el posible efecto de la subnutrición invernal de nuestras vacas de cría sobre la edad a la pubertad y la fertilidad futura de sus crías.

Los objetivos del trabajo fueron:

1. Evaluar el efecto dos asignaciones de forraje de campo natural (2,5 vs. 4 kg MS/kg PV) en vacas adultas durante la gestación, sobre la edad y el PV a la pubertad en las terneras hijas.
2. Evaluar si las diferentes ofertas de forraje afectan: i) la tasa de ganancia de peso vivo (TGD/PV) del destete hasta los 24 meses y ii) la fertilidad al primer servicio a los 24 meses y la preñez final.
3. Estudiar la posible asociación entre las diferentes asignaciones de forraje sobre : i) la CC y la actividad ovárica al momento del servicio y ii) la cantidad y evolución y hasta el final del experimento las terneras las reservas corporales medidas como espesor de grasa subcutánea (EGS), el PV y la CC en el segundo año de vida de las vaquillonas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrollo en la Estación Experimental Bernardo Rosengurtt (EEBR) de la Facultad de Agronomía, durante dos años consecutivos (2008 y 2009). Los experimentos fueron realizados de acuerdo al protocolo de experimentación con animales aprobados por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA), Universidad de la República.

Se utilizaron 46 terneras puras (Angus/Hereford) y cruza (cruzas-F1), cuyas madres fueron manejadas en dos diferentes asignaciones de forraje (2,5 vs. 4 kg MS/kg PV; BO vs. AO) durante todo el período de gestación pastoreando campo natural.

Experimento año 2008

El trabajo se realizó desde la primavera del año 2008 a la primavera-verano del año 2010. Se utilizaron 26 terneras, distribuidas en dos tratamientos: i) terneras hijas de vacas sometidas a alta oferta (AO, n = 20), ii) terneras hijas de vacas sometidas a baja oferta (BO, n = 6). El período de estudio se extendió desde el parto hasta los 25 meses de edad, momento en el cual se realizó el primer servicio por inseminación artificial (IA). Se registró el peso vivo (PV) al parto de las terneras, al destete (a fecha fija 2/2/2009) y cada 50 días hasta los 8 meses de vida, a partir de los de este momento el PV se registró cada 30 d hasta la fecha de comienzo de la IA. Durante los últimos tres meses previos a la IA (24, 25 y 26 m) por ultrasonografía transrectal se exploró la actividad ovárica (AOV) y se midió el diámetro máximo del folículo ovárico de mayor tamaño (DFOM). Durante el mismo período se registro la condición corporal (CC, escala 1-8). Del destete hasta aproximadamente (Vizcarra *et al.*, 1986), los 150 kg de PV (210 días de edad) las terneras fueron suplementadas con un concentrado comercial (150 g/kgMS de PC, 11,7 MJ/kgMS de EM y 20 g/kgMS de extracto etéreo), a partir de los 7 m siempre se manejaron en pasturas nativas. Desde el parto a la IA las terneras siempre se manejaron juntas, y recibieron el mismo tratamiento sanitario.

Manejo Reproductivo

La IA empezó el 17/11/2010 y terminó el 18/12/2010. El 17/11/2010 se evaluó la AOV de las vaquillonas por ultrasonografía, y aquellas que presentaban cuerpo lúteo (CL) se sincronizaron con un PGF2 α . Las que presentaban estructuras en el ovario que sugerían AO pero que no presentaban CL se dejaron en el lote y se fueron inseminado a medida que salían en celo. Las que no presentaban ningún tipo de estructura en el ovario, y que presentaban una historia de ausencia de CL también quedaron con el grupo que se levantaba celo. EL 22/12/2010 todas las vaquillonas que no habían presentado celo entraron en un programa de inseminación a tiempo fijo (IATF). A los 15 días de la IATF se colocaron los toros para el repaso (del 2/1/2011 al 20/2/2011).

Experimento año 2009

El trabajo se realizó desde la primavera del año 2009 a la primavera-verano del año 2011. Se utilizaron 20 terneras (AO, n= 2 y BO, n=8). Los tratamientos y el período de estudio fue similares a los del Experimento 1. Se registró el PV al parto, al destete y a partir de los 7 meses de edad, en forma mensual hasta el momento de la IA (25-26 meses). A partir de los 12 meses, y con el objetivo de determinar el inicio de la actividad reproductiva (pubertad) se registró la AO por ultrasonografía y se tomaron dos muestras de sangre con intervalo de 10 días. Cuando la concentración de progesterona fue ≥ 1 ng/mL en dos muestras sucesivas separadas por un intervalo de 10 días se consideró que la vaca había reiniciado su actividad cíclica. Mensualmente, desde los 12 meses y hasta el momento de la IA (25-26 meses) se registro por ultrasonografía el espesor de grasa subcutánea (EGS). A partir de los 17-18 meses, en forma mensual y hasta el momento de la IA, se registro la condición corporal (CC) utilizando la escala (1-8 unidades, Vizcarra *et al.*, 1986) para ganado adulto.

Análisis estadísticos

Los datos de inicio de la actividad cíclica, la ciclicidad a los 24 meses y

fertilidad se analizaron mediante el PROC GENMOD del paquete estadístico SAS con una distribución binomial. Para analizar el grado de correlación entre el PV, CC y EGS se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando se analizaron los resultados de los dos años en forma conjunta, considerando todos los animales, no se observó ($P > 0,1$) un efecto de las diferentes ofertas (2,5 vs. 4 kg MS/kg PV) de forraje sobre el PV, CC de las terneras y la actividad ovárica. La probabilidad de ciclar fue mayor ($P = 0,0508$) cuando mayor fue la CC y cuando mayor edad tenían las vaquillonas. La investigación nacional reportó la importancia de la CC y PV sobre el adelanto en la edad de la pubertad de vaquillonas del mismo genotipo (Quintans y Roig, 2008). Cuando se analizó en forma independiente cada año, observamos que en el 2008 no hubo un efecto significativo de la CC y PV sobre la fertilidad ($P > 0,1$), aunque un mayor porcentaje de las vaquillonas hijas de vacas de AO se preñaron en relación a aquellas que fueron gestadas en BO (87,50 vs. 12,50, respectivamente). Las hembras que presentaron actividad ovárica más temprano, o sea que alcanzaron la pubertad a una edad menor, presentaron mayor probabilidad ($P = 0,0949$) de quedar preñadas que aquellas que lo hicieron más tarde, más próximo al inicio de la IA. Esto coincide con lo mencionado por Byerley *et al.* (1987), quién observó que una mayor cantidad de ciclos estrales de duración normal posterior a la primera ovulación puberal aumenta la fertilidad al primer servicio, confirmando la relación entre la fertilidad y el inicio temprano de la actividad ovárica.

El análisis de los datos del año 2009 mostró que la edad a la pubertad no se vio afectada por la oferta de forraje ($P > 0,1$). En cambio se observó una alta correlación entre la ganancia pre-destete y la edad a la pubertad, el EGS y la CC ($P < 0,0001$) y el EGS y el PV ($P < 0,0001$); pero una baja correlación entre el PV y la CC. Estudios realizados

en las vacas (Barla y Arambarri, 2010), madres de estas vaquillonas, reportaron también, una positiva y alta correlación entre el EGS y la CC ($r=0,55$, $P<0,001$). Los resultados sobre la fertilidad para este año hasta el momento no están disponibles

Estos son datos preliminares, y el limitado número de animales disponibles hasta el momento, nos impiden sacar conclusiones definitivas respecto a si la oferta de forraje del 2,5 kg MS/kg PV (BO) a que son sometidas las vacas de cría, tratando de simular la situación de restricción nutricional cuando son manejadas en campo natural, genera un ambiente hormonal y metabólico que afecte el normal desarrollo y crecimiento del feto y su posterior comportamiento y desempeño de las hembras a la pubertad y sobre la preñez.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la participación de los funcionarios de campo de la Estación Experimental: D. Bentancor, O. Cáceres, C. García, B. Martínez, J. Cáceres, M. Cáceres e I. Sosa que hicieron posible el presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- BARKER, D.J.P.** 1994. Mothers, Babies and Diseases in Later Life p. 180. British Medical Journal Publishing Group, London Barker DJP, Bull AR, Osmond C and Simmonds.
- BARLA, ARAMBARRI.** 2010. Evolución de las reservas corporales en vacas de cría gestantes de distintos grupos genéticos bajo diferentes ofertas de forraje del campo natural. Tesis de grado. Facultad de Agronomía. UdelaR.
- BIELLI, A.; PÉREZ, R.; PEDRANA, G.; MILTON, J.T.; LÓPEZ, A.; BLACKBERRY, M.A.; DUNCOMBE, G.; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H.; MARTÍN, G.B.** 2002. Low maternal nutrition during pregnancy reduces the numbers of Sertoli cells in the newborn lamb. *Reprod. Fertil. Dev.* 14: 333-337.
- BYERLEY, D.J.; STAIGMILLER, R.B.; BERARDINELLI, J.G.; SHORT, R.E.** 1987. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberty or third estrus. *J Anim Sci* 65:645-650.
- DIEA.** 2011. Anuario Agropecuario. Información de la Encuesta a Médicos Veterinarios. DIEA-MGAP.
- DICOSE.** 2011. Declaración Jurada.
- FUNSTON, R.N.; LARSON, D.M.; VONNAHME, K.A.** 2010. Effects of maternal nutrition on conceptus growth and offspring performance: implications for beef cattle production. *J Anim Sci.*;88 (13 Suppl).
- KIND, K.L.; MOORE, V.M.; DAVIES, M.J.** 2006. Diet around conception and during pregnancy-effects on fetal and neonatal outcomes. *Reprod Biomed Online.* 12(5):532-41.
- KINDER, J.E.; BERGFELD, E.G.; WEHRMAN, M.E.; PETERS, K.E.; KOJIMA, F.N.** Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplemente* 49: 393-407.
- LARSON, D. M.; MARTIN, J. L.; ADAMS, D. C.; FUNSTON, R. N.** 2009. Winter grazing system and supplementation during late gestation influence performance of beef cows and steer progeny. *J ANIM SCI*, vol. 87 no. 3 1147-1155.
- QUINTANS, G.; ROIG, G.** 2008. Principales factores que afectan la aparición de la pubertad. Seminario de Actualización Técnica: Cría Vacuna. Serie Técnica N° 174, pp: 53-55.
- PEREIRA G.; SOCA, P.** 2000. Aspectos relevantes de la cría vacuna en Uruguay. Anales en Foro «Organización de la Cría Vacuna» Instituto Plan Agropecuario. San Gregorio de Polanco. Tacuarembó. Uruguay.
- Pérez-Clariget, R.; Banchemo, G.; López, A.; Blackberry, M.A.; Blache, D.; Milton, J.T.B.; Martin, G.B.** 2003. A low energy diet fed to pregnant ewes affects the metabolism of the ewes and their lambs. IX World Conference on animal production. October 26 - 31 2003. Porto Alegre. Brasil.
- RAE M. T.; PALASSIO, S., KYLE, C. E.; BROOKS, A. N.; LEA, R. G.; MILLER, D. W.; RHIND, S. M.** 2001. Effect of maternal undernutrition during pregnancy on early ovarian development and subsequent follicular development in sheep fetuses. *Reproduction*, 122, 915-922.
- RHIND, S.M.** 2004. Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal

reproductive development and function. Animal Reproduction Science. Volume 82, p. 169-181.

VAN WEISSENBRUCH, M.; ENGELBREG, T. M.; VEENING, M.; DELEMARRE-VANDE WAAL, H.A. 2005. Fetal Nutrition and Timing of Puberty. Abnormalities in Puberty. Scientific and Clinical Advances. Endocr Dev. Basel, Karger, 2005, vol. 8, pp. 15-33 (DOI: 10.1159/000084084).

VIZCARRA, J.A.; IBAÑEZ, W.; ORCASBERRO, R. 1986. Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. Inv. Agron. 7(1):45-47.

A.Scarsi**,
A.L. Astessiano*,
J. Laporta*,
G. Quintans**
M. Carriquiry*

*Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR.

**Programa Nacional de Investigación Producción de Carne y Lana. INIA Treinta y Tres.

EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN CORTA PREPARTO EN LA EXPRESIÓN HEPÁTICA DE LOS GENES DEL EJE SOMATOTRÓPICO EN VACAS MULTIPARAS Y PRIMÍPARAS PARA CARNE

INTRODUCCIÓN

La cría vacuna se desarrolla en un ecosistema sobre pasturas nativas con especies templadas y subtropicales (Milot *et al.*, 1987) con bajo crecimiento invernal. Las fluctuaciones climáticas entre años resultan en una alta variabilidad en la producción de forraje (Bermúdez y Ayala, 2005) provocando oscilaciones interanuales del porcentaje de preñez del 64 al 83 % (DIEA, 2011). Por otra parte en los sistemas de cría con servicios estivales y pariciones de primavera, las vacas en su último tercio de gestación atraviesan en general un período de balance energético negativo (BEN; Patterson *et al.*, 2003) dado que coincide la baja disponibilidad de forraje de los meses invernales con los mayores requerimientos nutricionales de la vaca gestante, dado por el crecimiento del feto, placenta, membranas fetales y tejidos uterinos (Bell, 1995).

La reproducción es un factor importante que influye en la eficiencia productiva y económica de la producción de carne (Bellows *et al.*, 2002). La duración del anestro posparto (APP) o el intervalo parto-primera ovulación, determina la probabilidad de que la vaca se preñe y produzca un ternero por año (Short *et al.*, 1990). La nutrición y el amamantamiento son reconocidos como los factores más importantes que afectan la duración del APP (Randel, 1990). Dentro de la nutrición, la preparto reflejada en la CC al

parto (Richards *et al.*, 1986) y la posparto afectan la duración del APP (Wettemann *et al.*, 2003). Sin embargo el impacto de la nutrición preparto en la performance reproductiva en ganado para carne no se ha claramente dilucidado. Según Diskin *et al.* (2003) destacaron que no existe un nutriente específico requerido para la reproducción que no sea necesario para otras funciones fisiológicas. Por lo tanto es difícil determinar mecanismos específicos por los cuales la nutrición afecta las funciones reproductivas. Los sitios potenciales de acción de la nutrición incluyen al hipotálamo, que controlan la secreción de las gonadotrofinas y somatotrofinas, a la hipófisis anterior mediante la síntesis y secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), a nivel ovárico mediante la regulación del crecimiento folicular y de la síntesis de esteroides. Sin embargo, también se ha visto que los tejidos que no componen al eje hipotálamo-hipófisis-ovario, como el hígado, el tejido adiposo y muscular vinculan el metabolismo y la reproducción mediante la producción de varios metabolitos y hormonas (Chagas *et al.*, 2007).

Durante el periparto las vacas realizan modificaciones metabólicas (homeorheisis) para mantener la homeostasis debido a la disminución del consumo de materia seca, la presencia de agentes estresantes asociados al parto y la lactogénesis (Bauman y Currie, 1980). El hígado puede considerarse como el primer

regulador e integrador del estado metabólico de los animales y el principal sitio de síntesis del factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), en respuesta a la unión de la hormona de crecimiento (GH) con su receptor (Bauman, 2000). Generalmente las hormonas GH e IGF-I se encuentran asociadas directa y positivamente (Ryan *et al.*, 1994). Sin embargo existen trabajos en vacas lecheras que observan que la GH en sangre comienza a aumentar y la IGF-I a disminuir previo al parto, este desacople coincide con el establecimiento del BEN del periparto, tres semanas previo al parto hasta tres semanas posparto, (Kobayashi *et al.*, 2002; Meikle *et al.*, 2004).

Los mecanismos moleculares involucrados en los cambios de las concentraciones plasmáticas de la GH e IGF-I en el periparto no están claros. La disminución de la expresión del ARN mensajero (ARNm) a nivel hepático para GHR, podría ser uno de los mecanismos implicados en la disminución de las concentraciones plasmáticas de IGF-I (Radcliff *et al.*, 2006). Sin embargo, en vacas para carne este mecanismo no ha sido evidenciado (Jiang *et al.*, 2005; Schneider *et al.*, 2010; Astessiano *et al.*, 2011; Laporta, 2011).

Por otra parte la IGF-I circula en sangre ligada a proteínas estructuralmente relacionadas, las mismas llamadas proteínas de unión o IGFBP. El 70 a 80% de la IGF-I circulante es transportada unida a la IGFBP3 (Rajaram *et al.*, 1997). Otros trabajos encontraron que los cambios en la expresión hepática de ARNm para IGFBP3 imitan los cambios en las concentraciones plasmáticas de la proteína IGFBP3 y por lo tanto de IGF-I durante la lactancia en vacas lecheras (Carriquiry *et al.*, 2009). También hay evidencia de que las concentraciones sanguíneas de IGFBP2 aumentan marcadamente cuando los animales sufren restricciones nutricionales y este aumento es acompañado por un aumento de la expresión hepática de ARNm para IGFBP2 (Rajaram *et al.*, 1997). Particularmente, Laporta (2011) reporta un aumento de la expresión hepática de ARNm para IGFBP2 durante la gestación en invierno de vacas para carne pastoreando campo natural, siendo mayor en vacas con baja que alta oferta de forraje.

El **objetivo** de este trabajo fue estudiar el efecto de una suplementación de corta duración sobre la expresión hepática de los genes asociados al eje GH-IGF-I en vacas con más de dos pariciones (Experimento 2a) y vacas de primera cría (Experimento 2b). Al mismo tiempo se evaluaron las relaciones entre los perfiles metabólicos y el comportamiento productivo y reproductivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos fueron realizados en la «Unidad Experimental Palo a Pique», perteneciente a la Estación Experimental INIA Treinta y Tres (Experimento 2- FPTA 262). El período de evaluación fue de julio 2008 a marzo 2009.

Experimento 2a

Del rodeo de vacas multiparas Aberdeen Angus x Hereford de la estación se seleccionaron 34 vacas preñadas con fechas probables de parto próximas y con condición corporal entre 4 a 5 unidades (escala 1 a 8, Méndez *et al.*, 1986). Sesenta días previos a la fecha probable de parto las vacas fueron asignadas aleatoriamente a dos tratamientos: 1) vacas pastoreando campo natural (CON, n=13); 2) vacas pastoreando campo natural más una suplementación (SUP, n=13) diaria con 1kg/100 kg de peso vivo (PV) de afrechillo de arroz entero (89% MS; 15% PC; 14% FDA; 32% FDN; 15% EE; 1,8 Mcal ENm/kg MS). Los animales se manejaron de forma conjunta en el mismo potrero sobre campo natural (8,1 kg MS/100kg PV; 11% PC; 68% FDN; 45% FDA; 2,07 Mcal/kg MS) con buen acceso a aguadas y sombra durante todo el período experimental. Las vacas suplementadas fueron llevadas diariamente durante 40 ± 6 días previos al parto a las 8:00 am a comederos que se encontraban en una sub-división dentro del mismo potrero. Una vez finalizado el consumo del suplemento, volvían al potrero con el resto de los animales. No se registró rechazo del suplemento ofrecido. Del número inicial de vacas seleccionadas se tuvieron que apartar vacas que no consumieron el suplemento o que sus fechas de parto real se distanciaron del

rango previsto siendo 13 el número final de vacas por tratamiento.

A los 60 días posparto (dpp) las vacas fueron servidas con monta natural y el período de entore duró 60 días. Los terneros fueron destetados a los 180 días de edad.

Experimento 2b

En otro potrero 32 vacas primíparas Aberdeen Angus x Hereford sesenta días previo al parto fueron asignadas aleatoriamente a dos tratamientos: 1) vacas pastoreando campo natural (CON, n=14); 2) vacas pastoreando campo natural más una suplementación (SUP, n=11) diaria con 1 kg/100 kg PV de una mezcla de 68% de grano de sorgo más 32% de un alimento proteico comercial en base seca (88% MS; 18% PC; 12% FDA; 19% FDN; 3% EE; 1,59 Mcal EN/kg MS). Los animales se manejaron de forma conjunta en el mismo potrero sobre campo natural (8,4 kg MS/100kg PV; 7%P C; 73% FDN; 40% FDA; 2,05 Mcal/kg MS) con buen acceso a aguadas y sombra durante todo el período experimental. Las vacas suplementadas fueron llevadas diariamente durante 36 ± 8 días previos al parto a las

8:00 am a comederos que se encontraban en una sub-división dentro del mismo potrero. Una vez finalizado el consumo del suplemento, volvían al potrero con el resto de los animales. No se registró rechazo del suplemento ofrecido. Del número inicial de vacas seleccionadas se tuvieron que apartar vacas que no consumieron el suplemento o que sus fechas de parto real se distanciaron del rango previsto quedando 11 vacas en el tratamiento SUP y 14 vacas en el tratamiento CON.

Las vacas fueron servidas con monta natural a los 79 días posparto (dpp) y el período de entore duró 60 días. Los terneros fueron destetados a los 180 días de edad.

Análisis Estadístico

En ambos experimentos los datos de PV y CC de las vacas, PV de los terneros, así como las concentraciones de hormonas y de expresión génica se analizaron usando modelos lineales con medidas repetidas utilizando el PROC MIXED del paquete estadístico SAS (SAS Institute, 2010). El modelo incluyó el efecto del tratamiento nutricional, dpp (como medida repetida), y la interacción

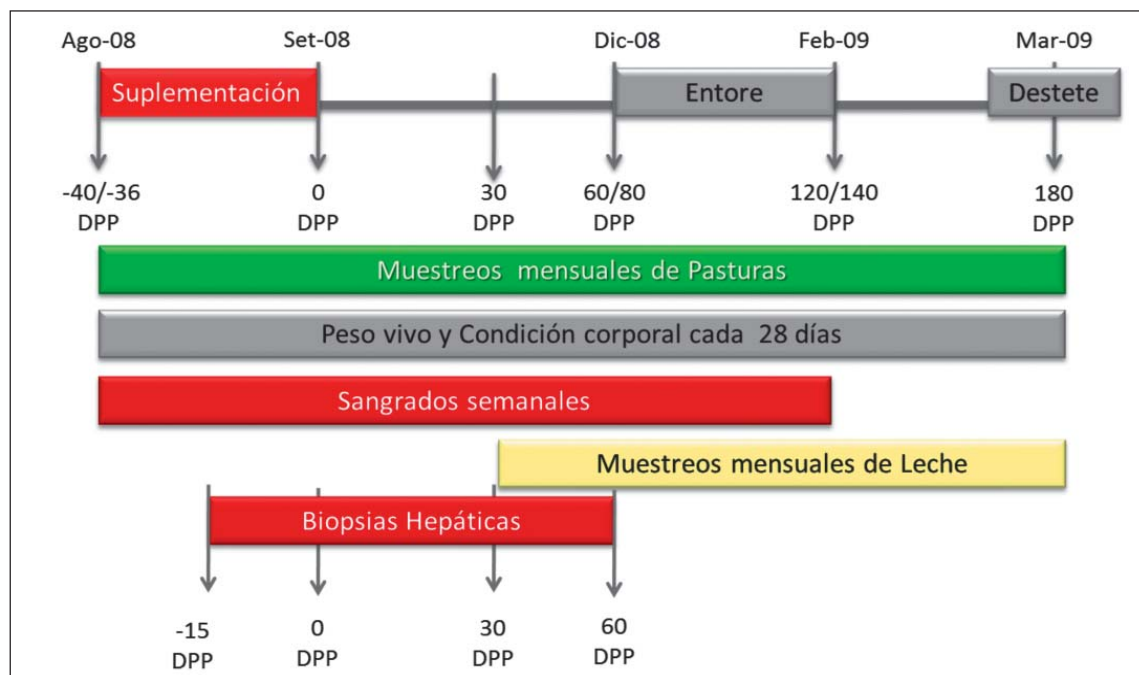


Figura 1. Protocolo experimental del Experimento 1: Suplementación preparto en vacas múltiparas con afrechillo de arroz entero y protocolo experimental del Experimento 2: Suplementación preparto en vacas primíparas con una mezcla de grano de sorgo más un alimento proteico comercial (68:32).

tratamiento por dpp como efectos fijos, la vaca y bloques (en el Experimento 2) como efectos aleatorios. Los datos de reinicio de la ciclicidad, el porcentaje de anestro, porcentaje de preñez temprana (primer tercio del entore), preñez total, e intervalo parto-concepción se analizaron usando el mismo modelo pero mediante el PROC GENMOD del paquete estadístico SAS con la distribución binomial (porcentaje de anestro, preñez) o Poisson (reinicio e intervalo parto-concepción) especificada. Las medias fueron consideradas diferentes si $P \leq 0,05$ y se declararon tendencias cuando $0,05 < P \leq 0,10$. Los datos se expresan en media \pm EEM.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 2a

- ✓ **No se observaron diferencias en el PV entre las vacas multíparas de los diferentes manejos nutricionales** ($453,9 \pm 3,2$ kg de PV). Estos resultados coinciden con los reportados por Alexander *et al.*, (2002) y Small *et al.* (2004) que no encontraron diferencias en el PV cuando suplementaron por 59 y 54 días preparto con alimentos ricos en contenidos lipídicos. Sin embargo hubo un efecto significativo de los días posparto. Explicado principalmente por el parto.
- ✓ Las vacas SUP y CON perdieron 0.7u de CC desde el inicio del período experimental hasta 84 dpp. Sin embargo, la CC de las vacas SUP estuvieron por encima que las CON, **siendo al parto la única observación significativamente diferente** ($4,1$ vs. $3,8 \pm 0,07u$ para SUP y CON respectivamente).
- ✓ **La concentración de ácido graso no esterificado (AGNE) fue similar entre vacas SUP y CON en el preparto** ($0,534 \pm 0,06$ mmol/L). Sin embargo, en el posparto las vacas SUP presentaron mayores concentraciones de AGNE respecto a las vacas CON ($0,486$ vs. $0,299 \pm 0,06$ mmol/L; Figura 2A). Durante períodos de BEN el tejido adiposo de los rumiantes es metabolizado siendo los AGNE y glicerol liberados, y estos utilizados como fuente de energía (Wetteman *et al.*, 2003). Por otra parte **Las concentraciones de Insulina de las vacas SUP fueron mayores respecto a las concentraciones de las vacas CON durante los últimos 15 días de gestación** ($10,0$ vs. $7,5$ vs $\pm 0,7$ uU/mL para vacas SUP y CON respectivamente). No obstante, no se observaron diferencias en el posparto en la concentración de dicha hormona ($6,94 \pm 0,8$ uU/mL; Figura 2C). Esto probablemente reflejó una mayor ingesta de energía y el estado metabólico más deseable (Chilliard, 1999) y también pudo haber resultado en una mayor producción ruminal propiónico y la gluconeogénesis hepática (De Fries *et al.*, 1998) de las vacas SUP en el preparto. La insulina juega un papel central en el control homeostático del metabolismo de la energía y el aumento de las concentraciones puede reducir la lipólisis (Chilliard, 1999). Sin embargo, en el presente estudio, durante el posparto, mayores concentraciones de insulina fueron acompañados por una mayor concentración de AGNE en vacas SUP, lo que indicaría una mayor resistencia a la insulina en estas vacas como se reportó anteriormente en las vacas lecheras (Cavestany *et al.*, 2009a).
- ✓ La insulina y el factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) estarían asociados positivamente **ya que las vacas SUP tendieron a presentar mayores concentraciones de IGF-I que las vacas CON en el preparto** ($92,9$ vs. $76,8 \pm 6,8$ ng/mL) de forma similar a lo ocurrido con la insulina. Sin embargo, en el posparto las vacas SUP y CON no presentaron diferencias significativas en las concentraciones de IGF-I ($44,2 \pm 5,2$ ng/mL; Figura 2D) lo que concuerda con los informes anteriores (Mashek *et al.*, 2001; Butler *et al.*, 2003). Aunque los mecanismos por los cuales la insulina y el IGF-I puede influir en la reproducción no han sido completamente dilucidado, se ha documentado que existen importantes señales hormonales que influyen en los eventos reproductivos, tales como la estimulación de la secreción

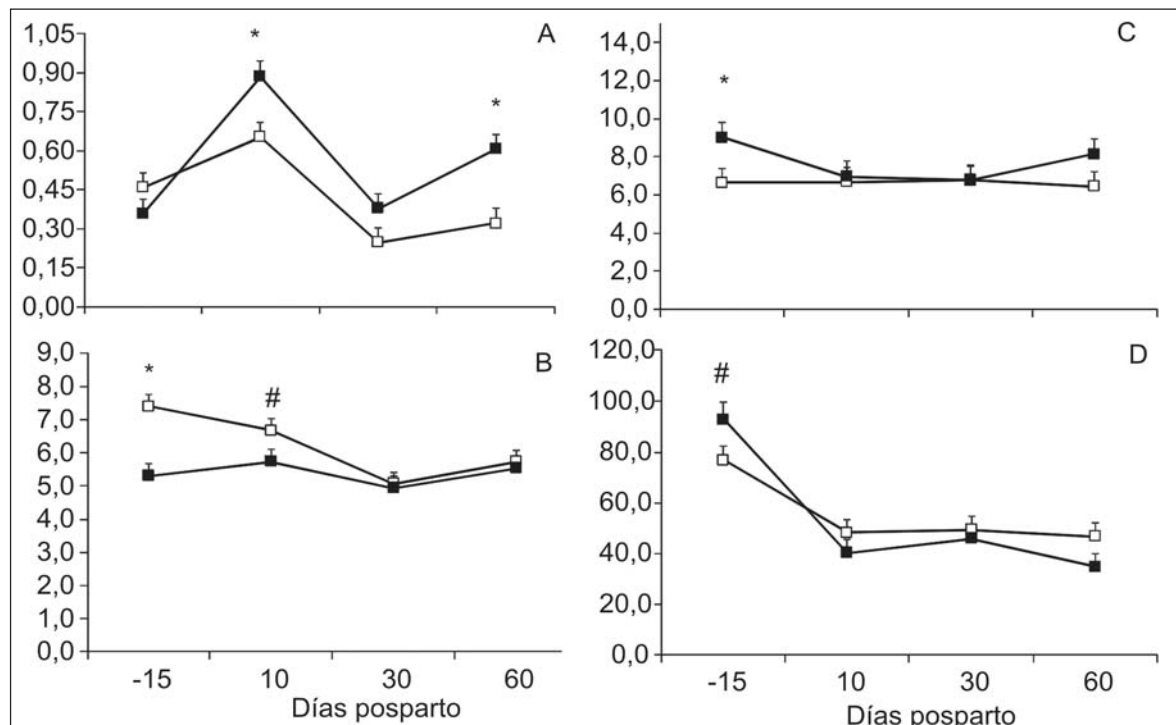


Figura 2. Concentraciones séricas promedio de Ácidos grasos no esterificados (AGNE, A), Urea (B), Insulina (C) y factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I, C) a los -15, 10, 30 y 60 dpp en vacas multíparas control (CON, □) y vacas multíparas suplementadas (SUP, ■) * cuando $P < 0,05$ y # $P < 0,10$.

de LH, el crecimiento folicular y la producción hormonal (Richards *et al.*, 1995; Lucy 2000, Hess *et al.*, 2005).

- ✓ **Las vacas CON presentaron mayores concentraciones sanguíneas de Urea que las vacas SUP en el preparto (7,26 vs. $5,57 \pm 0,4$ mmol/L). Sin embargo en el posparto no se apreciaron dichas diferencias ($5,49 \pm 0,4$ mmol/L; Figura 2B).** Esto podría deberse a un desbalance energético-proteico de la dieta en el preparto de las vacas CON (Chimonyo *et al.*, 2002) dado que la pastura tenía 11% PC y 68% FDN, o por un catabolismo del tejido muscular para sobrellevar el crecimiento del feto no apreciándose diferencias en el PV de la vaca (Freetly *et al.*, 2008).

- ✓ **La expresión del mensajero de ARN (ARNm) para el receptor de la hormona de crecimiento (GHR), factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), proteínas de unión 3 para factor de crecimiento insulínico IGFBP3, y proteína de unión 2 para factor de crecimiento insulínico (IGFBP2), no fueron afectadas por el tratamiento, dpp o por**

la interacción entre el tratamiento y los dpp (Figura 3). Estos resultados coinciden con trabajos previos (Jiang *et al.*, 2005, Schneider *et al.*, 2010), donde no observaron diferencias en la expresión hepática del mensajero para GHR o IGF-I en las

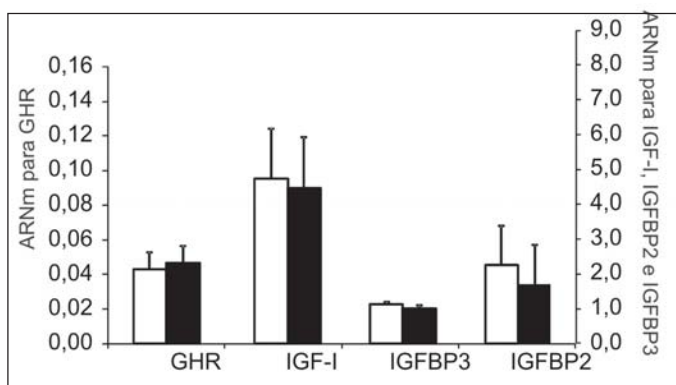


Figura 3. Expresión hepática promedio del ARN mensajero para el receptor de la hormona de crecimiento (ARNm GHR), factor de crecimiento insulínico tipo I (ARNm IGF-I), proteínas de unión 3 para factor de crecimiento insulínico (ARNm IGFBP3), proteína de unión 2 para el factor de crecimiento insulínico (ARNm IGFBP2) en vacas multíparas control (CON, □) y vacas suplementadas (SUP, ■).

vacas para carne. Esto nos estaría indicando que existirían otros mecanismos independientes de la expresión hepática del ARNm del GHR y de IGF-I que podría explicar la disminución de IGF-I en posparto las vacas de carne. Por otra parte una disminución en la proporción de la circulación sanguínea de IGFBP2, IGFBP3 durante el período posparto ha sido sugerido como un posible mecanismo para afectar a las concentraciones circulantes de IGF-I (McGuire *et al.*, 1995; Rajaram *et al.*, 1997; Mashek *et al.*, 2001). Sin embargo, en el presente trabajo no se observó diferencias en la expresión de los mensajeros a nivel hepático para las proteínas de unión 2 y 3. Lo cual podríamos suponer que existirían factores post-transcriptómicos que estarían afectado las concentraciones de las proteínas de unión IGFBP2 e IGFBP3 y por lo tanto de la IGF-I en sangre.

- ✓ **Desde punto de vista reproductivo la probabilidad de vacas ciclando a los 60 y 90 dpp fue mayor en vacas SUP respecto a vacas CON (Cuadro 1). Del mismo modo que la duración del anestro posparto fue más corto en vacas SUP que en vacas CON y el período parto concepción. Por lo tanto el porcentaje de vacas preñadas también fue mayor.** Si bien los trabajos con suplementación corta preparto son escasos mejores desempeños reproductivos fueron encontrados por Bellows *et al.*, 2001 y Quintans *et al.*, 2009. Por otra parte pese a que no han sido totalmente aclarados los mecanismos por los cuales la insulina y la IGF-I afecta la reproducción, en este trabajo se podría especular

que una suplementación corta preparto incrementó el comportamiento reproductivo en vacas multíparas.

- ✓ **No hubo diferencias significativas en la producción de leche de las vacas CON y SUP ($5,1 \pm 0,25$ kg/d).** La producción de leche de las vacas decreció de forma lineal en ambos grupos desde 6,8 kg/d al día 30 hasta 4,4 kg/d al día 150 posparto. **El PV al nacer de los terneros no difirió entre vacas CON y SUP ($40,5 \pm 3,0$ kg)** así como la ganancia de peso media diaria ($0,864 \pm 0,02$ kg/d) durante en período experimental y el PV al destete ($188,0 \pm 3,0$ kg). Estos resultados son similares a los encontrados por Lammoglia *et al.* (1996), Soto *et al.* (2001) y Larson *et al.* (2009). Por otra parte, existen trabajos que reportan mayores pesos de los terneros al nacer de vacas suplementadas preparto, pero cuando la duración del período de suplementación fueron de 100-120 días preparto (Corah *et al.*, 1975; Perry *et al.*, 1991).

Experimento 2b

- ✓ **Durante el preparto el PV y la CC de vacas SUP y CON no difirió ($438,2 \pm 7,6$ kg de PV, $4,6 \pm 0,09$ u de CC).** A pesar de ello desde el parto hasta los 56 dpp las vacas SUP fueron significativamente más pesadas que las vacas CON ($413,2 \pm 7,5$ vs. $396,7 \pm 7,1$ kg de PV). Por otra parte al parto la CC tendió a ser mayor en las vacas SUP respecto a las vacas CON, ($4,2 \pm 0,09$ vs. $4,0 \pm 0,09$ u para SUP y CON respectivamente). Los trabajos como el de Bellows *et al.* (2001) y Alexander *et al.*

Cuadro 1. Efecto de la suplementación preparto en el desempeño reproductivo de vacas multíparas

	CON	SUP	P-valor
Probabilidad de vacas ciclando a los 60 dpp (n/n)	15%(2/13)	38%(5/13)	0,01
Probabilidad de vacas ciclando a los 90 dpp (n/n)	69%(9/13)	92%(12/13)	0,002
Período APP (días)	123 ± 8	88 ± 8	0,003
Período Parto-Concepción (días)	121 ± 7	98 ± 6	0,02
Porcentaje de Preñez (n/n)	61%(8/13)	84%(11/13)	0,002

SUP vacas multíparas suplementadas preparto; CON= vacas multíparas control; n= número de animales; APP anestro posparto.

(2002) tampoco encontraron diferencias en el PV, CC en vacas primíparas SUP por 68-62 días preparto. **Desde el parto hasta el final del período experimental la CC no difirió entre las vacas CON y SUP ($4,1 \pm 0,08$ u).** Las diferencias en PV en el posparto pudo haber sido producida por una mayor ganancia de peso (0,400 kg) en los 35 días de suplementación y mantener esa diferencia en el posparto sin afectar la CC y por lo tanto la energía aportada por el suplemento pudo haber sido destinada hacia el crecimiento de la vaca primípara.

- ✓ **Las vacas CON presentaron mayores concentraciones de AGNE y Urea que las SUP desde el preparto hasta el parto ($0,923$ vs. $0,567 \pm 0,09$ mmol/L de AGNE; $7,6$ vs. $6,04 \pm 0,4$ mmol/L de Urea; Figura 4 A y B).** Esto es consistente con los resultados reportados por Chagas *et al.* (2006) y Quintans *et al.* (2009) en vacas con baja CC al parto. Asimismo Soto *et al.* (2001) y Cavestany *et al.* (2009) presentaron respuestas simi-

lares con suplementación preparto y sugirieron que las vacas control presentaron un período de BEN, con la movilización de tejido adiposo y muscular (altas concentraciones de AGNE y Urea) para cumplir con los requerimientos de energía para el mantenimiento y la gestación (Freetly *et al.*, 2008). **Por otra parte, desde el parto hasta los 10 dpp se observó un aumento en las concentraciones de AGNE en vacas SUP respecto a vacas CON ($1,02$ vs. $0,72 \pm 0,09$ mmol/L),** probablemente podría deberse al estrés del parto (Grummer, 1995) y/o a mecanismos homeorhéticos, ya que la suplementación se detuvo al momento del parto y por lo tanto las vacas necesitarían energía para hacer frente a los cambios metabólicos que implican el aumento de la demanda de energía para la producción de leche (Patterson *et al.*, 2003; Freetly *et al.*, 2006).

- ✓ **Las vacas SUP presentaron mayores concentraciones de insulina respecto a vacas CON en el pre-**

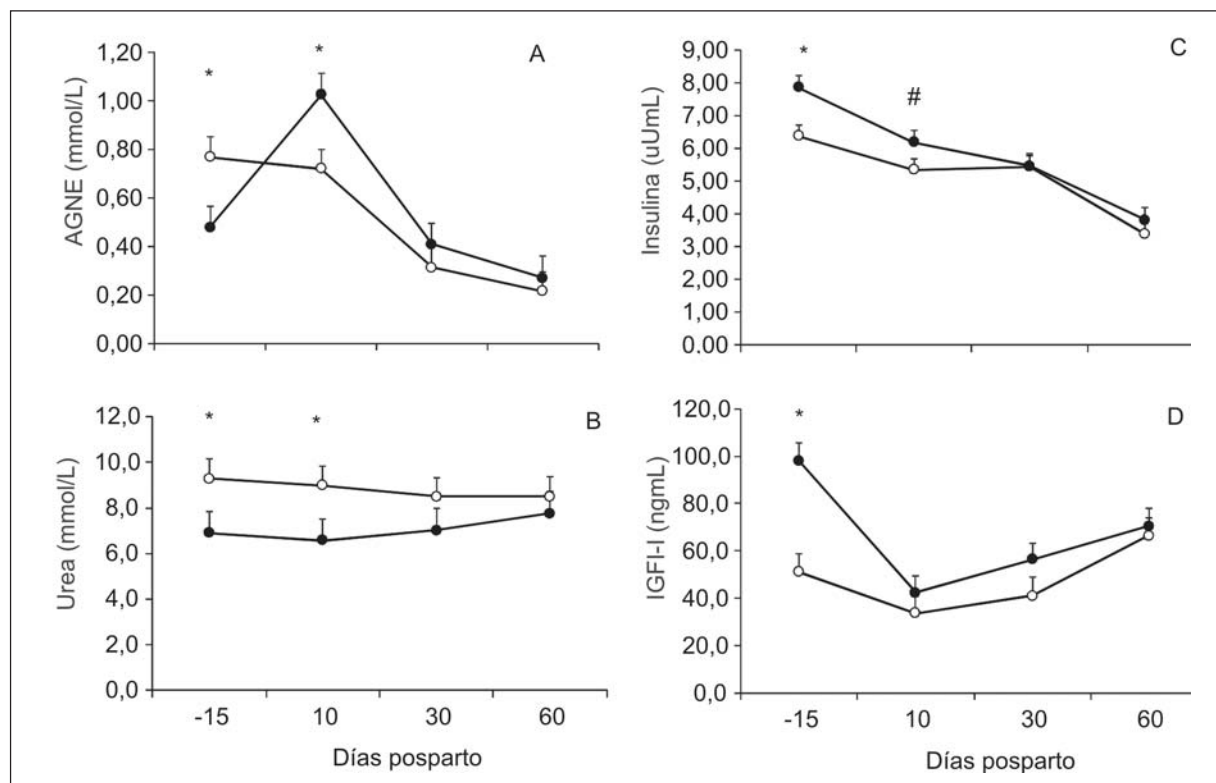


Figura 4. Concentraciones séricas promedio de Ácidos grasos no esterificados (AGNE, A), Urea (B), Insulina (C) y factor de crecimiento similar a la insulina-I (IGF-I, D) a los -15, 10, 30 y 60 dpp en vacas primíparas control (CON, ○) y vacas suplementadas (SUP, ●) * cuando $P < 0,05$ y # $P < 0,10$.

Cuadro 2. Efecto de la suplementación preparto en el desempeño reproductivo de vacas primíparas

	CON	SUP	P-valor
Probabilidad de vacas ciclando a los 60 DPP (n/n)	0	0	.
Probabilidad de vacas ciclando a los 90 DPP (n/n)	14%(2/14)	36%(4/11)	ns
Período APP (días)	156 ± 7	144 ± 8	ns
Período Parto-Concepción (días)	135 ± 8	128 ± 9	ns
Preñez (n/n)	36%(5/14)	36%(4/11)	ns

SUP vacas primíparas suplementadas preparto; CON= vacas primíparas control; n= número de animales.

parto hasta el parto (6,39 vs. 7,9 ± 0,3 uU/mL, para vacas SUP y CON, respectivamente, Figura 4C). A pesar de una mayor concentración de esta hormona en el preparto las vacas primíparas SUP no mejoraron su desempeño reproductivo en comparación con las vacas CON (Cuadro 2). Resultados similares fueron encontrados por Meikle *et al.* (2004) y Martin *et al.* (2005) trabajando con vacas lecheras primíparas con diferentes dietas o CC desde los 21 a 45 días preparto. Las concentraciones de insulina se relacionan directamente con el nivel nutricional (Gong *et al.*, 2002) y afecta a la partición de nutrientes entre los diferentes órganos y tejidos (Vernon, 1989) jugando un papel central en el control de la homeostasis (Chilliard *et al.*, 1998). Se ha reportado en vacas de primera parición con CC baja al parto, cuando se les ofrece una mejo-

ra en la disponibilidad de la energía, las concentraciones séricas de insulina aumentan, pero sin mejorar su rendimiento reproductivo (Vizcarra *et al.*, 1998). Probablemente, la insulina no estaría relacionado con el reinicio de la actividad ovárica, sino que estaría explicando el crecimiento del tejido muscular a través del aumento del PV (Spitzer *et al.*, 1995; Relling y Mattioli, 2003).

- ✓ **Las concentraciones de IGF-I en el preparto fue mayor en vacas SUP que vacas CON (97,8 vs. 51,1 ± 7,9 ng/mL; Figura 4D), pero luego del parto no se observaron diferencias en dicha hormona entre vacas de ambos tratamientos.** Resultados similares fueron encontrados en la bibliografía, trabajos con vacas primíparas suplementadas durante 21 a 71 días preparto presentaron aumentos en las concentraciones de IGF-I, no encontrándose relaciones con cambios en el PV o en la CC (Chagas *et al.*, 2006; Engel *et al.*, 2008; Cavestany *et al.*, 2009). Por otra parte existen revisiones bibliográficas sobre las acciones hormonales de la IGF-I (Kaplan y Cohen, 2007) donde reportan que mayores concentraciones sanguíneas de IGF-I aumentan el tamaño corporal ya sea por un aumento del músculo esquelético o del tejido adiposo, dado a que esta hormona al igual que la insulina favorece la captación de glucosa en los tejidos inhibiendo de la gluconeogénesis, y lipogénesis.

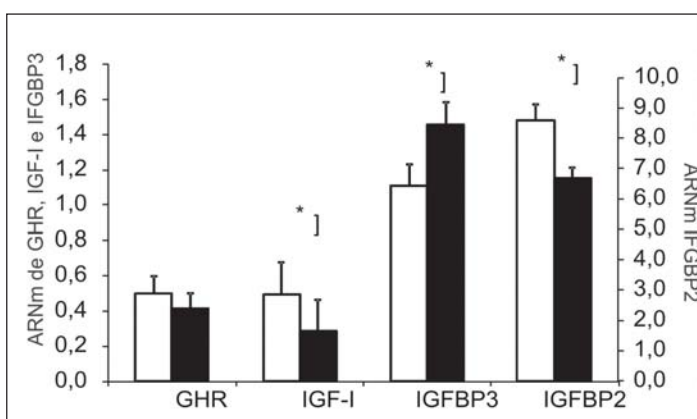


Figura 5. Expresión hepática promedio del ARN mensajero para el receptor de la hormona de crecimiento (ARNm GHR), factor de crecimiento insulínico tipo I (ARNm IGF-I), proteína de unión 3 para factor de crecimiento insulínico (ARNm IGFBP3), proteína de unión 2 para el factor de crecimiento insulínico (ARNm IGFBP2) en vacas multiparas control (CON, □) y vacas suplementadas (SUP, ■) * P<0,05.

- ✓ **No se observaron diferencias en la expresión del mensajero para GHR (Figura 5).** Resultados similares fueron encontrados por (Jiang *et al.*, 2005), donde no observaron diferen-

cias en la expresión hepática del mensajero para GHR en las vacas para carne. **Sin embargo, la abundancia del mensajero para IGF-I fue mayor en vacas CON respecto a las vacas SUP (0,496 vs. $0,288 \pm 0,17$; Figura 5 y Figura 6A)** a diferencia a lo encontrado por los autores anteriormente mencionados (Jiang *et al.*, 2005, Schneider *et al.*, 2010). **Así mismo, la expresión del ARNm para IGFBP2 fue mayor en vacas CON respecto a vacas SUP (Figura 5 y Figura 6C).** Existen reportes que han informado que restricciones nutricionales estarían asociadas con aumentos en las concentraciones sanguíneas de IGFBP-2 (Rajaram *et al.*, 1997, Roberts *et al.*, 1997), indicando, de alguna manera una mayor expresión del mensajero para este gen.

- ✓ **Por otro lado, la expresión del ARNm para IGFBP3 fue mayor en vacas SUP en relación a vacas CON (1,5 vs. $1,1 \pm 0,09$; Figura 5 y Figura 6B).** Estos resultados sugieren que puede haber otros factores u otros órganos que estarían involucrados en este mecanismo debido a que un estudio reciente se encontró en vacas para carne con ciclos estrales regulares una mayor expresión del mensajero para IGFBP3 en la pituitaria anterior en comparación con vacas en anestro (Roberts *et al.*, 2011).
- ✓ **Al inicio del entore (60 dpp) no se encontró ninguna vaca ciclando (Cuadro 2). A los 90 dpp, que corresponde a la mitad del período de entore, no se observaron diferencias en la probabilidad de vacas ciclando (14 vs. 36% para CON y SUP, respectivamente). La duración del APP fue similar para las vacas CON y SUP ($125 \pm 8,5$ días). El período parto-concepción fue similar entre vacas SUP y CON. El porcentaje de vacas preñadas fue similar entre tratamientos (36%).**
- ✓ **No hubo diferencias significativas en la producción de leche de las vacas CON y SUP ($4,1 \pm 0,9$ kg/d). La producción de leche de las vacas decreció de forma lineal en ambos grupos desde $5,1$ kg/d al día 30 hasta $3,3$ kg/d al día 150 posparto. El PV al nacer de los**

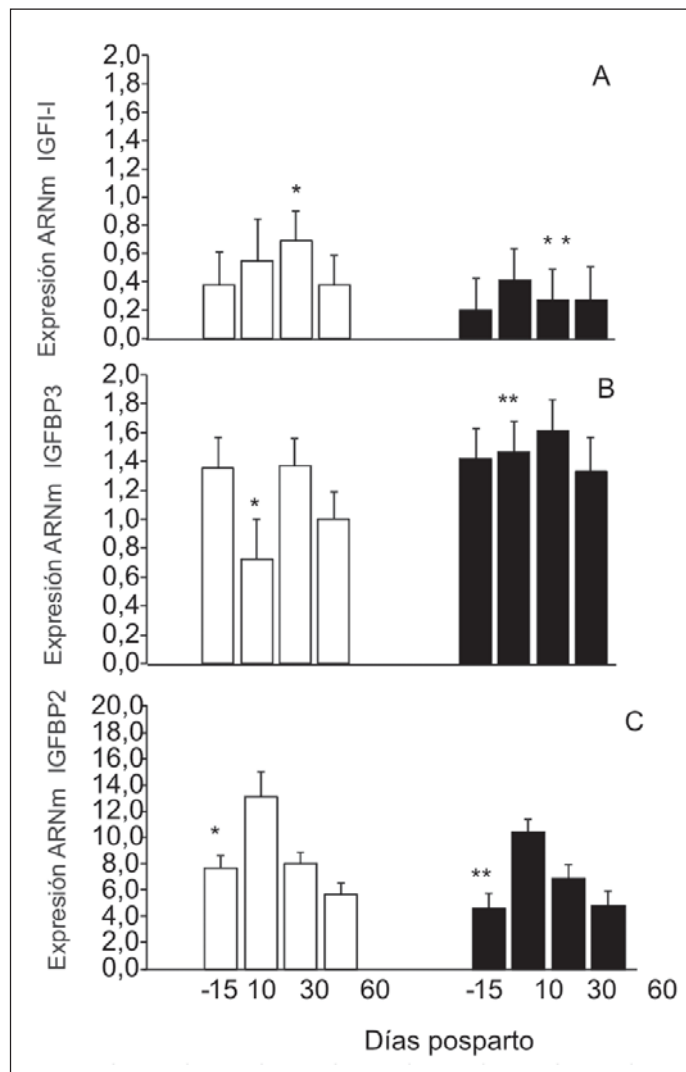


Figura 6. Expresión hepática del ARN mensajero para IGF-I (A), IGFBP3 (B) y IGFBP2 (C) a los -15, 10, 30 y 60 dpp en vacas primíparas control (CON, □) y vacas primíparas suplementadas (SUP, ■) * $P < 0,05$.

terneros no difirió entre vacas CON y SUP ($35,6 \pm 3,8$ kg) así como la ganancia de peso media diaria ($0,659 \pm 0,03$ kg/d) durante en período experimental ni el PV al destete ($136,9 \pm 3,8$ kg). Se ha reportado que el aumento en la disponibilidad de nutrientes en el posparto tiene mayor impacto en la producción de leche en comparación con el preparto (Wiley *et al.*, 1991, Marston *et al.*, 1995; Lalman *et al.*, 2000). Asimismo, esta mayor producción de leche se ha correlacionado con mayores ganancias de peso de los terneros y pesos al destete (Perry *et al.*, 1991; Spitzer *et al.*, 1995). Por otro lado,

Wathes *et al.* (2007) no encontraron relación entre la concentración de insulina y la producción de leche en vacas primíparas. Estos autores sugirieron que en vacas de primera cría, la insulina es menos importante en el control de la partición de nutrientes entre los tejidos corporal y la síntesis de leche dado que en los animales en crecimiento podrían captar más glucosa circulante hacia el músculo esquelético (Santos *et al.*, 2001).

CONCLUSIÓN

La suplementación con afrechillo de arroz durante los últimos 40 días de gestación aumentó el desempeño reproductivo en vacas multíparas. Durante el parto en este trabajo se observaron altas concentraciones de insulina, IGF-I, colesterol y bajas concentraciones de AGNE y Urea en vacas suplementadas. Estas señales metabólicas pueden participar en los mecanismos que explican la compleja relación entre la nutrición y la reproducción. Se necesita más investigación para contribuir a entender mejor las señales que influyen en la actividad reproductiva. Por otra parte, estos resultados indican que bajo condiciones de pastoreo como las nuestras una suplementación corta preparto con afrechillo de arroz en vacas multíparas sería una alternativa para mejorar el BEN que las vacas en general, presentes durante el período periparto y, en consecuencia, para aumentar su eficiencia reproductiva.

Por otra parte, la función reproductiva no se ve afectada por una suplementación corta de parto en vacas de primera cría. Se puede especular que las vacas primíparas con moderada a baja CC podrían priorizar nutrientes administrados con el suplemento de parto, hacia los músculos esquelético prevaleciendo la función de crecimiento con respecto a otros eventos fisiológicos tal como la reproducción. Se necesitan información adicionales de vacas primíparas, ya que esta categoría es muy exigente desde punto de vista del manejo nutricional en relación al rodeo, y su comportamiento reproductivo tiene un fuerte impacto en la eficiencia de todo el sistema productivo.

BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDER, B.M.; HESS, B.W.; HIXON, D.L.; GARRETT, B.L.; RULE, D.C.; MCFARLAND, M.; BOTTFGER, J.D.; SIMMS, D.D.; MOSS, G.E.** 2002. Influence of pre-partum fat supplementation on subsequent beef cow reproduction and calf performance. *The Professional Animal Science* 18 (4): 351-357.
- ASTESSIONO, A.L.; PÉREZ-CLARIGET, R.; QUITANS, G.; SOCA, P.; CARRIQUIRY, M.** 2011. Effects of a short-term increase in the nutritional plane before the mating period on metabolic and endocrine parameters, gene hepatic expression and reproduction in primiparous beef cows on grazing conditions. *Animal Physiology and Animal Nutrition*. in press. doi: 10.1111/j.1439-0396.2011.01178.x.
- BAUMAN, D.; CURIE, B.** 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science* 63 (9): 1514-1529.
- BAUMAN, D.E.** 2000. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: *Ruman Physiology: Digestion, Metabolism and Growth and Reproduction*. Edited by PJ Cronje. CAB Publishing, New York, NY. 311-327 p.
- BELL, A.W.** 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Animal Science* 73 (9): 2804-2819.
- BELLOWS, R.A.; GRINGS, E.E.; SIMMS, D.D.; GEARY, T.W.; BERGMAN, J.W.** 2001. Effects of feeding supplemental fat during gestation to first-calf beef heifers. *The Professional Animal Scientist* 17 (1): 91-89.
- BELLOWS, D.S.; OTT, S.L.; BELLOWS, R.A.** 2002. Review: Cost of reproductive disease and conditions in cattle. *The Professional Animal Scientist* 18 (1): 26-32.
- BERMÚDEZ, R.; AYALA, W.** 2005. Producción de Forraje de un campo natural de la zona de lomadas del Este. In: *Seminario de Actualización Técnica en Manejo de Campo Natural (2005, Treinta y Tres) Resultados experimentales*. Montevideo, INIA. pp.

- 41-50. (Serie Técnica no. 151).
- BUTLER, S.T.; MARR, A.L.; PELTON, S.H.; RADCLIFF, R.P.; LUCY, M.C.; BUTLER, W.R.** 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. *Journal of Endocrinology* 176 (2): 205-217.
- CARRIQUIRY, M.; WEBER, W.J.; FAHRENKRUG, S.C.; CROOKER, B.A.** 2009a. Hepatic gene expression in multiparous Holstein cows treated with bovine somatotropin and fed n-3 fatty acids in early lactation. *Journal of Dairy Science* 92 (10): 4889-4900.
- CAVESTANY, D.; VIÑOLES, C.; CROWE, M.A.; LA MANNA, A.; MENDOZA, A.** 2009. Effect of prepartum diet on postpartum ovarian activity in Holstein cows in a pasture-base dairy system. *Animal Reproduction Science* 114 (1): 1-13.
- CAVESTANY, D.; KULCSÁR, M.; CRESPI, D.; CHILLIARD, Y.; LAMANNA, A.; BALOGH, O.; KERESZTES, M.; DELAUAUD, C.; HUSZENICZA, G.** 2009a. Effect of prepartum energetic supplementation on productive and reproductive characteristics, and metabolic and hormonal profiles in dairy cows under grazing conditions.
- CHAGAS, L.M.; RHODES, F.M.; BLACHE, D.; GORE, P.J.S.; MACDONALD, K.A.; VERKERK, G.A.** 2006. Precalving effects on metabolic responses and postpartum anestrus in grazing primiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89 (6): 1981-1989.
- CHAGAS, L.M.; BASS, J.J.; BLACE, D.; BURKE, C.R.; KAY, J.K.; LINDSAY, D.R.; LUCY, M.C.; MARTIN, G.B.; MELER, S.; RHODES, F.M.; ROCHE, J. R.; THATCHER, W.W.; WEBB, R.** 2007. Invited Review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90 (9):4022-4032.
- CHILLIARD, Y.; BOCQUIER, F.; DOREAU, M.** 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 38 (2): 131-152.
- CHILLIARD, Y.** 1999. Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. In *Biology of Lactation*. Editors Martinet, J.; Houdebinde, L.M.; Head, H.H. Inserm/INRA, Paris, France. 503-552 pp.
- CHIMONYO, M.; HAMUDIKUWANA, H.; KUSINA, N.T.; NCUBE, I.** 2002. Changes in stress related plasma metabolite concentrations in working Mashona cows on dietary supplementation. *Livestock Production Science*. (73): 165-173.
- CORAH, L.R.; DUNN, T.G.; KALTENBACH, C.C.** 1975. Influence of prepartum nutrition on the reproductive performance of beef females and the performance of their progeny. *Journal of Animal Science* 41 (3): 819-824.
- DEFRIES, C.A.; NEUENDORFF, D.A.; RANDEL, R.D.** 1998. Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman Cows. *Journal of Animal Science* 76 (3): 864-870.
- DIEA.** 2011. Anuario estadístico agropecuario 2011. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias, Uruguay. Diciembre 2011. Disponible en: www.mgap.gub.uy/diea.
- DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; ROCHE, J.F.; SREENAN, J.M.** 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science* 78 (3): 345-370.
- ENGEL, C.L.; PATTERSON, H.H.; PERRY, G.A.** 2008. Effect of dried corn distillers grains plus solubles compared with soybean hull, in late gestation diets, on animal and reproductive performance. *Journal of Animal Science* 86 (7): 1697-1708.
- FREETLY, H.C.; NIENABER, J.A.; BROWN-BRANDL, T.** 2006. Partitioning of energy during lactation of primiparous beef cows. *Journal of Animal Science* 84 (8): 2157-2162.
- FREETLY, H.C.; NIENABER, J.A.; BROWN-BRANDL, T.** 2008. Partitioning of energy in pregnant beef cows during nutritionally induced body weight fluctuation. *Journal of Animal Science* 86 (2): 370-377.
- GONG, J.G.; LEE, W.J.; GARNSWORTHY, P.C.; WEBB, R.** 2002. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction*

123 (3): 419-427.

- GRUMMER, R.R.** 1995. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science* 73 (9): 2820-2833.
- HESS, B.W.; LAKE, S.L.; SCHOLLJEGERDES, E.J.; WESTON, T.R.; NAYIGIHUGU, V.; MOLLE, J.D.C.; MOSS, G.E.** 2005. Nutritional controls of beef cows reproduction. *Journal of Animal Science* 83 (Suppl 13): E90-E106.
- JIANG, H.; LUCY, M.C.; CROOKER, B.A.; BEAL, W.E.** 2005. Expression of growth hormone receptor 1A mRNA is decreased in dairy cows but not in beef cows at parturition. *Journal of Dairy Science* 88 (4): 1370-1377.
- KAPLAN, S. A.; COHEN, P.** 2007. Review: The Somatomedin hypothesis 2007:50 years later. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92 (12):4529-4535.
- KOBAYASHI, Y.; BOYD, C.K.; MCCORMACK, B.L.; LUCY, M.C.** 2002. Reduced insulin-like growth factor-I after acute feed restriction in lactating dairy cows is independent of changes in growth hormone receptor 1A mRNA. *Journal of Dairy Science* 85 (4): 748-754.
- LALMAN, D.L.; WILLIAMS, J.E.; HESS, B.W.; THOMAS, M.G.; KEISLER, D.H.** 2000. Effect of dietary on milk production and metabolic hormones in thin, primiparous beef heifers. *Journal of Animal Science* 78 (3): 530-538.
- LAMMOGLIA, M.A.; WILLARD, S.T.; OLDHAM, J.R.; RANDEL, R.D.** 1996. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and hormonal cholesterol, triglycerids, follicular patterns, and postpartum reproduction in Brahman cows. *Journal Animal Science* 74 (4): 2253-2262.
- LAPORTA, J.** 2011. Aspectos moleculares de los mecanismos involucrados en la interacción nutrición-reproducción en bovinos de carne de diferente tipo genético. Tesis Magister en Ciencias Animal, Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. p. 140.
- LARSON, D.M.; MARTIN, J.L.; ADAMS, D.C.; FUNSTON, R.N.** 2009. Winter grazing system and supplementation during late gestation influence performance of beef cows and steer progeny. *Journal of Animal Science* 87 (3): 1147-1155.
- LUCY, M.C.** 2000. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science* 83 (7): 1635-1647.
- MARSTON, T.T.; LUSBY, K.S.; WETTEMANN, R.P.; PURVIS, H.T.** 1995. Effects of feeding energy or protein supplements before or after calving on performance of spring-calving cows grazing native range. *Journal of Animal Science* 73 (3): 657-664.
- MARTIN, J.L.; RASBY, R.J.; BRINK, D.R.; LINDQUIST, R.U.; KEISLER, D.H.; KACHMAN, S.D.** 2005. Effects of supplementation of whole corn germ on reproductive performance, calf performance, and leptin concentration in primiparous and mature beef cows. *Journal of Animal Science* 83 (11): 2663-2670.
- MASHEK, D.G.; INGVAARTSEN, K.L.; ANDERSEN, J.B.; VESTERGAARD, M.; LARSEN, T.** 2001. Effects of a four-day hyperinsulinemic-euglycemic clamp in early and mid-lactation dairy cows on plasma concentrations of metabolites, hormones, and binding proteins. *Domestic Animal Endocrinology* 21 (3): 169-185.
- MCGUIRE, M.A.; DWYER, D.A.; HARRELL, R.J.; BAUMAN, D.E.** 1995. Insulin regulates circulating insulin-like growth factors and some of their binding proteins in lactating cows. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 269 (4): E723-E730.
- MEIKLE, A.; KULCSAR, M.; CHILLIARD, Y.; FEBEL, H.; DELAVAUD, C.; CAVESTANY, D.; CHILIBROSTE, P.** 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 127 (6): 727-737.
- MILLOT, J.C.; RISSO, D.; METHOL, R.** 1987. Relevamiento de pasturas y mejoramientos extensivos en áreas ganaderas del Uruguay. FUCREA. Montevideo. Uruguay.
- PATTERSON, H.H.; KLOPFNSTEIN, T.J.; ADAMS, D.C.; MUSGRAVE, J.A.** 2003. Supplementation to meet metabolizable protein requirements of primiparous beef heifers: I. Performance, forage intake, and nutrient balance. *Journal of Animal Science* 81 (3): 800-811.

- PERRY, R.C.; CORAH, L.R.; COCHRAN, R.C.; BEAL, W.E.; STEVENSON, J.S.; MINTON, J.E.; SIMMS, D.D.; BRETHOUR, R.** 1991. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. *Journal of Animal Science* 69 (9): 3762-3773.
- QUINTANS, G.; BANCHERO, G.; ROIG, G.; CARRIQUIRY, M.** 2009. Effect of short-term prepartum supplementation on reproduction of multiparous beef cows on grazing conditions. *Journal of Animal Science* 87 (Suppl 2): 76 M236.
- RADCLIFF, R.P.; MCCORMACK, B.L.; KELSNER, D.H.; CROOKER, B.A.; LUCY, C.** 2006. Partial feed restriction decreases growth hormone receptor 1A mRNA expression in postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89 (2): 611-619.
- RAJARAM, S.; BAYLINK, D.J.; MOHAN, S.** 1997. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocrine Reviews* 18 (6): 801-831.
- RANDEL, R.D.** 1990. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science* 68 (3): 853-862.
- RELLING, A.E.; MATTIOLI, G.A.** 2003. *Fisiología Digestiva y Metabólica de los Rumiantes*. Ed Universidad Nacional de La Plata. EdulP. La Plata, Buenos Aires. 72 p.).
- RICHARDS, M.W.; SPICER, L.J.; WETTEMAN, R.P.** 1995. Influence of diet and ambient temperature on bovine serum insulin-like growth factor-1 and thyroxine: relationship with non-esterified acids, glucose, insulin, luteinizing hormone and progesterone. *Animal Reproduction Science* 37 (1): 267-279.
- ROBERTS, A.J.; NUGENT III, R.A.; KLINDT, J.; JENKINS, T.G.** 1997. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of estrus in postpartum cows subjected to dietary energy restriction. *Journal of Animal Science* 75 (7): 1909-1917.
- ROBERTS, A.J.; MCLEAN, D.J.** 2011. Differential gene expression in anterior pituitary glands from anestrous and cycling postpartum beef cows. *Journal of Animal Science* 89 (4): 1035-1041.
- RYAN, D.P.; SPOON, R.A.; GRIFFITH, M.K.; WILLIAMS, G.L.** 1994. Ovarian follicular recruitment, granulosa cell steroidogenic potential and growth
- SANTOS, J.E.P.; DEPETERS, E.J.; JARDON, P.W.; HUBER, J.T.** 2001. Effect of prepartum dietary protein level on performance of primigravid and multiparous Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84 (1): 213-224.
- SAS Institute.** 2010. *User's Guide: Statistics, Version 9*. SAS Inst., Inc., Cary, NC. Schneider *et al.*, 2010).
- SCHNEIDER, A.; MACHADO, L.F.; TEIXEIRA, L.; PALUDO, G.R.; BURKERT DEL PINO, F.A.; LAURINO, N.J.; CORRÊA, M.N.** 2010. Insulin-like growth factor and growth hormone receptor in postpartum lactating beef cows. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45 (8): 925-931.
- SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.; BERARDINELLI, J.G.; CUSTER, E.E.** 1990. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science* 68 (3): 799-816.
- SMALL, W.T.; PAISLEY, S.I.; HESS, B.W.; LAKE, S.L.; SHOLLJERGERDES, E.J.; REED, T.A.; BELDEN, E.L.; BARTLE, S.** 2004. Supplemental fall in limit-fed, high grain perpartum diets of beef cows: effects on cow weight gain, reproduction, and calf health, immunity and performance. *Proceeding Western Section, American Society of Animal Science* 55 (1): 45-52.
- SOTO, R.; RUBIO, I.; GALINA, C.S.; CASTILLO, E.; ROJAS, S.** 2001. Effect of pre- and post-partum feed supplementation on the productive and reproductive performance of grazing primiparous brahman cows. *Tropical Animal Health and Production* 33 (3): 253-264.
- SPITZER, J.C.; MORRISON, D.G.; WETTEMANN, R.P.; FAULKNER, L.C.** 1995. Reproductive responses and calf birth and weaning weights as affected by body condition at parturition and postpartum weight gain in primiparous beef cows. *Journal Animal Science* 73 (5): 1251-1257.
- VERNON, R.G.** 1989. Endocrine control of metabolic adaptation during lactation. *Proceedings of the Nutrition Society* 48 (1): 23-32. Vizcarra *et al.*, 1998.

- WATHES, D.C.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; TAYLOR, V.J.; COFFEY, M.P.; BROTHERSTONE, S.** 2007. Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology* 33 (2): 203-225.
- WETTEMANN, R.P.; LENTS, C.A.; CICCIONI, F.J.; WHITE, F.J.; RUBIO, I.** 2003. Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows. *Journal of Animal Science* 81 (Suppl 2): E48-59.
- WILEY, J.S.; PETERSEN, M.K.; ANSOTEGUI, R.P.; BELLOWS, R.A.** 1991. Production from first-claf beef heifers fed a maintenance or low level of prepartum nutrition and ruminally undegradable or degradable protein postpartum. *Journal of Animal Science* 69 (11): 4279-4293.

M. Carriquiry*,
J. Laporta*,
A. Astessiano*,
F. Pereyra*,
A. Scarsi**,
G. Quintans**,
R. Perez-Clariget*

*Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, UdelaR.

**Programa Nacional de Investigación Producción de Carne y Lana. INIA Treinta y Tres.

SUPLEMENTACIÓN PREPARTO Y SU IMPACTO EN LOS TERNEROS: EJE SOMATOTRÓFICO Y SU RELACIÓN CON EL CRECIMIENTO Y POTENCIAL REPRODUCTIVO

INTRODUCCIÓN

En Uruguay, el proceso de cría vacuna se realiza casi completamente sobre campo natural. El entore se realiza mayoritariamente desde mediados de diciembre a finales de febrero, determinando que un porcentaje elevado de vacas se encuentre en gestación avanzada (último tercio) durante el invierno, cuando la disponibilidad y calidad de forraje del campo natural es baja (Berreta *et al.*, 2000), y los requerimientos nutricionales de las vacas gestantes son mayores (25 a 30% mayores a los de una vaca seca, NRC, 2000). Esto determina un período de balance energético negativo en el cual la vaca debe movilizar sus reservas corporales para satisfacer sus necesidades de mantenimiento y gestación (Orcasberro, 1991).

La nutrición materna durante la gestación puede «programar el desarrollo» del ternero y afectar su comportamiento productivo futuro. El concepto de programación del desarrollo implica que las alteraciones durante las etapas críticas del desarrollo prenatal o posnatal puede tener impacto a largo plazo sobre el crecimiento y la función de un adulto (Caton y Hess, 2010). El principal objetivo de la cría de ganado de carne es su músculo esquelético. Las fibras del músculo esquelético se forman antes de nacer (hiperplasia), durante la etapa fetal. Luego del parto, el músculo esquelético crece por hipertrofia, es decir, aumento del

diámetro en las fibras existentes (Hawke y Garry, 2001). Por lo tanto, restricciones nutricionales durante la gestación podrían provocar una disminución permanente en el número de fibras musculares reduciendo la masa muscular y afectando negativamente el rendimiento de los animales en un futuro (Du *et al.*, 2009). De esta manera se estaría comprometiendo el objetivo que solicita la industria cárnica de lograr pesos de carcasa mínimos de 230-240 kg a edades que no superen los treinta meses de edad.

Por otra parte, la deposición de grasa intramuscular (marmoleo), en carnes producidas en base a forraje es reducida, afectando las características de calidad, tales como la terneza, jugosidad y sabor (Hovenier *et al.*, 1993, Verbeke *et al.*, 1999). El marmoleo esta dado por la formación de adipocitos que acumulan grasa intramuscular durante el crecimiento posnatal, formando vetas de grasa. Debido a que el ganado alimentado con pasto, no es alimentado con una dieta a base de cereales durante el «engorde» la cual induce a la hipertrofia del adipocito, es poco probable que el tamaño de éstos se incremente de forma notoria durante la fase de terminación. Por lo tanto, el manejo nutricional de la madre durante la gestación con el fin de aumentar la adipogénesis intramuscular en el feto, es una alternativa plausible para mejorar el marmoleo de ganado vacuno alimentado en un futuro a base de pasturas (Du *et al.*, 2009).

Es así, que los períodos de carencia de nutrientes maternos durante la gestación en momentos determinados del desarrollo del músculo esquelético, podría reducir el crecimiento de la masa muscular y generar cambios en el marmoleo del ternero, comprometiendo así el desempeño futuro del animal (Funston *et al.*, 2010). La suplementación preparto podría ser una posible estrategia para mejorar el plano nutricional durante la etapa fetal y aumentar así el comportamiento productivo futuro del ternero. Teniendo en cuenta la importancia a nivel nacional que implica la producción de carne basada en sistemas pastoriles y las posibilidades de generar a nivel país productos certificados, parecería fundamental la generación de nuevos conocimientos que permitan incrementar la eficiencia global en la utilización de campo nativo, obteniendo productos de alta calidad.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de una suplementación preparto durante el último mes de gestación en vacas de cría primíparas y multíparas, pastoreando campo nativo sobre los perfiles endócrinos y la expresión de genes relacionados con el eje somatotrófico y adipogénesis en hígado y músculo de los terneros al destete y su asociación con el crecimiento de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en el marco del **Experimento 2 (a y b)**; INIA 33) y los detalles del protocolo experimental y de las mediciones realizadas se presentan a continuación (Figura 1).

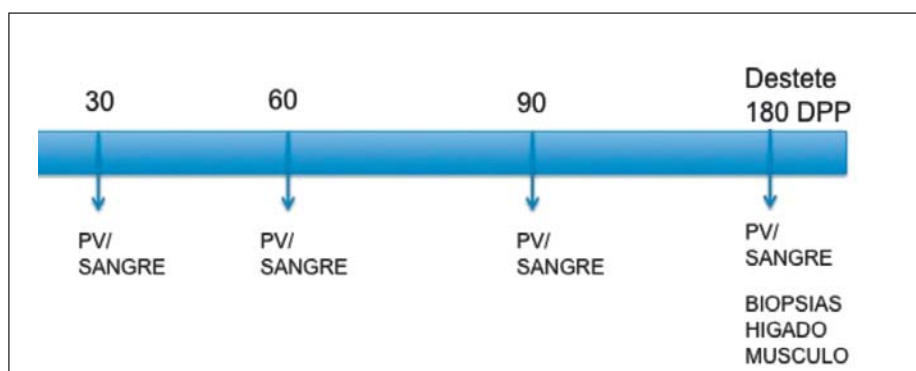


Figura 1. Protocolo experimental. Variables analizadas: peso vivo, concentraciones séricas de proteína total, albúmina, glucosa, insulina e IGF-I y expresión génica de *GHR*, *IGF1*, *IGFBP3* e *INSR* en hígado y *GHR*, *IGF1*, *IGFBP3*, *INSR*, *PPAR α* y *SRPB1* en músculo.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el programa SAS (SAS 9,0 V, SAS Institute Inc., Cary, NC) usando un modelo mixto mediante el procedimiento MIXED. El modelo incluyó el tratamiento nutricional, el sexo (experimento 2b) y los días (medida repetida, si correspondió) y sus interacciones como efectos fijos, y el bloque como efecto aleatorio. La separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey.

RESULTADOS

Experimento 2a. Multíparas

- * La suplementación corta preparto no afectó el PV al nacer, al destete y la ganancia diaria promedio de los terneros (Cuadro 1).
- * La concentración de proteína total fue menor en terneros SUP que CON, sin verse afectadas las concentraciones de albúmina y glucosa por la suplementación preparto (Cuadro 1, Figura 2A).
- * En acuerdo con el rol de la glucosa en la secreción de la insulina (Coffee 1998), las concentraciones de insulina tampoco difirieron entre tratamientos. Sin embargo, las concentraciones de IGF-I fueron mayores en terneros SUP que CON, siendo esta diferencia mas evidente durante el primer mes de vida de los terneros (Cuadro 1, Figura 2B,C),

Cuadro 1. Efecto de la suplementación durante el último mes de gestación sobre el peso vivo, las concentraciones de metabolitos y hormonas y la expresión génica en hígado y en el músculo *Semitendinoso* en terneros machos

	TRATAMIENTO (T)			Valor P		
	CON	SUP	SE	T	Edad	TxEdad
Peso del ternero						
Peso al nacer (kg)	40,0	40,3	4,3	0,97	-	-
Peso al destete (kg)	181,0	185,0	3,0	0,33	-	-
Ganancia diaria promedio (kg/d)	0,74	0,80	0,03	0,31	-	-
Metabolitos						
Proteína total (g/L)	61,6	48,0	3,6	0,01	0,43	0,92
Albumina (g/L)	31,0	30,5	1,2	0,79	0,40	0,63
Glucosa (mmol/L)	1,30	1,17	0,13	0,39	0,01	0,96
Hormonas						
Insulina (uUI/mL)	12,4	13,5	1,9	0,71	0,01	0,35
IGF-I (ng/mL)	117,3	160,4	10,4	0,02	0,01	0,11
Expresión génica en hígado¹						
<i>GHR</i>	0,11	0,12	0,02	0,85	-	-
<i>IGF1</i>	0,35	0,26	0,03	0,17	-	-
<i>IGFBP3</i>	0,46	0,65	0,06	0,09	-	-
<i>INSR</i>	2,80	2,70	0,27	0,90	-	-
Expresión génica en músculo¹						
<i>GHR</i>	1,51	1,72	0,53	0,79	-	-
<i>IGF1</i>	0,08	0,09	0,02	0,83	-	-
<i>IGFBP3</i>	0,28	0,10	0,04	0,02	-	-
<i>INSR</i>	97,3	60,9	24,8	0,33	-	-
<i>PPARγ</i>	0,04	0,11	0,02	0,04	-	-
<i>SREBP1</i>	42,6	48,3	15,7	0,81	-	-

¹GHR=receptor hormona de crecimiento, IGF1 = factor similar a la insulina-1, IGFBP3 = proteína de unión de la IGF-3, INSR =receptor de insulina, PPAR γ =receptor activador de la proliferación de peroxisomas- γ , SRBP1 = proteína de unión al elemento regulador de los esteroides-1.

sugiriendo un mejor estatus metabólico y mayor potencial de crecimiento en los terneros hijos de madres suplementadas durante el último mes de gestación (Kamiya *et al.*, 2009; Nkrumah *et al.*, 2007).

* La concentración de glucosa, insulina, e IGF-I disminuyeron con la edad del ternero durante la fase posnatal predestete para los dos tratamientos, en acuerdo con la disminución en la producción de leche y la disminución del forraje del campo nativo durante el verano (Scarsi, 2012).

* La expresión hepática de ARNm de *GHR*, *IGF1* e *INSR* no difirió entre tratamientos pero el de ARNm de

IGFBP3 fue mayor en SUP que CON (Cuadro 1). Estos resultados estarían de acuerdo con los mayores niveles de IGF-I ya que el 70% de esta hormona se transporta en sangre unido a la IGFBP3 que se sintetiza en el hígado, aumentando su vida media (Jones y Clemmons, 1995)

* La expresión de ARNm de *GHR*, *IGF1*, *INSR* en el músculo *Semitendinoso* de terneros al destete no difirió entre tratamientos pero, en contraste con la expresión hepática el ARNm de *IGFBP3* en músculo fue menor en SUP que CON. La menor expresión de *IGFBP3* local a nivel del músculo podría reflejar un mayor

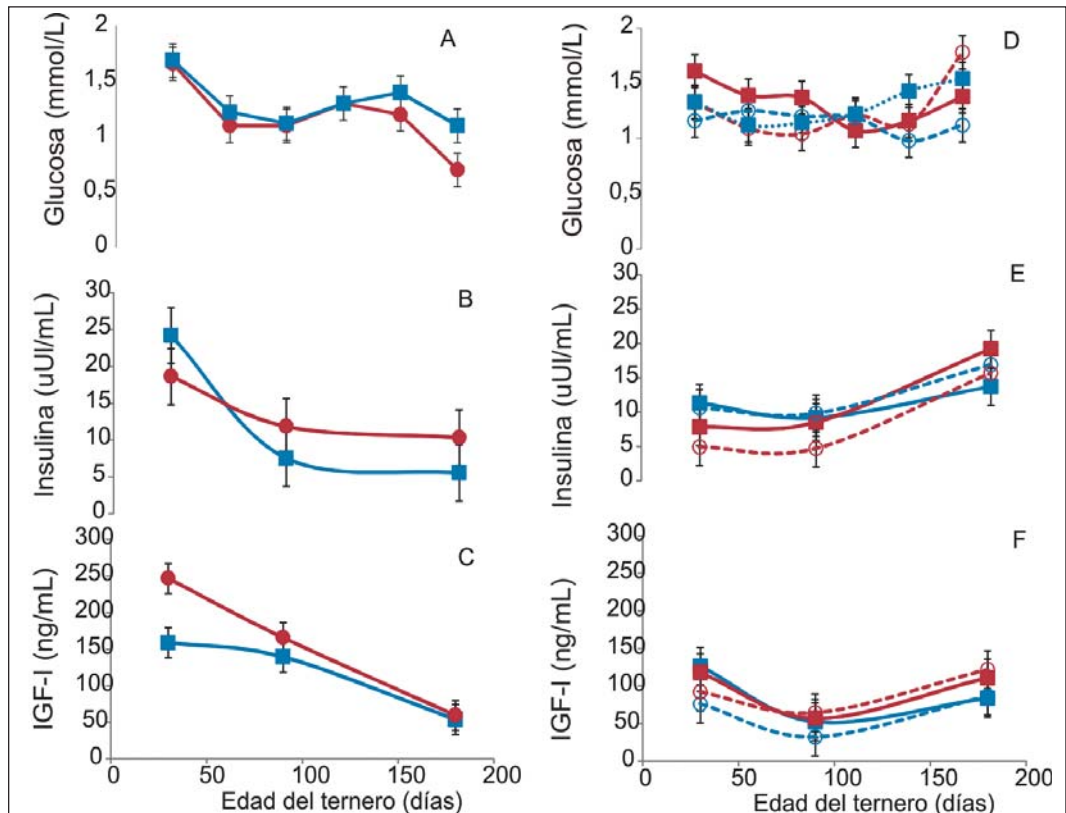


Figura 2. Concentraciones de glucosa (A,D), insulina (B,E) e IGF-I (C,F) durante los primeros seis meses de vida en terneros machos hijos de vacas multiparas (A, B y C) machos (línea punteada) y hembras de vacas (línea entera) primíparas suplementadas (línea roja) o no (línea azul) durante el último mes de gestación.

potencial de crecimiento de la fibra muscular ya que esta proteína de unión ha sido asociada a efectos inhibitorios de la acción local de la IGF-I (Jones y Clemmons 1995, Sadkowski *et al.*, 2009).

- * La expresión de ARNm de *PPAR α* en músculo fue mayor en SUP que CON (Cuadro 1) lo cual indicaría un mayor potencial de adipogénesis intramuscular en los terneros SUP, al ser este factor un buen indicador de la hiperplasia de adipocitos (Rosen *et al.*, 2002).
- * Sin embargo, la expresión de ARNm de *SREBP1* no se diferenció entre tratamientos. La *SREBP1* estimula la adipogénesis es mediante la estimulación de la hipertrofia mas tarde en la vida del animal (Du *et al.*, 2009).
- * En conjunto, los resultados de este experimento indicarían un mayor potencial de crecimiento y adipogéne-

sis muscular en terneros machos SUP que CON.

Experimento 2b. Primíparas

- * La suplementación corta parto no afectó el PV al nacer, al destete y la ganancia diaria promedio de los terneros (Cuadro 2).
- * Las concentraciones de proteína total y albúmina fueron mayores en terneros SUP que CON, siendo las concentraciones de glucosa mayores en terneros hembras SUP durante los primeros 3 meses de edad y en machos SUP al destete que en los otros tres grupos (Cuadro 2, Figura 2D).
- * Las concentraciones de de insulina fueron disminuidas por la suplementación en machos pero no hembras y estas diferencias fueron mas evidentes durante los primeros 3 me-

Cuadro 2. Efecto de la suplementación durante el último mes de gestación sobre el peso vivo, las concentraciones de metabolitos y hormonas y la expresión génica en hígado y en el músculo *Semitendinoso* en terneros machos y hembras

	TRATAMIENTO (T)				SE	Valor P ¹				
	CON		SUP			T	S	TxS	E	TxSxE
	Macho	Hembra	Macho	Hembra						
Peso del ternero										
Peso al nacer (kg)	35,6	37,0	36,4	37,2	2,6	0,77	0,75	0,86	-	-
Peso al destete (kg)	158,0	165,8	140,5	152,4	10	0,15	0,34	0,84	-	-
Ganancia diaria (kg/d)	0,68	0,67	0,64	0,58	0,05	0,21	0,52	0,55	-	-
Metabolitos										
Proteína total (g/L)	67,0ab	65,0b	70,5ab	72,4a	3,5	0,05	0,97	0,42	0,42	0,83
Allbúmina (g/L)	35,0b	34,6b	35,0b	42,2a	1,5	0,07	0,13	0,06	0,21	0,28
Glucosa (mmol/L)	1,15	1,30	1,26	1,30	0,08	0,30	0,16	0,56	0,12	0,06
Hormonas										
Insulina (ug/L)	12,5	11,4	8,4	11,9	1,1	0,13	0,29	0,05	<0,01	0,82
IGF-I (ug/L)	65,0	87,4	92,7	95,2	20,2	0,41	0,54	0,63	<0,01	0,95
Expresión génica en hígado²										
<i>GHR</i>	0,60	1,20	1,05	1,23	0,20	0,26	0,08	0,34	-	-
<i>IGF1</i>	0,37b	0,90a	0,66ab	0,67ab	0,12	0,84	0,04	0,05	-	-
<i>IGFBP3</i>	1,01	1,41	1,42	1,10	0,17	0,74	0,84	0,06	-	-
<i>INSR</i>	5,5	5,7	8,0	7,4	1,4	0,06	0,84	0,70	-	-
Expresión génica en músculo²										
<i>GHR</i>	0,19	0,14	0,20	0,12	0,03	0,93	0,11	0,69	-	-
<i>IGF1</i>	2,03	1,73	2,63	2,23	0,52	0,31	0,52	0,92	-	-
<i>IGFBP3</i>	1,13	1,07	0,83	0,63	0,30	0,24	0,68	0,81	-	-
<i>INSR</i>	0,05	0,03	0,10	0,02	0,01	0,13	0,01	0,07	-	-
<i>PPARα</i>	13,29	11,48	32,59	9,75	4,66	0,09	0,02	0,05	-	-
<i>SREBP1</i>	0,001	0,003	0,002	0,001	0,0005	0,62	0,95	0,02	-	-

¹S=sexo, E=edad. Las interacciones TxE y SxE fueron no significativas (P>0.10) para todas las variables.

²GHR=receptor hormona de crecimiento, IGF1 = factor similar a la insulina-1, IGFBP3 = proteína de unión de la IGF-3, INSR =receptor de insulina, PPAR γ =receptor activador de la proliferación de peroxisomas- γ , SRBP1= proteína de unión al elemento regulador de los esteroides-1

ses edad (Cuadro 2, Figura 2E). Sin embargo las concentraciones de IGF-I no fueron afectadas por los tratamientos (Cuadro 2, Figura 2F).

- * Las concentraciones de insulina aumentaron al destete (Figura 2E) mientras que las concentraciones de IGF-I en sangre leche de las madres. y disminuyeron desde los 30 a los 90 días, volviendo a aumentar hacia el destete (Figura 2F). Los patrones temporales de insulina e IGF-I denotan la baja producción de

leche inicial de las vaca primíparas paridas al inicio de la primavera y el incremento del consumo de forraje por parte del ternero con el avance de la edad (1989) y al aumentar la producción de forraje en otoño (Berreta *et al.*, 2000).

- * La expresión hepática de ARNm de *GHR* tendió a ser mayor en hembras que machos pero esta diferencia fue mas evidente en CON que SUP (Cuadro 2). De manera similar, la expresión de *IGF1* e *IGFBP3* fueron afectadas

tadas por la interacción entre el tratamiento y el sexo del ternero ya que fue mayor en hembras que machos CON, no difiriendo entre los terneros SUP (Cuadro 2). Sin embargo, estas diferencias en expresión génica debido a la interacción entre el tratamiento nutricional y el sexo, no se tradujeron en concentraciones diferenciales de IGF-I en sangre.

- * La expresión de ARNm de *INSR* en hígado fue mayor en SUP que CON (Cuadro 2), sugiriendo una mayor sensibilidad a la insulina en este tejido.
- * La expresión de ARNm de *GHR*, *IGF1* e *IGFBP3* en el músculo *Semitendinoso* de los terneros al destete no fue afectada por la suplementación preparto (Cuadro 2).
- * La expresión de ARNm de *INSR* y *PPARγ* en músculo fue mayor en machos que hembras, siendo esta diferencia mayor en terneros SUP que CON, indicando un posible mayor sensibilidad a la insulina y por lo tanto mayor estimulación de la síntesis de proteínas y lípidos (Coffee, 1998) así como un mayor potencial de adipogénesis intramuscular en los terneros SUP, al ser *PPARγ* un buen indicador de la hiperplasia de adipocitos (Rosen *et al.*, 2002).
- * Sin embargo, la expresión de ARNm de *SRPBP1* fue mayor en hembras CON que machos CON y hembras SUP (Cuadro 2), posiblemente indicando una tendencia a una hipertrofia de los adipocitos antes en la vida en estos animales (Du *et al.*, 2009)
- * Estos resultados sugieren un efecto diferencial de la suplementación preparto en terneros machos que hembras, de acuerdo a los efectos dependiente del sexo en la programación del desarrollo (Gilbert y Nijland, 2008; Tobi *et al.*, 2009), e indican un mayor potencial de crecimiento y adipogénesis muscular en terneros machos hijos de vacas primíparas SUP que CON.

CONCLUSIÓN

El efecto de la suplementación un mes preparto presentó un efecto diferencial en los terneros/as si la vaca es vaquillona (primer parto) o adulta (vacas multíparas), sugiriendo una mejora en el potencial de crecimiento y adipogénesis muscular en terneros machos.

BIBLIOGRAFÍA

- ALENCAR, M.M.** 1989. Relacao entre producao de leite da vaca e desempenho do bezerro das racas Canchim e Nelore. *Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia* 18, 146-156.
- BERRETTA, E.; RISSO, D.; MONTOSSI, F.; FIGURINA, G.** 2000: Campos in Uruguay. In: Lemaire, G.; Hodgson, J.; de Moraes, A.; Nabinger, C.; Carvalho, F. (Editores). *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*. CAB International. pp. 377-394.
- COFFEE, C. J.** 1998. *Metabolism*. Madison, France Creek. Cap. 13, 187-199.
- CATON, J. S.; HESS, B. W.** 2010. Maternal plane of nutrition and impact on the offspring. In: Hess, B. W.; Delcurto, T.; Bowman, J. G. P. eds. *Impacts on fetal outcomes and postnatal offspring responses*. Champaign, IL, American Society of Anim. Sci. pp. 134-148.
- DU, M.; TONG, J.; ZHAO, J.; UNDERWOOD, K. R.; ZHU, M.; FORD, S. P.; NATHANIELSZ, P. W.** 2009. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J. Anim. Sci.* 88: 32.
- FUNSTON, R. N.; MARTIN, J. L.; ADAMS, D. C.; Larson, D. M.** 2010. Winter grazing system and supplementation of beef cows during late gestation influence heifer progeny. *J. Anim. Sci.* 88: 4094-4101.
- GILBERT, J.S.; NIJLAND, M.J.** 2008. Sex differences in the developmental origins of hypertension and cardiorenal disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295, R1941-R1952.
- JONES, J. I.; CLEMMONS, D. R.** 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrine Reviews*. 16: 3-34.

- HAWKE, T. J.; GARRY, D. J.** 2001. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J. Appl. Physiol.* 91: 534–551.
- HOVENIER, R. E.; KANIS, E.; VAN ASSELDONK, T.; WESTERINK, N. G.** 1993. Breeding for pig meat quality in halothane negative populations a review. *Pig News and Info.* 14: 17–25.
- KAMIYA, M.; MATSUZAKI, M.; ORITO, H.; KAMIYA, Y.; NAKAMURA, Y.N.; TSUNEISHI, E.** 2009. Effects of feeding level of milk replacer on body growth, plasma metabolite and insulin concentrations, and visceral organ growth of suckling calves. *J. Anim. Sci.* 80:662-668.
- NATIONALRESEARCHCOUNCILNRC.** 2000. Nutrient requirements of Beef Cattle. 7ma edición. Ed. National Academy Press. Washington D. C., USA
- NKRUMAH, J. D.; SHERMAN, E. L.; LI, C.; MARQUES, E.; CREWS, D. H.; BARTUSIAK, R. Jr.; MURDOCH, B.; WANG, Z.; BASARAB, J. A.; MOORE, S. S.** 2007. Primary X genome scan to identify putative quantitative trait loci for feedlot growth rate, feed intake, and feed efficiency of beef cattle. *Journal of Animal Science* 85, 3170–3181.
- ORCASBERRO, R.** 1991. Estado corporal, control del amamantamiento y performance reproductiva de rodeos de cría. In: Carámbula, M.; Vaz Martins, D.; Indarte, E. eds. *Pasturas y producción animal en áreas de ganadería extensiva*. Montevideo, INIA. pp. 158-169 (Serie Técnica no. 13).
- ROSEN, E. D.; HSU, C. H.; WANG, X.; SAKAI, S.; FREEMAN, M. W.; GONZALEZ, F. J.; SPIEGELMAN, B. M.** 2002. C/EBP α induces adipogenesis through PPAR α : A unified pathway. *Genes Dev.* 16: 22-26.
- SADKOWSKI, T.; JANK, M.; ZWIERZCHOWSKI, L.; OPRZADEK, J.; MOTYL, J.** 2009. Comparison of skeletal muscle transcriptional profiles in dairy and beef breeds bulls. *J. Appl. Genet.* 50: 109-123.
- SCARSI, A.** 2012. Efecto de una suplementación corta preparto en variables metabólicas, productivas y reproductivas en vacas multíparas y primíparas para carne. Tesis MSc. Facultad de Agronomía. UdelaR.
- VERBEKE, W.; VAN OECKEL, M. J.; WARNANTS, N.; VIAENE, J.; BOUCQUE, C. V.** 1999. Consumer perceptions, facts and possibilities to improve acceptability of health and sensory characteristics of pork. *Meat Science.* 53: 77–99.
- TOBI E.W.; LUMEY, L.H.; TALENS, R.P.; KREMER, D.; PUTTER, H.; STEIN, A.D.; SLAGBOOM, P. E.; HEIJMANS, B. T.** 2009. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum. Mol. Genet.* 18(21): 4046-4053

Impreso en Editorial Hemisferio Sur S.R.L.
Buenos Aires 335
Montevideo - Uruguay

Depósito Legal 362-420/13