

The effect of Glycoline® on reproductive efficiency in high-producing dairy cows

Efecto del Glycoline® sobre la eficiencia reproductiva en vacas lecheras de alta producción

Marcelo Del Campo,^{1*} Ph.D, Marco Gonzalez T,² M.Sc, Hans Andresen,³ M.Sc, Freddy A. Cea,¹ M.Sc.

¹Universidad Santo Tomás, Faculty of Natural Resources and Veterinary Medicine, Temuco, Chile.

²Universidad de Córdoba, Faculty of Veterinary and Zootechnical Medicine, Department of Livestock Sciences, Tropical Biology Research Institute, Montería, Colombia. ³Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. *Correspondence: mrdelcampo@yahoo.es

Received: March 2015; Accepted: November 2015.

ABSTRACT

Objective. Determine the effect of Glycoline® on reproductive efficiency in high producing dairy cows. **Materials and methods.** 100 Holstein cows one month before delivery were selected. About 21 days before parturition they were put in a barn and were randomized in two groups: Glycoline® Group (GG, n=50), 300 g/day of Glycoline® for 21 days antepartum and 250 g/day of Glycoline® over the following 21 days postpartum, and the Control Group (CG, n=50) with the same feed and silage ration as GG during the same period, but without the addition of Glycoline®. Events and reproductive variables of the cows were recorded for 202 days. The data were systematized, analyzed and statistically compared. **Results.** Comparisons were made between GG and CG respectively: Retained placenta (0.0 vs. 12.0%; p=0.027), downer cow syndrome (14.3 vs. 44.0%; p=0.002), uterine involution (64.6 vs. 36.4%; p=0.019), uterine infection (10.4% vs. 35.5%; p=0.006), no ovarian activity (6.3 vs. 25.6%; p=0.018), follicular cysts (0.0 vs. 18.2%, p = 0.002), luteal structures (25.0 vs. 9.3%; p=0.058), mean estrus presentation (40.1% vs. 63.5%; p=0.033) inseminated females (79.6 vs. 68.0%; p=0.017), pregnancy rate at day 150 (57.1 vs. 46.0%; p≥0.317) and intervals (days): calving to 1st estrus (39.8 vs. 63.2; p≤0.006), calving to IA (62.4 vs. 87.5; p≤0.006) calving to conception (81.7 vs. 93.6; p≤0.006; p=0.103). **Conclusions.** Results suggest that dietary Glycoline® added in the transition period improves reproductive efficiency of high-producing dairy cows.

Key words: Nutritional supplements, reproductive health, reproductive performance, reproductive physiology, reproductive stages (*Source: CAB*).

RESUMEN

Objetivos. Determinar el efecto del Glycoline® sobre la eficiencia reproductiva en vacas lecheras de alta producción. **Materiales y Métodos.** Se seleccionaron 100 vacas Holstein un mes antes del parto. Alrededor de 21 días antes del parto se ubicaron en un establo y se asignaron al azar a dos Grupos: Grupo Glycoline® (GG; n=50), 300 g/día de Glycoline® durante 21 días preparto y 250 g/día de Glycoline® durante los siguientes 21 días posparto y Grupo Control (GC, n=50) la misma ración de concentrado y ensilaje que el GG durante el mismo período de tiempo, pero sin la adición de Glycoline®. Se registraron los eventos y las variables reproductivas de las vacas durante 202 días. Los datos fueron sistematizados, analizados y comparados estadísticamente. **Resultados.** Comparaciones entre el GG y GC respectivamente: Retención de placenta (0,0 vs 12.0%; p=0.027), síndrome de vaca caída (14.3 vs 44.0%; p=0.002), involución uterina (64.6 vs 36.4%; p=0.019), infección uterina (10.4% vs 35.5%; p=0.006), sin actividad ovárica (6.3 vs 25.6%; p=0.018), quistes foliculares (0.0

vs 18.2%, $p=0.002$), estructuras luteales (25.0 vs 9.3%; $p=0.058$), promedio presentación de celo (40.1% vs 63.5%; $p=0.033$), hembras inseminadas (79.6 vs 68.0%; $p=0.017$), tasa de preñez al día 150 (57.1 vs 46.0%; $p\geq 0.317$) y intervalos de tiempo (días): parto 1^{er} -celo (39.8 vs 63.2; $p\leq 0.006$), parto-IA (62.4 vs 87.5; $p\leq 0.006$) y parto-preñez (81.7 vs 93.6; $p\leq 0.006$; $p=0.103$). **Conclusiones.** Los resultados sugieren que el Glycoline® adicionado en la dieta en el período de transición, mejora la eficiencia reproductiva de vacas de alta producción.

Palabras clave: Desempeño reproductivo, estados reproductivos fisiología reproductiva, salud reproductiva, suplementos nutricionales (*Fuente: CAB*).

INTRODUCTION

Reproductive efficiency of cows can be assessed by taking into account different parameters. The producer would perhaps consider an efficient reproductive herd to be one in which each female produces a calf before 24-25 months of age and continues to produce a calf each year. However, to produce an annual calf per cow a series of coordinated physiological events must occur within the body of a cow (1).

It is common knowledge that selecting cows for high milk production negatively influences reproductive efficiency. The negative effect attributed to high milk production on reproduction is related to a number of causes and factors that contribute to low fertility. Among these, some are due to the cow's environment (management, untrained staff, size of herds, confinement etc.) and others depend on the cow itself (body condition, negative energy balance), increase dry matter intake, increased hepatic irrigation and steroid metabolism (1-3). However, in theory high producing cows should not have greater reproductive problems since they are prepared for this state.

The causes that most affect cows occur during the critical transition period (three weeks antepartum and 3 weeks postpartum). In this period the pregnant cow is subject to increased requirements by the fetus, the stress of labor and later due to high milk production.

Moreover, after delivery, milk production increases faster than food consumption, exposing cows to a negative energy balance (NEB). All these factors predispose cows to metabolic diseases (ketosis, hypocalcaemia, etc.) and infections (metritis, mastitis) luteal or follicular cysts or anestrus, among others (4). These negatively affect cows at any reproductive stage from conception to pregnancy.

The condition of a "reproductively healthy cow" has been described as a cow that reduce the time of uterine involution with the concurrent early resumption of postpartum ovarian activity and

INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva de una hembra bovina puede evaluarse tomando en consideración diferentes parámetros. Tal vez, para el productor tener un rebaño eficiente reproductivamente sería aquel en donde cada hembra produzca una cría antes de los 24-25 meses de edad y que continúe produciendo una cría cada año. Sin embargo, para producir una cría/vaca al año se requiere que sucedan una serie de eventos fisiológicos coordinados que deben ocurrir dentro del organismo de una hembra (1).

Es de conocimiento popular que la selección de vacas por alta producción de leche influencia negativamente la eficiencia reproductiva. El efecto negativo que se le atribuye a la alta producción de leche sobre la reproducción está relacionado con una serie de causas y factores, que estarían contribuyendo con su baja fertilidad. Entre estos, algunos ajenos a la hembra misma (manejo, personal no entrenado, tamaño de los rebaños, confinamiento etc.) y otros dependientes de ella (condición corporal, balance energético negativo), aumento de consumo de materia seca, aumento de la irrigación sanguínea hepática y del metabolismo esteroideo (1 - 3). Sin embargo, teóricamente las vacas de alta producción no deberían tener mayores problemas reproductivos, ya que están capacitadas para ello.

Las causas que más afectan son aquellas que ocurren durante el período crítico de transición (3 semanas preparto y 3 posparto). En este período la vaca gestante se encuentra sometida a altos requerimientos demandados por el feto, por el estrés del parto y posteriormente por la alta producción de leche.

Por otro lado, después del parto, es sabido que el consumo de alimentos aumenta más lentamente que la producción de leche, exponiendo a las vacas a un balance energético negativo (BEN). Todos estos factores predisponen las vacas a enfermedades metabólicas (cetosis, hipocalcemia, etc.) así como a infecciones (metritis, mastitis) quistes foliculares o luteales o anestro, entre otros (4). Los efectos de ello afectan negativamente en cualquiera etapa

contribute to regulating the estrous cycle and ovulation (5). For this to happen, the cow's body must adapt to dramatic metabolic and hormonal changes within very short periods of time.

It is estimated that half of the reasons of culling dairy farms is due to an unbalanced diet, which ultimately results in high operating costs. In some countries cows calve 2.5 times or less during their reproductive lives and in many cases they are, on average, culled after the second parturition. Also, raising replacement heifers has a high value and it takes about 1.5 lactation periods to cover those costs (6).

According to literature, Glycoline® is a glucogenic supplement, offered on the market as an anticetotic that is preferably added to the diet during the transition period. However, the indirect effect it would have on postpartum reproduction (fertility) has not been studied. Similar studies on other glucogenic products have been directed to elucidate their effect on milk production, hormone levels and some metabolic profiles.

The aim of this study was to determine the effect of adding dietary Glycoline® during the transition period on the reproductive efficiency of high producing dairy cows.

MATERIALS AND METHODS

Farm. The study was conducted on a dairy farm that kept an average 170 ± 20 Holstein Friesian cows in annual production, free of tuberculosis and brucellosis, with an average annual milk production of 10.000 ± 1.800 Kg/cow. The herd had a prior history of metabolic diseases such as ketosis, hypocalcemia and hypomagnesemia.

Management and selection of animals. Cows were milked 2 or 3 times a day according to their individual production. Feed consisted of pasture ryegrass (*Lolium anual*) and a thoroughly mixed ration (TMR) feeding system. At the eighth month of gestation, cows that had a body condition between ≥ 2.5 and ≤ 4.0 (1-5 scale) and showed no physical disorder or disease were selected (Table 1).

Table 1. Distribution of cows according to parity.

Parity	Glycoline® Group	Control Group
	No. (%)	No. (%)
1	12 (24.5)	13 (26.0)
2	16 (32.7)	12 (24.0)
3	11 (22.4)	16 (32.0)
4	5 (10.2)	6 (12.0)
5	5 (10.2)	3 (6.0)
9	1 (2.0)	0 (0.0)
Total	50	50

reproductiva, desde la fecundación a la gestación. La condición de una vaca "reproductivamente saludable" ha sido descrita como una condición que favorece la disminución en el tiempo de la involución uterina con la concomitante reactivación ovárica temprana postparto y además contribuye con la regulación de los ciclos estrales y la ovulación (5). Para que esto suceda su organismo debe adaptarse a cambios metabólicos y hormonales dramáticos en periodos muy cortos de tiempo.

Se estima que la mitad de las causas de eliminación de las vacas de una explotación lechera deriva de causas de una alimentación desbalanceada; lo que finalmente se traduce en mantener altos costos en la explotación. En algunos países las vacas paren 2.5 veces o menos durante su vida reproductiva y en muchos casos, son eliminadas en promedio al segundo parto. También es conocido que la crianza de vaquillas de reposición tiene un alto valor y que es necesario aproximadamente 1.5 períodos de lactancias para cubrir dichos costos (6).

De acuerdo con la literatura, el Glycoline® es un suplemento glucogénico, que se ofrece en el mercado como anticetótico y que se adiciona, preferentemente a la dieta durante el período de transición. Sin embargo, el efecto indirecto que tendría en la reproducción (fertilidad) postparto de la vaca, no ha sido estudiado hasta la fecha. Estudios similares sobre otros glucogénicos, han sido dirigidos a dilucidar, más bien, el efecto que producen en la producción de leche, niveles hormonales y algunas constantes metabólicas.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto que produce la adición del Glycoline® en la dieta en el período de transición sobre la eficiencia reproductiva de vacas lecheras de alta producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Explotación lechera. Se realizó en una lechería que mantenía un promedio 170 ± 20 vacas Holstein Friesian en producción anual, libres de tuberculosis y brucellosis con un promedio anual de producción de leche de 10.000 ± 1.800 Kg/vaca. El hato, tenía antecedentes de presentación de enfermedades metabólicas, tales como cetosis, hipocalcemia e hipomagnesemia.

Manejo y selección de animales. Las vacas eran ordeñadas 2 o 3 veces al día de acuerdo con su producción individual. La alimentación consistió en pasturas de Ballica (*Lolium anual*) y sistema de alimentación de Ración Totalmente Mezclada (TMR). Al octavo mes de gestación, las vacas que mantenían una condición corporal entre ≥ 2.5 y ≤ 4.0 (escala de 1-5) y no presentaban ningún trastorno físico o enfermedad, fueron seleccionadas para el estudio (Tabla 1).

The average calving for selected cows (2.5 births) was approximately the same for both groups.

Treatment allocation. Before completing 21 days before delivery (280 days gestation) cows were located in a barn with optimum handling and comfort and were randomized into two groups: Glycoline® Group (GG, n=50), Glycoline® 300 g/day for 21 days prepartum, and Glycoline® 250 g/day for the next 21 days postpartum, and the Control Group (CG, n=50) received the same feed and silage as GG for the same period but without adding Glycoline®. The daily Glycoline® dose was mixed with grass silage, oat straw (2.5 kg) and feed (9.0 kg) in a mechanical mixer.

Feed was distributed between 8:00 and 9:00 h and was based on the number of cows housed at that time. Cows were observed during the distribution of feed and for an additional 15 min in order to observe rejection or acceptance.

Thirty-five to 40 days after calving the cows were examined clinically and genitally by the same veterinarian. All those that had no general health problems or genital infections and have ovarian activity were authorized to be inseminated after the waiting period (50 days).

All reproductive events that occurred during the course of this study were recorded (from 30 days before calving). Reproductive data of each female were systematized. To confirm pregnancy, all cows were palpated rectally 40-45 days post-insemination (pIA) and again at 90 and 150 days. Cows that were not pregnant after 2 or 3 inseminations were examined and removed.

The following events were determined and compared between groups.

Prepartum. Feed consumption (subjective observation):

- 1= eager, ate eagerly and with pleasure
- 2= semi-eager, partially rejected
- 3= rejected, did not eat

Parturition birth. Loss before during or immediately after delivery.

- 1= Abortions
- 2= Offspring deaths

Calving difficulties and retained fetal membranes (RFM):

- 1= without difficulty, without or minimal assistance
- 2= with difficulty, moderate to major assistance
- 3= removal of the placenta with manual or/and pharmacological assistance.

El promedio de pariciones de las vacas seleccionadas (2.5 partos) fue aproximadamente el mismo para ambos grupos.

Asignación de tratamientos. Próximas a cumplir 21 días antes del parto (280 días de gestación) las vacas se ubicaron en un establo con condiciones óptimas de manejo y confort y se asignaron al azar a dos Grupos: Grupo Glycoline® (GG; n=50), 300 g/día de Glycoline® durante 21 días preparto y 250 g/día de Glycoline® durante los siguientes 21 días posparto y Grupo Control (GC, n=50) la misma ración de concentrado y silo que el GG, durante el mismo período de tiempo, pero sin la adición de Glycoline®. El Glycoline® fue mezclado diariamente con ensilaje de pasto y paja de avena (2.5 kg) y concentrado (9.0 kg) en un carro mezclador mecánico.

La ración se distribuyó entre 8:00-9:00 am, y se calculó con base en el número de vacas estabuladas en ese momento. Las vacas fueron observadas durante la distribución de la ración y por 15 min posteriores con la finalidad de conocer el rechazo o aceptación de su consumo.

Treinta y cinco a 40 días después del parto, las vacas fueron examinadas clínica y genitalmente por el mismo veterinario. Todas aquellas, que al examen no presentaron problemas de salud general, que estaban libres de infecciones genitales, y cuyos ovarios presentaban actividad, fueron autorizadas para ser inseminadas, después de periodo de espera voluntario (50 días posparto).

Se registraron todos los eventos reproductivos que ocurrieron durante el transcurso del estudio (desde 30 días antes del parto). Los datos reproductivos de cada hembra fueron sistemáticos. Para confirmar gestación, todas las vacas fueron palpadas rectalmente a los 40-45 días post-inseminación (pIA) y nuevamente a los 90 y 150 días (pIA). Las vacas que no se preñaron después de 2 o 3 inseminaciones fueron examinadas y eliminadas.

Los siguientes eventos fueron determinados y comparados entre los grupos.

Preparto. Consumo de la ración (apreciación subjetiva):

- 1= Ávido, se consume con rapidez y agrado
- 2= Semi ávido, se rechaza parcialmente
- 3= Rechazado, no se consume

Parto. Pérdidas antes, durante o inmediatamente después del parto:

- 1= Abortos
- 2= Crías muertas

Cows that retained the placenta ≥ 24 h postpartum were considered to be RMF.

Metabolic diseases:

- 1= presumed diagnosis, evident symptoms.
- 2= clinical diagnosis, paresis.

Biochemical profiles were not conducted. Both diagnosis were analyzed together under "downer cow syndrome"

Postpartum:

The state of uterine involution was objectively assessed by rectal examination, on a scale from 1 to 3.

1 = Complete uterine involution: pelvic location, fits in the palm of the hand, or with a slightly greater volume, horns similar in size, without fluctuation, firm consistency and tone. Closed cervix.

2 = Partial uterine involution: abdominal or pelvic location, larger than a palm, horns different in size, palpable but with difficulty, no fluctuation, firm consistency, with moderate tone. Closed cervix.

3 = lack of uterine involution: abdominal location, larger than the palm, horns different in size, not easily touched, with or without fluctuation, flaccid consistency and lacking tone. Cervix open or semi-open.

Genital examination:

- 1= healthy
- 2= vaginitis
- 3= metritis
- a= endometritis level 1
- b= endometritis level 2
- c= pyometra

Ovarian examination and pathologies:

- 1= Active, with follicles ≥ 10 mm diameter, and/or luteal structures: corpus hemorrhagic (CH) and corpora lutea (CL).
- 2= Non active, with no palpable structures
- 3= Cysts: follicular (FC) and luteal (LC)

Postpartum estrus:

They were recorded at fixed and cumulative periods of time (subjective division). Cows were observed 2 times a day (am/pm) by a single operator.

Inseminated and pregnant cows:

- 1= Services per conception
- 2= Pregnancy rates during fixed and cumulative periods of time (subjective division).

Dificultades en el parto y retención de las membranas fetales (RMF):

- 1= Sin dificultad, sin asistencia o ayuda mínima
- 2= Con dificultad, con moderada o considerable asistencia
- 3= Remoción de la placenta con asistencia manual o tratamiento farmacológico. Se consideró vacas con RMF aquellas que retuvieron la placenta ≥ 24 h postparto.

Enfermedades metabólicas:

- 1= Diagnóstico presunto, signos evidentes
- 2= Diagnóstico clínico, paresia

No se realizaron perfiles bioquímicos de las vacas. Ambos diagnósticos se analizaron en conjunto bajo el concepto de "síndrome de vaca caída".

Posparto:

El estado de la involución uterina fue evaluado subjetivamente, a través de examen rectal, utilizando una escala de 1 a 3.

1= útero involucionado: Ubicación pélvica, cabe en la palma de la mano, o con un volumen un poco mayor, cuernos similares en tamaño, sin fluctuación, consistencia firme y tono firme. Cérvix cerrado.

2= útero semi-involucionado: Ubicación abdominal o pélvica, volumen mayor que la palma de la mano, cuernos diferentes en tamaño, palpables con cierta dificultad, sin fluctuación, consistencia firme, con tono moderado. Cérvix cerrado.

3= útero no involucionado: Ubicación abdominal, volumen mayor que la palma de la mano, cuernos diferentes en tamaño, no se pueden palpar y recorrer fácilmente, con o sin fluctuación, consistencia flácida y sin tono. Cérvix abierto o semiabierto.

Examen genital:

- 1= Sana
- 2= Vaginitis
- 3= Metritis
- a= Endometritis grado 1
- b= Endometritis grado 2
- c= Piometra

Examen de ovarios y patologías:

- 1= Activos, con folículos ≥ 10 mm de diámetro, y/o estructuras luteales: cuerpos hemorrágicos (CH) y cuerpos lúteos (CL).
- 2= No activos, sin estructuras palpables
- 3= Quistes: foliculares (QF) y luteales (QL)

Celos posparto:

Se registraron durante períodos fijos y acumulativos de tiempo (división subjetiva). Las vacas fueron observadas 2 veces al día (am/pm), por un sólo operador.

Time intervals:

- 1= Birth, calving to first heat
- 2= Birth, calving to first service
- 3= Calving to conception (Open days)

Statistical analysis. After compiling the data matrix, an exploratory analysis was conducted. Contingency tables were made to compare groups with their respective Chi squared (χ^2) or Fischer Exact Test as necessary. To compare averages the Student t test and the Mann-Whitney U test were used for variables with and without normal distribution.

RESULTS

The total number of cows in each group was different according to the variables analyzed. The missing cows were not included for various reasons.

Feed consumption. Mild rejection to consuming feed with Glycoline® was observed on the first day, but after the second day habits normalized and afterwards it was eagerly consumed.

Abortions and offspring deaths. In both groups abortions took place in the ninth month of pregnancy and deaths occurred during delivery or immediately afterwards. There was no difference between the groups ($p=0.487$; Table 2). The female: male ratio was no different within or between groups (GG, 1:1 and CG, 1:0.7).

Table 2. Number (%) of abortions, offspring deaths and retention of fetal membranes in the Glycoline® and Control groups.

Offspring	Glycoline® n=49	Control n=50
Live births	46 (93.9)	44 (88.0)
Abortions	1 (2.0)	2 (4.0)
Mortalities	2 (4.1)	4 (8.0)

Parturition difficulties and retained fetal membranes. Only 5.0% of the cows of both groups needed minimal assistance during labor and only 1 (2.0%) cow in the CG required major assistance. No GG cow had RMF although 6 (12.0%) of the CG cows did ($p=0.027$), need manual or/and pharmacological assistance.

Presence of metabolic diseases. Downer cow syndrome. The number of cows that had some kind of paresis was 6.1% (3/49) for the GG and 16% (8/50) for the control group ($p=0.200$). Additionally, 8.2% (4/49) GG cows and 28.0% (14/50) of CG were treated for paresis. Considering both, a highly significant

Vacas inseminadas y gestantes:

- 1= Servicios por concepción
- 2= Porcentaje de preñez durante períodos fijos y acumulativos de tiempo (división subjetiva).

Lapsos de tiempo:

- 1= Parto-primer celo
- 2= Parto-primer servicio (IA)
- 3= Parto-concepción (Días abiertos)

Análisis estadístico. Construida la matriz de datos se realizó un análisis exploratorio de estos. Para la comparación entre los grupos se realizaron tablas de contingencia con sus respectivos Chi cuadrado o Estadístico Exacto de Fischer según correspondía. Para la comparación de promedios se realizó, t de student y U Mann Withney, para las variables con y sin distribución normal.

RESULTADOS

El número total de vacas de cada grupo fue diferente de acuerdo con la variable analizada. Las vacas faltantes no fueron incluidas por diferentes razones.

Consumo de la ración. Se observó un leve rechazo a consumir la ración con Glycoline® el primer día, pero a partir del segundo día se normalizó y posteriormente fue consumida con avidez.

Abortos y crías muertas. En ambos grupos los abortos ocurrieron en el noveno mes de gestación y las muertes de las crías durante el parto o inmediatamente después. No hubo diferencia entre los grupos ($p=0.487$; Tabla 2). La proporción hembra:macho no fue diferente dentro ni entre los grupos (GG, 1:1 y GC, 1:0.7).

Dificultad en el parto y membranas fetales retenidas. Solo un 5.0% de las vacas de ambos grupos, necesitaron mínima ayuda durante el parto y solo 1 (2.0%) vaca del GC requirió considerable asistencia. Ninguna vaca del GG tuvo RMF, sin embargo 6 (12.0%) vacas del GC si la presentaron ($p=0.027$) y necesitó asistencia manual y farmacológica.

Presentación de enfermedades metabólicas. Síndrome de vaca caída. El número de vacas que presentaron algún tipo de paresia fue de 6.1% (3/49) para el GG y de 16% (8/50) para el GC ($p=0.200$). Además, 8.2% (4/49) vacas del GG y el 28.0% (14/50) del GC fueron tratadas por paresia. Tomando en consideración ambas presentaciones, se observó una diferencia entre los grupos (GG, 14.3%; 7/49 y GC, 44.0%; 22/50) altamente significativa ($p=0.002$).

($p=0.002$) difference between the groups (GG, 14.3%; 7/49 and CG, 44.0%, 22/50) was observed.

Uterine involution. Uterine involution according to rectal palpation 35-45 days postpartum (Table 3).

Table 3. Distribution of the number (%) of cows in the Glycoline® and Control group according to uterine involution 35-45 days after birth.

Uterus involution	Glycoline® (n=48)	Control (n=44)
Complete	31 (64.6)	16 (36.4)
Partial	14 (29.2)	20 (44.5)
Lack	3 (6.3)	8 (18.2)

* Highly significant between the two groups ($p=0.019$)

Genital conditions. All females who had reproductive tract infections before the postpartum examination or at the time of the examination were treated (Table 4).

Table 4. Distribution of the number (%) of cows in the Glycoline® and Control group according to the diagnosis of the genital tract condition 1-40 days postpartum.

Genital examination	Glycoline® n=48	Control n=45
Healthy	43 (89.6)	29 (64.4)
Vaginitis	1 (2.1)	3 (6.7)
Endometritis 1	1 (2.1)	5 (11.1)
Endometritis 2	3 (6.3)	7 (15.6)
Pyometra	0 (0.0)	1 (2.2)

*Highly significant between the two groups ($p=0.006$).

Ovarian pathologies. No LC were diagnosed in any of the cows in both groups and no FC were found in GG cows; however, 18.2% (8/44) of CG cows presented FC ($p=0.002$; Table 5).

Table 5. Distribution of the number of cows (%) in the Glycoline® and Control group according to ovarian activity (follicles, CH, CL), in the postpartum exam.

Ovaries	Glycoline® n=48	Control n=44
Actives	45 (93.8)	33 (62.2)
With luteal structures	12 (25.0) ^a	4 (9.1) ^b
Inactive	3 (6.3) ^c	11 (25.6) ^d

*Percentages between groups (columns) with different superscript are different; ^{ab} ($p=0.058$), ^{cd} ($p=0.018$).

Postpartum estrus. The total number of cows in estrus (1-202 days) tended to be different between groups (GG, 91.8%; 45/49 and CG 76.0%; 38/50, $p=0.091$). Looked at from

Involución uterina. El estado de involución del útero de acuerdo a la palpación rectal, entre los días 35-45 pos parto se indica en la tabla 3.

Condiciones genitales. Todas las hembras, que presentaron una infección del tracto reproductivo, antes del examen posparto o al momento del examen, fueron tratadas (Tabla 4).

Patologías ováricas. No se diagnosticaron QL en ninguna de las vacas de ambos grupos ni tampoco se presentaron QF en las vacas del GG, sin embargo el 18.2% (8/44) de las vacas del GC presentó QF ($p=0.002$; Tabla 5).

Celo posparto. El número total de vacas que presentó celo (1-202 días) tendió ser diferente entre los grupos (GG, 91.8%; 45/49 y GC 76.0%; 38/50, $p=0.091$). Mirado desde otro punto, el 8.2% (4/49) de las vacas del GG y el 24.0% (12/50) del GC no presentaron signos externos de celo.

El promedio de días de presentación de celos fue diferente entre el GG (40.1 ± 25.7 ; rango: 7-145; IC: 32.5-47.7) y el GC (63.5 ± 44.9 ; rango: 11-202 IC: 48.5-78.4; $p=0.033$, Tabla 6).

Vacas inseminadas. El número de vacas inseminadas fue diferente entre ambos grupos (GG, 79.6%; 39/49 y GC, 68.0%; 34/50, $p=0.0176$). En consecuencia, el número de vacas no inseminadas fue de 10 (20.4%; 4 que presentaron celo y 6 que no presentaron) del GG y 16 (32.0%; 4 que presentaron celo y 12 que no presentaron) del GC.

Servicios por concepción. Los servicios por concepción no fueron diferentes entre el GG (2.4) y GC (2.3).

Tasa de preñez. No hubo diferencias en la tasa de preñez al día 150, tomando en consideración el total de vacas, entre el GG (57.1%; 28/49) y el GC (46.0%; 23/50; $p\geq 0.317$), ni tampoco tomando en consideración solamente, el número de vacas inseminadas entre el GG (71.8%; 28/39) y el GC (67.6% 23/34; $p=1.00$, Tabla 7).

Intervalos de tiempo entre parto-primer celo, parto-primer inseminación y parto-preñez. Estos intervalos de tiempo fueron analizados retrospectivamente una vez finalizado la colección de todos los datos de ambos grupos (Tabla 8).

DISCUSIÓN

Una vaca del GG fue eliminada tempranamente por fallecimiento. Asimismo, el número total de vacas, varió en cada grupo, a medida que avanzaba el tiempo debido a que algunas fueron eliminadas por diferentes razones (ver texto), durante el transcurso

another point of view, 8.2% (4/49) of the GG cows and 24.0% (12/50) of CG cows showed no external signs of heat.

The average time (days) of estrus presentations were different between the GG (40.1±25.7; range: 7-145; IC: 32.5-47.7) and CG (63.5±44.9; range: 11-202 IC: 48.5-78.4; $p=0.033$, Table 6).

Table 6. Distribution of the number (%) of cows in the Glycoline® and Control group according to the interval of time from calving to first estrus in fixed and cumulative periods.

First estrus (days)	Glycoline® (n=45)	Cumulative	Control (n=38)	Cumulative
≤18	7 (15.6)	7 (15.6)	6 (15.8)	6 (15.8)
19-24	5 (11.1)	12 (26.7)	1 (2.6)	7 (18.4)
25-37	13 (28.9)	25 (55.6)	6 (15.8)	13 (34.2)
38-46	8 (17.8)	33 (73.3)	5 (13.2)	18 (47.4)
47-60	8 (17.8)	41 (91.1)	2 (5.3)	20 (52.6)
61-145	4 (8.9)	45 (100.0)	16 (42.1)	36 (94.7)
146-202			2 (5.3)	38 (100.0)

Inseminated cows. The number of inseminated cows was different between groups (GG, 79.6%; 39/49 and CG, 68.0%; 34/50, $p=0.0176$). Consequently, the number of cows that were not inseminated was 10 (20.4%, 4 that presented estrus 6 that did not) and GG 16 (32.0%, 4 presented estrus and 12 that did not) from the CG.

Conception services. Conception rates were not different between the GG (2.4) and CG (2.3).

Pregnancy rate. There was no difference, either in pregnancy rate at day 150, taking into account the total number of cows in the GG (57.1%; 28/49) and CG (46.0%; 23/50; $p \geq 0.317$) and only the number of cows inseminated between the GG (71.8%; 28/39) and CG (23/33 69.7%; $p=1.00$, Table 7).

Time intervals between calving to first heat, calving to first insemination and calving to pregnancy. These time intervals were analyzed retrospectively once all data were collected from both groups (Table 8).

DISCUSSION

A cow from the GG was eliminated early due to death. Also, the total number of cows in each group varied as time went on because some were culled for various reasons (see text). In order to not delay the breeding program of the farm, all cattle that had any problems during the course of the study received special attention and specific treatments were applied according to the diagnosis.

Table 7. Distribution of the number (%) of pregnant cows in the Glycoline® and Control group in relation to the total number of inseminated cows in fixed and cumulative time periods.

Pregnancy (days)	Glycoline® Fixed	(n=39) Accumulative	Fixed Control	(n=34) Accumulative
≤ 60	7 (17.9)	7 (17.9)	3 (8.8)	3 (8.8)
61-70	9 (23.1)	16 (41.0)	3 (8.8)	6 (17.6)
71-100	7 (17.9)	23 (59.0)	8 (23.5)	14 (41.2)
101-295	5 (12.8)	28 (71.8)	9 (26.5)	23 (67.6)

Table 8. Time intervals (days) between calving to first heat, calving to first insemination and calving to conception of cows in the Glycoline® and Control groups.

Intervals (days)	Glycoline®	Control
Calving/First heat	(n=45)	(n=38)
Average±DE	39.8±25.9 ^a	63.2±44.3 ^b
Range	7-145	11-202
CI	32.1-47.6	48.6-77.7
Calving/First IA	(n=39)	(n=34)
Average±DE	62.4±11.2 ^c	87.5±40.0 ^d
Range	36-86	44-205
CI	58.8-66.0	73.3-101.7
Calving/CONCEPTION	(n=28)	(n=34)
Average±DE	81.7±32.2 [*]	93.6±32.7 [*]
Range	50-194	52-170
CI	69.2-94.1	79.4-107.7

abcd Percentages between groups (columns) with different superscripts are highly significant ($p \leq 0.006$), $^*(p=0.103)$.

del estudio. Con el fin de no atrasar el programa reproductivo de la explotación, todas las vacas que presentaron algún problema reproductivo durante el transcurso del estudio, recibieron atención especial y se le aplicó el tratamiento específico de acuerdo con el diagnóstico.

Consumo de la ración. Las vacas que consumieron Glycoline®, manifestaron un leve rechazo al consumo el primer día. Como el consumo se normalizó a partir de segundo día, esta observación fue suspendida y se consideró similar al grupo control.

Abortos y crías muertas. En el GG hubo 1 aborto (2.0%) y 2 crías muertas (4.1%); en cambio en el GC, se registraron 2 abortos (4.0%) y 4 crías muertas (8.0%; Tabla 2). A pesar que las pérdidas en conjunto (aborto y crías muertas) fueron el doble en el GC (12.0%; 6/50) que las ocurridas en el GG (6.1%; 3/49), no se encontraron diferencias ($p=0.487$). Este porcentaje de pérdidas está dentro del rango indicado por otros autores (6.0-8.0%) para el GG pero no así para el GC las que en comparación fueron más altas (7).

Para ambos grupos, los abortos se presentaron en el noveno mes de gestación y las muertes de las crías ocurrieron durante el parto o inmediatamente

Feed intake. Cows consuming Glycoline® slightly rejected feed on the first day. Feeding was normalized after the second day so this observation was suspended and was considered eager and similar to CG.

Abortions and offspring deaths. In GG there was 1 abortion (2.0%) and 2 dead calves (4.1%); but in the CG there were 2 abortions (4.0%) and 4 deaths (8.0%; Table 2). Despite overall losses (abortion and deaths) were twice in the CG (12.0%; 6/50) than in the GG (6.1%; 3/49), no differences were found ($p=0.487$). This rate of loss is within the range indicated by other authors (6.0-8.0%) for the GG but not for the CG, which were comparatively higher (7).

In both groups, abortions occurred in the ninth month of pregnancy and deaths occurred during or immediately after birth. The causes of the abortions were not attributed to reproductive diseases.

Calving difficulties and retained fetal membranes. It is interesting that no cow in the GG needed obstetric intervention during calving. They did not need manual or pharmacological medical treatment to remove the placenta. All cows in this group had placentas that came out without difficulty and were quickly expelled in less than 3 hours. In contrast, only 1 cow in the CG (2.0%) required minimum obstetric aid, while 12.0% (6/50) required manual intervention and pharmacological treatment ($p=0.027$). This percentage is within what other authors having reported, indicating that RMF occurs in the range of 3.8-15.0% of dairy cows (8).

It has been observed that RMF is a predisposing factor in metritis development and that postpartum metritis in cows with RMF has a negative effect on their subsequent reproductive efficiency (1,8,9). In this case, 50% (3/6) of cows from the CG that had RMF later developed metritis and this obviously delayed its return to the farm's breeding program.

Presentation of metabolic diseases. Independent of what group they were in, all cows that showed apparent signs (presumptive, clinical or subclinical diagnosis) of metabolic disease were treated with one or more commercial compounds based on Ca, Mg, P and vitamins or with a neoglucogenic product. Glycoline® is routinely used to prevent ketosis. In this case, the number of cows that had fallen cow syndrome was 3 times higher in the CG than in the GG (22 vs. 7 cows respectively, $p=0.002$). The direct preventative effect of Glycoline® on "downer cow syndrome" had an indirect positive effect on the

después. Las causas de los abortos no se atribuyeron a enfermedades de la reproducción.

Dificultad en el parto y membranas fetales retenidas. Es interesante mencionar que ninguna vaca del GG necesitó intervención obstétrica en el parto. Tampoco se necesitó ayuda manual o medicamentosa para la extracción de la placenta. En todas las vacas de este grupo la placenta se desprendió sin dificultad y fue expulsada rápidamente dentro de un período no mayor de 3 horas. En cambio, en las vacas del GC 1 (2,0%) vaca necesitó de ayuda obstétrica y el 12.0% (6/50) necesitó de intervención manual y medicamentosa para eliminar la placenta ($p=0.027$). Este porcentaje está dentro de los reportados por otros autores que han indicado que la RMF ocurre en el rango de 3.8-15.0% de las vacas de lechería (8).

Se ha observado que la RMF es un factor predisponente para el desarrollo de metritis y que la incidencia de las metritis postparto en vacas con RMF tiene un efecto negativo en la eficiencia reproductiva posterior en la vaca (1,8,9). En este caso, el 50% (3/6) de vacas del GC que presentaron RMF desarrollaron metritis posteriormente y esto, obviamente, atrasó su vuelta al programa de reproducción del hato.

Presentación de enfermedades metabólicas. Independiente del grupo, todas las vacas que presentaron signos aparentes (diagnóstico presuntivo, subclínicos o clínicos) de enfermedad metabólica, fueron tratadas con uno o más compuestos comerciales con base en Ca, Mg, P y vitaminas o con un producto neoglucogénico. Como se indicó, el Glycoline® rutinariamente se usa como dieta para prevenir la cetosis. En este caso el número de vacas que presentó síndrome de vaca caída fue 3 veces mayor en el GC que en el GG (22 vs 7 vacas respectivamente, $p=0.002$). El efecto directo del Glycoline® sobre la prevención de presentación de síndrome de vaca caída tuvo un efecto positivo indirecto sobre la fertilidad de las vacas que lo recibieron.

Involución uterina. A pesar de ser una apreciación subjetiva a través del examen rectal, este parámetro, es relevante, debido a que indirectamente influencia otras variables reproductivas, como son la presentación del primer celo postparto, los días abiertos etc. Sin duda, la involución uterina retardada predispone además la presentación de metritis. El tiempo de involución uterina en la vaca, como es sabido es variable y oscila entre 25 a 45 días. El que se produzca sin interrupción y en un tiempo razonable traerá consigo un efecto positivo en otros índices reproductivos, como son la presencia de celo más temprano, una tasa de gestación y preñez más alta, por mencionar algunos.

fertility of the cows that were treated with it.

Uterine involution. Despite being a subjective assessment through rectal exams, this parameter is important because it indirectly influences other reproductive variables, such as presentation of first postpartum heat, open days, etc. Certainly, delayed uterine involution further predisposes the presentation of metritis. The time of uterine involution in cows is variable and ranges from 25-45 days. When it occurs without interruption and within a reasonable time it has positive effects on other reproductive indices such as earlier estrus and a higher pregnancy rate, among others.

Considering combined uterine involution (total and partial), we observed that 93.8% (45/48) of the GG cows showed different degrees of uterine involution (Table 3). Of these 68.9% (31/45) had complete uterine involution and 31.1% (14/45) had partial involution. In contrast, 80.0% (36/45) of CG cows showed some degree of uterine involution. Of these cows 44.4% (16/36) had complete uterine involution and 63.9% (20/36) partial ($p=0.019$) involution. This indicates that Glycoline® had an effect on uterine involution, which had a positive impact on the other variables studied. As indicated, uterine involution and follicular development are interrelated parameters that are involved in the rapid production recovery (10).

Genital affections. Cows that had some type of reproductive tract infection before or during postpartum examination were grouped together for data analysis.

It was observed that the percentage of cows that had metritis in the GG (10.4%; 5/48), was the 1/3 of those that had it in the CG (35.6%; 16/45; $p=0.006$). It has been indicated that 20% of dairy cows develop metritis within 21 days postpartum (9) which is twice that observed in the GG and 15% less than the CG.

Examination of ovaries, activity and pathologies. The number of cows that had postpartum anestrus was four times lower in GG (6.3%) than in the CG (25.0%; $p=0.019$). This clearly indicates the positive effect of Glycoline® on cows fed with it. Considering just the total number of cows with ovarian activity, it can be seen that more than double the GG cows (26.7%; 12/45) had luteal structures compared to CG cows (12.1%; 4/33). However, this difference was greater when the total number of each group was taken, reaching a difference of almost 3 times (25.0% vs. 9.3%, $p=0.056$ respectively). It can therefore be inferred that Glycoline® had an early indirect effect on recovery of ovarian

Tomando en consideración la involución uterina en conjunto (total y parcial), se observó que el 93.8% (45/48) de las vacas del GG presentaron diferentes grados de involución uterina (Tabla 3). De estas vacas el 68.9% (31/45) presentaron involución uterina completa y el 31.1% (14/45) parcial. En cambio, el 80.0% (36/45) de las vacas del GC presentaron algún grado de involución uterina. De estas vacas el 44.4% (16/36) presentaron involución uterina completa y el 63.9% (20/36) parcial ($p=0.019$). Esto indica que el Glycoline® tuvo un efecto sobre la involución del útero, lo cual repercutió positivamente en las otras variables estudiadas. Como se indicó, la involución uterina y el desarrollo folicular son dos parámetros interrelacionados que están involucrados en la rápida recuperación de la producción (10).

Afecciones genitales. Las vacas que presentaron algún tipo de afección del tracto reproductivo antes del examen post parto o al examen post parto, fueron consideradas en conjunto para el análisis de estos datos.

Se observa que el porcentaje de vacas que presentaron metritis en el GG (10.4%; 5/48), fue un tercio de las que presentaron en el GC (35.6%; 16/45; $p=0.006$). Se ha indicado que un 20% de las vacas de lechería desarrollan metritis dentro de los 21 días postparto (9), este porcentaje es el doble del que se observa en el GG y un 15% menos que el GC.

Examen de ovarios, actividad y patologías. El número de vacas que presentaron anestros postparto fue cuatro veces menor en el GG (6.3%) que en el GC (25.0%; $p=0.019$). Esto indica claramente el efecto positivo que tuvo el Glycoline® en el grupo de hembras que lo consumieron.

Considerando solamente, el total de las vacas con actividad ovárica, se puede apreciar que más del doble de las vacas GG (26.7%; 12/45) presentaron estructuras luteales en comparación con el GC (12.1%; 4/33). Sin embargo, esta diferencia fue mayor, si se toma la totalidad de las vacas de cada grupo alcanzando una diferencia de casi 3 veces (25.0% vs 9.3%, respectivamente $p=0.056$). Se puede inferir entonces que el Glycoline®, tuvo un efecto temprano indirecto en las recuperación de la ciclicidad ovárica, debido probablemente a la más pronta recuperación del eje somatotrófico como ha sido mencionado por otros autores (11, 12).

En el GG hubo una vaca que presentó 2 CL y otra de 3 CL mientras que en el GC solo se encontraron vacas con un CL. Se ha indicado que la múltiple ovulación se podría deber al efecto de la alta producción de leche (3). Asimismo, en los últimos años se ha observado un porcentaje más alto

cyclicity, probably due to the more rapid recovery of the somatotropic axis, as has been mentioned by other authors (11, 12).

In the GG there was a cow that had 2 CL and another one had 3 CL while in the CG only cows with 1 CL were found. Multiple ovulation could be due to elevated milk production (3). Also, in recent years there has been a higher percentage of twins in Holstein cows. It has been hypothesized that high-producing cows have an increased intake of dry matter and therefore have a greater flow of blood to the intestines and liver, which would result in an increased amount of estrogen produced by the dominant follicle, which would alter the feedback (FSH) causing an increase of it, which would facilitate the development, maturation and ovulation of other follicles (8). Other authors have suggested that a glycogenic diet given in early postpartum would improve follicular development and resumption of the ovarian cycle, but for this to not have a detrimental effect on the embryonic survival rate it should be accompanied by a lypogenic diet given during the reproductive season in order to increase fatty acids, which improve the quality of oocytes and embryo development (13).

Glycoline® also had an effect in reducing the formation of ovarian cysts, as no FC and LC were diagnosed in GG cows. Nor was LC diagnosed in any of the CG cows. However, 18.2% (8/44) of the cows from this group had FC ($p=0.002$). Out of 8 cows treated with hormone therapy, 7 were in estrus and inseminated, which left 3 pregnant and 1 that did not present estrus (Table 5).

External signs of first postpartum estrus.

Of the 4 cows that showed no estrus in the GG, 2 were diagnosed with downer cow syndrome, 1 had a substantial drop in milk production and the other had a sagging udder. Also, of the 12 cows that did not have estrus in the CG, 4 had downer cow syndrome and 1 had pyometra, 1 had metritis and hoof problems, 1 retained fetal membrane, 1 had follicular cysts, 3 had mastitis, 1 had a sharp decrease in milk production. These factors negatively influenced the presentation of estrus.

As noted, until day 60 (10 days after more the voluntary waiting period), 91.1% (41/45) of the GG cows were in estrus, compared to 52.6% (20/38) of the CG (Table 6). That is, only 4 (8.9%) cows of the total missing show estrus in the GG, unlike 18 (47.4%) missing it in the CG. In this regard, it has been indicated that between 15 and 20% of dairy cows are non-cycling before 70 days postpartum; this percentage contrasts with the findings in the CG. Also, in the GG a relatively

de mellizos en vacas Holstein. Al respecto se ha hipotetizado que las vacas de alta producción aumentan el consumo de materia seca y por ende existe una mayor flujo de sangre en el intestino e hígado lo que traería un aumento del metabolismo del estradiol producido por el folículo dominante, lo que alteraría la retroalimentación de la (FSH) produciendo un aumento de esta, lo que facilitaría el desarrollo, maduración y ovulación de otros folículos (8). Otros autores han sugerido que una dieta glucogénica ofrecida en el posparto temprano favorecería el desarrollo folicular y la reanudación del ciclo ovárico, pero para que esta no tenga un efecto perjudicial en la tasa de sobrevivencia embrionaria debería ser acompañada con una dieta lipogénica dada durante la estación de servicios para aumentar la de ácidos grasos los cuales beneficiarían la calidad de los ovocitos y el desarrollo embrionario (13).

El Glycoline®, tuvo también, un efecto en la disminución en la formación de quistes ováricos ya que, no se diagnosticaron QL ni QF en las vacas del GG. Tampoco se diagnosticaron QL en ninguna de las vacas del GC. Sin embargo el 18.2% (8/44) de las vacas de este grupo presentaron QF ($p=0.002$). De 8 vacas que fueron tratadas con una terapia hormonal, 7 presentaron celo y fueron inseminadas, quedando 3 preñadas y 1 no presentó celo (Tabla 5).

Manifestaciones externas del primer celo posparto.

De las 4 vacas que no manifestaron celo del GG, 2 fueron diagnosticadas con síndrome de vaca caída, 1 tuvo una baja sustancial en la producción de leche y la otra presentó su ubre descolgada. Asimismo, de las 12 vacas que no presentaron celo en el GC, 4 presentaron síndrome de vaca caída, 1 piometra, 1 metritis y problemas pódales, 1 retención de membranas fetales, 1 con quiste folicular, 3 con mastitis y 1 bajó la producción de leche bruscamente. Estos factores influenciaron negativamente la presentación de signos de celo.

Como se observa, hasta el día 60 (pasado 10 días del período de espera voluntario), el 91.1% (41/45) de las vacas del GG habían presentado celo en comparación al 52.6% (20/38) del GC (Tabla 6). Es decir, 4 (8,9%) vacas restaban del total que presentaron celo en el GG a diferencia del GC donde 18 (47.4%) vacas no lo habían presentado. Al respecto se ha indicado que entre el 15 y 20% de las vacas lecheras no ciclan antes de los 70 días después del parto, este porcentaje contrasta con lo encontrado en el GC. También, en el GG se observa una distribución, relativamente más uniforme de los celos durante los períodos elegidos, que la distribución del GC. Sin duda este hecho indica un retraso obvio en la reproducción de este último grupo y afectó indirectamente otras variables (IA, lapsos de tiempo).

uniform distribution of estrus is seen during the periods chosen than the distribution of CG. This indicates an obvious delay in reproduction of the latter group, which indirectly affected other variables (IA, time periods).

Showing estrus and efficiency in estrus detection are crucial factors for AI to occur at the appropriate time in relation to ovulation. With decreased estrus expression and the ability to detect it, it is difficult to perform AI at the right time. External presentation of signs of estrus indirectly impact in a positive way on other reproductive parameters, such as: the interval from calving to first AI, calving-conception etc., making reproduction more efficient and ultimately lowering operating costs (14).

Inseminated cows. The total number of inseminated cows was higher in the GG (79.6%, 39/49) than in the CG (68.0%, 34/50; $p=0.0176$). Of 10 cows that were not inseminated in the GG; 4 showed no estrus, as indicated above, and the remaining 6 that showed estrus were not inseminated due to different problems (2 had late anestrus, 1 had mastitis, 3 had downer cow syndrome) and were subsequently eliminated. In contrast, the number of cows in the CG that were not inseminated reached 32.0% (16/50), 12 did not show estrus and were eliminated and 4 showed signs of estrus but were not inseminated due to different causes (3 had downer cow syndrome, 1 retained fetal membranes and one had severe mastitis).

Calving to first estrus. In a study conducted in Japan (7) where 38 high production Holstein cows were used, results showed that, the first postpartum estrus was at 64.4 ± 55.9 days (range 18-149 days), similar to that found in this study in the CG (63.2 ± 44.3 , range 11-202 days), and greater than the GG (39.8 ± 25.9 range: 7-145 days, $p=0.006$). In the GG, cows were in estrus within a shorter period of time and in greater numbers than in the CG.

Calving to first AI. Those same Japanese authors (7) indicated that the time span from calving to first IA was 90.6 ± 22.1 (minimum 57, maximum 129); period that was similar to that found for the CG (87.5 ± 40.0), but higher than the GG (62.4 ± 11.2 ; $p=0.001$).

Open days. The time difference in open days tended to be different between the GG (81.7 ± 32.2) and CG (93.6 ± 32.7 , $p=0.103$). Both periods were lower than those reported by Japanese authors (7) who reported times of 151.3 ± 55.8 and ranges from 66-270. In summary, this was observed in each analyzed

La expresión de celo y la eficiencia en la detección de celo son factores cruciales para que la IA ocurra en el tiempo apropiado, con relación a la ovulación. Con la expresión disminuida de celo y la habilidad de detectarlo, se dificulta realizar una IA en el tiempo correcto. La presentación externa de signos de celo repercute en forma indirecta positivamente en otros parámetros reproductivos, como son: el intervalo parto-primera IA, intervalo parto-concepción etc., haciendo más eficiente la reproducción y disminuyendo finalmente los costos de la explotación (14).

Vacas inseminadas. El número total de vacas inseminadas fue mayor en el GG (79.6%, 39/49) que en el GC (68.0%, 34/50; $p=0.0176$). De 10 vacas no inseminadas del GG; 4 no presentaron celo, como se indicó anteriormente, y las 6 restantes que manifestaron celo no fueron inseminadas por presentar diferentes problemas (2 anestro tardío, 1 mastitis, 3 síndrome de vaca caída), y posteriormente fueron eliminadas. En contraste, el número de vacas no inseminadas del GC alcanzó el 32.0% (16/50), 12 que no presentaron celo y fueron eliminadas y 4 que manifestaron signos de celo, pero no fueron inseminadas por diferentes causas (3 síndrome de vaca caída, 1 retención de membranas fetales y 1 mastitis grave).

Intervalo parto-primer celo. En un trabajo realizado en Japón (7) en donde se emplearon 38 vacas Holstein de alta producción, mostró que el primer celo postparto fue a los 64.4 ± 55.9 días (rango: 18-149 días), similar al encontrado en este trabajo en el GC (63.2 ± 44.3 ; rango: 11-202 días) y mayor que el GG (39.8 ± 25.9 rango: 7-145 días, $p=0.006$). En el GG, las vacas presentaron celo en un lapso de tiempo menor y en un mayor número que el GC.

Intervalo parto-primera IA. Estos mismos autores japoneses (7), indicaron que el lapso de tiempo del parto a la primera inseminación fue de 90.6 ± 22.1 (mínimo 57, máximo 129); lapso que fue similar a lo encontrado para el GC (87.5 ± 40.0), pero mayor que el GG (62.4 ± 11.2 ; $p=0.001$).

Días Abiertos. La diferencia de tiempo de días abiertos tendió a ser diferente entre el GG (81.7 ± 32.2) y el GC (93.6 ± 32.7 ; $P=0.103$). Ambos lapsos fueron menores a los informados por los autores japoneses (7), quienes reportaron lapsos de tiempo de 151.3 ± 55.8 y con rangos de 66-270. Como se observa, en cada lapso de tiempo analizado, el Glycoline® produjo un efecto positivo sobre el comportamiento reproductivo.

Servicios por concepción. Fueron similares entre el GG (2.4) y GC (2.5). Solo se permitió inseminar por 3 veces a 6 vacas de cada grupo debido a su

interval of time, indicating the positive effect of Glycoline® on reproductive performance.

Services per conception. Services per conception were similar between the GG (2.4) and GC (2.5). Only 6 cows could be inseminated 3 times in each group due to high production; the other cows received a maximum of two inseminations.

Pregnancy rate. There was no difference in total pregnancy rate taking into consideration the total number cows (GG 57.1%, 28/49 and CG 46.0%, 23/50; $p=0.317$) or the total number inseminated (GG 71.8%; 28/39 and CG 67.6% 23/34, $p=1.00$). Analyzing this parameter individually could lead to mistakenly thinking that both groups are equal and that Glycoline® has no real positive effect on reproduction. That would be wrong and a misinterpretation of reproductive variables, since reproductive parameters, as indicated, should be analyzed together to determine whether or not there is a failure in a farm's reproductive management and thus make adequate changes to improve. Considering the difference in the number of cows culled from each group, it was observed that the GG had 20.4% (10/49) of the cows removed as opposed to 32.0% (16/50) in the CG, which represents great economic loss for the farm.

As for periods of time, it can be indicated that up to day 70 postpartum, 41.0% (16/39) of the GG cows and only 17.6% (6/34) of CG were gestating (Table 7).

Analyzing the data and parameters together that were modified by the use of Glycoline® we can infer that in most of them, Glycoline® had a beneficial effect on the different parameters studied. Recent studies have reported relatively high reproductive performance in cows with a similar production ($\geq 10.000\text{Kg}$ milk) when compared with lower production herds, possibly due to better nutritional and reproductive management (15).

Concerning this, in a study where, 16 prepartum Holstein Friesian cows were treated with a balanced cation/anion feed and minerals (GRB-CA) to support immune status during calving and prevent negative energy balance, only 21.0% of them had metritis, in contrast to 71.0% of the untreated group. Although these percentages were higher than those found in this study (GG: CG 10.4% vs. 35.6%), the proportion of cows with metritis (GG: CG=1: 3.1 vs. GRB-CA: CG=1: 3.5) were similar (6).

alta producción; el resto de vacas recibieron 2 inseminaciones como máximo.

Tasa de preñez. No hubo diferencias en la tasa total de preñez, tomando en consideración el total de vacas (GG 57.1%, 28/49 y GC, 46.0%, 23/50; $p=0.317$) o el total de las inseminadas (GG 71.8%; 28/39 y GC 67.6% 23/34, $p=1.00$). Al analizar este parámetro, en forma individual se podría cometer el error al considerar que ambos grupos son iguales y que el Glycoline® no tendría un efecto positivo real sobre la reproducción. Eso sería una aseveración errónea y una mala interpretación de las variables reproductivas, ya que los parámetros reproductivos, como se ha indicado, deberían ser analizados en conjunto para conocer si existe o no una falla en el manejo reproductivo de la explotación y de esa forma tomar las decisiones correctas para mejorarla. Considerando la diferencia en el número de vacas eliminadas de cada grupo se observa que en el GG se eliminó el 20.4% (10/49) de las vacas a diferencia del 32.0% (16/50) eliminadas en el GC; lo que significó una gran pérdida económica para la explotación.

En cuanto a los lapsos de tiempo se puede indicar que hasta el día 70 postparto, se encontraban gestando el 41.0% (16/39) de las vacas del GG y solamente el 17.6% (6/34) del GC (Tabla 7).

Analizando los datos y los parámetros en conjunto que fueron modificados por el uso del Glycoline®, se puede inferir que en la gran mayoría de ellos, el Glycoline® produjo un efecto beneficiosos en los diferentes parámetros estudiados. Estudios relativamente recientes han comunicado altos rendimientos reproductivos en vacas con una producción similar a la de este trabajo ($\geq 10.000\text{Kg}$ de leche) en comparación con rebaños de menor producción, debido posiblemente, al mejor manejo nutricional y reproductivo empleado en el rebaño (15).

Al respecto, en un estudio donde 16 vacas Holstein Friesian en preparto, fueron tratadas con una ración balanceada catiónica/aniónica y elementos minerales (GRB-CA) para apoyar el estatus inmunológico alrededor del parto y prevenir el balance energético negativo, presentaron solo un 21.0% de metritis, en contraste con el 71.0% del grupo no tratado. A pesar de que estos porcentajes fueron más altos, que los encontrados en este trabajo (GG: 10.4% vs GC: 35.6%), las proporciones de vacas con metritis (GG: GC=1:3.1 vs GRB-CA: GC=1:3.5) son parecidas (6).

Si los factores que afectan la reproducción no son detectados tempranamente, con seguridad afectarán gravemente la eficiencia reproductiva de

If factors that affect reproduction are not detected early, they will surely have a severe effect on the reproductive efficiency of cows and high milk production. In conclusion and according to the results, we can say that Glycoline® indirectly produced a beneficial effect on all reproductive variables.

Acknowledgements

To PRINAL SA, Santiago, Chile and AGQ SL, Madrid, Spain, for funding this study. To Dr. Mario E. Mosqueira and Dr. Claudio A. Parada for their contributions and suggestions during the course of this study, and Ms. Sandra L. Fernandez for her work with data processing.

las vacas de alta producción lechera. De acuerdo con estos resultados, el Glycoline®, produjo indirectamente un efecto beneficioso en todas las variables reproductivas estudiadas.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por PRINAL S.A., Santiago, Chile y AGQ S.L., Madrid, España. Los autores agradecen a los doctores Mario E. Mosqueira y Claudio A. Parada, por los aportes y sugerencias durante el transcurso de este trabajo, así como a la Sra. Sandra L. Fernández por su cooperación en el procesamiento de datos.

REFERENCES

- Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2011; 123:128-138.
- Osumo O, Kabeya S, Koyama H. Factors affecting reproductive performance in high milk-producing Holstein cows. *J Reprod Develop* 2010; 56:561-565.
- Wiltbank MC, Souza AH, Carvahlo PD, Bender RW, Nascimento AB. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulating of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Anim Reprod* 2012; 24(1):238-243.
- Mulligan FJ, Dohert ML. Production diseases of the transition cow. *Vet J* 2008; 176:3-9.
- Roche JF. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci* 2006; 96:282-296.
- Mikko A. Monitoring of transition period feeding improves health. *Intern. Dairy Topics* 2012; 11:25-27.
- Murray RD, Williams AJ, Shelton IM. Field investigation of perinatal mortality in Friesian cattle with myocardial degeneration and necrosis. *Reprod Domest Anim* 2008; 43:339-345.
- Leblanc SJ. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance; A review. *Vet J* 2008; 176:102-114.
- Shelton IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G, Schuberth HJ. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod* 2009; 81:1025-1032.
- Ruiz JL, Uribe-Velásquez LF, Osorio JH. Factor de crecimiento semejante a insulina tipo (IGF-1) en la reproducción de la hembra bovina. *Vet Zootec* 2011:568-81.
- Lucy MC. Functional differences in the growth hormone and insulin-like growth factor axis in cattle and pigs: implications for post-partum nutrition and reproduction. *Reprod Domest Anim* 2008; 43 (Supl 2):31-39.
- Thatcher W, Santos J, Silvestre F, Kim I, Staples C. Perspective on Physiological/endocrine and nutritional factors influencing fertility in post-partum dairy cows. *Reprod Domestic Anim.* 2008; 45:2-14.
- Garnsworthy PC, Fouladi-Nashta AA, Mann GE, Sinclair KD, Webb R. Effect of dietary-induced changes in plasma insulin concentrations during the early post partum period on pregnancy rate in dairy cows. *Reproduction* 2009;137:759-768.
- Roeloffs J, Lopez-Gatius F, Hunter RHF, van Eerdenburg FJCM, Hanzen C. When is a cows in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* 2010;74:327-344.
- LeBlanc SJ. Assessing the association of the level of milk production with reproductive performance in dairy cattle. *J Reprod Dev* 2010; 56 Suppl. S1-S7.