

Metabolic and reproductive state of Holstein cattle in the Carchi region, Ecuador

Estado metabólico y reproductivo del ganado Holstein en la región del Carchi, Ecuador

L. R. Balarezo¹, J. R. García-Díaz², M. A. Hernández-Barreto², and R. García López³

¹Escuela de Desarrollo Integral Agropecuario, Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales, Universidad Politécnica del Carchi. Calle Antisana y Av. Universitaria Tulcán, Carchi, Ecuador

²Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu", Las Villas. Carretera a Camajuani km 5 ½. Santa Clara. CP 54830, Villa Clara, Cuba

³Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Email: luis.balarezo@upec.edu.ec

In order to evaluate the metabolic and reproductive state of dairy Holstein herds and the main factors affecting their reproductive indicators in Carchi province, Ecuador, a total 150 cows were selected. The main biochemical variables of 73 animals in the rainy season and 77 in the dry season were studied, the main indicators of reproductive efficiency and their relation with the metabolic state were also studied. Factors affecting reproductive indicators were determined by means of a multifactorial analysis of variance, using the Bonferroni test to compare the means. In the rainy and dry season, increases in beta-hydroxybutyrate were diagnosed in 68.4 % and 71% of the samples in relation to critical limits and blood urea nitrogen in 30 % and 33 % of them, poor body condition in 56 % and 61% of the animals and low concentrations of albumin in 30 and 33 % and phosphorus in 63 and 64.3% of the samples in each period of the year. The 70% of the animals showed calcium deficiency in the dry season. Cows had in very bad condition the reproductive indicators and body condition influenced ($P < 0.001$) at conception calving and intrapartum intervals and gestational services, as well as ($P < 0.01$) at first-service calving and interestril intervals. The state of beta-hydroxybutyrate ($P < 0.01$) and the three-month period in which the artificial insemination ($P < 0.05$) was performed were also influenced on these reproductive parameters. It is concluded that in the studied herds are deficiencies of energy, protein and phosphorus with poor reproductive performance, in which beta-hydroxybutyrate, body condition and the trimester of the year in which artificial insemination is performed are significantly influenced.

Key words: *deficiencias, dairy Holstein, body condition, metabolic profile, reproductive indicators, bovines.*

The low reproductive efficiency negatively affects profitability (Hess *et al.* 2005, Flamenbaum and Galon 2010) and is attributed to inadequate reproductive management practices, environmental factors, genotype and reproductive diseases, although the most important are the nutritional factors that cause disorder at the level of the hypothalamic-hypophysis -ovary axis, which cause anestrus or an-ovulatory cycles due to a failure in the synthesis or gonadotropins release, causing an ovarian hypo-function (Montaño and Ruiz 2005, Macrae *et al.* 2006, Llewellyn *et al.* 2007).

In Carchi province, Ecuador, the specialized

Para evaluar el estado metabólico y reproductivo de rebaños Holstein lecheros y los factores principales que inciden en sus indicadores reproductivos en la provincia del Carchi, Ecuador se seleccionaron 150 vacas. Se estudiaron las principales variables bioquímicas de 73 animales en el período lluvioso y 77 en el poco lluvioso, los principales indicadores de eficiencia reproductiva y su relación con el estado metabólico. Se determinaron los factores que inciden en los indicadores reproductivos mediante un análisis de varianza multifactorial, con la aplicación de la prueba de Bonferroni para comparar las medias. En el período lluvioso y poco lluvioso, se diagnosticaron aumentos del betahidroxibutirato en 68.4 y 71 % de las muestras en relación con los límites críticos y del nitrógeno ureico en sangre en 30 y 33 % de ellas, mala condición corporal en 56 y 61 % de los animales y bajas concentraciones de albúmina en 30 y 33 % y de fósforo en 63 y 64.3% de las muestras en cada período del año. El 70 % de los animales mostró deficiencia de calcio en la época poco lluviosa. Las vacas tenían deteriorados los indicadores reproductivos y la condición corporal influyó ($P < 0.001$) en los intervalos parto concepción e interpartal y los servicios por gestación, así como ($P < 0.01$) en los intervalos parto primer servicio e interestril. También influyeron en esos parámetros reproductivos el estado del betahidroxibutirato ($P < 0.01$) y el trimestre en que se efectuó la inseminación artificial ($P < 0.05$). Se concluye que en los rebaños estudiados existen deficiencias de energía, proteínas y fósforo con pobre comportamiento reproductivo, en el que influyen significativamente el betahidroxibutirato, la condición corporal y el trimestre del año en que se realiza la inseminación artificial.

Palabras clave: *deficiencias, Holstein lechero, condición corporal, perfil metabólico, indicadores reproductivos, bovinos.*

La baja eficiencia reproductiva afecta negativamente la rentabilidad (Hess *et al.* 2005, Flamenbaum y Galon 2010) y se atribuye a prácticas inadecuadas de manejo reproductivo, factores ambientales, genotipo y enfermedades reproductivas, aunque los más importantes son los factores nutricionales que provocan trastornos a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, que causan anestro o ciclos anovulatorios por un fallo en la síntesis o liberación de gonadotropinas, lo que causa una hipofunción ovárica (Montaño y Ruiz 2005, Macrae *et al.* 2006, Llewellyn *et al.* 2007).

En la provincia del Carchi, Ecuador, los rebaños

dairy herds have production levels of 15-18 L/cow⁻¹ d⁻¹ (Balarezo *et al.* 2015), which together with the edaphic component and food base can favor the appearance of metabolic alterations associated with protein and energy nutrition. However, there are no scientific publications on the nutritional and metabolic state of these herds.

Metabolic state studies are a useful tool because they express, directly or indirectly, the level of each circulating metabolite in blood, plasma or serum, which allows characterizing the metabolic pathways, intake, egress or biotransformation of the ingredients of the intake ration by the animals (Villa *et al.* 1999, Álvarez 2001, Ceballos *et al.* 2002).

In a dairy farm from Carchi province, calving first service intervals (CFSI), calving conception (CCI) and intrapartum (IPI) were 110, 167 and 434 d respectively, with 1.64 inseminations to achieve gestation (Revelo 2013) and for the province in general. The Holstein Friesian Association from Ecuador (HFAE) reports 187 and 470 d for the CCI and IPI respectively, with 2.14 services per gestation (S/G), which are equivalent to percentages of gestations at the first service and birthrate of 46.72 and 77.7%, respectively.

The above results show that the postpartum anestrus (PPA), the repetition of service or both reproductive problems coexist in the territory, although the data are imprecise and questionable. In Revelo (2013) studies, the indicators are estimated from 20 cows, a small and unrepresentative sample of bovine cattle from this scenario. The data provided by the HFAE are absolute values, which is unknown how they were determined.

The objective of this study is to evaluate the metabolic and reproductive state of dairy Holstein herds and the main factors that influence on their reproductive indicators in Carchi province, in the Andean region of Ecuador.

Materials and Methods

The study was carried out in three dairy herds from Tufiño parish, Tulcan canton, Carchi province, Ecuador, representative of the region livestock. This region is located between the 1° 12 and 43 "NL and the 78 °, 33, 12" 02 WL, to 2990 and 3450 m o.s.l. The sum of annual precipitations in the territory is 1000 mm; the rainy season is September-January and the dry season February-August. The average temperature is 12 °C, with minimums and maximums of 2 and 15 °C, respectively. In the farms irrigation of grasses is applied from natural sources (rivers) and fertilization with doses of 200-300 kg of N²/ha⁻¹/year⁻¹.

The three farms use a time-restricted rotational grazing system with an electric fence, with a global stocking rate of 2.5 ha⁻¹ animals grazing 24h a day the artificial grasses Kingston (*Lolium perenne* var.), One

lecheros especializados tienen niveles productivos de 15-18 L/vaca⁻¹ d⁻¹ (Balarezo *et al.* 2015), lo que unido al componente edáfico y base alimentaria pueden favorecer la aparición de alteraciones metabólicas asociadas a la nutrición proteico y energética. Sin embargo, no existen publicaciones científicas acerca del estado nutricional y metabólico de estos rebaños.

Los estudios del estado metabólico constituyen una herramienta útil porque expresan, directa o indirectamente, el nivel de cada metabolito circulante en sangre, plasma o suero, que permite caracterizar las vías metabólicas, ingreso, egreso o biotransformación de los ingredientes de la ración consumida por los animales (Villa *et al.* 1999, Álvarez 2001, Ceballos *et al.* 2002).

En una hacienda lechera de la provincia del Carchi, los intervalos parto primer servicio (IPPS), parto concepción (IPC) e interpartal (IPP) fueron de 110, 167 y 434 d respectivamente, con 1.64 inseminaciones para lograr una gestación (Revelo 2013) y para la provincia en general. La Asociación Holstein Friesian del Ecuador (AHFE) informa 187 y 470 d para el IPC e IPP respectivamente, con 2.14 servicios por gestación (S/G), que equivalen a porcentajes de gestaciones al primer servicio y natalidad de 46.72 y 77.7 %, respetivamente.

Los resultados anteriores indican que en el territorio coexisten el anestro posparto (APP), la repetición de servicio o ambos problemas reproductivos, aunque los datos son imprecisos y cuestionables. En el estudio de Revelo (2013), los indicadores se estiman a partir de 20 vacas, una muestra pequeña y poco representativa de la ganadería bovina de este escenario. Los datos aportados por la AHFE son valores absolutos, que se desconoce cómo fueron determinados.

El objetivo de este estudio es evaluar el estado metabólico y reproductivo de los rebaños Holstein lecheros y los factores principales que influyen en sus indicadores reproductivos en la provincia del Carchi, en la región andina del Ecuador.

Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en tres rebaños lecheros de la parroquia de Tufiño, cantón Tulcán, Provincia del Carchi, Ecuador, representativos de la ganadería de la región. Esta región se halla ubicada entre los 1° 12 y 43" LN y los 78 °, 33, 12" 02 LW, a 2990 y 3450 msnm.

La suma de precipitaciones anuales en el territorio es 1000 mm; el periodo lluvioso es septiembre-enero y el poco lluvioso febrero-agosto. La temperatura promedio es 12 °C, con mínimas y máximas de 2 y 15 °C, respectivamente. En las fincas se aplica el riego de los pastos a partir de fuentes naturales (ríos) y la fertilización con dosis de 200-300 kg de N²/ha⁻¹/año⁻¹.

Las tres fincas utilizan un sistema de pastoreo rotacional restringido en el tiempo mediante cerca eléctrica, con carga global de 2.5 animales ha⁻¹, que pastorean las 24 h diarias los pastos artificiales Kingston (*Lolium perenne* var.), One fifty (*Lolium perenne* var.),

fifty (*Lolium perenne* var.), Banquete (*Lolium perenne* var.), Bluegrass (*Dactylus glomerata*), white clover (*Trifolium repens*) and naturalized, Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) and Holco (*Holcus lannatus*).

In the farms under study, it is not supplemented with concentrate and the mineral supplement is supplied to guarantee availability between 100 and 150 g/animal/ d. The supplement has a Ca: P ratio of 2.25: 1, ideal for dairy cows (McDowell and Arthington 2005). Cows were manually milked twice a day. The first milking took place between 4 and 6 a.m. and the second, between 3 and 4 p.m. The artificial rearing of the calf is applied from the third day of birth.

The detection of heat was performed from 5-9 a.m. and from 3-7 p.m. by a trained man, as well as the use of auxiliary methods, such as painting at the base of the cow's tail. The insemination was carried out using the deep cervical method by an experienced technician, with technical efficiency between 60 and 65 % in the last four years and the use of frozen semen in straws of proven fertility bulls.

Considering the nutritional requirements of dairy cows (NRC 2001), in the herds are covered the needs of crude protein, P, Mg and Mn in the rainy and dry periods, but not those of metabolizable energy, Ca, Cu and Zn (Balarezo 2015, unpublished data). Of the three farms, 150 crossbred dairy Holstein cows were selected between second to fourth lactation, with average milk production between 15.37 and 15.388 L cow¹day⁻¹ and body condition (BC) at calving between 2.5 and 4 in the five points scale. The animals selection was performed according to the methodology described by Álvarez (2001).

In the rainy season (RS), 73 animals (29, 22 and 22 from farms 1, 2 and 3, respectively) were researched and 77 animals in the dry season (DS) (36, 17 and 24 from farms 1, 2 and 3, respectively). The main variables of the metabolic state were studied (table 1).

The blood was extracted by coccygeal venipuncture and deposited in IDEXX VetTube™ tubes (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA), previously sterilized and demineralized.

For the hematological analyzes, 5 mL were deposited with EDTA (1 mg / mL blood) and for biochemical indicators 10 mL, without anticoagulant. It was centrifuged at 3500 g for 15 minutes and the blood serum was obtained, which was frozen at -10 °C until

banquete (*Lolium perenne* var.), pasto azul (*Dactylus glomerata*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y naturalizados, kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y holco (*Holcus lannatus*).

En las fincas en estudio no se suplementa con concentrado y se suministra el suplemento mineral para garantizar disponibilidad entre 100 a 150 g/animal/d. El suplemento tiene una relación Ca:P de 2.25:1, ideal para vacas lecheras (McDowell y Arthington 2005). Las vacas se ordeñaban manualmente dos veces al día. El primer ordeño tenía lugar entre las 4 y 6 a.m. y el segundo, entre las 3 y 4 p.m. Se aplica la crianza artificial del ternero a partir del tercer día de nacido.

La detección del celo se realizó de 5-9 a.m. y de 3-7 p.m. por un hombre entrenado, así como la utilización de métodos auxiliares, como la pintura en la base de la cola de las vacas. La inseminación se efectuó aplicando el método cervical profundo por un técnico experimentado, con eficiencia técnica entre 60 y 65 % en los últimos cuatro años y el uso de semen congelado en pajuelas de toros de fertilidad probada.

Considerando los requerimientos nutricionales de las vacas lecheras (NRC 2001), en los rebaños se cubren las necesidades de proteína cruda, P, Mg y Mn en los períodos lluvioso y poco lluvioso, pero no los de energía metabolizable, Ca, Cu y Zn (Balarezo 2015, datos no publicados). De las tres fincas, se seleccionaron 150 vacas mestizas de Holstein lechero, entre segunda y cuarta lactancia, con producción láctea promedio entre 15.37 y 15.388 L vaca⁻¹ día⁻¹ y condición corporal (CC) al parto entre 2.5 y 4 en la escala de cinco puntos. La selección de los animales se realizó según la metodología descrita por Álvarez (2001).

En el período lluvioso (PLL), se investigaron 73 animales (29, 22 y 22 de las fincas 1, 2 y 3 respectivamente) y 77 en el poco lluvioso (PPLL) (36, 17 y 24 de las fincas 1, 2 y 3, respectivamente). Se estudiaron las principales variables del estado metabólico (tabla 1).

La sangre se extrajo por venopunción cocéiga y se depositó en tubos IDEXX VetTube™ (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA), previamente esterilizados y desmineralizados. Para los análisis hematológicos, se depositaron 5 mL con EDTA (1 mg/ml de sangre) y para los indicadores bioquímicos 10 ml, sin anticoagulante. Se centrifugó a 3500 g durante 15 minutos y se obtuvo el suero sanguíneo, que se

Table 1. Indicators of the general metabolic profile researched in bovine females

Profile	Variables
Mineral	Ca, Mg, P, Cu, Zn.
Hematological	Hematocrit (Hto), hemoglobin (Hb), total erythrocyte count(TEC).
Hemochymic	Total proteins (TP), albumin (Alb), globulins (Glob), blood urea nitrogen (BUN), glucose, cholesterol, triglycerides, Betahidroxybutyrate (BOH)
Hepatic	Alanine amino transferase (ALAT), aspartate amino transferase (ASAT), alcaline phosphatase (ALP)

their analysis.

The hematological indicators were determined on an IDEXX VetAutoread™ (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA) and biochemicals on an IDEXX VetTest® (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA) high-tech dry dish biochemical analyzer according to the manufacturer's procedures and the use of commercial kits. The minerals were determined by atomic absorption spectroscopy on a SP-9 spectrophotometer from PYE UNICAM. All analyzes were carried out in the veterinary diagnostic laboratory of "Carlos Martínez Hoyos" Veterinary Clinic from Nariño University, Colombia.

The relation between the metabolic state of the animals and the reproductive performance was evaluated, for which the intervals calving first service of insemination (CFS), calving conception (CC), calving-calving (CC), birth rate (BR), percentage of gestations at first service, services per conception (S/C) and interestrual intervals (IEI) were determined from the individual records, according to the methodologies described by González (2001) and Soto (2001). Body condition (BC) was diagnosed by clinical examination and classified on the five-point scale (Parker 1989).

The descriptive statistics of each metabolic or reproductive variable were obtained. The main factors affecting reproductive indicators were determined using multifactorial analysis of variance (multifactorial ANOVA), using as explanatory factors the classification of BOH and BUN, body condition, farm and trimesters of calving and Artificial Insemination (AI) and as dependent variables to CFSI, CCI, IPI, S/C and IEI. The Bonferroni test was used to compare the means. The statistical package Statgraphis Centurion Ver. XV.II (StatPoint Technologies 2010) was used in all processing.

Results and Discussion

The alanine amino transferase (ALAT), aspartate amino transferase (ASAT) and alkaline phosphatase (ALP) (Table 2) are among the physiological parameters for the species (Kaneko *et al.* 1997), and are similar to that reported for some bovine breeds belonging to *B. taurus* species under tropical conditions (Villa *et al.* 1999, Campos *et al.* 2007). The ALAT was high in 38% of the animals, which may be due to hepatic *Fasciola* infestation or to a liver damage caused by the crude protein excess in the diet intake by the animals (Fajardo 2009).

There were slight deficiencies of albumin, hemoglobin, hematocrit and poor body condition, with variable percentages of samples with deficient values. Increases in BUN and BOH were found (table 2), which show alterations related to protein and energy nutrition. The nitrogen and energy compounds act in the Central Nervous System (CNS), their deficiencies

congeló a -10 °C hasta su análisis.

Los indicadores hematológicos se determinaron en un equipo IDEXX VetAutoread™ (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA) y los bioquímicos en un analizador bioquímico de alta tecnología de placa seca IDEXX VetTest® (IDEXX LABORATORIES VetLab® USA), según los procedimientos de fabricante y la utilización de kits comerciales. Los minerales se determinaron por espectroscopia de absorción atómica en un espectrofotómetro SP-9 de la firma PYE UNICAM. Todos los análisis se realizaron en el laboratorio de diagnóstico veterinario de la Clínica Veterinaria "Carlos Martínez Hoyos" de Universidad de Nariño, Colombia.

Se evaluó la relación del estado metabólico de los animales con el comportamiento reproductivo, para lo que se determinaron los intervalos parto primer servicio de inseminación (IPPS), parto concepción (IPC), parto-parto (IPP), índice de natalidad (IN), porcentaje de gestaciones al primer servicio, servicios por gestación (S/G) e intervalos interestruales (IIE) a partir de los registros individuales, según las metodologías descritas por González (2001) y Soto (2001). La condición corporal (C.C) se diagnosticó por inspección clínica y se clasificó en la escala de cinco puntos (Parker 1989).

Se obtuvieron los estadígrafos descriptivos de cada variable metabólica o reproductiva. Se determinaron los factores principales que incidían en los indicadores reproductivos mediante análisis de varianza multifactorial (ANOVA multifactorial), utilizando como factores explicativos a la clasificación del BOH y el BUN, la condición corporal, la finca y los trimestres de parto e Inseminación Artificial (IA) y como variables dependientes al IPPS, IPC, IPP, S/G e IEE. Para comparar las medias se utilizó la prueba de Bonferroni. En todos los procesamientos se utilizó el paquete estadístico Statgraphis Centurion Ver. XV.II (StatPoint Technologies 2010).

Resultados y Discusión

La alanino amino transferasa (ALAT), aspartato amino transferasa (ASAT) y fosfatasa alcalina (FA) (tabla 2) se encuentran entre los parámetros fisiológicos para la especie (Kaneko *et al.* 1997), y son similares a lo informado para algunas razas bovinas pertenecientes a la especie *B. taurus* en condiciones tropicales (Villa *et al.* 1999, Campos *et al.* 2007). La ALAT estuvo elevada en 38% de los animales, lo que se puede deber a la infestación por *Fasciola* hepática o a un daño hepático producido por el exceso de proteína cruda en la dieta que consumían los animales (Fajardo 2009).

Se diagnosticaron ligeras deficiencias de albúmina, hemoglobina, hematocrito y pobre condición corporal, con variables porcentajes de muestras con valores deficientes. Se encontraron aumentos del BUN y BOH (tabla 2), que denotan alteraciones relacionadas con la nutrición proteica y energética. Los compuestos nitrogenados y energéticos actúan en el Sistema

Table 2. Metabolic profile of the researched bovine females

Metabolite	CL	RS(n=73)		DS 2 (n = 77)	
		X ± SD	Abnormalities (%)	X ± SD	Abnormalities (%)
Total proteins (g/L)	62*	79.39 ± 6.14	1↓	79.72 ± 5.577	2.8↓
Albumin (g/L)	30*	19.18 ± 1.71	10.95↓	36.95 ± 6.06	18.6↓
BUN (mmol/L)	4*	3.41 ± 1.28	30 ↑	3.22 ± 1.07	33↑
Erythrocytes (10 ¹² /L)	5*	6.22 ± 0.61	8.22↓	7.05 ± 1.22	4.5↓
Hematocrit (L/L)	0.30*	0.38 ± 0.05	8.22↓	0.42 ± 0.09	28↓
Hemoglobin (g/L)	90*	126.48 ± 12.03		142.14 ± 30.61	14↓
Creatinine (mmol/L)	53*	41.07 ± 26.78	13.69 ↑	33.31 ± 8.49	5↓
Lekocytes					
6 – 12x19 L	6*	6.22 ± 0.61	39.72↓	7.46 ± 2.25	37↓
BOH (mmol/L)	<1*	0.87 ± 0.42	68.4 ↑	0.80 ± 0.36	71↑
BC (U)	3*	3.26 ± 0.65	56↓	3.23 ± 0.67	61.6↓
Cholesterol (mmol/L/)	1.6*	3.76 ± 0.92	-	3.21 ± 1.19	-
Tryglicerides (mmo/L)	7*	9.88 ± 2.14	5↓	5.93 ± 0.27	10↓
Ca (mmol/L)	2.20**	2.33 ± 0.34	-	2.08 ± 0.35	69.86↓
P (mmol/L)	1.71 **	1.58 ± 0.36	63↓	1.61 ± 0.33	64.3↓
Mg (mmol/L)	<0.75 **	1.26 ± 0.43	20↓	1.14 ± 0.43	17↓
Cu (µmol/L)	< 11.77	10.93 ± 1.14	66.67↓	11.42 ± 1.40	60↓
Zn (µmol/L)	< 12.62	11.10 ± 1.94	73.33 ↓	11.60 ± 2.63	65.71↓
ALAT (UI)	11-40***	40.00 ± 16.71	38 ↑	52.48 ± 14.58	36.1↑
ASAT (UI)	78***	27.17 ± 21.13	-	43.98 ± 17.16	-
F Alkaline (UI)	0-488***	66.02 ± 26.20	-	298.89 ± 17.67	-

RS: rainy season

DS: dry season

CL: critical limits that are suggestive of deficiencies or excesses(*Kaneko *et al.* 1997, Álvarez 2001) **McDowell and Arthington (2005). ***Campos *et al.* (2007)

↓ % of samples with concentrations lower to the critical limit

↑ % of samples with levels higher to the critical limit

suppress or diminish the amplitude and frequency of GnRH discharges from the hypothalamus and pituitary gonadotropins, thus diminishing reproductive capacity (Deiros *et al.* 2004).

More than 60 % of blood serum samples were deficient in P, Cu and Zn, and Mg (table 2). Nutrient balances for the researched herds show that the requirements of P and Mg of these macroelements are covered, suggesting that hypophosphoremia and hypomagnesemia diagnosed may be due to antagonistic relations in the absorption and assimilation of both minerals (McDowell and Arthington 2005).

In Ecuador, there are no publications on macroelements levels in blood serum of dairy cows, but P deficiency is the most frequent mineral deficiency in grazing cattle (McDowell and Arthington 2005). In Cuba, P and Mg deficiencies have been found in several researchers in the soil-plant-animal system (Fajardo 2009, Viamonte 2010, García *et al.* 2011, Noval *et al.* 2014).

The hypocupremia was diagnosed in 66.67 and

Nervioso Central (SNC), sus deficiencias suprimen o disminuyen la amplitud y frecuencia de las descargas de GnRH del hipotálamo y las gonadotropinas hipofisarias, disminuyendo así la capacidad reproductiva (Deiros *et al.* 2004).

Más del 60 % de las muestras de suero sanguíneo fueron deficientes en P, Cu y Zn, y Mg (tabla 2). Los balances de nutrientes para los rebaños investigados indican que se cubren los requerimientos de P y Mg de estos macroelementos, lo que sugiere que la hipofosforemia e hipomagnesemia diagnosticadas pueden obedecer a relaciones antagónicas en la absorción y asimilación de ambos minerales (McDowell y Arthington 2005).

En Ecuador no existen publicaciones acerca de los niveles de macroelementos en suero sanguíneo de las vacas lecheras, pero la deficiencia de P es la deficiencia mineral más frecuente en bovinos en pastoreo (McDowell y Arthington 2005). En Cuba, las deficiencias de P y Mg se han encontrado en varias investigaciones en el sistema suelo-planta-animal (Fajardo 2009, Viamonte 2010, García *et al.* 2011, Noval *et al.* 2014).

60% of the samples in the rainy and dry seasons, respectively, and the hypocinemia in 73.33 and 65.71% in the same order. The Cu and Zn deficiencies diagnosed are primary, and are due to the fact that the contents of these microelements in the grasses do not cover the requirements of the researched animals.

The CFSI, CCI and IPI (table 3) did not significantly differ between the farms and were too long, according to the reference parameters for the dairy cattle under ideal conditions of exploitation, which they consider as optimal from 60 to 70 d; 85 to 90 d and 365 to 395 d for each, according to González (2001), Soto (2001) reports, who indicated that S/C can be evaluated as bad.

La hipocupremia se diagnosticó en 66.67 y 60 % de las muestras en los períodos lluvioso y poco lluvioso, respectivamente, y la hipocinemia en 73.33 y 65.71 % por igual orden. Las deficiencias de Cu y Zn diagnosticadas son primarias, y se deben a que los contenidos de estos microelementos en los pastos no cubren los requerimientos de los animales investigados.

El IPSS, IPC e IPP (tabla 3) no difirieron significativamente entre las fincas y fueron demasiado largos, según los parámetros de referencia para el bovino lechero en condiciones ideales de explotación, que plantean como óptimos de 60 a 70 d; 85 a 90 d y 365 a 395 d para cada uno, según informes de González (2001), Soto (2001), quienes refieren que los S/G pueden ser evaluados de malos.

El intervalo parto primer servicio (IPSS) no debe

Table 3. Performance of the main reproductive indicators ($x \pm SD$) in the herds under study

Indicators	Total	Farm 1	Farm 2	Farm 3
SC (d)	3.53 \pm 1.55	3.41 \pm 1.25	3.79 \pm 1.65	3.40 \pm 1.72
IEI (d)	27.59 \pm 5.5	27.50 \pm 5.25	28.28 \pm 5.99	27.03 \pm 5.58
CFSI (d)	190.94 \pm 106.55	168.96 \pm 104.56	219.73 \pm 103.00	185.93 \pm 108.99
CCI (d)	297.16 \pm 156.17	272.03 \pm 142.63	340.48 \pm 153.24	282.25 \pm 167.55
IPI (d)	579.42 \pm 155.92	554.48 \pm 142.38	622.86 \pm 153.37	564.21 \pm 166.96
BR (%)	62.99	65.82	58.60	64.69
G 1AI (%)	28.32	29.32	26.38	29.41

SC: Services per conception

IEI: Interestrall intervall

CFSI: Calving first –service interval.

CCI: Calving conception interval or open days

IPI: Intrapartum interval

BR: Birthrate

G 1AI: Gestation to the first artificial insemination

The calving first service interval (CFSI) should not exceed the voluntary waiting period by more than 18 d (González 2001). In this study, CFSI was 45 d, but only 5.32 % of the cows showed CFSI lower than 65 d. Otherwise, in 48.9 % of cows, this indicator exceeds 150 d, showing that there is a too long period of postpartum anestrus, probably due to phosphorus deficiency, low body condition, BOH and BUN increase (table 2), associated with energy deficiencies and excess of degradable proteins in rumen or N_2 .

The CCI is too long, the average value is higher than 270 d in all herds (table 3), and in farm 2 it exceeds 340 d. Only 6.5 % of the cows had CCI lower than 90 d and in contrast, 65.2 % of them had it higher to 180 d. A CCI higher than 120 d shows absence of cyclic ovarian activity or errors in heat detection, that is to say, a pre-service anestrus of a functional or management type (González 2002). In Cuba, it was proven that between 45 and 80% of reproductive disorders of cattle raised on grazing were associated with deficiencies and food imbalances (Fajardo 2009, Viamonte 2010, García *et al.* 2011).

exceder en más de 18 d al período de espera voluntaria (González 2001). En este estudio, el IPSS fue de 45 d, pero solo 5.32 % de las vacas mostraron IPSS menores de 65 d. En cambio, en 48.9 % de las vacas este indicador supera los 150 d, lo que indica que existe un período de anestro posparto demasiado largo, probablemente por la deficiencia de fósforo, baja condición corporal, aumento del BOH y BUN (tabla 2), asociados a deficiencias de energía y exceso de proteínas degradables en rumen o N_2 .

El IPC es muy largo, el valor promedio es superior a los 270 d en todos los rebaños (tabla 3), y en la finca 2 supera los 340 d. Solamente 6.5 % de las vacas tuvieron IPC inferior a los 90 d y en contraposición, 65.2 % de ellas lo tuvo superior a los 180 d. Un IPC superior a 120 d indica ausencia de actividad ovárica cíclica o errores en la detección de los celos, es decir, un anestro pre-servicio de tipo funcional o de manejo (González 2002). En Cuba, se probó que entre 45 y 80 % de los trastornos reproductivos del ganado bovino criado en pastoreo estaban asociados a deficiencias y desbalances alimentarios (Fajardo 2009, Viamonte 2010, García *et al.* 2011).

González (2002) and Bahonar *et al.* (2009) point out that other factors may affect the CCI, such as lactation, parity, development of uterine involution, type of calving and postpartum infections. For each additional day above 120 d of CCI, are lost between 3.19 and 5.41 USD (De Vries 2006). The average values of this indicator in the 92 cows selected in this study exceed 177 d this value, and generate an additional total loss of 16 299 production days, which would represent a negative economic impact, fluctuating between 51 993.81 and 88 177.59 USD in the studied period.

The average IPI ranged between 554 and 622 d and the birthrate between 58 and 65 %. Both indicators can be classified as bad (González 2001). Only 8.7 % of the females had a IPI lower than 405 d, 44.6 % between 406 and 599 d, and, even more serious, 44.5 % of the cows above 600 d. Due to the metabolic state of cows, indicating nutritional imbalances, regardless of whether there is adequate technological discipline in reproductive management in the farms (Balarezo *et al.* 2015), the extension of CCI and IPI can be attributed to pre-service anestrus of functional type.

In the studied herds, more than 3.4 S/C are needed (table 3). When this indicator is higher than 2.5 it constitutes a severe fertility problem and is equivalent to less than 40% of pregnancies at the first insemination service (González 2001). Only 29.3 % of the cows needed 1 or 2 S/C, 70.7 % required three or four inseminations to be gestating, that is, lower than 33.3 % of gestation to the first service. The 3.6 % of the females needed more than five inseminations to achieve gestation. The results show that in the studied herds more than 70 % of the females are repetitive.

The interestrual intervals (IEI) averaged 27 d in the three herds (table 3). In 30.6 % of cows, the IEI was equal to or lower than 21 d; 10.2 % between 21 and 24 d; 4.5 % between 25 and 27 d and 11.3 % between 28 and 30 d. In 43 %, it is higher than 30 d, indicating post-service anestrus (Soto 2001) or fertilization disorders and/or late embryonic deaths, which may be due to failures in maternal recognition of gestation, due to insufficient production of bovine trophoblastic protein (bTP⁻¹) (Thatcher *et al.* 1989). The latter may be due to energy deficit in animals (Inskeep 2004, Lucy 2007) and insufficient progesterone (Raheem 2015).

Table 4 shows the influence of some factors on the main reproductive indicators evaluated. The state of the BOH, body condition and artificial insemination trimester significantly influence on the CFSI, CCI and IPI. In addition, the BOH and BC affected the S/C and BC and the trimester from AI to IEI.

Energy and protein were related to the reproductive process (Viamonte 2010). The results of this study confirmed the observations, in the sense that infertility and subfertility constitute a multifactorial phenomenon,

González (2002) y Bahonar *et al.* (2009) señalan que otros factores que pueden afectar el IPC son la lactación, la paridad, el desarrollo de la involución uterina, el tipo de parto y las infecciones pospartales. Por cada día adicional por encima de 120 d de IPC, se pierden entre 3.19 y 5.41 USD (De Vries 2006). Los valores promedio de este indicador en las 92 vacas seleccionadas en este estudio superan en 177 d ese valor, y generan una pérdida total adicional de 16 299 jornadas productivas, que representarían un impacto económico negativo, que fluctúa entre 51 993.81 y 88 177.59 USD en el período estudiado.

El IPP promedio osciló entre 554 y 622 d y la natalidad entre 58 y 65 %. Ambos indicadores se pueden catalogar como malos (González 2001). Solo 8.7 % de las hembras tuvo IPP menor de 405 d, 44.6 % entre 406 y 599 d y, más grave aún, 44.5 % de las vacas por encima de los 600 d. Por el estado metabólico de las vacas, que indica desequilibrios nutricionales, independientemente de que en las fincas exista adecuada disciplina tecnológica en el manejo reproductivo (Balarezo *et al.* 2015), se puede atribuir el alargamiento del IPC y del IPP al anestro pre-servicio de tipo funcional.

En los rebaños estudiados se necesitan más de 3.4 S/G (tabla 3). Cuando este indicador es mayor que 2.5 constituye un problema severo de fertilidad y equivale a menos del 40 % de gestaciones al primer servicio de inseminación (González 2001). Solo 29.3 % de las vacas necesitaron 1 o 2 S/G, 70.7 % requirió tres o cuatro inseminaciones para gestarse, es decir, menos de 33.3 % de gestación al primer servicio. El 3.6% de las hembras necesitó más de cinco inseminaciones para lograr la gestación. Los resultados indican que en los rebaños estudiados más de 70 % de las hembras son repetidoras.

Los intervalos interestruales (IIE) promediaron 27 d en los tres rebaños (tabla 3). En 30.6% de las vacas, el IIE fue igual o menor de 21 d; 10.2% entre 21 y 24 d; 4.5 % entre 25 y 27 d y 11.3 % entre 28 y 30 d. En 43 % es superior a 30 d, lo que indica anestro pos servicio (Soto 2001) o trastornos en la fertilización y/o muertes embrionarias tardías, que pudieran ser motivada por fallos en el reconocimiento materno de la gestación, debido a insuficiente producción de proteína trofoblástica bovina (bTP⁻¹) (Thatcher *et al.* 1989). Esto último se puede traducir en déficit energético en los animales (Inskeep 2004, Lucy 2007) e insuficiente progesterona (Raheem 2015).

En la tabla 4 se muestra la influencia de algunos factores en los principales indicadores reproductivos evaluados. El estado del BOH, la condición corporal y el trimestre de inseminación artificial influyeron significativamente en el IPPS, IPC e IPP. Además, el BOH y la CC afectaron los S/G y la CC y el trimestre de IA al IIE.

La energía y la proteína se encontraron relacionadas con el proceso reproductivo (Viamonte 2010). Los resultados de este estudio confirmaron las observaciones, en el sentido de que la infertilidad y la subfertilidad constituyen un fenómeno multifactorial, en el que la

Table 4. Results of analysis of variance in reproductive indicators (mean squares) studied in the experimental area

Source	Gl	S/C	IEI	CFSI	CCI	IPI
C. BOH	1	5.83*	10.94	59782.60**	104345.**	104391.00**
C. BUN	1	0.04	9.87	3697.33	5338.65	5112.1
CC	2	15.85***	100.68**	35985.70**	113963.00***	113184.00***
Farm	2	0.23	0.58	3168.95	4052.95	3993.43
Calving trimester	3	2.16	14.22	12074.10	28801.8	28880.20
AI trimester	3	2.33	72.07*	17132.60*	34281.50*	33782.10*
Waste	79	1.41	22.85	6091.07	12808.90	12801.5
Total (corrected)	91					

* p<0.05 ** p<0.01 *** p<0.001

in which feeding is of great influence (Pedroso *et al.* 2003).

Table 5 shows the values of the main reproductive indicators in the different studied factors. These results coincide with studies that showed that cows submitted during the prep and post calving at a low energy level had a longer post-partum anestrus than animals submitted to a high energy input (Revilla *et al.* 2001). Pérez *et al.* (2001) observed that it is not only important to achieve adequate BC at calving,

alimentación es de gran influencia (Pedroso *et al.* 2003).

En la tabla 5 se presentan los valores de los principales indicadores reproductivos en los diferentes factores estudiados. Estos resultados coinciden con trabajos que demostraron que vacas sometidas durante el parto y posparto a un nivel bajo de energía tuvieron un anestro posparto más largo que los animales sometidos a un aporte energético alto (Revilla *et al.* 2001). Pérez *et al.* (2001) observaron que no solo importa lograr adecuada CC al parto, sino que es necesario mantenerla durante

Table 5. Effect of the variation sources studied on the performance of reproductive indicators (X ± SE) of bovine females in Carchi, Ecuador

Source	S/C	IEI	CFSI	CCI	IPI
Classification of BOH. According to their concentrations					
Normal	3.43 ± 0.33 ^b	27.69 ± 1.35 ^a	197.46 ± 21.95 ^b	297.95 ± 31.83 ^b	580.20 ± 31.82 ^b
High	4.03 ± 0.33 ^a	28.53 ± 1.38 ^a	258.08 ± 22.34 ^a	378.03 ± 32.39 ^a	660.30 ± 32.89 ^a
Classification of BUN. According to their concentration					
Normal	3.70 ± 0.31 ^a	27.73 ± 1.26 ^a	220.54 ± 20.53 ^a	329.30 ± 29.77 ^a	611.74 ± 29.76 ^a
High	3.75 ± 0.35 ^a	28.49 ± 1.43 ^a	235.00 ± 23.33 ^a	346.68 ± 33.84 ^a	628.75 ± 33.83 ^a
State of body condition at calving					
2.5	4.50 ± 0.35 ^a	29.98 ± 1.42 ^a	270.79 ± 23.04 ^a	410.04 ± 33.41 ^a	692.02 ± 33.40 ^a
3	3.91 ± 0.36 ^a	28.84 ± 1.46 ^{ab}	225.20 ± 23.89 ^{ab}	342.88 ± 34.64 ^b	625.19 ± 34.63 ^b
4	2.77 ± 0.38 ^b	25.51 ± 1.58 ^b	187.32 ± 25.47 ^b	261.04 ± 36.94 ^c	543.53 ± 36.93 ^c
Farm					
1	3.66 ± 0.32 ^a	28.19 ± 1.30 ^a	214.79 ± 21.14 ^a	323.26 ± 30.65 ^a	605.63 ± 30.64 ^a
2	3.67 ± 0.37 ^a	28.22 ± 1.53 ^a	234.89 ± 24.92 ^a	345.00 ± 36.14 ^a	627.50 ± 36.13 ^a
3	3.84 ± 0.38 ^a	27.92 ± 1.54 ^a	233.64 ± 25.00 ^a	345.70 ± 36.20 ^a	627.60 ± 36.24 ^a
Calving trimester					
J-F-M	3.05 ± 0.34 ^a	26.27 ± 1.40 ^a	185.26 ± 22.36 ^a	269.14 ± 32.43 ^a	551.35 ± 32.42 ^a
A-M-J	3.36 ± 0.46 ^a	27.28 ± 1.86 ^a	185.69 ± 30.40 ^a	276.53 ± 44.09 ^a	558.65 ± 44.07 ^a
J-A-S	4.87 ± 0.37 ^a	31.38 ± 3.64 ^a	331.74 ± 59.42 ^a	494.50 ± 86.17 ^a	777.06 ± 86.15 ^a
O-N-D	3.62 ± 0.22 ^a	27.52 ± 0.93 ^a	208.39 ± 14.93 ^a	311.78 ± 21.74 ^a	593.93 ± 21.73 ^a
Insemination trimester					
E-F-M	4.05 ± 0.27 ^a	29.91 ± 1.13 ^a	240.06 ± 18.32 ^a	368.44 ± 26.56 ^{ab}	650.54 ± 26.55 ^{ab}
A-M-J	3.41 ± 0.33 ^a	26.22 ± 1.38 ^b	194.94 ± 22.34 ^b	290.21 ± 32.39 ^b	572.83 ± 32.39 ^b
J-A-S	4.00 ± 0.44 ^a	29.67 ± 2.22 ^{ab}	191.81 ± 36.04 ^b	315.12 ± 52.29 ^{ab}	597.69 ± 52.28 ^{ab}
O-N-D	3.45 ± 0.53 ^a	26.65 ± 2.55 ^{ab}	284.27 ± 41.59 ^a	378.18 ± 60.31 ^a	659.93 ± 60.29 ^a

^{abc} Different letters in the same row within each variation source differ at P < 0.05, Bonferroni.

TP 1: J-F-M January-February-March. A-M-J: April-May-June. J-A-S: July-August-September.

O-N-D: October-November-December

but it is necessary to maintain it during the first 20-30 postpartum.

The first postpartum ovulation is directly related to BC at calving and energy and protein intake (Santos *et al.* 2009). In Cuba, globulins, BUN and BC, at calving and 30 d postpartum, have a significant effect ($P < 0.01$) on the restart of postpartum ovarian activity and first luteal activity, while total proteins, cholesterol, hemoglobin, hematocrit and phosphorus had causal relations ($P < 0.05$) with them (Viamonte 2010). A BC of 3.5- 4.0 at calving allows the cow to have more energy reserves to face lactation and restart its new estral cycle, joined to a better postpartum reproductive performance (Webb *et al.* 2004, Korea *et al.* 2008, Mulligan *et al.* 2008).

The cattle have the capacity to compensate the energy deficit in the ration by mobilizing body fat (Wettemann *et al.* 2003), which leads to an increase in BOH (Roche 2007) as occurred in this research. It is possible to find a combined effect of BC on lactation days and energy balance in follicular development and, therefore, on the first postpartum ovulation (Galvis *et al.* 2007). With respect to the influence of protein on the reproduction of the bovine female, it is admitted that its low ingestion affects its reproductive performance (Ciccioli *et al.* 2003). In contrast, high protein intakes may affect reproduction in dairy cows and heifers (Butler *et al.* 1996), as well as pituitary and ovarian functions (Kane *et al.* 2004).

The lack, as excess of nitrogen inputs in feed ration, can lead to reproductive problems (Deiros *et al.* 2004). The plasma urea is related to energy balance and reproductive parameters in dairy cattle. In animals in which the BC decreased from calving to the first artificial insemination, significantly higher values of plasma urea were diagnosed than in those cows that maintained or increased their reserves (Deiros *et al.* 2004). The urea had a direct effect on the beginning of ovarian activity and the first luteal activity, at 90 d postpartum, which is related to the loss of BC (Viamonte 2010).

When there is lack of energy or when the crude protein in the diet is excessive, not all the NH_3 produced in rumen can be converted to microbial protein, when it over-passes the rumen wall and is transported to the liver, where it is converted to urea which is released into the blood (Correa and Cuéllar 2004). As plasma urea and NH_3 concentrations increase, the pH of the uterine lumen is reduced and the secretion of the endometrial glands is affected during the early luteal phase (Razz and Clavero 2004).

The excess of urea at 60 to 90 d postpartum had negative effects on the conception rate at the first service of cows and acted in synergy with milk production and lactation number in the open days to the first service (Guo *et al.* 2004). These results suggest

los primeros 20-30 d posparto.

La primera ovulación posparto está directamente relacionada con la CC al parto y el consumo de energía y proteína (Santos *et al.* 2009). En Cuba se demostró que las globulinas, BUN y CC, al parto y 30 d posparto, tenían un efecto significativo ($P < 0.01$) en el reinicio de la actividad ovárica posparto y primera actividad lútea, mientras que las proteínas totales, colesterol, hemoglobina, hematocrito y fósforo tuvieron relaciones causales ($P < 0.05$) con las mismas (Viamonte 2010). Una CC de 3.5- 4.0 al parto le permite a la vaca tener mayor cantidad de reservas energéticas para enfrentar la lactación y reiniciar su nuevo ciclo estral, unido a mejor comportamiento reproductivo posparto (Webb *et al.* 2004, Corea *et al.* 2008, Mulligan *et al.* 2008).

El ganado vacuno tiene la capacidad de compensar el déficit de energía en la ración mediante la movilización de grasa corporal (Wettemann *et al.* 2003), lo que conduce a incremento del BOH (Roche 2007) como ocurrió en esta investigación. Es posible encontrar efecto combinado de la CC en los d de lactancia y el balance de energía en el desarrollo folicular y, por ende, en la primera ovulación posparto (Galvis *et al.* 2007). Con respecto a la influencia de la proteína en la reproducción de la hembra bovina, se admite que su baja ingestión afecta su comportamiento reproductivo (Ciccioli *et al.* 2003). En cambio, altos consumos de proteína pueden afectar la reproducción en vacas y novillas lecheras (Butler *et al.* 1996), así como las funciones hipofisarias y ováricas (Kane *et al.* 2004).

La carencia, como el exceso de aportes de nitrógeno en la ración de alimento, pueden provocar problemas en la reproducción (Deiros *et al.* 2004). La urea plasmática se relaciona con el equilibrio energético y parámetros reproductivos en bovinos lecheros. En animales en que la CC disminuyó del parto a la primera inseminación artificial, se diagnosticaron valores significativamente más elevados de urea plasmática que en aquellas vacas que mantuvieron o aumentaron sus reservas (Deiros *et al.* 2004). La urea tuvo un efecto directo en el inicio de la actividad ovárica y la primera actividad lútea, a los 90 d posparto, lo que se relaciona con la pérdida de la CC (Viamonte 2010).

Cuando falta energía o cuando la proteína cruda en la dieta es excesiva, no todo el NH_3 producido en el rumen se puede convertir a proteína microbiana, cuando pasa en exceso la pared del rumen y se transporta al hígado, donde se convierte en urea que es liberada en la sangre (Correa y Cuéllar 2004). A medida que incrementan las concentraciones plasmáticas de urea y NH_3 , se reduce el pH del lumen uterino y se altera la secreción de las glándulas endometriales durante la fase lútea precoz (Razz y Clavero 2004).

Los excesos de urea a los 60 a 90 d postparto tuvieron efectos negativos en la tasa de concepción al primer servicio de las vacas y actuaron en sinergia con la producción de leche y número de la lactación en los d abiertos al primer servicio (Guo *et al.* 2004). Estos resultados sugieren que el efecto negativo de la urea en

that the negative effect of urea on reproduction may be related to the individual state of cows, which may be the cause that the BUN blood concentrations did not significantly influence on the reproductive indicators of cows, which had different lactations, lactation and production levels at the time of sampling.

It is concluded that in the studied herds there are metabolic imbalances, mainly deficiency of protein, energy, phosphorus and Mg, with a marked deterioration of reproductive indicators, in which significantly influence the beta-hydroxybutyrate state, body condition and the trimester of the year in which the artificial insemination is performed.

la reproducción puede estar relacionado con el estado individual de las vacas, lo que puede ser la causa de que las concentraciones sanguíneas del BUN no influyeran significativamente en los indicadores reproductivos de las vacas, que tenían diferentes lactancias, d de lactancia y niveles de producción al momento del muestreo.

Se concluye que en los rebaños estudiados existen desequilibrios metabólicos, fundamentalmente deficiencia de proteínas, energía, fósforo y Mg, con un marcado deterioro de los indicadores reproductivos, en los que influyen significativamente el estado del betahidroxibutirato, la condición corporal y el trimestre del año en que se realiza la inseminación artificial.

References

- Álvarez, C. J. L. 2001. *Bioquímica nutricional y metabólica del bovino en el trópico*. (ser. Colección ciencia y tecnología), Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia, 201 p.
- Bahonar, A. R., Azzizadeh, M., Stevenson, M. A., Vojgani, M. & Mahmoudi, M. 2009. "Factors affecting days open in Holstein dairy cattle in Khorasan Razavi province, Iran; A Cox proportional hazard model". *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(4): 747–754, ISSN: 1680-5593.
- Balarezo, L., García, J. R. & Hernández, M. A. 2015. "Estado metabólico y reproductivo en ganado lechero en la región de El Carchi, Ecuador". In: V Congreso de Producción Animal, La Habana, Cuba: Instituto de Ciencia Animal, ISBN: 978-959-7171-70-6.
- Butler, W. R., Calaman, J. J. & Beam, S. W. 1996. "Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle". *Journal of Animal Science*, 74(4): 858, ISSN: 0021-8812, DOI: 10.2527/1996.744858x.
- Campos, G. R., Cubillos, C. & Rodas, Á. G. 2007. "Indicadores metabólicos en razas lecheras especializadas en condiciones tropicales en Colombia". *Acta Agronómica*, 56(2): 85–92, ISSN: 2323-0118.
- Ceballos, M. A., Villa, N. A., Bohórquez, A., Quiceno, J., Jaramillo, M. & Giraldo, G. 2002. "Análisis de los resultados de perfiles metabólicos en lecherías del trópico alto del eje cafetero colombiano". *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(1): 26–35, ISSN: 0120-0690.
- Ciccioli, N. H., Wettemann, R. P., Spicer, L. J., Lents, C. A., White, F. J. & Keisler, D. H. 2003. "Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows". *Journal of Animal Science*, 81(12): 3107–3120, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/2003.81123107x.
- Corea, G. E. E., Alvarado, P. J. F. & Leyton, B. L. V. 2008. "Efecto del cambio en la condición corporal, raza y número de partos en el desempeño reproductivo de vacas lecheras". *Agronomía Mesoamericana*, 19(2): 251–259, ISSN: 2215-3608, 1021-7444.
- Correa, H. J. & Cuéllar, A. E. 2004. "Aspectos clave del ciclo de la úrea con relación al metabolismo energético y proteico en vacas lactantes". *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 17(1): 29–38, ISSN: 0120-0690.
- De Vries, A. 2006. "Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle". *Journal of Dairy Science*, 89(10): 3876–3885, ISSN: 0022-0302, DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72430-4.
- Deiros, J., Quintela, L. A., Peña, A. I., Becerra, J. J., Barrio, M., Alonso, G., Varela, B. & Herradón, P. G. 2004. "Urea plasmática: relación con el equilibrio energético y parámetros reproductivos en vacuno lechero". *Archivos de zootecnia*, 53(202): 141–151, ISSN: 0004-0592.
- Fajardo, H. 2009. *Suplementación mineral estratégica de hembras bovinas lecheras en pastoreo y su influencia en la reproducción en el Valle del Cauto*. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba, 124 p.
- Flamenbaum, I. & Galon, N. 2010. "Management of Heat Stress to Improve Fertility in Dairy Cows in Israel". *Journal of Reproduction and Development*, 56(Suppl.): 36–41, ISSN: 1348-4400, 0916-8818, DOI: 10.1262/jrd.1056S36.
- Galvis, R., Agudelo, D. & Saffón, A. 2007. "Body Condition, lipoprotein profiles and ovarian activity in Holstein cows during early lactation". *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20(1): 16–29, ISSN: 0120-0690.
- García, D. J. R., Cuesta, M. M., Silveira, P. E. A., Quiñones, R. R., Hernández, B. M. A. & Mollineda, T. Á. 2011. "Desequilibrios metabólicos con especial referencia a las carenciales de minerales asociadas a problemas reproductivos en vacas lecheras de Cuba". *Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(12), ISSN: 1695-7504, Available: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121211/121101.pdf>>, [Consulted: November 3, 2016].
- González, S. C. 2001. *Reproducción Bovina*. Venezuela: Fundación GIRARZ, 437 p., ISBN: 980-296-826-0, Available: <http://www.avpa.ula.ve/libros_nacionales.html>, [Consulted: November 4, 2016].
- González, S. C. 2002. "Pasos para lograr el diagnóstico y la solución del problema reproductivo a través de la evaluación de la eficiencia reproductiva". *Venezuela Bovina*, 53: 50–65.
- Guo, K., Russek-Cohen, E., A. Varner, M. & Kohn, R. A. 2004. "Effects of Milk Urea Nitrogen and Other Factors on Probability of Conception of Dairy Cows". *Journal of Dairy Science*, 87(6): 1878–1885, ISSN: 0022-0302, DOI: 10.3168/jds.S0022-

0302(04)73346-9.

- 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 cow reproduction". *Journal of Animal Science*, 83(13_suppl): E90–E106, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/2005.8313_supplE90x.
- Inskip, E. K. 2004. "Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow". *Journal of Animal Science*, 82(13_suppl): E24, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/2004.8213_supplE24x.
- Kane, K. K., Hawkins, D. E., Pulsipher, G. D., Denniston, D. J., Krehbiel, C. R., Thomas, M. G., Petersen, M. K., Hallford, D. M., Remmenga, M. D., Roberts, A. J. & Keisler, D. H. 2004. "Effect of increasing levels of undegradable intake protein on metabolic and endocrine factors in estrous cycling beef heifers". *Journal of Animal Science*, 82(1): 283–291, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/2004.821283x.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. & Bruss, M. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed., San Diego, Calif.: Academic Press, 932 p., ISBN: 978-0-12-396305-5, Available: <<https://www.elsevier.com/books/clinical-biochemistry-of-domestic-animals/kaneko/978-0-12-396305-5>>, [Consulted: November 4, 2016].
- Llewellyn, S., Fitzpatrick, R., Kenny, D. A., Murphy, J. J., Scaramuzzi, R. J. & Wathes, D. C. 2007. "Effect of negative energy balance on the insulin-like growth factor system in pre-recruitment ovarian follicles of post partum dairy cows". *Reproduction*, 133(3): 627–639, ISSN: 1470-1626, 1741-7899, DOI: 10.1530/REP-06-0122.
- Lucy, M. C. 2007. "The bovine dominant ovarian follicle". *Journal of Animal Science*, 85(13_suppl): E89, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/jas.2006-663.
- Macrae, A. I., Whitaker, D. A., Burrough, E., Dowell, A. & Kelly, J. M. 2006. "Use of metabolic profiles for the assessment of dietary adequacy in UK dairy herds". *Veterinary Record*, 159(20): 655–661, ISSN: 0042-4900, 2042-7670, DOI: 10.1136/vr.159.20.655.
- McDowell, L. R. & Arthington, J. D. 2005. *Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales*. 4th ed., Gainesville, USA: Universidad de la Florida, 91 p.
- Montaño, E. L. & Ruiz, C. Z. T. 2005. "¿Por qué no ovulan los primeros folículos dominantes de las vacas cebú posparto en el trópico colombiano?". *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18(2): 127–135, ISSN: 0120-0690.
- Mulligan, F. J., O'Grady, L., Gath, V. P., Rice, D. A. & Doherty, M. L. 2008. "Nutrition and fertility in dairy cows". *Irish Veterinary Journal*, 60(5): 311–316, ISSN: 2046-0481.
- National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. (ser. Nutrient requirements of domestic animals), Washington, D.C.: National Academy Press, 381 p., ISBN: 978-0-309-51521-4, Available: <<http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=3375185>>, [Consulted: November 4, 2016].
- Noval, A. E., García, D. J. R., García, L. R., Quiñones, R. R. & Mollineda, T. Á. 2014. "Caracterización de algunos componentes químicos, en suelos de diferentes agroecosistemas ganaderos". *Centro Agrícola*, 41(1): 25–31, ISSN: 0253-5785, 2072-2001.
- Parker, R. 1989. "Body condition scoring of dairy cattle". *Factsheet AGNES*, 410: 420, ISSN: 1198-712X.
- Pedroso, R., Roller, F. & López, L. 2003. "Relación entre la condición corporal, estado metabólico y la fertilidad de la hembra bovina". *Revista Cubana Reproducción Animal*, 29(2): 231–235, ISSN: 0258-6495.
- Pérez, H. P., Sánchez, del R. C. & Gallegos, S. J. 2001. "Anestro postparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito en trópico". *Revista de Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales*, 16(2): 257–270, ISSN: 0213-5035.
- Raheem, K. A. 2015. "An insight into maternal recognition of pregnancy in mammalian species". *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, ISSN: 1658-077X, DOI: 10.1016/j.jssas.2015.01.002, Article in Press.
- Razz, R. & Clavero, T. 2004. "Niveles de urea, fósforo, glucosa e insulina de vacas en ordeño suplementadas con concentrado en un sistema de *Panicum maximum* y *Leucaena leucocephala*". *Revista Científica*, 14(4): 365–369, ISSN: 0798-2259.
- Revelo, G. A. 2013. *Evaluación del desempeño reproductivo del hato lechero de la Hacienda 'Sandial' localizada en el cantón Montufar, provincia del Carchi en el período 2011- 2013*. Graduated Thesis, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador, 83 p.
- Revilla, R., Blasco, J., Sanjuán, L., Casasú, J., Sanz, A. & Villalba, D. 2001. "Manejo reproductivo de rebaños de vacas nodrizas". In: XXIV Curso Internacional de Reproducción Animal, Madrid, España: INIA, p. 100.
- Roche, J. R. 2007. "Milk production responses to pre- and postcalving dry matter intake in grazing dairy cows". *Livestock Science*, 110(1–2): 12–24, ISSN: 1871-1413, DOI: 10.1016/j.livsci.2006.08.016.
- Santos, J. E. P., Rutigliano, H. M. & Filho, M. F. S. 2009. "Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows". *Animal Reproduction Science*, 110(3–4): 207–221, ISSN: 0378-4320, DOI: 10.1016/j.anireprosci.2008.01.014.
- Soto, B. E. 2001. "Mejora reproductiva mediante el control hormonal de la actividad ovárica postparto en vacas mestizas de doble propósito". In: González, S. C. (ed.), *Reproducción Bovina*, Venezuela: Fundación GIRARZ, pp. 323–331, ISBN: 980-296-826-0, Available: <http://www.avpa.ula.ve/libros_nacionales.html>, [Consulted: November 4, 2016].
- StatPoint Technologies. 2010. *Statgraphics Centurion*. (ser. Centurion), version 16.1 (XV), [Windows], Available: <<http://statgraphics-centurion.software.informer.com/download/>>.
- Thatcher, W. W., Hansen, P. J., Gross, T. S., Helmer, S. D., Plante, C. & Bazer, F. W. 1989. "Antiluteolytic effects of bovine trophoblast protein-1". *Journal of reproduction and fertility. Supplement*, 37: 91–99, ISSN: 0449-3087.
- Viamonte, M. I. 2010. *Sistema integrado de manejo para incrementar la productividad en vacas de la raza Criolla cubana*. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba, 128 p.
- Villa, N. A., Ceballos, A., Ceron, D. & Serna, C. A. 1999. "Valores bioquímicos sanguíneos en hembras brahman bajo

- condiciones de pastoreo”. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(12): 2339–2343, ISSN: 0100-204X, DOI: 10.1590/S0100-204X1999001200021.
- Webb, R., Garnsworthy, P. C., Gong, J. G. & Armstrong, D. G. 2004. “Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences”. *Journal of Animal Science*, 82(13_suppl): E63–E74, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/2004.8213_supplE63x.
- Wettemann, R. P., Lents, C. A., Ciccioi, N. H., White, F. J. & Rubio, I. 2003. “Nutritional- and suckling-mediated anovulation in beef cows”. *Journal of Animal Science*, 81(14_suppl_2): E48–E59, ISSN: 1525-3163, DOI: 10.2527/2003.8114_suppl_2E48x.

Received: January 25, 2016