



EFFECTO DE LA NUTRICION SOBRE LA EFICIENCIA REPRODUCTIVA DE LOS BOVINOS

JF Roche^a and MG Diskin^b

^aDepartment of Animal Husbandry and Production,
Faculty of Veterinary Medicine, University College
Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland.

^bTeagasc Research Centre, Athenry, Co. Galway,
Ireland

INTRODUCCION

La alta eficiencia reproductiva es un componente clave para una producción eficiente y la rentabilidad de los sistemas de producción lecheros o de carne. Sin embargo los parámetros de fertilidad en vacas lecheras están declinando (Cuadro 1) por ende una baja eficiencia reproductiva afecta la rentabilidad debido a:

- * Largos intervalos interparto resultan en menos leche y menor número de terneros cada año.
- * Aumento del descarte debido a fallas reproductivas reduce el progreso genético y aumenta los costos de reemplazos.
- * Bajas tasas de concepción aumentan los costos de semen y gastos veterinarios.
- * Un largo período seco o de baja producción puede resultar en vacas con un estado corporal excesivo con los subsecuentes problemas reproductivos.

Los requerimientos claves para una alta eficiencia reproductiva son los siguientes:

- * Una involución uterina normal.
- * Un retorno a la ciclicidad temprano.
- * Una alta eficiencia en la detección de celo.
- * Una alta tasa de concepción por servicio.

La nutrición puede afectar el comienzo de la pubertad, la dinámica del ciclo estral, la incidencia de problemas ginecológicos post parto, y el intervalo a la primera ovulación en el periodo post parto temprano y la tasa de concepción a la IA. Por ende, es un componente vital de un buen programa de manejo reproductivo para obtener una alta eficiencia reproductiva en vacas.

1.Sub nutrición crónica

Sub nutrición crónica y dinámica de las ondas foliculares.

Murphy et al. (1) fueron los primeros en determinar el efecto de diferentes niveles de consumo dietario en los patrones de crecimiento folicular y la función luteal durante el ciclo estral. Durante el ciclo estral, comenzando aproximadamente 5 semanas luego de suministrada la dieta, el diámetro máximo y la persistencia del folículo dominante (FD) fue decreciendo en vaquillonas con restricciones aunque las mismas siguieron ovulando. Observaciones similares fueron encontradas en estudios subsiguientes utilizando vaquillonas, donde se dio un gradual decremento de la tasa de crecimiento, diámetro

máximo y persistencia de los FD ocurrieron hasta el anestro, (2,3,4), y en vacas lecheras post parto donde un balance energético negativo fue asociado con un menor diámetro máximo. (5). Durante el período de restricción alimenticia cuando los animales tuvieron un balance energético negativo pero aun continuaron ciclando, no cambió ni el largo del ciclo estral ni la proporción de animales con 2 o 3 ondas foliculares durante los ciclos estrales (2,4). La medición por ultra sonido de los cuerpos lúteos durante la restricción nutricional crónica también muestra un decrecimiento lineal en el tamaño con una disminución del peso corporal (2,3), con el diámetro máximo menor del cuerpo lúteo ocurriendo en el ciclo precedente al anestro.

Intervalo del comienzo de la restricción dietaria al anestro.

El comienzo del anestro nutricional se ha demostrado que ocurre luego de un período variable de tiempo desde el comienzo de la restricción nutricional. (2,4). El intervalo desde el comienzo de una restricción dietaria a la presentación del anestro esta inversamente relacionado, a la tasa de perdida de peso. Sin embargo el comienzo del anestro en vaquillonas con restricción nutricional crónica (2,3,4) y vacas (5) parece ocurrir consistentemente cuando los animales han perdido entre un 22 y un 24% de su peso corporal inicial. También se ha reportado la considerable variación entre animales entre estudios, en el intervalo de la restricción dietaria al anestro. Algunos animales entraron en anestro luego de un comparativo corto periodo de restricción dietaria mientras que otros requirieron uno significativamente más largo. La causa de esta variación de animal a animal no esta muy clara pero podría ser de origen genético. Una vez que las vaquillonas entran en anestro, ondas foliculares recurrentes continúan a intervalos regulares (2,6) similar a aquellas reportadas en vaquillonas prepúberes (7) y en vacas de carne postparto en anestro (8) y en vacas lecheras (9), pero el FD se vuelve atrécico.

Dinámica de las ondas foliculares durante la re alimentación.

Aparentemente la re alimentación de vaquillonas inducidas a la anovulación nutricional resulta en un aumento gradual en la tasa de crecimiento con diámetro máximo y persistencia de folículos dominantes. También se produciría una vez que las vaquillonas alcanzan el nivel para recomenzar la ovulación un aceleramiento de ambos, la tasa de crecimiento folicular y el diámetro máximo (4,6). Datos del estudio de Stagg (4) se presentan en la figura 1, donde hay una tendencia a un crecimiento acelerado y un tamaño máximo del FD.

2.Efectos de una subnutrición aguda

Existen pocos reportes de los efectos de una restricción



dietaria aguda en la dinámica de las ondas foliculares en los bovinos. El mayor hallazgo en nuestro estudio inicial (10) fue que la restricción nutricional aguda de vaquillonas ciclando (peso vivo entre \pm DS, 441 \pm 6,9 Kg.; edad 18 a 20 meses) desde 1.2 a 0.4 de mantenimiento, empezando un día antes del fin de un régimen de sincronización con progesterona, causó una disminución significativa en la tasa de crecimiento (1,11 \pm 0,09 versus 1.6 \pm 0,18mm por día) y un diámetro máximo (10.1 \pm 0,71 versus 12.9 \pm 0,44mm) de el FD en la primera onda subsecuente al ciclo estral. En contraste, un consumo dietario en aumento en 1.2 al 2.0 de mantenimiento no tuvo efecto ni en la tasa de crecimiento folicular ni en el diámetro máximo. En un estudio subsecuente, Mackey et al. (11) también han reportado una reducción en el diámetro máximo del folículo ovulatorio luego de 3.5 días de restricción dietaria al 0.4 de mantenimiento. Más aun, la restricción dietaria de 1.2 a 0,4 de mantenimiento, nuevamente redujo el crecimiento (0,96 \pm 0,2mm por día versus 1.28 \pm 0,08mm por día) y un diámetro máximo (10,6 \pm 0,3mm versus 13,8 \pm 0,3mm) de la primera onda del FD del ciclo estral siguiente. En contraste con una restricción dietaria crónica, la restricción aguda tuvo muchos más efectos depresivos inmediatos en la tasa de crecimiento folicular y el diámetro máximo.

Uno de los efectos más importantes de la restricción dietaria aguda del 1.2 a 0.4 de mantenimiento fue la falla del folículo dominante en ovular en un 60 % de las vaquillonas luego de 13 a 15 días- de restricción a pesar de la oportunidad de ovular 2 folículos dominantes sucesivos. Aparentemente la restricción dietaria aguda severa tiene un efecto inmediato no solo en la tasa de crecimiento folicular y el diámetro máximo, sino también compromete la habilidad del folículo para ovular. Esto está en contraposición con los efectos de una restricción dietaria crónica menos severa, donde el comienzo de la anovulación no ocurre hasta que un intervalo significativamente mayor haya transcurrido y hasta que los animales hayan perdido cantidades significativas (22-24%) de masa corporal. La relación entre el tamaño folicular y la probabilidad de ovulación fueron calculadas usando datos de Mackey et al. (11) que emplearon regresión logarítmica (figura 2). De esto es claro que una vez que el diámetro máximo no logra exceder los 9mm tal folículo tiene una probabilidad de ovular menor al 20%. La causa fisiológica de fracaso de la ovulación en estas vaquillonas sometidas a una restricción nutricional aguda es la disminución de la concentración del estrógeno en la fase folicular y una menor concentración de LH durante el pico preovulatorio o la falla para detectarlo. Este modelo nutricional agudo podría ser relevante en vacas lecheras con un balance energético negativo.

3.Efectos de la nutrición en la función ovárica folicular en vacas postparto

El crecimiento folicular surge entre los primeros 10 días post parto tanto en vacas lecheras (12), y de carne (13) y

el fracaso de la ovulación más que la falta del folículo dominante es responsable de anestros postparto prolongados.

Intervalo de anestro post parto en vacas lecheras.

3 patrones distintos de desarrollo folicular, basados en el destino de la primera onda folicular dominante, han sido descritos para vacas lecheras (ver la revisión de Bean y Butler, 1999): (i) ovulación del folículo dominante estrógeno activo durante la primera onda folicular postparto; (ii) desarrollo de una primera onda anovulatoria del folículo dominante no estrógeno activo, seguida de ondas adicionales de desarrollo folicular anovulatorio hasta que la primera ovulación post parto ocurra; y (iii) desarrollo de una primera onda de un folículo dominante estrógeno activo el que forma un quiste folicular. Datos de Bean y Butler (9) muestran que el 46% de las vacas ovularon el primer FD post parto, 31% de las vacas tuvieron al menos 2 ondas de un folículo dominante anovulatorio antes de la primera ovulación y un 23% se transformaron en quísticos. También está claro que la duración del anestro post parto está mucho más relacionado al destino del primer folículo dominante; vacas en las que el primer FD ovuló tuvieron un anestro de 20 días comparado con los 51 días que tuvieron las vacas en las cuales el primer FD no fue quístico pero no ovuló (9).

En vacas lecheras en lactación es difícil de interpretar el efecto específico del consumo en la reproducción porque está influenciado con el nivel de producción de leche. Consecuentemente muchos autores ahora examinan la relación entre balance energético, la diferencia entre consumo de energía utilizable y el gasto de energía para mantenimiento y producción lechera, además de la función folicular. Una asociación negativa entre el balance energético y el anestro post parto prolongado está bien establecida para vacas lecheras (14,15,16). El balance energético durante el post parto temprano cuando déficit son por lo general mayores, aparentemente no afectaron las poblaciones de folículos de 3-5 o de 6-9 mm. presentes en los ovarios tanto en el día 8 (17) como el día 25 post parto(5) o el momento del desarrollo de la primera onda folicular del FD post parto. Lo que es más, estos resultados sugieren que el balance energético negativo en la lactancia temprana no afecta la población folicular o el tiempo de comienzo de crecimiento del folículo dominante, pero si afecta la ovulación del primer FD. Existe alguna evidencia(17) de que la emergencia del folículo dominante posterior más que anterior, el nadir del balance energético tiene tasas de crecimiento más rápidas, diámetros mayores y mayor producción de estrógenos y son, por ende, más propensos a ovular. Es probable que estos cambios en la tasa de crecimiento folicular, diámetro máximo y producción esteroidea son debidos a un aumento en la frecuencia del pulso de LH, el que también es sabido que aumenta luego de que se haya alcanzado el nadir del balance energético, más que al efecto directo de mejoras en el balance energético per se. Por ende, la nutrición puede afectar la secreción de LH mucho más de lo que lo hace con la de FSH.

**Intervalo de anestro post parto en vacas de cría.**

En vacas de carne los efectos del consumo sobre la duración del anestro post parto es aun más confuso por el efecto de la unión del ternero con su madre que tiene un potentemente efecto negativo sobre el intervalo post parto (8,18,19). Numerosos estudios evidencian que un menor consumo pre parto que se refleja por un menor estado corporal (EC) al parto prolonga el intervalo post parto (20,21). Sin embargo, los efectos de los niveles de la nutrición post parto son menos claros, con reportes que van desde ningún efecto en un aumento del consumo en el intervalo post parto a efectos positivos del aumento del consumo en acortar el intervalo post parto(24). Las diferencias descritas pudieron haber sido debidas a factores como diferencias en el estado corporal al parto, nivel de la nutrición post parto y duración del consumo de nutrientes. Existen alguna evidencia que para vacas por debajo de la EC crítica al parto, el aumento el consumo post parto disminuyó significativamente el anestro. En un reciente estudio transnacional de diseño factorial, que involucró distintos genotipos de vacas, donde se examinaron los efectos interactivos de la nutrición pre y post parto y la unión ternero maternal en el anestro post parto, Sinclair et al .(22) concluyeron que EC al parto fue un determinante más efectivo que el consumo dietario post parto en la duración del anestro post parto. Vacas que paren en un EC de 2,0 a 3,0 en la escala del 0 al 5 tuvieron un intervalo promedio a la primera ovulación de 57 días contra 48, respectivamente ($P < 0,05$), mientras que vacas con un consumo dietario post parto alto o bajo (0.6 o 1.0 ME/día/kg MO.75, respectivamente) tuvieron un intervalo a la primera ovulación de 55 y 50 días, respectivamente ($P > 0.05$). Sinclair et al . (22) no pudieron registrar ningún efecto de la nutrición pre parto ni en la tasa de crecimiento ni en el diámetro máximo de la primera onda folicular dominante que emergió luego del día 21 post parto, pero el diámetro máximo del FD de esta onda fue mayor en las vacas con un alto nivel dietario más de las que tuvieron un nivel bajo de energía durante el período post parto (13,2 mm versus 11,8 mm, $P < 0,005$). Lo que aparentemente ocurriría es que mientras que la nutrición pre parto reflejada como EC al parto, es un determinante mas crítico de la duración del anestro post parto más que el nivel de nutrición post parto, pero la nutrición post parto es más crítica en la determinación del crecimiento del folículo dominante y su diámetro máximo que la nutrición pre parto. Podría ser que la tasa de pérdida de EC luego del parto es también importante.

Mecanismos por los cuales la nutrición afecta la dinámica de las onda folicular.

No existen nutrientes específicamente requeridos para la reproducción que no sean requeridos para otras funciones fisiológicas normales en el animal y por ende ,es difícil de determinar las funciones específicas y los mecanismos por los cuales la nutrición afecta la función reproductiva. Los sitios potenciales de acción de la nutrición en la función ovárica incluyen efectos sistémicos

en: 1) el nivel hipotalámico vía la síntesis de GnRH y su liberación, 2) la hipófisis anterior mediante el control de la síntesis y liberación de FSH, LH y la hormona de crecimiento (STH); y 3) a nivel ovárico mediante la regulación del crecimiento folicular y la síntesis de esteroides . También hay posibles puntos locales de acción vía efectos en cascada de factores de crecimiento y sus proteínas de unión dentro del ovario. La nutrición afecta la frecuencia de los pulsos de LH, lo que en cambio determinan los niveles de estradiol producidos por el FD. El estradiol es un factor clave en determinar si se establecerá o no un feed back positivo con la GnRH y por ende su concentración determinara la magnitud de los niveles de (LH-FSH) y si el FD llega a la atresia (por baja frecuencia en los pulsos de LH) o si ovula (alta frecuencia en los pulsos de LH). Los efectos de la nutrición directos en la competencia del oocito entre los folículos pre antrales o en los FD antrales no son conocidos. Existe alguna evidencia que la competencia del oocito queda comprometida en el intervalo post parto temprano en vacas de alta producción, lo que a su vez, podría afectar las tasas de concepción obtenidas .

Relevancia práctica:**i) Período Transicional**

El balance energético es el regulador principal de la función reproductiva en la vaca post parto (23,26). Durante la lactancia temprana existe un período variable, algunas veces prolongado de balance energético negativo (BEN) debido a un inadecuado consumo de energía. Esto resulta en un período de movilización rápida de grasa y a veces de proteína en el período de post parto temprano. El aumento en la demanda de las vacas por nutrientes antes y justo después del parto son del orden de 3 veces para la glucosa, 2 veces para amino ácidos, 5 veces para ácidos grasos y 4 veces para calcio. Las vacas pueden perder 50 a 70 Kg. de peso corporal y 30 a 40 % de las reservas de grasa , resultando en un rápido descenso del EC y pérdida de peso. Las concentraciones sanguíneas de metabolitos tales como ácidos grasos no esterificados, betahidroxibutirato y triglicéridos aumentan en sangre. Ese período crítico es análogo a una subnutrición aguda y resulta en una disminución de insulina y un hígado refractario a la STH resultando en una baja concentración de IGF-I. Las consecuencias de estos cambios metabólicos en el eje de la reproducción son una disminución en la frecuencia en los pulsos de LH y una disminución en la producción de estradiol por el FD, resultando en su atresia más que en su ovulación a causa de la falta de estradiol suficiente para un feedback positivo entre los picos preovulatorios de GNRH y LH/FSH (24) por ende la mayoría de los primeros folículos dominantes post parto fracasan en ovular resultando en un aumento de la incidencia del anestro en el período post parto temprano.

El punto clave es manejar la nutrición de la vaca en forma correcta donde lo siguiente es importante:



* El EC de las vacas antes y después del período de secado, al parto y al momento de la IA. Evite vacas flacas y gordas. Vacas con EC al parto de 3 o ligeramente menos.

* Período transicional:

- Disminuir el déficit energético negativo.
- Asegurar una adecuada adaptación del rumen mediante la introducción de la dieta post parto alta en energía 3 a 4 semanas pre parto.

- Evitar problemas al parto.

* Evitar trastornos metabólicos usando medios nutricionales.

* Alimentar con niveles adecuados de Ca, Se, y vitaminas A, B, E.

* Luego del parto altos consumos de materia seca reducen la pérdida de EC.

* Evitar el exceso de proteína degradable.

* Disminuir los problemas ginecológicos.

La nutrición tiene un importante rol en minimizar la incidencia de distocia, retención de membranas fetales y la subsiguiente infección uterina. El rol del calcio es crítico porque es importante para la función uterina adecuada y las contracciones musculares al parto y durante el período post parto temprano para una involución uterina correcta y normal. La alimentación con alto Mg y bajo K en el período seco pareciera ser importante en el control de la fiebre de la leche. Algunos productores usan una dieta aniónica para mantener la homeostasis del Ca. Al comienzo de la lactación. Los aniones extra tienden a contrarrestar los efectos del Ca. alto en forrajes induciendo una acidosis metabólica leve. Este tipo de dietas requieren un manejo estricto y un monitoreo del PH en orina para asegurar que la acidez en leche se logra (27). El rol de los micronutrientes como Vitamina E y selenio son importantes para las contracciones uterinas, la síntesis de prostaglandinas y la función de los neutrófilos. La meta principal es disminuir la incidencia de desordenes metabólicos y problemas ginecológicos al y luego del parto.

Estudios recientes sugieren que alimentar con dietas altas en energía y proteínas a vacas moderadamente flacas (EC 2,75 a 3) en el período de secado tardío (3 semanas antes del parto) más que en la dieta suministrada en el período de secado temprano no poseen ningún efecto adverso en las reproducción pero aumentan la producción de leche total. Esta estrategia requiere la reconsideración de recomendaciones en los objetivos del EC durante el período seco y pudiera tener efectos benéficos en el consumo de materia seca en la lactación temprana (26).

ii) Período posparto temprano.

La clave en este caso es de asegurar en un período corto con un BEN leve mediante la maximización del consumo de alimentos para minimizar la pérdida del EC de alrededor de 0.5 de unidad. La pérdida de la tasa de EC debería ser gradual más que dramática. Por ende, vacas gordas con EC > a 3,5 están en mayor riesgo porque

ellas redujeron el consumo luego del parto resultando en una caída rápida del EC y aumento de la incidencia del anestro y una reducción en la tasa de concepción a la IA. Es importante alimentar a las vacas con dietas palatables que van a estimular la secreción de insulina y IGF-I.

iii) Fertilidad

Vacas con un mayor número de ciclos estrales antes de la primer inseminación poseen una mayor tasa de concepción. Por ende, es importante tener vacas que vuelvan a ciclar 30 a 40 días posparto teniendo vacas pariendo con un EC de 3 al parto, evitando una rápida caída del EC minimizándolo a una pérdida de 0.5 de unidad antes de la inseminación. Vacas con EC de 3,0 a la IA tienen más chance de quedar preñadas (23). El efecto de cambios metabólicos masivos y la movilización de tejidos en el período post parto temprano en vacas holando de alta producción puede afectar la dinámica folicular, tamaño del FD y calidad del oocito. La competencia del oocito recuperado por aspiración folicular en el período post parto temprano esta reducida. La tasa de supervivencia del embrión es menor, que podrían estar relacionadas a una menor concentración de progesterona durante la fase luteal de vacas holando comparadas a las vaquillonas, debido presumiblemente ha un mayor flujo de sangre y una mayor tasa de metabolización de la progesterona. Las concentraciones de progesterona en la fase luteal temprana son críticas para un desarrollo y supervivencia embrionarios apropiados, los que aseguran el reconocimiento materno de que la preñez ocurrió. Las mediciones de progesterona en leche aumentan desde el día 3 a 7 post servicio y que ayudan a identificar las vacas potencialmente infértiles.

En conclusión, una alta eficiencia reproductiva en bovinos requiere de un manejo nutricional apropiado de los animales tanto al corto como a largo plazo. Esto requerirá un mayor interés de los veterinarios y zootecnistas que sean capaces de satisfacer las demandas de las vacas modernas cuya eficiencia continua siendo mejorada mediante la selección genética. También se hace aparente que los parámetros reproductivos deberían ser ahora parte de los criterios de selección utilizado por los productores para evitar la cría de vacas infértiles en el futuro.

Cuadro1. Los parámetros de fertilidad en vacas lecheras postparto están disminuyendo.

	Ideal	1984	2002
Intervalo interparto (días)	365	384	412
Tasa de concepción a la 1ª IA (%)	60	53	44
Intervalo al 1er. servicio (días)	55	74	86
Tasa de refugo (%) - descarte por no haberse preñado	20	24	28

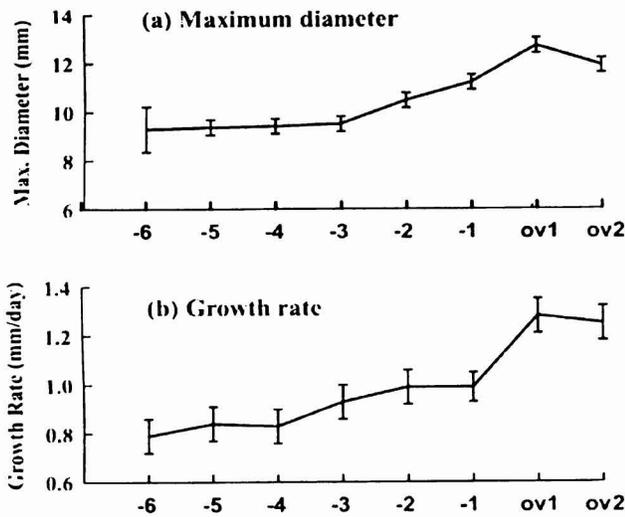


Figura 1. Características de los folículos dominantes en vaquillonas con anestro nutricionalmente inducido durante las ondas que preceden al reinicio de la ovulación (ondas -6 a -1 y durante la primera (ov1) y segunda (ov2) de las ondas foliculares en el reinicio de la ovulación (4).

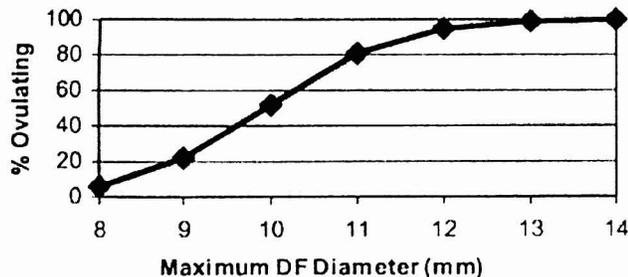


Figura 2. La relación entre el diámetro del folículo dominante y la probabilidad de ovulación en vaquillonas luego de una restricción aguda de la dieta.

BIBLIOGRAFIA

1. Murphy MG, Enright WJ, Crowe MA, McConnell K, Spicer LJ, Boland MP and Roche JF. (1991) Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *J Reprod Fertil.* 92:333-338.
2. Rhodes FM, Fitzpatrick LA, Entwistle KW and De'ath G. (1995) Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *J Reprod Fertil.* 104:41-49.
3. Bossis I, Welty SD, Wettemann RP, Vizcarra JA, Spicer LJ and Diskin MG. (1999) Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *J Anim Sci.* 77:1536-1546.
4. Stagg K. (2000) Anoestrus in the post-partum suckled beef cow and in the nutritionally restricted beef heifer. Ph.D. Dissertation. The National University of Ireland, Dublin.
5. Richards MW, Wettemann RP and Schoenemann HM. (1989) Nutritional anoestrus in beef cows: body weight change, body condition, luteinising hormone in serum and ovarian activity. *J Anim Sci.* 67:1520-1526.
6. Bossis I, Wettemann RP, Welty SD, Vizcarra J and Spicer LJ. (2000) Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during re-alimentation and resumption of ovulation. *Biol Reprod.* 62:1436-1444.
7. Bergfeld EGM, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peters KE, Garcia-Winder M and Kinder JE. (1994) Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. *Biol Reprod.* 51:1051-1057.
8. Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF and Diskin MG. (1998) Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotrophin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biol Reprod.* 59:777-783.
9. Beam SW and Butler WR. (1999) Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in post-partum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl.* 54:411-424.
10. Mackey DR, Wylie ARG, Sreenan JM, Roche JF and Diskin MG. (2000) The effect of acute nutritional change on follicle wave turnover, gonadotropin, steroid concentration in beef heifers. *J Anim Sci.* 78: 429-442.
11. Mackey DR, Sreenan JM, Roche JF and Diskin MG. (1999) The effect of acute nutritional restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biol Reprod.* 61:1601-1607.
12. Savio JD, Boland MP, Hynes N and Roche JF. (1990) Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod. Ferti.* 88:569-579.
13. Stagg K, Diskin MG, Sreenan JM and Roche JF. (1995) Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Anim Reprod Sci.* 38:49-61.
14. Butler WR, Everett RW and Coppock CE. (1981) The relationships between energy balance, milk production and ovulation in post-partum Holstein cows. *J Anim Sci.* 53:742-748.
15. Canfield RW and Butler WR. (1990) Energy balance and pulsatile luteinising hormone secretion in early post-partum dairy cows. *Domest Anim Endocrinol.* 7:323-333.



16. Staples CR, Thatcher WW and Clark JR. (1990) Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *J Dairy Sci.* 81:856-871.
17. Beam SW and Butler WR. (1997) Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod.* 56:133-142.
18. Silveira PA, Spoon RA, Ryan DP and Williams GL. (1993) Evidence for maternal behaviour as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. *Biol Reprod.* 49:1338-1346.
19. Lamb GC, Lynch JM, Grieger DM, Minton JE and Stevenson JS. (1997) Ad libitum suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cow's own calf prolongs post-partum anovulation. *J Anim Sci.* 75:2762-2769.
20. Wiltbank JN, Rowden WW, Ingalls JE and Zimmerman DR. (1964) Influence of post-partum energy level on reproductive performance of Hereford cows restricted in energy intake prior to calving. *J Anim Sci.* 23:1049-1053.
21. Dunn TG and Kaltenbach CC. (1980) Nutrition and the post-partum interval of the ewe, sow and cow. Part XIV: Biennial symposium on animal reproduction. *J Anim Sci.* 51(Suppl. 2):29-39.
22. Sinclair KD, Revilla R, Roche JF, Quintans G, Sanz A, Mackey DR and Diskin MG. (2002) Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows. *J Anim Sci.* 61:219-230.
23. Butler WR. (2003) Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Prod Sci.* 83:211-218.
24. Diskin MG, Mackey DR, Rocher JF and Sreenan JM. (2003) Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci.* 78:345-370.
25. Snijders SEM, Dillon P, O'Callaghan D and Boland MP. (2000) Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology.* 53:981-989.
26. Overton TR and Waldron MR. (2004) Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimise metabolic health. *J Dairy Sci.* 87:105-119.
27. Goff JP, Ruiz R and Horst RL. (2004) Relative acidifying activity of anionic salts commonly used to prevent milk fever. *J Dairy Sci.* 87:1245-1255.