

El sentido de los sensores en el manejo de la transición

Frank JCM van Eerdenburg¹, Peter Hut¹, Amarins Mulder¹, Gerrit J Hooijer¹, Jan Hulsen², Arnold Harbers³, Gustavo Ruiz⁴, and Elsbeth Stassen⁵.

1 Fac Veterinary Medicine Utrecht University, Utrecht, the Netherlands

2 Vetvice, Bergharen, the Netherlands

3 Nedap, Groenlo, the Netherlands

4 Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Mexico DF, Mexico

5 WUR, Wageningen, the Netherlands

Contacto : F.J.C.M.vanEerdenburg@uu.nl

RESUMEN

Los sensores ofrecen al ganadero la posibilidad de monitorear permanentemente el comportamiento de sus vacas, lo cual brinda opciones adicionales para la intervención oportuna. En el proyecto intitulado “El sentido de los sensores en el manejo de la transición”, a las vacas de 17 granjas se las equipó con sensores para medir sus tiempos de reposo, comida y rumia, así como el número de pasos en periodos de dos horas a lo largo de 42 días antes del parto, hasta 28 días posparto. Asimismo, en ocho de las granjas se registró el momento del parto, y se tomaron muestras de sangre a la semana y a las dos semanas del parto. En dichas muestras se midió la proporción de ácido betahidroxibutírico (BHB) y, a fin de investigar la relación entre el comportamiento alimentario durante el periodo de transición y la fertilidad en las vacas lecheras, estudiamos: 1) el intervalo entre parto y primera inseminación, 2) el número de inseminaciones, y 3) el intervalo esperado en 1,141 vacas lecheras de 17 granjas. Se calculó el número y la duración de los episodios de reposo. Para analizar estadísticamente el tiempo de alimentación en relación con las variables de fertilidad, se emplearon un modelo lineal de variable única y un modelo de daño proporcional de Cox. La mayor desviación estándar del tiempo de alimentación que pudo observarse durante un periodo de 30 a dos días antes del parto dio como resultado un mayor número de inseminaciones (FR 0.918) y un intervalo de parto esperado más prolongado (FR 0.916). Se observó un intervalo más prolongado entre el parto y la primera inseminación (FR 0.959), así como un mayor número de inseminaciones (FR 0.964) y un mayor intervalo esperado de parto (FR 0.965), debido a una mayor diferencia en el tiempo de comida entre dos días antes del parto y el segundo día después del parto. La granja también tuvo una influencia sustancial en los

parámetros de fertilidad, y se encontró además una diferencia entre los parámetros de fertilidad de las vaquillas y el de las vacas multíparas. Las vaquillas presentaron un intervalo más corto entre el parto y la primera inseminación (FR 1.151), un número menor de inseminaciones (FR 1.321) y un intervalo de parto esperado más corto (FR 1.023). Además, se observó que las vacas lecheras que pasaron menos tiempo (0.5 h diarias) comiendo durante las seis semanas previas al parto, tienen más probabilidades de desarrollar cetosis en las dos primeras semanas después del parto. El tiempo de comida antes y después del parto (de -6 a +2 semanas en relación con el parto) y el tiempo de rumia durante el confinamiento (*close-up*) tuvieron la relación más fuerte con la concentración de BHB en la sangre en la segunda semana después del parto. Los resultados de este estudio subrayan la importante relación que existe entre el tiempo de comida durante el periodo de transición y los parámetros de fertilidad después del parto, y, con los datos proporcionados por el sensor de preparto, la predicción de los niveles de BHB después del parto se antoja posible.

Palabras clave: sensores, fertilidad, vacas lecheras, cetosis, compartimiento

INTRODUCCIÓN

El monitoreo del comportamiento y la salud de las vacas es una de las tareas importantes en una granja lechera. Sin embargo, debido al incremento en el número de vacas lecheras por granja en las últimas décadas, hay menos tiempo disponible por vaca, y aún en las granjas pequeñas, los granjeros no pueden observar a sus animales continuamente. Los sensores automáticos ofrecen la posibilidad de monitorear ininterrumpidamente el comportamiento de las vacas, y por lo tanto resultan muy útiles para

supervisar la manada. Además del número de vacas por granja, el rendimiento por vaca ha aumentado también. No obstante, al mismo tiempo han disminuido los datos de fertilidad, lo cual representa un problema a nivel mundial (1-3). Debido a que la fertilidad de la manada depende en gran medida de la detección del estro, y que su expresión ha disminuido en las últimas décadas (4,5), el primer sensor ampliamente utilizado fue el podómetro, una herramienta para detectar el estro (6). Además de la detección del estro, los sensores podrían también ser un recurso importante para detectar a tiempo problemas de salud y bienestar animal (7-11). El monitoreo de los tiempos de comida y de reposo, así como de rumia y de caminata durante el periodo de transición podría conducir a la oportuna identificación de las vacas en riesgo de problemas de posparto (9).

El bajo desempeño reproductivo, la infertilidad y las enfermedades del tracto genital en el periodo temprano de posparto, están a menudo relacionados con un balance energético negativo (BEN) (12,13). Este BEN en el periodo temprano de posparto es fisiológico, y su causa es la insuficiencia en el consumo de materia seca (CMS) debido a la ocupación del espacio abdominal por parte del becerro en crecimiento, lo cual reduce el volumen del rumen, o la panza. Pasado el parto, la recuperación de la capacidad del rumen tarda varias semanas, mientras que la cantidad de energía requerida para la producción de leche se incrementa de inmediato (14-16). Así pues, la vaca se ve en la necesidad de usar la energía de reserva contenida en la grasa corporal. Después del parto, una vaca puede experimentar varios problemas, como la fiebre de leche (sub)clínica, la cetosis (sub)clínica, la retención de la placenta, la metritis, la endometritis, la inactividad de los ovarios, la formación de quistes en los ovarios, el desplazamiento del abomaso y la mastitis. Como consecuencia de estas enfermedades y desórdenes metabólicos, la fertilidad puede verse comprometida de manera directa o indirecta (8, 13, 17, 18). El manejo nutricional durante el periodo de transición, comprendido entre las tres semanas anteriores al parto y las tres semanas posteriores, tiene un impacto sustancial (19), no solamente en la producción de leche, sino también en la fertilidad y, por lo tanto, en los resultados obtenidos en una granja lechera (19, 20). Un indicador para el consumo diario de materia seca (CDM) puede obtenerse midiendo el tiempo de comida automáticamente mediante la tecnología de sensores (21). El proyecto "El sentido de los sensores en el manejo de la transición" está dedicado a mejorar el manejo de la transición en granjas lecheras

mediante la comprensión de la complejidad del periodo de transición y su impacto en el bienestar, la salud, la producción y la reproducción animales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre julio de 2014 y abril de 2016, a las vacas de 17 granjas lecheras de freestall en Holanda se las equipó con un sensor durante 70 días, comprendidos entre los 42 días antes del parto y 28 días después del parto. En el collar de las vacas se colocaron los sensores para cuello de la marca Nedap Smarttag (Nedap, Groenlo, Holanda). El tiempo de comida se midió empleando sensores G con un acelerómetro de tres ejes, y se transfirieron las señales a un programa de computación. Además, con los sensores para piernas de la misma marca, se registraron el tiempo de reposo y el número de pasos. Todas las medidas se tomaron en segundos o en número de pasos por cada dos horas. También, en ocho de las granjas, se registró el momento del parto y se tomaron muestras de sangre a la primera y segunda semanas posparto. En las muestras de sangre se midió el ácido betahidroxibutírico (BHB).

Datos

Para el estudio se emplearon los datos de 1,264 vacas, 996 de ellas multíparas (entre 2 y 13 partos) y 268 vaquillas. La diferenciación entre vacas multíparas y vaquillas se llevó a cabo porque estas últimas presentan un periodo de transición totalmente distinto al de las primeras. Los datos se almacenaron en Excel (Microsoft Office Excel 2007). El tiempo de comida se calculó en horas por día. Los índices reproductivos (es decir, el intervalo entre el parto y la primera inseminación), el número de inseminaciones y el intervalo esperado entre partos de cada una de las vacas se obtuvieron a partir de los datos más recientes del banco de datos de la Cooperativa Para la Mejora del Ganado (CIC, por sus siglas en inglés) (CRV, Arnhem Holanda). Asimismo, el tiempo de comida y el tiempo de reposo se correlacionaron con el nivel de BHB durante la primera y segunda semanas posteriores al parto. Para identificar a las vacas en riesgo de cetosis, se aplicó un valor de referencia de 21.6 mg/dl (1.2 mmol/L).

A fin de dividir los días próximos al parto en periodos susceptibles de tratarse estadísticamente, se construyó una gráfica de tiempo medio de comida por día para todos los animales entre los 43 días antes del parto y los 28 días después del parto (d - 42 a d +28) (Figura 1). El periodo de transición se dividió en cinco periodos, del Periodo A al Periodo E. El Periodo A (del día -42 al día -30) se empleó como

punto de referencia inicial; el Periodo B comprendió del día -30 al día -2; el Periodo C comprendió los cuatro días más próximos al parto, (del d -2 al d +2), pero los días -1, 0 y +1 se excluyeron del análisis. El Periodo D comprendió del segundo al decimoséptimo días (+2 al +17), y el Periodo E de los días decimoséptimo al vigesimooctavo después del parto (+17 al +28).

Análisis estadístico

Para los periodos B y D, se calculó la pendiente de la curva del tiempo diario de comida y la desviación residual de la línea de regresión del tiempo diario de comida (la desviación estándar de las observaciones durante un periodo). Para determinar la correlación entre estas variables independientes del tiempo de comida durante los cinco periodos, se empleó la correlación de Pearson. Para el análisis estadístico, se empleó el paquete de *software* R versión 3.3.3. del Proyecto R. El análisis estadístico del intervalo entre el parto y la primera inseminación se llevó a cabo mediante el análisis de supervivencia de Cox con la granja como efecto aleatorio. Los efectos fijos en la totalidad del modelo fueron vaquilla/vaca y las variables del tiempo de comida, como se indicó arriba. El análisis del número de inseminaciones se llevó a cabo mediante el análisis de supervivencia de Cox con la granja como efecto aleatorio y con la aproximación de Efron para los empates (22). Los efectos fijos en la totalidad del modelo fueron vaquilla/vaca y las variables de tiempo de comida arriba descritas.

El análisis del intervalo esperado entre partos se llevó a cabo mediante el análisis de supervivencia de Cox con la granja como efecto aleatorio. Los efectos fijos en la totalidad del modelo fueron vaquilla o vaca múltipara, y las variables en el tiempo de comida arriba descritas. En todos los modelos, se empleó el criterio de información de Akaike (CIA) para la reducción del modelo, siguiendo un procedimiento retroactivo por pasos (23). A partir de las variables independientes en el perfil del modelo final (logaritmo -), se calcularon los intervalos de confianza (IC) para las funciones logarítmicas de riesgo. Para estudiar la correlación entre las variables de tiempo de comida se empleó una correlación de Pearson.

Para estudiar el efecto de la granja en cada una de las tres variables de fertilidad, se calculó la función de riesgo (FR) por variable en cada una de las granjas, en comparación con el promedio geométrico de todas las granjas.

RESULTADOS

El tiempo promedio de comida, incluyendo el error estándar de la media (EEM), comenzando a 48 días del parto y continuando hasta los 28 días después del parto, se muestra en la Figura 1. El Periodo A mostró un tiempo de comida bastante estable, seguido de una gradual disminución en el tiempo de comida, a razón de 1.13 minutos por día durante el Periodo B. El día 0 fue el momento del parto. Un incremento gradual de 1.41 minutos por día se observó en el Periodo D, seguido de un Periodo E bastante estable.

Intervalo entre el parto y la primera inseminación y el tiempo de comida

El modelo de riesgo proporcional de Cox arrojó los siguientes resultados: de acuerdo con el CIA, la diferencia entre las vaquillas y las vacas múltiparas (FR= 1.151; 95% IC: 0.980 - 1.352) y la diferencia en tiempo de comida entre el segundo día antes del parto y el segundo después de parto (Periodo C) (FR= 0.959; 95% IC: 0.922 - 0.997) fueron las variables que influyeron en el intervalo entre el parto y la primera inseminación. El análisis de riesgo proporcional de Cox mostró que el intervalo entre el parto y la primera inseminación fue más corto en las vaquillas que en las vacas múltiparas. Finalmente, los intervalos más largos entre el parto y la primera inseminación se encontraron cuando aumentó la diferencia en el tiempo de comida entre dos días antes del parto y el segundo día después del parto (Periodo C).

Número de inseminaciones y tiempo de comida

De acuerdo con el CIA vaquilla/vaca (FR= 1.321; 95% IC: 1.124 - 1.552), la desviación residual del Periodo B (FR= 0.918, 95% IC: 0.826 - 1.020) y la diferencia en el tiempo de comida entre lo observado dos días antes del parto y dos días después del parto (Periodo C) (FR= 0.964; 5% CI: 0.928 - 1.002) fueron las variables del modelo que influyeron en el número de inseminaciones. La probabilidad de fecundación con el menor número de inseminaciones fue mayor en las vaquillas que en las vacas. Por otra parte, las mayores diferencias encontradas en la desviación residual durante el Periodo B(d-30 al d-2) condujeron a un mayor número de inseminaciones, lo cual resultó en una menor probabilidad de fecundación. Un análisis posterior mostró que se obtenía un mayor número de inseminaciones cuando aumentaba la diferencia en el tiempo de comida entre el penúltimo día antes del parto y el segundo día después del parto (Periodo C).

Intervalo esperado entre partos y tiempo de comida

Las vaquillas tuvieron un intervalo esperado entre partos más corto que las vacas. De acuerdo con el CIA, las variables en el modelo final fueron vaquilla/vaca (FR= 1.023; 95% IC: 1.047 - 1.443), Periodo B (FR= 0.916, 95% IC: 0.824 - 1.019) y la diferencia en tiempo de comida entre lo observado dos días antes del parto y dos días después del parto (Periodo C) (FR= 0.965; 95% IC: 0.928 - 1.003). Se observó también un intervalo esperado entre partos más largo, así como mayores diferencias en la desviación residual del tiempo de comida durante el Periodo B. Además, el intervalo esperado entre partos fue más largo cuando la diferencia en tiempo de comida entre lo observado dos días antes del parto y dos días después del parto (Periodo C) fue mayor.

Cetosis posparto

Parece ser que, como las vacas lecheras pasan menos tiempo comiendo (0.5 h diarias) durante las seis

semanas anteriores al parto, son más susceptibles de desarrollar cetosis en las primeras dos semanas después del parto. No queda claro qué es lo que causa esta reducción en el tiempo de comida. Se encontró además una diferencia entre el número de veces que se echan y el número de pasos que dan, en base a la concentración de BHB en la sangre, con un valor de referencia de 21.6 mg/dl (1.2 mmol/L) para identificar a las vacas en riesgo de cetosis. El aumento en el tiempo de comida, tiempo de rumia, número de comidas, cantidad de las comidas y número de pasos, y la disminución en el tiempo de reposo, número de episodios de reposo y duración de los reposos antes y después del parto estuvieron relacionados con concentraciones menores de BHB en la sangre después del parto. El tiempo de comida antes y después del parto (entre las semanas -6 y +2) y el tiempo de rumia durante el confinamiento tuvieron la relación más fuerte con la concentración de BHB en la segunda semana después del parto.

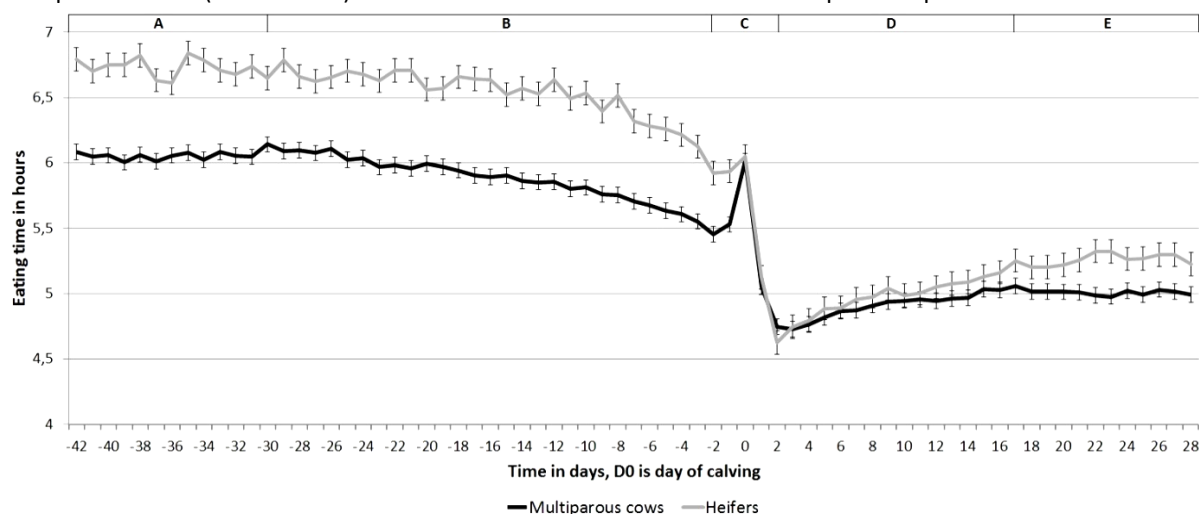


Figura 1. Tiempo promedio de comida de vacas multíparas y vaquillas con ESM (n=1141, en 17 granjas) durante los 42 días antes del parto y 28 días después del parto (d -42 a d +28). El tiempo de comida se divide en cinco periodos. Periodo A, d -42 a d -30; Periodo B, d -30 a d -2; Periodo C, d -2 a d +2; Periodo D, d +2 a d +17 y Periodo E, d +17 a d +28. El día 0 es el día del parto.

DISCUSIÓN

Los resultados indican que hay una fuerte relación entre el tiempo de comida durante el periodo de transición y los tres parámetros de fertilidad considerados en este estudio, y también confirman el efecto que tiene la granja en cada caso, con lo cual el uso de la tecnología de sensores en una granja abre varias posibilidades para el control de la fertilidad.

Una mayor desviación estándar (DE) en el tiempo diario de comida durante el Periodo B resultó en un mayor número de inseminaciones, lo cual indica una menor probabilidad de fecundación. Esto pudo confirmarse con el hallazgo de que un intervalo esperado entre partos más largo se relaciona también con una mayor DE en el Periodo B. Así pues, la variación en el tiempo de comida diario durante el Periodo B es importante para las variables de fertilidad. Los granjeros deberían por lo tanto

tratar de mantener un consumo de alimento estable durante el periodo seco, lo cual puede lograrse de varias maneras: 1) asegurándose de que haya siempre suficiente alimento apetecible; 2) asegurarse de que todas las vacas puedan comer al mismo tiempo (evitando la sobreacumulación); 3) asegurarse de que haya suficientes alojamientos de calidad para que las vacas se echen a rumiar, y 4) monitorear continuamente el tiempo de comida y el CMS mediante sensores automáticos.

El análisis del Periodo C mostró que los índices de fertilidad eran peores cuanto mayor era la diferencia entre el tiempo de comida dos días antes del parto y dos días después del parto. Esta gran diferencia puede ser indicativa de un más profundo punto bajo en BEN. La investigación de Canfield y Butler (24, 25) mostró una relación aparente entre el balance energético posparto y el tiempo de la primera ovulación, así como la profundidad del BEN y el comienzo de la secreción pulsátil de lutropina u hormona luteinizante (HL). La primera ovulación puede ocurrir en cuanto la secreción de HL deja de ser inhibida. Aparentemente, esto sucede una vez que el balance energético negativo ha alcanzado su punto más bajo y comienza a ganar equilibrio, lo cual demuestra la existencia de una importante relación entre el BEN y la fertilidad (24, 25).

Los índices de fertilidad empleados en este trabajo funcionaron mejor con las vaquillas que con las vacas. Varios reportes han demostrado que el fluido folicular no es igual en unas y en otras. La baja calidad de los ovocitos puede deberse a las diferencias entre los microambientes en los que se desarrollan (26, 27). Algunos estudios muestran diferencias en la manera de expresar el estro de las vaquillas y aquél de las vacas, si bien los resultados son contradictorios (28, 29). Además, las vacas multíparas más viejas son más susceptibles de desarrollar problemas de fertilidad. Mientras que la producción de leche ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, la fertilidad ha disminuido (2). Con sus registros del tiempo de comida para cada vaca, los sensores podrían ayudar a supervisarlas de manera individual a fin de mejorar los parámetros de fertilidad.

Por último, se calculó el efecto de la granja en todos los parámetros de fertilidad considerados. Los resultados indican que el beneficio derivado del

uso de sensores para tomar decisiones de manejo pueden variar considerablemente de una granja a otra. El control de la fertilidad podría mejorar con la medición del tiempo de comida diario de cada una de las vacas.

CONCLUSIÓN

Estos resultados permiten profundizar en la relación que existe entre el tiempo de comida y el tiempo de reposo durante el periodo de transición y la fertilidad, tomando en cuenta las diferencias entre las granjas. Un efecto práctico de esto es que el tiempo de comida durante el periodo seco es un factor muy importante para alcanzar buenas variables de fertilidad después del parto. De particular interés es el hecho de que por primera vez se ha logrado demostrar la relación que existe entre las fluctuaciones en el tiempo de comida antes del parto y las variables de fertilidad posparto. Más aún, parece ser un hecho la posibilidad de predecir los niveles posparto de BHB a partir de los datos derivados de los sensores.

BIBLIOGRAFÍA

1. F. J. C. M. van Eerdenburg, Introduction. *Vet Quart* 30, supplement 1, 3-10 (2008).
2. J. Roelofs, F. López-Gatius, R. H. F. Hunter, F. J. C. M. van Eerdenburg, C. Hanzen, When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* 74, 327-344 (2010).
3. F. López-Gatius, P. Santolaria, I. Mundet, J. L. Yániz, Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology* 63, 1419-1429 (2005).
4. T. J. Reimers, R. D. Smith, S. K. Newman, Management factors affecting reproductive performance of dairy cows in the northeastern United States. *J. Dairy Sci* 68, 963-972 (1985).
5. F. J. C. M. Van Eerdenburg, H. S. H. Loeffler, J. H. Van Vliet, Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet Quart* 18, 52-54 (1996).
6. F. J. C. M. van Eerdenburg, The pedometer, an automated aid in the detection of oestrus. *Vet Quart* 30, supplement 1, 49-57 (2008).
7. A. A. Adewuyi, J. B. Roelofs, E. Gruys, M. J. Toussaint, F. J. van Eerdenburg, Relationship

- of plasma nonesterified fatty acids and walking activity in postpartum dairy cows. *J Dairy Sci* 89, 2977-2979 (2006).
8. A. J. Itle, J. M. Huzzey, D. M. Weary, M. A. von Keyserlingk, Clinical ketosis and standing behavior in transition cows. *J Dairy Sci* 98, 128-134 (2015).
 9. M. L. Stangaferro, R. Wijma, L. S. Caixeta, M. A. Al-Abri, J. O. Giordano, Use of rumination and activity monitoring for the identification of dairy cows with health disorders: Part I. Metabolic and digestive disorders. *J Dairy Sci* 99, 7395-7410 (2016).
 10. K. Schirmann et al., Short communication: Rumination and feeding behaviors differ between healthy and sick dairy cows during the transition period. *J Dairy Sci* 99, 9917-9924 (2016).
 11. G. Urton, M. A. G. von Keyserlingk, D. M. Weary, Feeding Behavior Identifies Dairy Cows at Risk for Metritis. *J Dairy Sci* 88, 2843-2849 (2005).
 12. J. E. Pryce, M. P. Coffey, G. Simm, The relationship between body condition score and reproductive performance. *J Dairy Sci* 84, 1508-1515 (2001).
 13. I. M. Sheldon, G. S. Lewis, S. LeBlanc, t. R. O. Gilber, Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, 1516-1530 (2006).
 14. G. Esposito, P.C. Irons, E. C. Webb, A. Chapwanya, Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Anim Reprod Sci* 144, 60-71 (2014).
 15. C. Goldhawk, N. Chapinal, D. M. veira, D. M. Weary, M. A. G. von Keyserlingk, Prepartum feeding behavior is an early indicator of subclinical ketosis. *J Dairy Sci* 92, 4971-4977 (2009).
 16. J. M. Huzzey, M. A. G. von Keyserlingk, D. Weary, Changes in Feeding, Drinking, and Standing Behavior of Dairy Cows During the Transition Period. *J Dairy Sci* 88, 2454-2461 (2005).
 17. J. P. Goff, R. L. Horst, Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 80, 1260-1268 (1997).
 18. T. van Werven et al., The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, post partum disease and culling rate. *Theriogenology* 37, 1191-1203 (1992).
 19. J. F. Roche, D. Mackey, M. D. Diskin, Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci* 60-61, 703-712 (2000).
 20. W. R. Butler, Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci* 60-61, 449-457 (2000).
 21. I. Richter, I. Halachmi, Y. Parmet, in EAAP. (Belfast, 2016), pp. 509.
 22. T. M. Therneau, P. M. Grambsch, Modeling survival data: extending the Cox model., (Springer, New York, ed. 1, 2000).
 23. K. P. Burnham, R. A. Anderson, Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach., (Springer, New York, ed. 2, 2002).
 24. R. W. Canfield, W. R. Butler, Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. *J Anim Sci* 69, 740-746 (1991).
 25. R. W. Canfield, W. R. Butler, Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Dom Anim Endocrinol* 7, 323-330 (1990).
 26. K. Bender, S. Walsh, A. C. Evans, T. Fair, B. L.A., Metabolite concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows. *Reproduction* 139, 1047-1055 (2010).
 27. S. G. Moore, A. O'Gorman, L. Brennan, T. Fair, S. T. Butler, Follicular fluid and serum metabolites in Holstein cows are predictive of genetic merit for fertility. *Reprod Fertil Dev Reprod Fertil Dev.* , 658-669 (2017).
 28. D. Cavestany et al., Oestrus behavior in heifers and lactating dairy cows under a pasture-based production system. *The Veterinary Quarterly* 30, supplement 1, 10-36 (2008).
 29. J. H. Van Vliet, F. J. C. M. Van Eerdenburg, Sexual activities and oestrus detection in lactating Holstein cows. *Appl Anim Beh Sci* 50, 57-69 (1996).