

RECENTES AVANÇOS NA RELAÇÃO ENTRE NUTRIÇÃO E REPRODUÇÃO EM RUMINANTES

Almeida, A.P.¹, Souza, A.L.¹, Menezes E.S.B.¹, Arruda I.J.¹, Rondina D.¹

¹ Laboratório de Nutrição e Produção de Ruminantes

Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil;

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Davide Rondina

Laboratório de Nutrição e Produção de Ruminantes (LANUPRUMI)

Universidade Estadual do Ceará – Faculdade de Veterinária.

Av. Paranjana, 1700. Campus do Itaperi, 60740-000, Fortaleza, Ceará, Brasil

Tel: 085.31019858 Fax: 085.31019840

E-mail: davide@uece.br

RESUMO

A nutrição influencia a fertilidade, diretamente através do fornecimento de nutrientes específicos, que são necessários para os processos de desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação; e, indiretamente, atuando sobre as concentrações circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o sucesso destes processos. Especificamente, não existe nenhum nutriente requerido para a reprodução que não atue em outras funções fisiológicas normais no corpo, tornando-se difícil determinar as funções específicas e mecanismos pelos quais a nutrição pode afetar as funções reprodutivas. Sabe-se que o crescimento folicular é controlado principalmente por gonadotrofinas e por fatores de crescimento produzidos pelo próprio folículo, mas existem vários outros fatores atuantes, tais como a nutrição, que podem influenciar o desenvolvimento folicular e a qualidade do oócito e, conseqüentemente, a fertilidade. A taxa de ovulação, nos adultos, é particularmente sensível ao fornecimento de nutrientes, embora este mesmo parâmetro possa sofrer a atuação da nutrição ainda durante o desenvolvimento fetal e pós-natal inicial. Após a ovulação, observa-se que uma das consequências dos efeitos deletérios da nutrição sobre o desenvolvimento do oócito podem ser as alterações inerentes ao estresse celular, ocasionadas pela aceleração do metabolismo embrionário, comprometendo a sobrevivência do embrião, especialmente no período de pré-implantação. Durante o pós-parto, a divisão de nutrientes leva o animal a uma perda da condição de escore corporal e ocasiona uma parada do ciclo estral nos ruminantes. Embora se conheça a existência dos efeitos da nutrição energética sobre a reprodução, constata-se a existência controversa de dados sobre os reais mecanismos neuro-endócrinos que regulam os efeitos da nutrição energética sobre a reprodução dos ruminantes.

Palavras chaves: Nutrição, Reprodução, Ruminantes.

ABSTRACT

The nutrition influences the fertility directly through the supply of nutritious specific that they are necessary for the processes of development of the follicle, ovulation, oocyte maturation, fertilization, embryonic survival and the establishment of the gestation and indirectly, through your influence in the circulating concentrations of the hormones and other sensitive metabolites to the nutrients that are requested for the success of these processes. Specifically, any nutritious one doesn't exist requested for reproduction that doesn't act in other normal physiologic functions in the body and, therefore, it becomes difficult to determine the specific functions and mechanisms for the which the nutrition can affect the reproductive functions. In what it refers to the growth of the follicle, this is controlled mainly through the gonadotrofinas and for growth factors produced locally, but several environmental factors exist, as the nutrition, they can influence development follicular and quality of the oocyte, and consequently the fertility. Besides the effects fetal nutricionais and powder-native initials on the ovulation rate in adults, there are moments during adult life when ovulation rate is also particularly sensitive to the supply of nutritious. After the ovulation, it is observed that one of the effects of the nutrition on the development of the oocyte is the cellular stress, expressed through the acceleration of the embryonic metabolism, what can commit the survival of the embryo, especially in the pré-implantation period. During the postparturition, the division of nutrients group the animal to a loss of the condition of corporal score and it causes a stop of the cycle estral in ruminants. Although it knows her the existence of the effects of the energy nutrition about the reproduction, is verified a lot of controversies in the real neuro-endocrine mechanisms that regulate the effects of the energy nutrition on the reproduction of the ruminant ones.

Key words: Nutrition, Reproduction, Ruminants.

INTRODUÇÃO

A reprodução é uma das primeiras e principais funções afetadas em situações de desequilíbrio nutricional, as quais são primariamente resultantes de falhas no ajuste do balanço entre a disponibilidade de nutrientes e seus requerimentos, tanto pelos animais em reprodução como por aqueles que irão ainda iniciar sua vida reprodutiva. No Nordeste, a exploração de ruminantes é caracterizada por um baixo índice produtivo e reprodutivo. O manejo nutricional é ligado, sobretudo, à utilização da vegetação natural (caatinga) e a sua variação quantitativa e qualitativa no decorrer do ano, o que minimiza a utilização das biotécnicas reprodutivas como forma de melhoria da produtividade. O status nutricional é um determinante fundamental da eficiência e capacidade reprodutiva e, em vista disso, para assegurar a produtividade, deve-se garantir o bom desempenho das funções reprodutivas.

Nos ruminantes, a nutrição influencia a fertilidade, diretamente através do fornecimento de nutrientes específicos, que são necessários para os processos de desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação; e, indiretamente, atuando sobre as concentrações circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o sucesso destes processos (Robinson *et al.*, 2006).

Especificamente, não existe nenhum nutriente requerido para a reprodução que não atue sobre outras funções fisiológicas normais do organismo, tornando-se difícil determinar as funções específicas e mecanismos pelos quais a nutrição pode afetar as funções reprodutivas (Roche e Diskin, 1994). São vários os relatos da influência nutricional sobre o desempenho reprodutivo, mostrando a relação íntima entre fertilidade, condição corporal e estado nutricional nas fêmeas de ruminantes (Robinson, 1996). Sabe-se, também, que a prática do “flushing” (incremento nutricional por curtos períodos antes da monta), extensamente utilizada por fazendeiros para aumentar fertilidade, especialmente para animais com uma pobre condição corporal (Robinson, 1996), tem sido associada a um aumento do desenvolvimento de folículos ovarianos e diminuição da porcentagem de folículos de atrésicos (Maurasse, 1985).

Portanto, o potencial reprodutivo é influenciado pelos efeitos nutricionais a curto e a longo-prazo sobre o estro e durante os diferentes estados fisiológicos, quando a fertilidade e a fecundação nos animais podem ser grandemente condicionadas (Scaramuzzi e Murray, 1994).

Sendo assim, esse trabalho tem por objetivo apresentar os principais efeitos da nutrição sobre as diferentes fases da reprodução nos ruminantes.

NUTRIÇÃO NO ÚTERO E SUBSEQÜENTE FERTILIDADE

Nos ruminantes, vários estudos vêm sendo realizados no sentido de se conhecer os efeitos da nutrição no ambiente uterino, no momento da puberdade e, conseqüentemente, na fertilidade durante a vida adulta. Em cordeiros, Da Silva *et al.* (2001) observaram um atraso de 5 semanas no início da puberdade dos animais com crescimento intra-uterino retardado (2,8 kg ao nascimento), comparado ao grupo controle (5,2 kg).

Nesse experimento, Rae *et al.* (2002a) relataram que um baixo nível alimentar ($0,5 \times$ manutenção) durante os 3 primeiros meses da gestação resultou em ovelhas, aos 20 meses de idade, apresentando uma taxa de ovulação média (1,17 vs 1,46) inferior à observada naquelas adequadamente nutridas ($1,0 \times$ manutenção), mesmo na ausência de diferença significativa de peso corporal entre os grupos. Esta redução na taxa de ovulação, devido à nutrição uterina inicial, não levou a alterações nas gonadotrofinas hipofisárias, nem na fase de vida fetal, nem na adulta (Rae *et al.*, 2002b; Borwick *et al.*, 2003).

Recentes evidências mostraram plausível a existência do efeito da nutrição sobre o desenvolvimento fetal do ovário. Na Figura 1, estão esquematizados os principais efeitos da nutrição sobre o desenvolvimento ovariano durante toda a fase fetal.

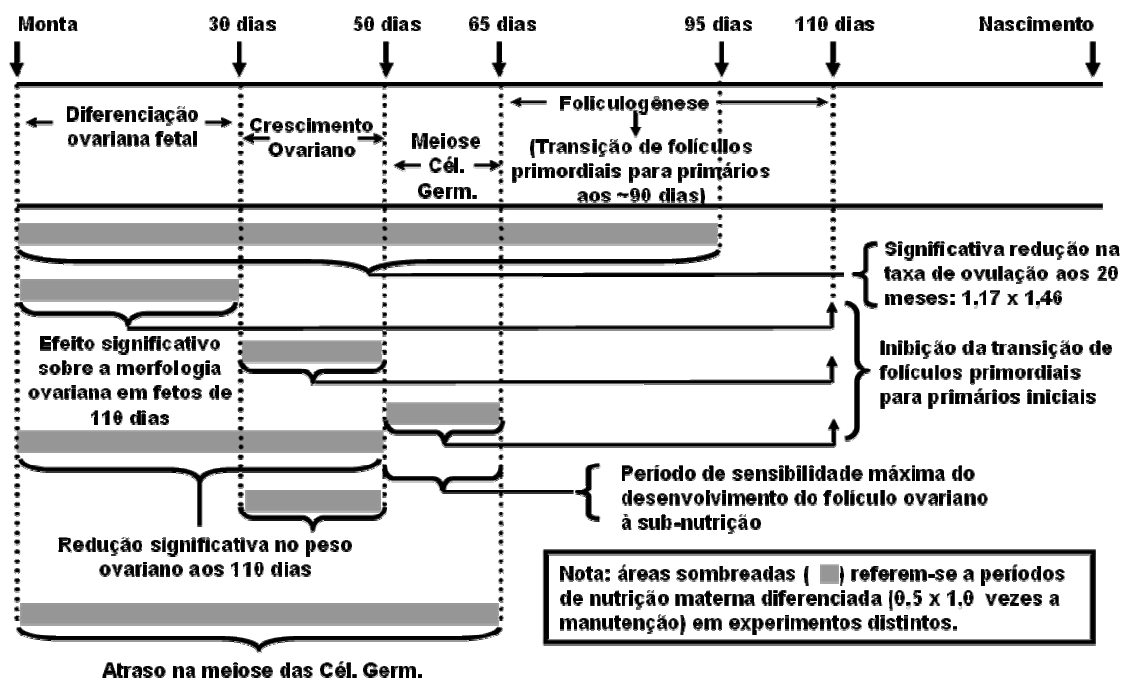


Fig. 1. Períodos críticos, durante a gestação em ovelhas, para a expressão dos efeitos da sub-nutrição materna ($0,5 \times M$ vs. $1,0 \times M$) sobre o desenvolvimento ovariano fetal (elaborado a partir de experimentos realizados por Borwick *et al.* (1997) e Rae *et al.* (2001, 2002a)). Após McEvoy & Robinson (2002).

Fonte: Robinson *et al.*, 2006.

NUTRIÇÃO E FOLICULOGÊNESE NOS RUMINANTES

Nos ruminantes monovulatórios, como os bovinos, o folículo primordial cresce até se tornar atrésico ou continua até a ovulação. Porém, ainda não são totalmente conhecidos os mecanismos que controlam o início e o número de folículos primordiais que começam a crescer (Webb *et al.*, 2004). Alguns estudos confirmaram que leva meses para um folículo primordial alcançar o estágio pré-ovulatório (Fig. 2). Embora o crescimento folicular seja controlado principalmente através das gonadotrofinas e por fatores de crescimento produzidos localmente, vários fatores ambientais, como a nutrição, podem influenciar o desenvolvimento folicular e a qualidade do oócito e, conseqüentemente, a fertilidade (Garnsworthy e Webb, 1999; Webb *et al.*, 2003).

O consumo alimentar atua sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano, em vários níveis. Os fatores de crescimento são importantes no crescimento inicial do folículo, considerando que gonadotrofinas são essenciais para as fases finais de crescimento folicular. Nesta fase, o folículo dominante troca sua exigência de FSH para LH. Evidências afirmam que as gonadotrofinas podem influenciar o desenvolvimento folículo pré-antral e os fatores de crescimento podem influenciar o desenvolvimento do folículo continuamente.

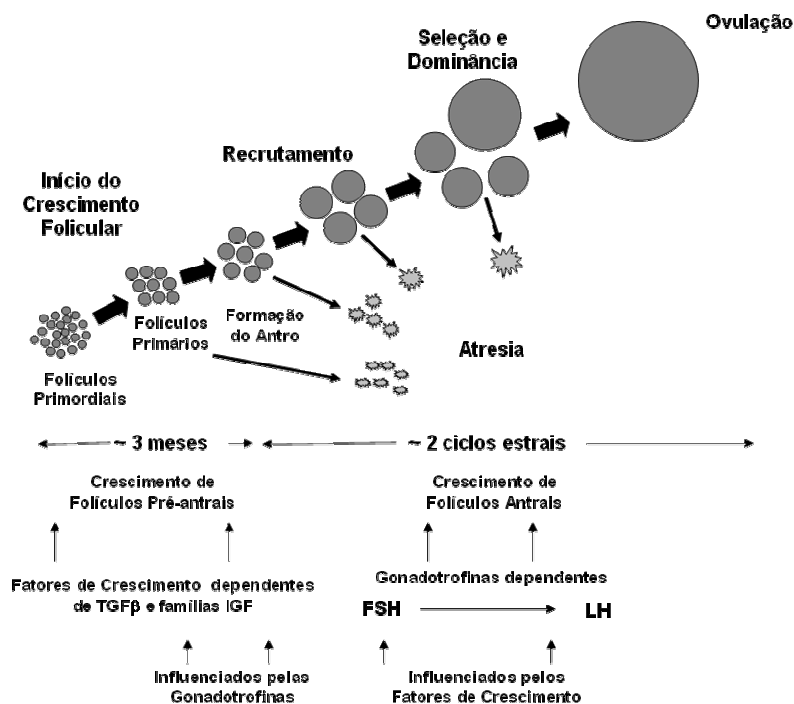


Fig. 2. Crescimento folicular contínuo. Representação esquemática dos requerimentos por fatores de crescimento, como o TGF β e famílias de IGF, e gonadotrofinas em diferentes fases do desenvolvimento do folículo ovariano em bovinos.

Fonte: Webb *et al.*, 2004.

Mudanças em curto-prazo no plano nutricional têm demonstrado influenciar o recrutamento de pequenos folículos antrais (1 a 4 mm), sem afetar as concentrações circulantes de FSH (Armstrong *et al.*, 2001, 2002b; Gong *et al.*, 2002a), resultando em um maior número de ovulações após um tratamento superovulatório (Gong *et al.*, 2002a). A dieta foi positivamente relacionada, por diversos autores, à taxa de crescimento e tamanho do folículo ovulatório (Bossis *et al.*, 2000; Armstrong *et al.*, 2001). Durante a lactação, o prolongamento do balanço energético negativo é o principal fator que limita o crescimento folicular (Beam e Butler, 1997). Os fatores extra-ovarianos, como hormônios metabólicos (Fig. 3) e fatores de crescimento produzidos localmente estão envolvidos nas mudanças nutricionalmente induzidas na dinâmica folicular e qualidade do oócito.

Os potenciais efeitos da ação da nutrição sobre a função ovariana incluem efeitos sistêmicos: (i) ao nível hipotalâmico, através da síntese e liberação de GnRH; (ii) hipófise anterior, através do controle da síntese e liberação de FSH, LH e hormônio de crescimento (GH); e (iii) ao nível ovariano por regulação do crescimento folicular e síntese de esteróides. Existem possíveis sítios locais de ação por efeitos da cascata de fatores de crescimento e suas proteínas ligantes dentro do ovário. Nenhum estudo foi realizado em bovino para se determinar os efeitos específicos da nutrição sobre a função hipotalâmica. Os efeitos de GnRH foram deduzidos a partir das frequências dos pulsos de LH.

Há um grande número de fatores metabólicos que estão envolvidos no regulamento da função ovariana. Estes incluem hormônios e fatores de crescimento, como insulina, glucagon, leptina, GH, hormônios tireoidianos (T3 (Triiodotironina) e T4 (Tiroxina)), IGF hepático e suas proteínas ligantes, como também combustíveis metabólicos, como glicose, ácidos graxos, lipoproteínas de baixa e alta densidade (LDL e HDL, respectivamente).

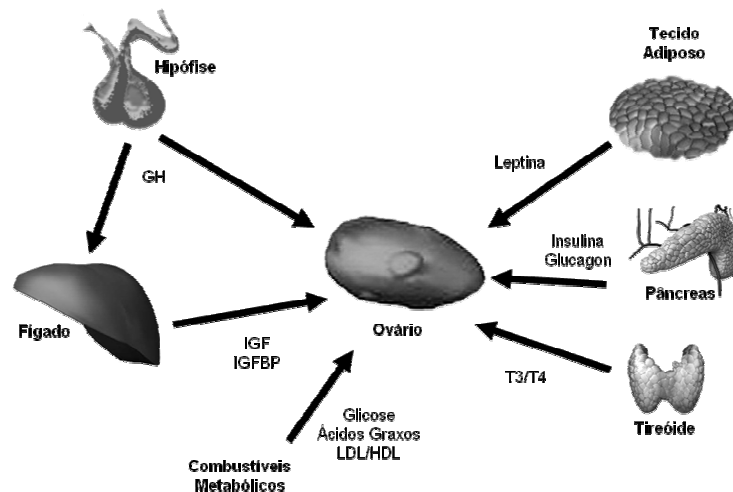


Fig. 3. Interação entre fatores metabólicos e função ovariana.

Fonte: Adaptada de Webb *et al.*, 2004.

EFEITOS NUTRICIONAIS SOBRE A TAXA DE OVULAÇÃO

O folículo ovariano é parte integrante do processo reprodutivo, pois tem o papel principal no controle do ciclo estral, determinando o comportamento estral, assegurando a competência do oócito e subsequente taxa de sobrevivência embrionária, determinando tanto o funcionamento do corpo lúteo após a ovulação quanto a síntese de progesterona.

Além dos efeitos nutricionais fetais e pós-natais sobre a taxa de ovulação em adultos, há momentos durante a vida adulta nos quais a taxa de ovulação também é particularmente sensível ao fornecimento de nutrientes (Quadro 1). Em ovelhas, um destes momentos é cerca de 6 meses antes da monta, quando os folículos ovarianos emergem do *pool* de folículos primordiais e têm seu crescimento comprometido. Neste momento, a subnutrição reduz o número de folículos que emergem e que estará disponível para ovulação. Recentemente, descobriu-se que a redução da taxa de ovulação pode ser prevenida através do incremento nutricional (*flushing*) no período de 10 dias antes da monta. De fato, o período crítico para que ocorra um efeito estimulatório da suplementação nutricional pode ser até mesmo inferior a 10 dias. Assim, Viñoles Gil (2003) concluiu que o efeito benéfico da nutrição pôde ser dado em um curto período de tempo, como 8 a 4 dias antes da ovulação (Dias 10 a 14 do ciclo estral), que coincide com o aparecimento da onda folicular ovulatória. A sincronização do estro permite a precisão na aplicação da suplementação nutricional. Porém, a variação do momento da monta que ocorre em rebanhos que ovulam espontaneamente faz com que todas as ovelhas recebam o estímulo nutricional por um período prolongado de suplementação nutricional, iniciado, comumente, 10 dias antes da introdução dos carneiros no rebanho.

Quadro 1. Janelas críticas durante as quais a taxa de ovulação de ovelhas é particularmente sensível à nutrição.

Janela nutricionalmente sensível	Órgão / tecido alvo	Mecanismo
Feto		
50-65 dias	Ovário fetal	Alteração na meiose das células germinativas
Neonato		
Pré-desmama	N/D	N/D
Adulto		
6 meses antes da ovulação	Ovário	Alteração no número de folículos saindo do <i>pool</i> primordial
10 dias antes da ovulação	Hipotálamo, hipófise	Mudanças no crescimento folicular ovariana e atresia, qualidade do oócito e taxa de ovulação
4-8 dias antes da ovulação	Ovário	Mudanças no crescimento folicular ovariana e atresia, qualidade do oócito e taxa de ovulação

N/D: não determinado.

Fonte: A partir de dados revisados de Robinson *et al.* (2002) e Viñoles Gil (2003).

EFEITOS NUTRICIONAIS SOBRE O OÓCITO

Em ruminantes, pesquisas de métodos que aumentam a eficiência da múltipla ovulação e transferência de embriões e, mais recentemente, em sistemas *in vitro* de produção de embriões a partir de oócitos obtidos por aspiração de folículos ovarianos têm fornecido novos conhecimentos sobre o impacto da nutrição da doadora sobre a qualidade do oócito.

Um dos efeitos da nutrição sobre o desenvolvimento do oócito é o estresse celular, observado através da aceleração do metabolismo embrionário, o que pode comprometer a sobrevivência do embrião, especialmente no período de pré-implantação (Leese, 2002). Esse efeito adverso sobre os oócitos provavelmente envolve a inibição no crescimento e metabolismo das células da granulosa que sustentam o oócito (Rooke *et al.*, 2004). Outro fator importante é a fase e o tamanho específico do folículo, salientando que os folículos pré-antrais e de tamanho médio são os mais afetados. Sabendo-se que folículos de tamanho médio podem ter sua ovulação induzida através do uso de gonadotrofinas, os efeitos da nutrição parecem ser mais prevalentes em animais estimulados por gonadotrofinas que naqueles que ovulam espontaneamente.

Em vacas leiteiras de alta produção, um balanço energético negativo ao início da lactação pode comprometer o desenvolvimento do oócito que estabelece a próxima gestação.

O oócito se desenvolve em um ambiente bioquímico variável no interior do folículo, que reflete as mudanças causadas pela nutrição nas concentrações séricas de metabólitos que indicam o *status* energético, protéico e mineral (Leroy *et al.*, 2004a). As vacas que perdem de forma intensa a condição corporal no início da lactação (Snijders *et al.*, 2000) e aquelas com altas concentrações hepáticas de triglicerol, que são indicativos de mobilização excessiva de gordura (Kruip *et al.*, 2001), produzem oócitos de qualidade inferior como observado pela redução no desenvolvimento *in vitro*.

Recentemente, Jorritsma *et al.* (2004) observaram que altas concentrações de ácidos graxos não-esterificados (AGNEs), que ocorrem em casos de subnutrição, reduzem a proliferação *in vitro* de células da granulosa, retardando a maturação do oócito, prejudicando, desta forma, a produção de blastocistos. Assim, o efeito nutricional sobre a qualidade do oócito pode contribuir para a baixa fertilidade de vacas leiteiras de alto rendimento (Royal *et al.*, 2000). Leroy *et al.*, (2004b), sugerem que também pode haver um componente genético específico para esse efeito adverso.

A Fig. 4 fornece uma visão dos principais achados de vários estudos sobre nutrição. Ao contrário de ovelhas e vacas que ovulam espontaneamente e para as quais um elevado plano alimentar é benéfico à qualidade do oócito, o oposto ocorre em animais superovulados e seus oócitos utilizados para produção *in vitro* de embriões. O efeito adverso é acentuado em animais de boa condição corporal (Adamiak *et al.*, 2003), para os quais quantidades elevadas de concentrados são fermentadas rapidamente no rúmen (Yaakub *et al.*, 1999).

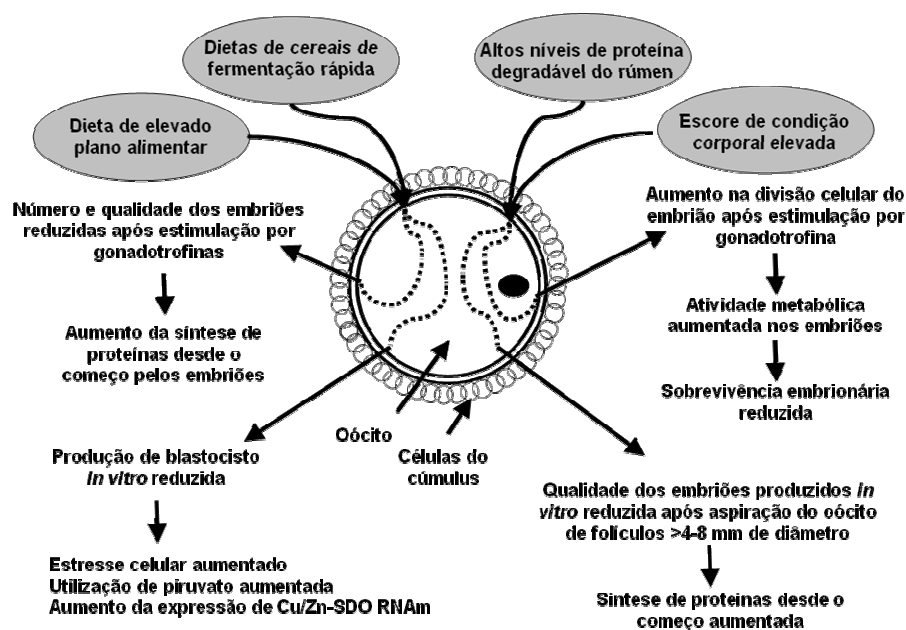


Fig. 4 Efeitos do plano nutricional e tipo da dieta durante a maturação do oócito no desenvolvimento de embriões de ruminantes após superovulação e/ou produção *in vitro*. Fonte: Lozano *et al.*, 2003.

Nos ruminantes, CCOs de folículos antrais e embriões nos estágios iniciais de desenvolvimento são circundados por fluidos, dos quais eles obtêm seus nutrientes e liberam os produtos da atividade metabólica. Os CCOs são completamente circundados por fluido folicular antral, sendo separados deste pelas células da granulosa, que conectam a granulosa mural ao CCO. Imediatamente após a ovulação, muito do revestimento do cúmulus que circunda o embrião de ruminante é perdido (Thompson & Wales, 1987), de forma que a fertilização e o desenvolvimento embrionário inicial ocorrem em meio a fluidos do oviduto e do útero. Realmente, o embrião ruminante é completamente dependente de uma fonte de nutrição histotrófica por um período prolongado do desenvolvimento, em relação a outras espécies mamíferas, pois não forma nenhuma conexão principal com o lúmen uterino até que ocorra o início da organogênese, que ocorre a partir do Dia 19 em vacas (Betteridge & Flechon, 1988).

METABOLISMO E DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

O embrião, na fase de pré-implantação, parece se adequar bem mais a baixas taxas de consumo metabólico, bem mais compatível com o seu potencial de desenvolvimento e viabilidade, do que às altas taxas de consumo, que é característico de stress metabólico (Leese, 2002). Sendo assim, os primeiros ciclos de clivagem de embriões bovinos no estágio de pré-implantação dependem principalmente da oxidação de nutrientes, especificamente piruvato para o suprimento energético (Thompson *et al.*, 1996). Como em outras espécies (Leese, 1995), existe um aumento do consumo de glicose e produção de lactato com a compactação embrionária (Thompson *et al.*, 1996). Embora a taxa de consumo de glicose aumente com o decorrer das últimas clivagens, a principal fonte de obtenção de energia pelo blastocisto é a fosforilação oxidativa e não a glicólise (Leese, 2002). Foi demonstrado, recentemente, que o primeiro aumento marcante na oxidação de glicose acontece entre as fases de 12 e 16 células no embrião, mas a incorporação de maiores níveis de glicose começa a se dar continuamente a partir de 16 células e fase de blastocisto (Khurana & Niemann, 2000). Portanto, condições de hiperglicemia podem demonstrar a associação entre metabolismo embrionário, stress e potencial de desenvolvimento futuro, onde uma elevação no metabolismo da glicose, particularmente via glicólise, pode ser vista como uma resposta do embrião ao stress (Leese, 2002).

Lonergan *et al.* (2003) relataram genes relacionados a processos fisiológicos importantes no desenvolvimento de embriões bovinos no estágio de pré-implantação, tais

como transporte e metabolismo de frutose (GLUT-5), atividade mitocondrial (MnSOD), comunicação celular (Cx43), reconhecimento materno da gestação (IFN τ), fator de crescimento (IGF) e metabolismo e estresse oxidativo (G6PD). Métodos como a RT-PCR têm sido utilizados para demonstrar um grande número de genes relacionados aos fatores de crescimento, que são expressos durante o desenvolvimento de pré-implantação do embrião, tais como mRNAs de TGF- α , IGF-I e IGF-II, e também do LIF (De Sousa, 1998). Os produtos dos genes TGF- α , receptor de insulina, IGF-I e IGF-II têm apresentado um padrão de expressão similar em embriões bovinos e ovinos em desenvolvimento (Watson *et al.*, 1994). A expressão precoce desses fatores de crescimento (IGF-I, IGF-II, TGF- α e LIF) no embrião sugere que essas moléculas desempenham papéis essenciais para a manutenção da progressão do embrião ao longo da primeira semana de desenvolvimento. Reforçando a função desses genes, a aplicação de um único fator de crescimento ou uma associação destes em meio de cultivo livre de soro demonstrou promover o desenvolvimento de embriões bovinos (Schultz *et al.*, 1996).

BALANÇO ENERGÉTICO MATERNO E DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO INICIAL

Os embriões de várias espécies de mamíferos, principalmente na fase de pré-implantação, são bastante sensíveis ao ambiente no qual se desenvolvem, sendo bastante susceptíveis às condições de cultivo, se produzidos *in vitro*, bem como às condições da dieta materna, quando produzidos *in vivo* (Figura 5). A dieta materna tem um grande impacto tanto sobre o fenótipo embrionário durante a pré-implantação quanto ao longo de seu desenvolvimento posterior. As dietas muito ricas em proteínas, quando fornecidas a ovelhas próximo ao período de concepção, mostraram estar associadas à baixa viabilidade do desenvolvimento embrionário, resultando em crias apresentando um alto peso ao nascer, característico de animais que apresentam a Síndrome da Cria Gigante, ou Large Offspring Syndrome (LOS) (McEvoy *et al.*, 2001). Por outro lado, a subnutrição, neste mesmo período, pode levar a uma série de distúrbios no desenvolvimento e fisiologia fetal, que também se estendem à vida pós-natal, tais como problemas cardiovasculares, osteoporose e diabetes do tipo II (Edwards & McMillen, 2002).

Os embriões de ruminantes, que possuem uma implantação não-invasiva, são dependentes de substâncias nutritivas presentes no útero, decorrentes de adequada nutrição materna para o seu desenvolvimento e sobrevivência (Ashworth, 1995). A disponibilidade de substratos energéticos, especialmente a de glicose e oxigênio, tem sido apontada por sua

capacidade em alterar o desenvolvimento embrionário (Lim *et al.*, 1999). O cultivo de embriões em ambientes que não mantêm essas condições preferenciais do metabolismo estágio-específico oferece menos que o necessário para um desenvolvimento ideal (Matsuyama *et al.*, 1993). Embora alguns fatores tais como estresse térmico e pouca idade materna tenham sido relacionados com baixa viabilidade embrionária, outros fatores podem reduzir a sobrevivência embrionária ao atuarem no rompimento da relação entre o ambiente uterino materno e o embrião. Tem sido relatada, em ovelhas, a relação inversa entre estado nutricional após a cobertura e as concentrações periféricas de progesterona (Williams & Cumming, 1982), na qual baixas concentrações de progesterona após planos alimentares altamente energéticos têm sido associadas a perdas embrionárias.

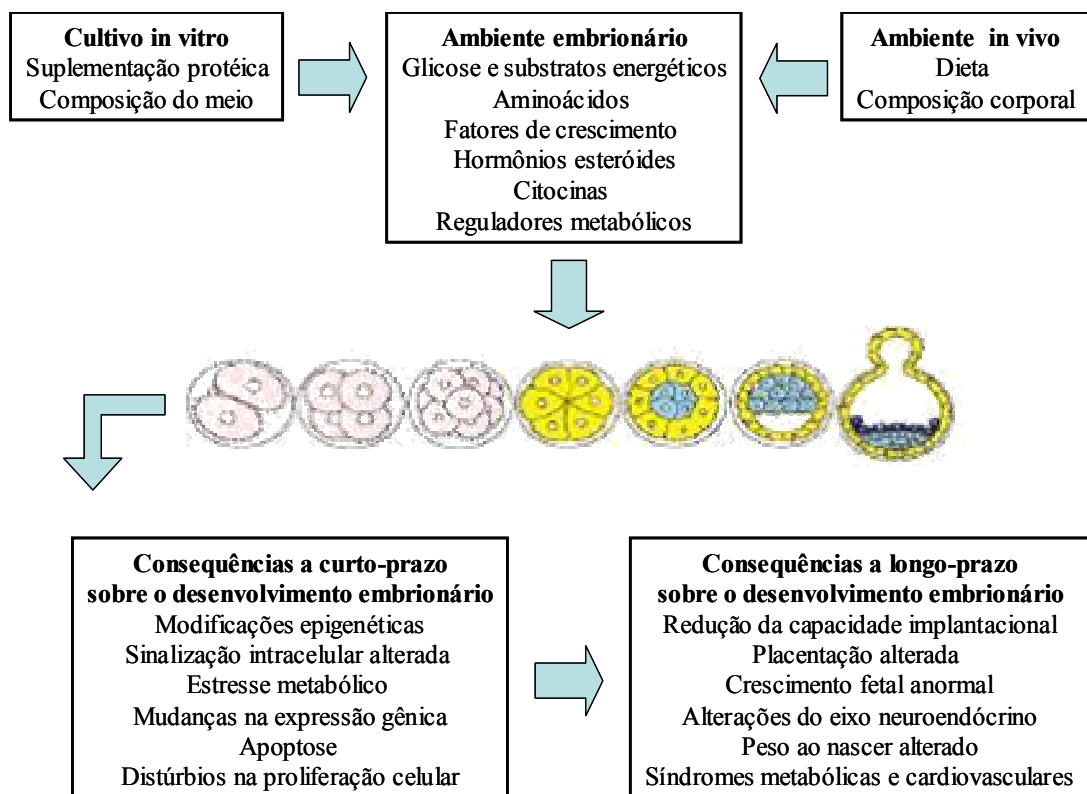


Figura 5. Representação esquemática das interações entre o ambiente de desenvolvimento embrionário e suas consequências a curto e a longo-prazo sobre o potencial de desenvolvimento embrionário e pós-natal (Adaptado de Fleming *et al.*, 2004).

Concordando com os achados de Williams & Cumming (1982), Ashworth (1995) observou que ovelhas superalimentadas durante o início da gestação apresentaram uma

redução na proporção de embriões produzidos. Acredita-se que isso seja resultante do aumento do metabolismo da progesterona, em consequência de uma elevação na atividade de oxidação hepática devido ao maior fluxo sanguíneo porta-hepático em animais bem alimentados, já que o fígado é o principal local de metabolismo de esteróides, metabolizando aproximadamente 95% da progesterona circulante durante uma única passagem, resultando em uma redução das concentrações plasmáticas periféricas de progesterona.

Assim, mudanças no consumo de nutrientes podem influenciar o metabolismo da progesterona, e a manutenção de concentrações adequadas da mesma garante que os mecanismos luteolíticos sejam superados ou suprimidos entre o concepto e o endométrio. Portanto, mudanças na concentração de progesterona modificam a magnitude e a composição dos polipeptídeos secretados pelo endométrio, que são proteínas essenciais para o crescimento e desenvolvimento do concepto, e algumas possuem papel importante no transporte de nutrientes insolúveis em água através da placenta (Ashworth, 1995).

As restrições alimentares por um curto período de tempo aumentaram, subseqüentemente, a taxa de gestação em bovinos (Dunne *et al.*, 1997). Mantovani *et al.* (1993) relataram que a produção de embriões transferíveis, em novilhas de corte superovuladas diminuiu significativamente quando estas tiveram livre acesso ao concentradas comparadas àquelas submetidas a níveis restritos de energia. Além disso, o tipo e a quantidade de concentrado afetou a produção posterior dos embriões transferíveis depois da superovulação em novilhas de corte (Yaakub *et al.*, 1996). As novilhas que foram submetidas a uma dieta restrita, onde o suplemento concentrado predominante era polpa cítrica de beterraba, produziram embriões transferíveis melhores quando comparadas àquelas que receberam concentrado à base de cevada ou que receberam esses concentrados *ad libitum*. As restrições alimentares severas (aproximadamente 66% de exigências energéticas de manutenção) demonstraram ter efeitos benéficos sobre a taxa de desenvolvimento embrionário quando novilhas foram superovuladas. Nesses animais, os embriões foram coletados no Dia 7 e depois submetidos ao cultivo *in vitro* durante 24 horas (Nolan *et al.*, 1998). A restrição de nutrientes resultou em um aumento no número de blastocistos depois do cultivo de embriões por 24 h, aumentando também o número de células totais por blastocistos.

Lozano *et al.*, em 2000, utilizaram ovelhas como modelos experimentais para se determinar o efeito da nutrição sobre a qualidade embrionária, e a superovulação foi usada para aumentar o rendimento de embriões. Uma baixa porcentagem de embriões de boa qualidade foi recuperada no Dia 4 a partir de ovelhas submetidas a uma baixa dieta energética (0,5 EM) e a uma dieta *ad libitum*, quando comparada com animais sob uma dieta de controle (1,5 EM). Porém, os embriões do grupo alimentado *ad libitum* se mostraram

atrasados quanto ao seu desenvolvimento, comparado àqueles de ovelhas submetidas a baixas dietas. Além disso, oócitos desse último grupo (0,5 EM) obtiveram baixas taxas de fertilização. Devido a menor resposta para o tratamento superovulatório (em termos do número de animais que mostraram estro e baixa taxa de ovulação), o rendimento dos embriões foi mais baixo dentro do grupo *ad libitum* quando comparado ao controle (1,5 EM) e o grupo baixa dieta energética (0,5 EM) (Lozano *et al.*, 2000).

EFEITOS NUTRICIONAIS PÓS-PARTO

Uma série de adaptações fisiológicas e anatômicas ocorre no útero e no ovário das fêmeas em lactação com o objetivo de restaurar sua capacidade reprodutiva (Jainudeen *et al.*, 2004).

Logo após o parto, o útero sofre involução, um processo definido como mudanças retrógradas no organismo feminino nas quais o útero retorna ao seu tamanho e à atividade cíclica de um animal não prenhe (Kirakopfe, 1980). Vários fatores como: parto, nutrição, raça e estação influenciam o tempo completo de involução uterina (O'Shea & Wright, 1984). O período de involução uterina é variável entre as espécies e está relacionado com o tipo placentário (Nascimento *et al.*, 2003).

Com o intuito de explicar a natureza da coordenação de processos biológicos durante a lactação, os pesquisadores utilizaram a teoria de Sherrington (Sherrington, 1947). Esta coordenação ocorre entre reações bioquímicas dentro da célula, sendo indicada pela redução na síntese de ácidos graxos e aumento na lipólise que ocorre no tecido adiposo no início da lactação. As mudanças sequenciais ocorrem nos tecidos específicos. Por exemplo, a atividade da lipase, o consumo de ácidos graxos pré-formados, na lipogênese *de novo*, e as atividades de enzimas-específicas na síntese de ácidos graxos são reduzidas no tecido adiposo no início da lactação. Estas enzimas e reações bioquímicas são aumentadas na glândula mamária durante o início da lactação. Além disso, as reações de coordenação, freqüentemente, envolvem diferentes órgãos e processos fisiológicos.

Já se sabe que a ocorrência de mudanças no *status* interno do animal, na lactação, estabelece mudanças na seleção da dieta ou estratégias de forragens. E em fêmeas ruminantes lactantes, o rúmen se expande devido ao aumento da absorção de nutrientes e, como conseqüência, aumentando as taxas de trocas dos metabólitos no sangue, permitindo uma crescente ingestão de alimentos (Bunnell & Guillingham, 1985).

A produção e a composição do leite dependem da capacidade das células e glândula mamária de retirar nutrientes do sangue, convertendo-os em constituintes do leite e, em

seguida, liberando-os para o alvéolo mamário. Existe um equilíbrio isotônico entre o sangue e o leite, entretanto, pouco se conhece deste equilíbrio entre os componentes individuais dos mesmos. As células da glândula mamária lactante utilizam 80% dos nutrientes disponíveis para a síntese de leite, obtidos a partir dos constituintes do sangue. Os precursores dos constituintes do leite são os aminoácidos livres, glicose, acetato, ácidos graxos e triacilgliceróis, que são requeridos para formar a gordura, proteína e lactose do leite. Uma limitação em qualquer um destes precursores reduz a produção e leva a mudanças em sua composição (Jelink *et al.*, 1996).

A alta produção de leite em vacas depende dos altos níveis de energia obtidos pela alimentação e, se as concentrações de progesterona são baixas, o ambiente uterino é alterado, e a fertilidade pode diminuir dependendo da qualidade e composição da dieta. (Butler & Smith, 1989).

Nos ovinos, o número de cordeiros lactantes exerce uma influência significativa na produção de leite, uma vez que ovelhas com mais de uma cria produzem 40% de leite a mais que uma ovelha com apenas uma cria e ainda, o pico de lactação além de ser maior, é alcançado mais cedo, na segunda ou terceira semana de lactação, decrescendo mais rapidamente. Por outro lado, ovelhas com um só cordeiro apresentam o pico de lactação entre a terceira e a quinta semana de lactação. Logo, um aumento no estímulo resulta no aumento da frequência e duração da lactação.

O anestro é o estado de aciclicidade ovariana, refletindo numa completa inatividade sexual, sem manifestação de estro (Wright & Malm, 1992), além de anovulação acompanhada de concentrações de progesterona menores que 0,5 ng/mL (Arregum *et al.*, 1997). Em vacas, o período de anestro pós-parto é uma condição associada à presença de um ovário estático. Embora eles apresentem desenvolvimento folicular, nenhum folículo ovariano inicia seu crescimento.

Em vacas, o anestro pós-parto é fisiológico, sendo que este só é considerado anormal quando ultrapassa um período de 90 dias (Fallas *et al.*, 1987). Entretanto, em regiões tropicais esse período pode chegar a mais de 150 dias (Vacaro, 1990), ocasionando um dos maiores problemas, levando a perdas econômicas consideráveis.

Em vacas leiteiras e de corte, os fatores que afetam a duração do período de anestro pós-parto são o estado nutricional, amamentação, raça, idade, número de parto, produção de leite, estação de parição, presença ou ausência do reprodutor, involução uterina tardia e distocias (Randel *et al.*, 1990).

A existência da interação entre reprodução e nutrição é bem evidente em ruminantes (Arregum *et al.*, 1997). A subnutrição ou consumo inadequado de nutrientes relacionados com

a demanda metabólica é um dos maiores fatores que contribuem para o prolongamento do anestro pós-parto, principalmente para animais que dependem das forragens naturais para obter seus requerimentos nutricionais (Jolly *et al.*, 1995). Essa subnutrição pode interagir com a genética, ambiente ou manejo, influenciando a duração do anestro e, embora suas interações não estejam claramente estabelecidas, são ativadas através dos mecanismos hormonais (Jolly *et al.*, 1996).

Durante o início da lactação, os requerimentos de energia para a produção de leite e manutenção nos ruminantes excede a disponibilidade de energia gerada pelo consumo de alimentos, expondo os animais a um período de balanço energético negativo (Jorristma *et al.*, 2004). Esse período é caracterizado por baixo peso corporal e aumento da mobilização de gordura, podendo persistir em vacas leiteiras um período de 10 a 12 semanas da lactação (Bauman & Currie, 1980). Vale ressaltar que o nível de déficit energético está relacionado diretamente com a produção de leite (Butler *et al.*, 1981).

Nos ruminantes, as necessidades nutricionais para a produção de leite levam ao balanço energético negativo, que vai da 1^a à 4^a semana pós-parto e está correlacionado com o dia em que irá ocorrer a primeira ovulação. A duração do intervalo pós-parto representa uma importante interação entre o estado energético e a performance reprodutiva, estando diretamente associada à taxa de concepção durante o período da estação reprodutiva consecutiva.

Durante os períodos de balanço energético negativo, a produção de leite é mantida pela mobilização de energia pelas reservas de gorduras corporais. A partir de então, os precursores para síntese de gordura do leite são mobilizados da composição de ácidos graxos, diferentemente do leite, sintetizado quando energia suficiente é absorvida pelo trato digestivo (Ekéns *et al.*, 2003).

A divisão de nutrientes durante o período pós-parto leva o animal a uma perda da condição de escore corporal e ocasiona uma parada do ciclo estral em vacas de corte (Richards *et al.*, 1998) e de leite (Edmonson *et al.*, 1989). Alguns autores verificaram uma significativa relação entre o balanço energético negativo e a duração do anestro pós-parto (Canfield & Butler, 1990). Estes observaram que a primeira ovulação ocorre aproximadamente 10 a 14 dias após o balanço energético negativo e, quando a ovulação ocorre, o balanço energético pode estar ainda negativo, mas em todos os casos o estado nutricional encontrava-se diminuído (Zurek *et al.*, 1995). Logo, durante o período inicial da lactação, a performance reprodutiva em vacas de leite, particularmente a taxa de concepção, é associada à magnitude do balanço energético negativo (Nebel & McGilliard, 1993). Em vacas

de corte, a nutrição precedente ao parto reflete o CCS ao nascimento, sendo este um grande determinante da duração do anestro pós-parto (Selk *et al*, 1988).

Os efeitos da lactação sobre a reprodução são dependentes concomitantemente do consumo de energia obtida do alimento e, subseqüentemente, da função do eixo hipotalâmico-pituitário-ovariano (HPO) em vacas no pós-parto. Uma relação inversa entre o balanço energético e a função ovariana pós-parto pode ser representada pelas mudanças de escore corporal. Vacas com baixa condição de escore corporal, durante os primeiros meses pós-parto, apresentam um intervalo longo até apresentarem a primeira ovulação no período pós-parto (Jorristma, *et al.*, 2004).

A duração do intervalo anovulatório pós-parto pode mensurar o potencial dos efeitos do balanço energético sobre o desempenho reprodutivo. Além disso, constantemente, demonstra-se uma relação dos efeitos do balanço energético e o número de dias até a primeira ovulação e, ambos os níveis de balanço energético negativo (Staples & Thatcher, 1990) e as mudanças no balanço energético (Beam & Butler, 1997) têm alterado o momento da primeira ovulação em vacas no pós-parto.

O período para primeira ovulação é de aproximadamente 25 a 30 dias do pós-parto, com uma variação de 17 a 42 dias (Butler & Smith, 1989). Este balanço energético durante as primeiras três ou quatro semanas do pós-parto tem sido correlacionado ao intervalo para a 1ª ovulação (Lucy *et al.*, 1991; Beam & Butler, 1999).

Portanto, vale ressaltar que, a influência dos níveis de balanço energético negativo durante o início das primeiras semanas pós-parto parece ser um sinal para iniciar a atividade do ciclo ovariano. Sendo assim, o número de dias do balanço energético está correlacionado positivamente com o número de dias até a primeira ovulação (Canfield & Butler, 1990; Canfield *et al.*, 1990; Beam & Butler 1997).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A nutrição energética consiste no principal fator modulador da eficiência reprodutiva de ruminantes. As desfavoráveis condições edafo-climáticas do meio fazem com que a oferta de forragem, base da alimentação desses animais, fique, em boa parte do ano, aquém das necessidades dos rebanhos, tanto do ponto de vista quantitativo quanto qualitativo. Este fator é determinante, na maioria das vezes, de uma baixa condição de escore corporal e, conseqüentemente, de um medíocre desempenho reprodutivo.

Embora se conheça a existência dos efeitos da nutrição energética sobre a reprodução de ruminantes, constatam-se muitas controvérsias sobre os reais mecanismos neuro-endócrinos que regulam os efeitos da nutrição energética sobre a reprodução.

A eficiência reprodutiva dos ruminantes é o resultado da fertilidade, prolificidade e sobrevivência das crias, fatores estes que são fortemente influenciados pela nutrição. A disponibilidade de nutrientes tem sido correlacionada com a melhoria dos índices reprodutivos e produtivos em ruminantes, sendo fundamental no controle da eficiência de tecnologias voltadas para a reprodução.

Sendo assim, torna-se de fundamental importância o conhecimento dos efeitos da nutrição sobre a fertilidade, oócito e processo de foliculogênese terminal, no sentido de se aumentar a resposta aos tratamentos de superovulação e, assim, viabilizar a utilização de técnicas reprodutivas. No entanto, há uma literatura relativamente escassa sobre os efeitos específicos da nutrição sobre a dinâmica folicular, ovulação, desenvolvimento competente do oócito, fertilização, desenvolvimento embrionário e metabolismo no pós-parto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) ARREGUM, J.A.A.; SANTOS, R.E.; VILLA-GODOY, A.; ROMÁN-PONCE, H. Dinámica folicular ovárica en vacas Cebú con diferente condición corporal y frecuencia de amamantamiento durante el peryodo anovulatorio posparto. División de Educación Continua, Unam, F.M.V.Z. (Eds.), VII Curso Internacional de Reproducción Bovina. Méx., D.F. 210–240p., 1997.
- 2) ASHWORTH, C.J. Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos. *Livestock Production Science*, v.44, p. 99-105, 1995.
- 3) ADAMIAK, S.J.; MACKIE, K.; POWELL, K.A.; WATT, R.G.; DOLMAN, D.F.; WEBB, R.; SINCLAIR, K.D. Body composition and dietary energy intake affect folliculogenesis, oocyte quality and early embryo development. *Reproduction Abstract Series* v.30, p.62–63, 2003.
- 4) ARMSTRONG, D.G.; MCEVOY, T.G.; BAXTER, G.; ROBINSON, J.J.; HOGG, C.O.; WOAD, K.J.; WEBB, R. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production *in vitro*: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biology of Reproduction* v.64, p.1624–1632, 2001.
- 5) BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in post-partum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement* V.54, p.411–424, 1999.
- 6) BEAM, S.W. & BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in cows differing in energy balance. *Journal of Dairy Science*, v. 81, 121-131p., 1997.
- 7) BETTERIDGE, K.J.; FLECHON, J-E. The anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos. *Theriogenology*, v.29, p.155-187, 1988.
- 8) BORWICK, S.C., RHIND, S.M., MCMILLEN, S.R., RACEY, P.A., 1997. Effect of undernutrition of ewes from the time of mating on fetal ovarian development in mid gestation. *Reprod. Fert. Dev.* 9, 711–715.
- 9) BORWICK, S.C.; RAE, M.T.; BROOKS, A.N.; MCNEILLY, A.S.; RACEY, P.A.; RHIND, S.M. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic–pituitary function in adulthood. *Animal Reproduction Science* v.77, p.61–70, 2003.
- 10) BOSSIS, I.; WETTEMANN, R.P.; WELTY, S.D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L.J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumptions of ovulation. *Biology of Reproduction* v.62, p.1436–1444, 2000.
- 11) BUNNELL, F.L. & GUILLINGHAM, M.P. Foraging behaviour: dynamics of dining out. In: Hudson, R.J., White, R.G. (Eds.), *Bioenergetics of Wild Herbivores*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 53-79p., 1985.
- 12) BUTLER W.R. & SMITH R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v. 72, 767-783p., 1989.
- 13) BUTLER W.R.; EVERETT R.W.; COPPOCK C.E. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *Journal of Animal Science*, v. 53, 742-748p., 1981.
- 14) CANFIELD, R.W. & BUTLER W.R. Energy balance and pulsatile luteinizing hormone secretion in early postpartum dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 7, 323-330p., 1990.
- 15) DE SOUSA, P.A.; WATSON, A.J.; SCHULTZ, G.A.; BILODEAU-GOESEELS, S. Oogenetic and Zygotic Gene Expression Directing Early Bovine Embryogenesis: A Review. *Molecular Reproduction and Development*, v.51, p.112-151, 1998.

- 16) DA SILVA, P.; AITKEN, R.P.; RHIND, S.M.; RACEY, P.A.; WALLACE, J.M. Effect of maternal overnutrition during pregnancy on pituitary gonadotrophin gene expression and gonadal morphology in female and male foetal sheep at day 103 of gestation. *Placenta* v.24, p.248–257, 2001.
- 17) DUNNE LD, DISKIN MG, BOLAND MP, O'FARRELL KJ. SREENAN JM. Nutrition and embryo survival in cattle. *Ir J Agric Food Res*, 36: 95. abst, 1997.
- 18) EDWARDS, L.J.; MCMILLEN, I.C. Periconceptional nutrition programs development of the cardiovascular system in the fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.283, p.R669–R679, 2002.
- 19) EDMONSON A.J.; LEAN I.J.; WEAVER L.D.; FARVER T.; WEBSTER G. A. Body condition scoring chart for Holstein dairy cows, *Journal Dairy Research*. v. 72, 68-78p., 1989.
- 20) EKNÆS, M., KOLSTAD, K., HARAHI, V., HOVE, K. Changes in body reserves and milk quality throughout lactation in dairy goats *Small Ruminant Research* v. 63, 1-11p., 2003.
- 21) FALLAS, M.R.; ZARCO, Q.L.; GALINA, C.S.; BASURTO, H. Efecto del amamantamiento sobre la actividad ovárica posparto en vacas F1 (Holstein /Indobrasil) en dos tipos de pasto. INIFAP (Ed.), *Reunión de Investigación Pecuaria en México* 348–349p. 1987.
- 22) FLEMING, T.P.; KWONG, W.Y.; PORTER, R.; URSELL, E.; FESENKO, I.; WILKINS, A.; MILLER, D.J.; WATKINS, A.J.; ECKERT, J.J. The embryo and its future. *Biology of Reproduction*, v.71, p.1046-1054, 2004.
- 23) GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. The influence of nutrition on fertility in dairy cows. Pages 39–58 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, U.K, 1999.
- 24) GONG, J.G.; ARMSTRONG, D.G.; BAXTER, G.; HOGG, C.O.; GARNSWORTHY, P.C.; WEBB, R. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. *Theriogenology* v.57, p.1591–1602, 2002a.
- 25) KHURANA, N.K.; NIEMANN, H. Energy metabolism in preimplantation bovine embryos derived in vitro or in vivo. *Biol Reprod* , v.62, p.847-856, 2000.
- 26) KIRACOPFE, G.H. Uterine involution: its role in regulating postpartum intervals. *Journal of Animal Science*, v. 51 (Suppl. 2), 16–28p., 1980.
- 27) KRUIP, T.A.M.; WENSING, T.; VOS, P.L.A.M. Characteristics of abnormal puerperium in dairy cattle and the rationale for common treatments. In: Diskin, M.G. (Ed.), *Fertility in the High Producing Dairy Cow*. Occasional Publication No. 26. British Society of Animal Science, Edinburgh, p.63–79, 2001.
- 28) JAINUDEEN, M. R. ; WAHID H. ; HAFEZ, E. S. E. *Ovinos e Caprinos in : Reprodução Animal 7ª Edição Ed. Manole, 173-182p. 2004.*
- 29) JELINK, P ; GAJÜSEK, S. ; ILLEK, J. Relationship between selected indicators of milk and blood in sheep. *Small Ruminant Research*, v. 20, 53-57p., 1996.
- 30) JOLLY, P.D.; MCSWEENEY, C.S.; SCHLINK, A.C.; HOUSTON, E.M.; ENTWISTLE, K.W. Reducing post-partum anoestrous interval in first-calf *Bos indicus* crossbred beef heifers. III. Effect of nutrition on responses to weaning and associated variation in metabolic hormone levels. *Australian Journal Agricultural Research*, v. 47, 927–942p., 1996.
- 31) JOLLY, P.D. ; MCDOUGALL, S.; FITZPATRICK, L.A. ; MACMILLAN, K.L. ; ENTWISTLE, K.W. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *Journal Reproduction Fertility*, v. 49 (Suppl.), 477–492p., 1995.
- 32) JORRITSMA, R.; C'ESAR, M.L.; HERMANS, J.T.; KRINTWAGEN, C.L.J.J.; VOS, P.L.A.M.; KRUIP, T.A.M. Effects of non-esterified fatty acids on bovine

- granulosa cells and developmental potential of oocytes *in vitro*. *Animal Reproduction Science*, v.81, p.225–235, 2004.
- 33) LEESE, H.J. Quiet please, do not disturb: a hypothesis of embryo metabolism and viability. *Bioessays* v.24, p.845–849, 2002.
 - 34) LEESE, H.J. Metabolic control during preimplantation mammalian development *Human Reproduction Update*, v.1, p.63–72, 1995.
 - 35) LEROY, J.L.M.R.; GOOSSENS, L.; GELDHOFF, A.; VANHOLDER, T.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A.; DE KRUIF, A. Embryo quality and color in Holstein Friesian and Belgian Blue cattle in relation to donor blood cholesterol and triglycerides. *Reproduction, Fertility and Development* v.16, p.211, 2004b.
 - 36) LEROY, J.L.M.R.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J.R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A.; BOLS, P.E.J.; DE KRUIF, A. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. *Animal Reproduction Science* v.80, p.201–211, 2004a.
 - 37) LIM, J.M.; REGGIO, B.C.; GODKE, R.A.; HANSEL, W. Development of in-vitro-derived bovine embryos cultured in 5% CO₂ in air or in 5% O₂, 5% CO₂ and 90% N₂. *Human Reproduction*, v.14, p.458-464, 1999.
 - 38) LUCY, M.C.; STAPLES, C.R.; MICHEL, F.M.; THATCHER, W.W. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 74, 473-482p., 1991.
 - 39) LONERGAN, P.; RIZOS, D.; KANKA, J.; NEMCOVA, L.; MBAYE, A.M.; KINGSTON, M.; WADE, M.; DUFFY, P. AND BOLAND, M.P. Temporal sensitivity of bovine embryos to culture environment after fertilization and the implications for blastocyst quality. *Reproduction*, v.126, 337–346, 2003.
 - 40) LOZANO JM, BOLAND MP, O'CALLAGHAN D. Effect of nutrition on embryo development in ewes. *Proc Internat Congr Anim Reprod Stockholm*.; In press, 2000.
 - 41) LOZANO, J.M.; LONERGAN, P.; BOLAND, M.P.; O'CALLAGHAN, D. Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. *Reproduction*, v.125, p.543–553, 2003.
 - 42) MANTOVANI, R.; ENRIGHT, W. J.; KEANE, M. G.; ROCHE, J. F.; BOLAND, M. P. Effect of nutrition and dose of follicle stimulating hormone (FSH) on superovulatory response in beef heifers. *Proceedings of the 9th meeting of the Association Europeenne de Transfert Embryonnaire*, abstract n° 234, Lyon, 1993.
 - 43) MATSUYAMA, K.; MIYAKOSHI, H.; FUKUI, Y. Effect of glucose during the in vitro culture in synthetic oviduct fluid medium on in vitro development of bovine oocytes matured and fertilized in vitro. *Theriogenology*, v.40, p.595-605, 1993.
 - 44) MAURASSE, C.; MARTON, P.; DUFOUR, J.J. Ovarian follicular populations at two stages of an oestrus cycle in heifers given high energy diets. *Journal of Animal Science*, v.61, p.1194–200, 1985.
 - 45) MCEVOY, T.G.; ROBINSON, J.J. Nutrition of the dam and growth of the foetus. In: Maillard, R. (Ed.), *Gestation. Journées Européennes organisées par la Société Française de Buiatrie*. Société Française de Buiatrie, Paris, p.159–169, 2002.
 - 46) MCEVOY, T.G.; ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A.; SINCLAIR, K.D. Feed and forage toxicants affecting embryo survival and fetal development. *Theriogenology*, v.55, p.113–129, 2001.
 - 47) NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. *Patologia da reprodução dos animais domésticos 2^a ed.* Ed. Guanabara Koogan, 137p. 2003.
 - 48) NEBEL R.L. & MCGILLIARD M.L. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows, *Journal Dairy Science*, v. 76, 3257-3268p., 1993.
 - 49) O'SHEA J.D. & WRIGHT P.J. Involution and regeneration of the endometrium following

- 50) parturition in the ewe. *Cell and Tissue Research*, v. 236, 477–485p., 1984.
- 51) RAE, M.T.; RHIND, S.M.; FOWLER, P.A.; MILLER, D.W.; BROOKS, A.N. Effect of maternal undernutrition on fetal testicular steroidogenesis during the CNS androgen-responsive period in male sheep fetuses. *Reproduction* v.124, p.33–39, 2002a.
- 52) RAE, M.T.; RHIND, S.M.; KYLE, C.E.; MILLER, D.W.; BROOKS, A.N. Maternal undernutrition alters triiodothyronine concentrations and pituitary response to GnRH in fetal sheep. *Journal of Endocrinology*, v.173, p.449–455, 2002b.
- 53) RANDEL, R.D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal Animal Science*, v. 68, 853 - 862p., 1990.
- 54) RICHARDS, M.W.; WETTEMANN, R.P.; SCHOENEMANN, H.M. Nutritional anestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinizing hormone in serum and ovarian activity. *Journal Animal. Science*, v. 67, 1520–1526p., 1989.
- 55) ROBINSON, J.J.; ASHWORTH, C.J.; ROOKE, J.A.; MITCHELL, L.M.; MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, v.126, p.259–276, 2006.
- 56) ROBINSON, J.J.; ROOKE, J.A.; MCEVOY, T.G. Nutrition for conception and pregnancy. In: *Sheep nutrition* Freer M., Dove H. (eds), CABI Publishing CSIRO Publishing, Canberra, p.189-211, 2002
- 57) ROBINSON JJ. Nutrition and reproduction. *Animal Reproduction Science*, v.42, p.25–34, 1996.
- 58) ROCHE, J.F.; DISKIN, M.G. Hormonal regulation of reproduction and interactions with nutrition in female ruminants. In: *Proceedings of the Eighth International Symposium on Ruminant Physiology*, September 1994, Willengen, Germany, 1994.
- 59) ROOKE, J.A.; EWEN, M.; MACKIE, K.; STAINES, M.E.; MCEVOY, T.G.; SINCLAIR, K.D. Effect of ammonium chloride on the growth and metabolism of bovine ovarian granulosa cells and the development of ovine oocytes matured in the presence of bovine granulosa cells previously exposed to ammonium chloride. *Animal Reproduction Science* v.84, p.53–71, 2004.
- 60) ROYAL, M.D.; DARWASH, A.O.; FLINT, A.P.F.; WEBB, R.; WOOLLIAMS, J.A.; LAMMING, G.E. Declining fertility in dairy cattle: Changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Animal Science (Pencaitland)* v.70, p.487–502, 2000.
- 61) SCARAMUZZI R. J.; MURRAY J. F. The nutrient requirements for the optimum production of gametes in assisted reproduction in ruminant animals. X^o Réunion A.E.T.E. 1069-10 September 1994 - Lion (France), 85-103, 1994.
- 62) SCHULTZ, G.A.; HARVEY, M.B.; WATSON, A.J.; ARCELLANA-PANLILIO, M.Y.; JONES K, WESTHUSIN, M.E. Regulation of early embryonic development by growth factors: Growth factor gene expression in cloned bovine embryos. *Journal Animal Science*, v. 74(suppl 3), p.50–57, 1996.
- 63) SELK, G.E.; WETTEMANN, R.P.; LUSBY, K.S.; OLTJEN, J.W.; MOBLEY, S.L.; RASBY, R.J.; GARMENDIA, J.C. Relationship among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *Journal Animal. Science*, v. 66, 3153–3159p., 1988.
- 64) SHERRINGTON, C. *The Integrative Action of the Nervous System*, 2nd ed. Yale University Press, New Haven, Connecticut, 1947.
- 65) SNIJDERS, S.E.M.; DILLON, P.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on *in vitro* oocyte development in dairy cows. *Theriogenology* v.53, p.981–989, 2000.

- 66) STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W.; CLARK, J.H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v. 73, 938-947p., 1990.
- 67) THOMPSON JG. Detining the requirements for bovine embryo culture. *Theriogenology*, v.45 : p.27-40, 1996.
- 68) THOMPSON, J.G.; WALES, R.G. Observations on the loss of the cellular vestment surrounding superovulated sheep oocytes. *Animal Reproduction Science*, v.15, p.169-175, 1987.
- 69) VACCARO, R. Comportamiento de bovinos para doble propósito en el trópico, Seminario Internacional sobre Lecher'ya Tropical. Villahermosa, Tabasco, México, p. 14-35p., 1990.
- 70) VIÑOLES G. Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe Doctoral Thesis, Uppsala, Sweden: Department of Clinical Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, 2003.
- 71) WATSON, A.J., WATSON, P.H., ARCELLANA-PANLILIO, M., WARNES, D., WALKER, S.K., SCHULTZ, G.A., ARMSTRONG, D.T., SEAMARK, R.F.. A growth factor phenotype map for ovine preimplantation development. *Biol. Reprod.*, v. 50, p.725-733, 1994.
- 72) WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; GONG, J.G.; ARMSTRONG, D.G. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. *Journal of Animal Science*, v.82, p.63-74, 2004.
- 73) WEBB, R.; NICHOLAS, B.; GONG, J.G.; CAMPBELL, B.K.; GUTIERREZ, C.G.; GARVERICK, H.A.; ARMSTRONG, D.G. Mechanism regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reproduction in Domestic Ruminants V. Reproduction Supplement v.61*, p.71-90, 2003.
- 74) WILLIAMS, A.H.; CUMMING, I.A. Inverse relationship between concentrations of progesterone and nutrition in ewes. *J. Agric. Science*, v.98, p.517-522, 1982.
- 75) WRIGHT, P.J.; MALMO, J.; Pharmacologic manipulation of fertility. *Veterinary Clinics North American*. v. 8, 57-89p., 1992.
- 76) YAAKUB, H.; O'CALLAGHAN, D.; DUFFY, P.; DUBY, R. T.; BOLAND, M. P. Effect of concentrate type and quatity on superovulation in cattle. *Proceedings of Techniques for gamete manipulation and storage*. Hamilton, New Zeland, p.37, 1996.
- 77) YAAKUB H, O'CAKGHAN D, BOLAND MP. Effect of roughage type and concentrate supplementation on follicle numbers and in vitro fertilization and development of oocytesrecovered from beef heifers. *Animal Reproduction Science* v.55, p.1-12, 1999.
- 78) ZUREK E.; FOXCROFT G.R.; KENNELLY J.J. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows, *Journal Dairy Science*, v. 78, 1909-1920p., 1995.