



## EFFECTOS NUTRICIONALES EN LA REPRODUCCIÓN DEL GANADO.

*MP Boland*

Facultad de Agricultura, Colegio Universitario de  
Dublín, Belfield, Dublín, Irlanda.  
E-Mail: Maurice.Boland@ucd.ie

### RESUMEN

La fertilidad ha declinado significativamente en las vacas lecheras en los últimos años. A pesar de los muchos intentos para entender los factores que contribuyen a esta menor fertilidad, el conocimiento en esta área es escaso. La nutrición en el período pre- y post-parto ha sido sugerido como uno de los contribuyentes a este descenso. Mientras existen algunos efectos nutricionales a nivel endocrino, éstos son variables. La nutrición puede influir la dinámica folicular, que a consecuencia puede alterar la fertilidad. La nutrición influye el desarrollo embrionario temprano, y por ende el potencial de establecer una preñez. Métodos para manipular el crecimiento folicular y la calidad del oocito podrán proveer alguna guía para mejorar la fertilidad a más largo plazo.

### INTRODUCCIÓN

Las recientes mejoras genéticas en vacas lecheras han llevado a un dramático aumento de la producción, que ha sido asociado con un descenso en la performance reproductiva (47, 50, 60). Existen probablemente muchas razones para este descenso en la fertilidad tales como la nutrición, el manejo, la expresión y la detección de celo, y el alto consumo de materia seca. El aumento en el nivel de glucosa en plasma a 3-hidroxibutirato está relacionado positivamente con la fertilidad, mientras que altas concentraciones de NEFA están asociadas negativamente con la fertilidad (62). La disminución en la fertilidad es particularmente obvia en vacas cuya producción se encuentra por encima de las 6000 L por lactación (27, 39), y en vacas alimentadas en exceso durante el período seco previo (18). La mortalidad embrionaria temprana es una causa significativa de falla reproductiva en rumiantes y parte de esto puede estar relacionado a influencias nutricionales durante el período de gestación (11).

Aunque la manifestación final de un efecto negativo de la nutrición en la fertilidad podría ser la muerte de un embrión, no está totalmente claro si la nutrición afecta la calidad del embrión mediante un cambio en la capacidad de desarrollo del oocito o a través de cambios durante el desarrollo del embrión. Por ende, la relación entre la nutrición y la reproducción es compleja y las respuestas son frecuentemente variables e inconsistentes. Los requerimientos de energía para mantener un crecimiento folicular, la ovulación y la preñez temprana son extremadamente bajos (menos de 3 MJ de energía metabolizable, EM, por día) comparado con los requerimientos de mantenimiento y producción (60-250 MJ EM por día en una vaca en lactación). Sin embargo, en el caso de vacas lecheras la nutrición inadecuada en el corto plazo, o como una consecuencia de un período prolongado de depleción de las reservas corporales durante la lactación temprana, podrán tener efectos deletéreos significativos en el retorno a la actividad ovárica pos-parto, índice de concepción e infertilidad. Los efectos negativos de un exceso nutricional durante la preñez en el de-

sarrollo embrionario se han vuelto cada vez más evidentes tanto en vacas superovuladas como en no superovuladas. El objetivo de este trabajo es el de revisar el efecto nutricional sobre algunos parámetros endocrinos, desarrollo folicular, calidad del oocito y desarrollo embrionario con particular énfasis en vacas lecheras.

### NUTRICION Y SECRECION DE GONADOTROFINAS

El estatus energético es considerado generalmente como el factor nutricional más importante que influye en el proceso reproductivo, con un consumo prolongadamente bajo de energía actuando sobre la fertilidad. En ovejas, una pobre nutrición redundó en un menor índice de ovulaciones asociado a un decrecimiento en la frecuencia de los pulsos de LH, que es debido a una inadecuada secreción hipotalámica de GnRH. En bovinos, hay una fuerte correlación entre un balance energético negativo en lactación temprana y una disminución de la ovulación pos-parto (5).

Mientras que la ovulación no podrá ocurrir en animales con dietas de bajos consumos, crecimiento folicular y atrencia si lo hacen. La regresión de una onda folicular sin ovulación es comúnmente evidente en vacas de carne con una pobre condición corporal (57). El significado práctico de esta ocurrencia es el alargamiento del intervalo parto primer ovulación, y frecuentemente una extensión del intervalo parto concepción. Las restricciones a largo término del consumo de alimentos han sido demostradas como una causa de inducción de anestros en el ganado (48), debido a una insuficiente circulación de LH (49) que va a suprimir el crecimiento folicular y la maduración del oocito. Estos efectos sin embargo, no son inmediatamente evidentes y requieren una restricción en la dieta por muchos meses para prevenir el crecimiento ovular y la ovulación. Por otra parte, la inclusión suplementaria de grasa en dietas inadecuadas redundó en un aumento de la concentración de LH (16).

En contraste a estas situaciones, en monogástricos como los cerdos y simios, los efectos en el corto plazo de una restricción en la dieta sobre el patrón de pulsos de LH son más difíciles de observar que en rumiantes. La FSH es esencial para el crecimiento folicular y la ovulación. A pesar de ello, hay muy poca evidencia de un efecto de la nutrición en la concentración plasmática de FSH. Sin embargo, Mackey y col. (25) han demostrado que una restricción de corto plazo en el consumo a un 40% de los requerimientos de energía de mantenimiento, aumentó la FSH en vaquillonas en comparación a otras con un 200% de los requerimientos de energía de mantenimiento.

### EFFECTO DE LA NUTRICIÓN EN LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA

El consumo de alimentos en ovejas puede influenciar la concentración de progesterona, con una fuerte correlación negativa entre el consumo y la concentración de progesterona (33). Este efecto es probablemente causado por un aumento en el catabolismo de la



progesterona y en la circulación hepática frente a un aumento en el nivel de consumo (44, 52). La progesterona se cree que juega un importante rol en la maduración del oocito y en el desarrollo embrionario temprano.

Una alimentación ad-libitum en vaquillonas a sido reportada como causa de un aumento (31), disminución (59), o sin efectos (56) en la concentración de progesterona e comparación con una dieta restrictiva. El flujo sanguíneo hepático y el clearance metabólico de la progesterona a sido demostrado estar positivamente correlacionado con un aumento en el consumo de energía en vacas lecheras (52). Una baja progesterona posparto puede reducir la fertilidad (19). Sin embargo, como los esteroides son almacenados selectivamente en las grasas, cualquier régimen alimenticio que redunde en una movilización grasa va a causar una liberación de la progesterona almacenada. Esto podría explicar el aumento de progesterona en animales con dietas de bajo consumo. Las concentraciones de progesterona e interferón-tau han sido reportados como correlacionados positivamente (28). Por ende, cambios menores en la concentración de progesterona maternal durante el periodo inicial del desarrollo embrionario podrían alterar la secreción de este agente antiluteolítico, y esto ser crítico para la supervivencia del embrión.

En ovejas, la sobrealimentación reduce la concentración de progesterona circulante, disminuyendo los índices de preñez, por una reducción en la tasa de desarrollo y la viabilidad embrionaria (44). En bovinos, Mann y col. (28) han descrito que el tiempo de incremento de la progesterona pos-ovulación tiene una importancia crítica para el desarrollo del embrión. Estos autores han demostrado que un incremento de progesterona retrasado ha sido asociado con un menor desarrollo y por ende un embrión menos viable al día 16. Un experimento más reciente en vaquillonas de carne ha mostrado un efecto negativo de una reducción aguda en el consumo de energía inmediatamente de la inseminación sobre la supervivencia del embrión, aunque ha fracasado en demostrar una asociación entre la concentración de progesterona temprana en el ciclo estral y la supervivencia embrionaria (10). Concentraciones periféricas de progesterona en el día 0 y 1 luego del pico de LH son importantes para la supervivencia embrionaria en la oveja. Esto presumiblemente modifica la maduración folicular y la calidad del oocito. Aunque otros, han sugerido que el efecto de la progesterona en el desarrollo embrionario esta actuando primariamente a través de la progesterona en el útero (1).

## NUTRICIÓN Y FUNCIONAMIENTO OVÁRICO

La habilidad de la nutrición para alterar la tasa de ovulación y el porcentaje de preñez en ovejas es conocido. Un mejoramiento rápido de la condición corporal está usualmente asociado con un aumento de la tasa de ovulación y del tamaño de camada. Alteraciones en la tasa de ovulación podrían estar relacionadas con la tasa de pasaje de la glucosa a la célula en animales alimentados con un plano nutricional alto. Suplementos en la dieta conteniendo alto contenido energético y proteico a sido demostrado que aumentan la tasa de ovulación en ovinos (7). De forma similar, aumentos en la ovulación han sido reportados cuando la glucosa fue infundida directamente (8). Por ende, es probable que una suplementación de energía en el corto plazo esté directamente involucrada en el reclutamiento folicular (15) y tal vez en el creci-

miento folicular; aunque este efecto podría ser de corta duración si el nivel de la dieta es alterado.

Restricciones en la dieta han demostrado que alteran las características del crecimiento folicular en bovinos (38) y en ovejas superovuladas (66). Murphy y col. (38) reportaron que vaquillonas con un consumo bajo tenían un tamaño reducido y una persistencia del folículo dominante comparado con animales que se le ofrecieron dietas altas en energía. Una restricción nutricional aguda (0.4 del mantenimiento) por alrededor de doce días, no solo va a disminuir la tasa de crecimiento y el diámetro máximo del folículo dominante, sino que también va a producir el fracaso del folículo dominante en ovular siguiendo a una luteolisis con prostaglandina (26). Muchos reportes indican que la alimentación con grasas altera el patrón de crecimiento de los folículos y este efecto es de alguna manera independiente de la energía (30). La grasa suplementaria aumentó el número de folículos (3,23) y aumentó el tamaño del folículo preovulatorio (22). Este aumento en el tamaño del folículo podría tener efectos benéficos en la calidad del oocito (20) y en la función del cuerpo lúteo (30), resultando en un aumento en la tasa de preñez. Un aumento en la concentración de progesterona durante la fase lútea antes y después de la gestación ha sido asociado con una alta tasa de preñez (4).

Nolan y col. (40) reportan un aumento del número de folículos en vaquillonas con bajo consumo comparadas con vaquillonas con un alto consumo en la dieta, luego de una estimulación con FSH exógena. Esta diferencia en respuesta fue predominantemente debida a un aumento en el número de folículos en el rango de 7 a 10 mm cuando fueron medidos alrededor del surgimiento de la onda de LH. Por esto, es claro que el consumo bajo ciertas condiciones altera las características del crecimiento folicular, pero el efecto del consumo de la dieta sobre el número de folículos en crecimiento en respuesta a una estimulación de una dosis de FSH durante la superovulación es menos consistente, y por ende, en ese caso es más difícil señalar conclusiones firmes.

## NUTRICIÓN Y CALIDAD DEL OOCITO

Mientras que diferencias ultraestructurales han sido reportadas en oocitos de superovulación comparadas con los obtenidos de vaquillonas no estimuladas (2), pocos estudios reportaron efectos de la nutrición en la calidad del oocito en detalle. McEvoy y col. (33) reportaron que una mayor proporción de oocitos de ovejas con una dieta de baja energía fueron considerablemente viables cuando se compararon con aquellos producidos por ovejas con una dieta de alta energía. En bovinos se ha demostrado que restricciones en el consumo de energía pre-faena aumentaron el subsecuente desarrollo in vitro de oocitos de pequeños folículos (32). Yaakub y col. (67) estimularon vaquillonas con FSH y sometieron a ellas a una baja (silo exclusivamente) o alta (silo + 6 kg de concentrado) dieta antes de faena. La tasa de clivage (división) fue mejorada aunque no hubo diferencias evidentes en la formación in vitro de blastocitos a partir de oocitos colectados de vacas de una baja dieta. Un problema mayor con este tipo de experimentos es la limitación en la cantidad de material disponible de un animal en la faena. Un análisis posterior en nuestro laboratorio sugirió que la formación in vitro de blastocitos colectados de oocitos durante varias semanas usando la aspiración del óvulo transvaginal, podría ser estimulada por restricciones en el consumo de las vaquillonas (41). Esto indica que el efecto de la nutrición sobre la reproducción



podría ocurrir a nivel de los oocitos previo a la ovulación.

## NUTRICIÓN Y CALIDAD EMBRIONARIA

Restricciones a corto plazo en el consumo han demostrado que aumentan el porcentaje subsecuente de preñez en bovinos (9). Mantovani y col. (29) reportaron que el número de embriones transferibles siguiendo una superovulación en ganado de carne fue significativamente reducido cuando las vaquillonas tuvieron acceso ad libitum de concentrados comparados a aquellas con niveles restrictivos. El tipo de concentrado y la cantidad van a afectar la subsecuente cantidad de embriones transferibles siguiendo una superovulación en ganado de carne (65). Vaquillonas con dietas restrictivas, donde el concentrado predominante fue citrus y pulpa, produjeron más embriones transferibles comparados con aquellas donde la avena fue el concentrado predominante ó, en aquellos donde el concentrado fue ad-libitum. Restricciones severas en la dieta han demostrado tener efectos beneficiosos en el desarrollo embrionario cuando vaquillonas fueron superovuladas y los embriones fueron colectados 7 días pos-servicio y cultivados por 24 horas (41). Esta comparación entre restricciones severas versus alimentación ad-libitum resultaron en un aumento en el número de blastocitos luego de cultivados por 24 horas. Un aumento en el número total de células por blastocitos también fue observado.

El efecto de consumos extremos en el desarrollo embrionario es evidente pero el punto en el que estos cambios ocurren es todavía desconocido. Cuando ovejas fueron infundidas con altos niveles de glucosa y luego superovuladas, el número de embriones de buena calidad fue reducido (66). La infusión de glucosa también fue reportada como reductora de la tasa de preñez. Mientras que las razones por la que se produce este efecto de la glucosa sobre el desarrollo embrionario no son claras, podría deberse a una inusual alta concentración de glucosa plasmática que interfieren con el mecanismo de señalamiento celular durante el crecimiento folicular pre-ovulatorio, el desarrollo del oocito o el del embrión temprano. Es sabido que una alta concentración de glucosa es negativo para el desarrollo embrionario in-vitro (13). La formación del blastocito es reconocida como una llave fundamental en el proceso de crecimiento de un embrión. La cavidad blastocélica se forma como una consecuencia de un transporte de fluidos a través del trofoectodermo. Este proceso es parcialmente facilitado por el Na/K-ATPasa; RNA mensajero para esta enzima ha sido identificado en el día 7 de embriones bovinos. El consumo y el tipo de dieta pueden alterar la expresión de la transcripción de genes involucrados en el desarrollo embrionario temprano, así como la Na/K-ATPasa y la Cu/Zn SOD (64). Abecia y col. (1) reportaron una disminución en la secreción in-vitro del interferon tau en el día 15 de ovejas vacías. Un aumento en la secreción in-vitro por el tejido endometrial de PGF2a fue evidente en los mismos animales. Por ende, los requerimientos nutricionales para un crecimiento folicular óptimo y el desarrollo embrionario podrían ser bastantes diferentes. Esto remarca la importancia de la dieta alrededor del periodo de gestación y la particular significación de la alimentación extrema o restrictiva pos-gestación, en regular la tasa de preñez.

## EFFECTO EN LA PRODUCCIÓN Y EL DESARROLLO EMBRIONARIO

El efecto de la producción de leche en el número de oocitos recobrados y blastocitos formados seguidos a la maduración in vitro, fertilización y cultivo de oocitos bovinos fue estudiado por Snijders y col. (54). Los oocitos fueron colectados pos-faena de vacas con mérito genético lechero alto y medio, entre los 125 y 229 días post parto. Los ovarios se recuperaron y los folículos de 2 a 10 mm. fueron aspirados. La tasa de clivage y el número de blastocitos fue determinado 44 horas y 7 días luego de la inseminación, respectivamente. Los oocitos de vacas de alto valor formaron menos blastocitos y tuvieron una menor tasa de clivage comparadas con aquellas vacas de valor genético medio. En un análisis retrospectivo, no hubieron diferencias en el número de oocitos recobrados y el subsecuente desarrollo en blastocitos entre vacas de alta producción y aquellas con una baja producción. La tasa de clivage y la formación de blastocitos fue mayor en los oocitos de vacas con una alta condición corporal (3.3-4.0, n= 20) (75.7% vs. 61.9%, y 9.9% vs. 3%, respectivamente). Por ende, vacas de alto valor genético con una baja condición corporal producen oocitos de menor calidad. Esta observación es consistente con reportes de un menor número de células en embriones colectados de vacas lecheras cuando éstos fueron obtenidos entre el día 30 y 90 post parto. Lo que es más, hallazgos preliminares de nuestro laboratorio sugieren que el desarrollo competente de los oocitos in vitro es aumentado en oocitos colectados por aspiración ovular transvaginal de vacas en el pos-parto temprano que fueron mantenidas en dietas restrictivas en el consumo (Lozano, sin publicar). Reducciones en la calidad del oocito podrían contribuir a la reducida fertilidad muchas veces evidente en vacas lecheras de alto valor genético.

## EFFECTO DEL CONSUMO DE ALIMENTOS EN LA FERTILIDAD

El consumo total de la dieta podría afectar la fertilidad a nivel del oocito y el desarrollo embrionario. En vacas lecheras, oocitos aspirados transvaginalmente de vacas en posparto temprano alimentadas ad libitum con silo y un kilogramo de concentrado han tenido mejor grado morfológico y tasa de clivage y una tendencia hacia a una más alta tasa de formación blastocística que aquellos aspirados de vacas alimentadas ad libitum con silo y 5 a 10 Kg de concentrado (21). Es posible que efectos similares de consumos altos y la tasa metabólica estarían afectando la calidad de los embriones producidos en vacas de alta producción. La evidencia preliminar sugiere que la calidad embrionaria, tomada como número total de células recuperadas en el día 7, es reducida en vacas que se les ofrece grandes cantidades de alimentos en la lactación temprana (54).

Por ende, altos consumos tendrían efectos negativos en la capacidad de desarrollo del embrión. El efecto nutricional se observa muy tempranamente en el desarrollo, posiblemente antes de la fertilización, durante la adquisición de la capacitación del oocito. Este efecto negativo en la fertilidad es fundamental como desafío y necesita ser señalado en vacas de alta producción donde la fertilidad está comprometida.



## EFFECTO DE LAS GRASAS DE LA DIETA SOBRE LA FERTILIDAD

Las vacas de alto potencial genético priorizan el uso de los nutrientes hacia la producción de leche en la lactancia temprana. Esta demanda aparentemente prevalece sobre la necesidad de nutrientes para la reproducción. En lactación temprana, la producción de leche aumenta tan rápidamente que la ingesta de nutrientes no puede llenar esos requerimientos. Por ende, para cumplir la demanda nutricional para esa producción de leche la vaca moviliza reservas de energía de su cuerpo y entra en una fase de balance energético negativo. El déficit de energía experimentado por la vaca puede ser reducido aumentando la densidad energética de las raciones lecheras. Las grasas son incorporadas en la dieta durante la lactación temprana para minimizar las diferencias entre la entrada y salida de energía. Muchos estudios reportan efectos positivos de la suplementación con grasa en la dieta sobre la performance reproductiva en bovinos. Un resumen examinando la influencia de la grasa suplementaria en los tejidos reproductivos y la performance de las vacas lecheras (58), muestra que once de veinte artículos citan un mejoramiento en la tasa de concepción al primer servicio, tasa de concepción general, tasa de preñez general, días abiertos, ó servicios de IA por concepción. Los estudios que reportan una influencia negativa de la suplementación con grasa sobre la reproducción fueron usualmente acompañadas por altos niveles en la producción de leche (12, 53).

Muchos mecanismos han sido sugeridos para explicar el efecto positivo de la grasa en la reproducción. La suplementación con grasa se entiende que aumenta el tamaño del folículo preovulatorio (3, 24), aumenta el número de folículos (61) y aumenta la tasa de crecimiento del folículo dominante (42). La grasa suplementaria puede parcialmente reducir el déficit de energía, aunque la mejora de la fertilidad pos-parto ocurrió en algunos estudios independientemente del estatus energético de ganado (24). La suplementación con grasa aumentaría la vida media del cuerpo lúteo (63). La concentración del colesterol plasmático, precursor de la progesterona, aumenta consistentemente con dietas ricas en grasas (55). La producción de progesterona durante el ciclo estral fue aumentada en vacas a las que se le ofreció grasa en la dieta (16, 55). El aumento de progesterona fue asociado a un aumento de la acumulación de lípidos en células luteales y una menor tasa de desaparición de la progesterona sérica. Un aumento del colesterol y la progesterona también fue reportado en el fluido folicular de bovinos sometidos a dietas con grasas (51).

## INTERACCIONES ENTRE LA CALIDAD FOLICULAR, EL OOCITO Y LA CALIDAD EMBRIONARIA

Es importante diferenciar entre condiciones óptimas para el crecimiento folicular (en términos del número de folículos y del ambiente parácrino), y condiciones óptimas para la supervivencia del embrión. Las condiciones nutricionales podrían no ser iguales para las dos. Mientras que el significado de un aumento de la glucosa en el aumento de la tasa de ovulación ha sido identificado anteriormente, es posible que el aumento de glucosa

también tenga un efecto deletéreo en el desarrollo embrionario. Embriones de ratón preimplantados expuestos a una hiperglicemia retrasaron su desarrollo. Altos consumos de la dieta que probablemente alteren la circulación de glucosa, resultaron en una reducción de la calidad embrionaria en bovinos (29, 40, 65). Mientras que la infusión directa de la glucosa en ovejas puede aumentar la tasa de ovulación (8), la calidad embrionaria puede ser dramáticamente reducida (13, 66). No está claro porque altas concentraciones de glucosa tienen ese efecto negativo, pero es posible que sea debido a interacciones entre la insulina, la glucosa y las proteínas de transporte de la glucosa durante el desarrollo embrionario temprano. Antes de la formación de blastocitos el perfil metabólico del embrión está basado en la utilización de piruvato y lactato más que en la de glucosa. Por tanto, es muy probable que embriones premorula no puedan metabolizar la glucosa. El transporte de la glucosa fue aumentado en embriones de ratón en respuesta a una privación de glucosa, donde ambas IGF-I y la insulina pueden estimular el uso de la glucosa (43). Estos autores también sugirieron que la GLUT-1 es el transportador regulable en el blastocito de ratón, y la GLUT-1 podría ser reclutada por un estímulo de insulina. Moley y col. (36) sugieren que concentraciones elevadas de glucosa pueden alterar la actividad de la vía del políol y del ciclo de Krebs, resultando en un desarrollo embrionario retardado. Estos tipos de observaciones indican el significado de los cambios en el eje de la glucosa-insulina-IGF-1 que actúan sobre el desarrollo embrionario temprano.

## EFFECTO DE LA BST SOBRE LA FERTILIDAD

El uso de formulaciones de somatotrofina recombinante bovina de liberación sostenida (bST) para incrementar la producción lechera es parte de las prácticas de manejo en algunas granjas, observándose aumentos de producción lechera entre un 10 a un 20 % (46). Sin embargo, existen efectos positivos como negativos de la bST sobre la reproducción.

Por una parte, se ha reportado que la bST aumenta el intervalo parto-concepción (35), reduce la expresión del comportamiento del celo (17) y reduce la concentración de LH (6). Otros estudios indican efectos beneficiosos sobre la dinámica folicular, como un aumento en el número de pequeños folículos y en el desarrollo temprano del folículo preovulatorio (14). Altas tasas de preñez fueron también observadas en vacas tratadas con bST (36, 37). Los datos sugieren que los efectos de la bST están relacionados al efecto positivo del IGF-1 en el folículo preovulatorio y sobre el oocito, con un posible efecto positivo subsecuente en la función del CL. Moreira y col. (37) demostraron que la bST disminuye la incidencia de óvulos sin fertilizar, aumenta el porcentaje de embriones transferibles de donantes y aumentan la tasa de preñez en las receptoras.

En conclusión, hay muchos factores que influyen la preñez en vacas lecheras y en otros animales de carne. La nutrición parece tener un efecto mayor, pero su rol específico en relación con el crecimiento folicular y la calidad del oocito no está todavía completamente entendida; esto requerirá una mayor atención en el futuro para apuntar al problema de calidades inferiores del oocito.





Cuadro 1: Efecto del consumo bajo (40 MJ ME por día) o alto (120 MJ ME por día) sobre la media ( $\pm$ SEM) de producción de embriones al día 7 en vaquillonas superovuladas y la capacidad de desarrollo in-vitro.

| Dieta   | Baja                        | Alta                        |
|---|-----------------------------|-----------------------------|
| No. de cuerpos lúteos                                     | 16.3 $\pm$ 3.0              | 14.4 $\pm$ 1.9              |
| No. de huevos/embiones recuperados                        | 11.4 $\pm$ 2.4              | 10.4 $\pm$ 1.3              |
| No. de embriones grado 1+2 Embriocultivo durante 24 horas | 4.5 $\pm$ 1.3               | 3.5 $\pm$ 1.1               |
| Blastocistos % (número)                                   | 73 (78/107) <sup>a</sup>    | 41 (44/106) <sup>b</sup>    |
| Número de células del blastocistos                        | 98.3 $\pm$ 3.0 <sup>c</sup> | 75.4 $\pm$ 2.3 <sup>d</sup> |

De: (41). Entre filas a, b P < 0.01; c, d P < 0.001.

Cuadro 2. Efecto del mérito genético sobre el número de ovocitos recuperados y su división (clivaje) subsiguiente y su desarrollo a blastocistos (media  $\pm$  SEM) en vacas lecheras.

| Mérito genético  | Alto                         | Medio                        |
|--|------------------------------|------------------------------|
| No. de vacas   | 48                           | 46                           |
| No. de ovocitos colectados                                     | 6.7 $\pm$ 0.75               | 7.6 $\pm$ 0.91               |
| Tasa de división (clivaje) % (n)                               | 70.4 (238/338) <sup>a</sup>  | 77.4 (278/359) <sup>b</sup>  |
| No. de blastocistos  | 0.36 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup> | 0.85 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup> |
| Tasa de formación de blastocistos % (n) de ovocitos cultivados | 6.8 (23/338) <sup>a</sup>    | 11.4 (41/359) <sup>b</sup>   |
| de ovocitos clivados   | 9.7 (23/238)                 | 14.7 (41/278)                |

Valore con diferentes exponentes entre filas son significativamente diferentes a, b P < 0.05. De: (54).

Cuadro 3. Porcentaje de ovocitos grado 1 (buenos) obtenidos por aspiración transvaginal y tasas de división clivaje) y de formación de blastocistos cuando fueron cultivados in-vitro en grupos. Los ovocitos fueron aspirados de vacas lecheras en postparto temprano alimentadas con silo de pastura ad libitum y 10 kg (alto), 5 kg (control) o 1 kg (bajo) de concentrado diariamente y ovocitos obtenidos de ovarios bovinos en el matadero y cultivados como controles

|                          | Matadero | Alto                       | Control                    | Bajo                      |
|--------------------------|----------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Buenos ovocitos (%)      |          | 94/232 (40.7) <sup>a</sup> | 66/192 (34.4) <sup>a</sup> | 27/56 (48.2) <sup>b</sup> |
| Tasa de clivaje (%)      | 65       | 11/28 (39) <sup>a</sup>    | 22/47 (47) <sup>a</sup>    | 12/18 (67) <sup>b</sup>   |
| Tasa de blastocistos (%) | 30.5%    | 1/28 (3.5)                 | 0/47 (0)                   | 4/18 (22)                 |

a,bP<0.05 De: (21)

## REFERENCIAS

- 1 Abecia J.A., Lozano J.M., Forcada F., and Zarazaga L. 1997. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. *Animal Reproduction Science* 48: 209-218.
- 2 Assey, R.J., Hyttel, P., Roche J.F. & Boland, M.P. 1994. Oocyte structure and follicular steroid concentrations in superovulated versus unstimulated heifers. *Molecular Reproduction & Development* 39: 8-16.
- 3 Beam, S.W. & Butler, W.R. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction* 56:133-142.
- 4 Butler, W.R., Calaman, J.J. & Beam, S.W. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 74: 858-865.
- 5 Canfield, R.W. & Butler, W.R. 1990. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 7: 323-330.
- 6 Dalton, J.C. & Marcinkowski, D.P. 1994. Effect of somatotrope on LH concentrations in dairy cattle. *Theriogenology* 41:437-445.
- 7 Downing, J.A., Joss, J., Connell, P. & Scaramuzzi, R.J., 1995b. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophin and metabolic hormones in ewes fed lupin grain. *Journal of Reproduction & Fertility* 103: 137-145.
- 8 Downing, J.A., Joss, J. & Scaramuzzi, R.J. 1995a. Ovulation rate and the concentrations of gonadotrophins and metabolic hormones in ewes infused with glucose during the late luteal phase of the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology* 146: 403-410
- 9 Dunne, L.D., Diskin, M.G., Boland, M.P., O'Farrell, K. & Sreenan, J.M. 1997. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on early embryo survival in cattle. *Proceedings of the British Society of Animal Science* p 35.
- 10 Dunne, L.D., Diskin, M.G., Boland, M.P. & Sreenan, J.M. 1999. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Animal Science* 69:411-417.
- 11 Dunne, L.D., Diskin, M.G. & Sreenan, J.M. 2000. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Animal Reproduction Science* 58: 39-44
- 12 Erickson, P.S., Murphy, M.R. & Clark, J.H. 1992. Supplementation of dairy cow diets with calcium salts of long chain fatty acids and nicotinic acid in early lactation. *Journal of Dairy Science* 75:1078-1089.
- 13 Furnus, C.C., deMatos, D.G., Martinez, A.G. and Matkovic, M. 1996. Glucose and embryo quality. *Proceedings of Techniques for gamete manipulation and storage*, 1996. Hamilton, New Zealand. 20. Abst.
- 14 Gong, J.G., Bramley, T. & Webb, R. 1991. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. *Biology of Reproduction* 45:941-949.
- 15 Gutierrez, C.G., Oldham, J., Brambley, T.A., Gong, J.G. Campbell, B.K. & Webb, R. 1997. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. *Journal of Animal Science* 75:1876-1884.
- 16 Hightshoe, R.B., Cochran, R.C., Corah, L.R., Kiracofe, G.H., Harmon, D.L. & Perry, R.C. 1991. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows.



- Journal of Animal Science 69: 4097-4103.
- 17 Kirby, C.J., Smith, M.F., Keisler, D.H. & Lucy, M.C. 1997. Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained-release bovine somatotropin. *Journal of Dairy Science* 80:273-285.
- 18 Kruij, T.A.M., Meijer, G.A.L., Rukkamsuk, T. & Wensing, T. 1998. Effects of feed in the dry period on fertility of dairy cows post partum. *Reproduction in Domestic Animals* 33: 165-168.
- 19 Larson, S.F., Butler, W.R. & Currie, W.B. 1997. Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 80: 1288-1295.
- 20 Lonergan, P., Monaghan, P., Rizos, D., Boland, M.P. & Gordon, I. 1994. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization and culture in vitro. *Molecular Reproduction & Development* 37: 48-53.
- 21 Lozano, J.M., Nation, D.P., Ward, F.A., & O'Callaghan, D. 2000. Effect of nutrition on oocyte developmental capacity in dairy cows. *Theriogenology* 53: 1, 276.
- 22 Lucy, M.C., Gross, T.S. & Thatcher, W.W. 1990. Effect of intravenous infusion of soybean oil emulsion on plasma concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F2a and ovarian function in cycling Holstein heifers. In *International Atomic Energy Agency Livestock Reproduction in Latin America* 119-132.
- 23 Lucy, M.C., Staples, C.R., Michel, F.M. & Thatcher, W.W. 1991. Effect of feeding calcium soaps to early post-partum dairy cows on plasma prostaglandin F2a, luteinizing hormone and follicular growth. *Journal of Dairy Science* 74 : 483-489.
- 24 Lucy, M.C., De La Sota, R.L., Staples, C.R. & Thatcher, W.W. 1993. Ovarian follicular populations in lactating dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin (Somatotrobove) or saline and fed diets differing in fat content and energy. *Journal of Dairy Science* 76:1014?1027.
- 25 Mackey, D.R., Sreenan, J.M., Roche, J.F. & Diskin, M.G. 1997. The effect of acute changes in energy intake on follicle wave turnover in beef heifers. *Proceeding of the Agricultural Research Forum*. 21st meeting Dublin, p. 37-38.
- 26 Mackey, D.R., Sreenan, J.M., Roche, J.F. & Diskin, M.G. 1999. Effect of acute restriction on incidence of anovulation and periovulatory estradiol and gonadotropin concentrations in beef heifers. *Biology of Reproduction* 61: 1601-1607.
- 27 Macmillan, K.L., Lean, I.J. & Westwood, C.T. 1996. The effects of lactation on the fertility of dairy cows. *Australian Veterinary Journal* 73 : 141-147.
- 28 Mann, G.E., Lamming, G.E. & Fisher, P.A. 199. Progesterone control of embryonic interferon tau production during early pregnancy in the cow. *Journal of Reproduction & Fertility, Abstr Series* 21, Abstr 37.
- 29 Mantovani, R., Enright, W.J., Keane, M.G., Roche, J.F. & Boland, M.P. 1993. Effect of nutrition on follicle stimulating hormone (FSH) on superovulatory response in beef heifers. *Proc 9th A.E.T.E.-Lyon*, p. 234.
- 30 Mattos, R., Staples, C.R. & Thatcher, W.W. 2000. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. *Reviews of Reproduction* 5: 38-45.
- 31 McCann, R.P., Hansel, W. 1986. Relationship between insulin and glucose metabolism and pituitary-ovarian functions in fasted heifers. *Biology of Reproduction* 34:630-636.
- 32 McEvoy, T.G., Sinclair, K.D., Staines, M.E., Robinson, J.J., Armstrong, D.G., Webb, R. 1997. In vitro blastocyst production in relation to energy and protein intake prior to oocyte recovery. *Journal of Reproduction & Fertility Abstr. Ser.* 19 Abstr. 132.
- 33 Mc Evoy, T.G., Robinson J.J., Aitken R.P., Findlay P.A., Palmerr R.M. & Robetson, I.S. 1995. Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent in vivo and in vitro development of their ova. *Animal Reproduction Science* 39: 89-107.
- 34 Moley, K.H., Chi, M.M.-Y., Manchester, J.K., McDougal Jr., D.B. and Lowry, O.H. 1996. Alterations of intraembryonic metabolites in preimplantation mouse embryos exposed to elevated concentrations of glucose: A metabolic explanation for the developmental retardation seen in preimplantation embryos from diabetic animals. *Biology of Reproduction* 54: 1209-1216.
- 35 Morbeck, D.E., Britt, J.H. & McDaniel, B.T. 1991. Relationships among milk yield, metabolism, and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. *Journal of Dairy Science* 74:2153-2164.
- 36 Moreira, F., Riscot, C.A., Pires, M.F.A., Ambroses, J.D., Drost, M. & Thatcher, W.W. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science* 83:1237-1247.
- 37 Moreira, F., Badinga, L., Burnley, C. & Thatcher, W.W. 2002. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology* 57:1371-1387.
- 38 Murphy, M.G., Enright, W.J., Crowe, M.A., McConnell, K., Spicer, L.J., Boland, M.P. & Roche, J.F. 1991. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *Journal of Reproduction & Fertility* 92:333-338.
- 39 Nebel, R.L. & McGilliard, M.L. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76: 3257-3268.
- 40 Nolan, R., O'Callaghan, D., Duby, R.T., Lonergan, P. and Boland, M.P. 1997. Influence of short-term nutrient changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. *Proc. A.E.T.E. 13th Scientific meeting, Lyon, France: 188 (Abstr)*.
- 41 Nolan, R., O'Callaghan, D., Duby, R.T., Lonergan, P. & Boland, M.P. 1998. The influence of short-term nutrient changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. *Theriogenology* 50: 1263-1274.
- 42 Oldick, B.S., Staples, C.R., Thatcher, W.W., & Gyawu, P. 1997. Abomasal infusion of glucose and fat - Effect on digestion, production, and ovarian and uterine functions of cows. *Journal of Dairy Science* 80:1315-1328.
- 43 Pantalcon, M. & Kaye, P.L. 1996. IGF-I and insulin regulate glucose transport in mouse blastocysts via IGF-I receptor. *Molecular Reproduction & Development* 44: 71-76.
- 44 Parr, R.A., Davis, I.F., Fairclough, R.J. & Miles, M.A. 1987. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 80: 317-320.
- 45 Parr, R.A., Davis, I.F., Miles, M.A., and Squires, T.J. 1993. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Research in Veterinary Science* 55: 311-316.
- 46 Peel, C.J. & Baumann, D.E. 1987. Somatotropin and lactation. *Journal of Dairy Science* 70:474-486.
- 47 Pryce, J.E., Nielsen, B.L., Veerkamp, R.F. & Simm, G. 1999. Genotype and feeding system effects and interactions for health and fertility traits in dairy cattle. *Livestock Production Science* 57: 193-201.
- 48 Rhodes, F.M., Fitzpatrick, L.A., Entwistle, K.W., & De'ath, G. 1995. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in Bos indicus heifers before and after nutritional anoestrus. *Journal of Reproduction & Fertility* 104: 41-49.
- 49 Rhodes, F.M., Entwistle, K.W. & Kinder, J.E. 1996. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in bos indicus heifers. *Biology of Reproduction* 55:1437-1443.
- 50 Royal, M.D., Darwash, A.O. & Lamming, G.E. 1999. Trends in the fertility in dairy cows in the United Kingdom. *Proceedings of the Annual Meeting of the British Society of Animal Science. Abstr. 1*.
- 51 Ryan, D.P., Spoon, R.A. & Williams, G.L. 1992. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery and embryo viability in heifers fed high-fat diets and treated with follicle stimulating hormone. *Journal of Animal Science* 70: 3505-3513.
- 52 Sangsritavong, S., Combs, D.K., Sartori, R., Armentano, L.E. & Wiltbank, M.C. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17b in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 85:2831-2842.
- 53 Sklan, D., Kaim, M., Moallem, U. & Folman, Y. 1994. Effect of dietary calcium soaps on milk yield, body weight, reproductive hormones, and fertility in first parity and older cows. *Journal of Dairy Science* 77:1652-1660.
- 54 Snijders, S.E.M., Dillon, P.G., O'Callaghan, D. & Boland, M.P. 2000. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in-vitro oocyte development in dairy cows. *Theriogenology* 53:981-989.
- 55 Spicer, L.J., Vernon, R.K., Tucker, W.B., Wetteman, R.P., Hogue, J.F., & Adams, G.D. 1993. Effects of inert fat on energy balance, plasma concentrations of hormones, and reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 76:2664?2673.



- 56 Spitzer, J.C., Niswender, G.D., Seidel, G.E. & Wiltbank, J.N. 1978. Fertilization and blood levels of progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. *Journal of Animal Science* 46: 1071-1077.
- 57 Stagg, K., Diskin, M.G., Sreenan, J.M. & Roche, J.F. 1995. Follicular development in long-term anoestrous suckler cows fed two levels of energy post-partum. *Animal Reproduction Science* 38: 49-61.
- 58 Staples, C.R., Burke, J.M. & Thatcher, W.W. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81:856-871.
- 59 Villa-Godoy, A., Hughes, T.L., Emery, R.S., Enright, W.J., Ealy, A.D., Zinn, S.A. & Fogwell, R.L. 1990. Energy balance and body condition influence luteal function in holstein heifers. *Domestic Animal Endocrinology* 7: 135-148.
- 60 Washburn, S.P., Silvia, W.J., Brown, C.H., McDaniel, B.T. & McAllister, A.J. 2002. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *Journal of Dairy Science* 85: 244-251.
- 61 Wehrman, M.E., Welsh, T.H. Jr., & Williams, G.L. 1991. Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics and hastens the onset of postpartum luteal activity. *Biology of Reproduction* 45:514-522.
- 62 Westwood, C.T., Lean, I.J. & Garvin, J.K. 2002. Factors influencing fertility of Holstein dairy cows: a multivariate description. *Journal of Dairy Science* 85:3225-3237.
- 63 Williams, G.L. 1989. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. *Journal of Animal Science* 67: 785-793.
- 64 Wrenzycki, C., De Sousa, P., Overstrom, E.W., Duby, R.T., Herrmann, D., Watson, A.J., Niemann, H., O'Callaghan, D. & Boland, M.P. 2000. Variations of relative mRNA abundances and pyruvate metabolism in bovine embryos are associated with superovulated heifer diet type and quantity. *Journal of Reproduction and Fertility* 118:69-78.
- 65 Yaakub, H., O' Callaghan, D., Duffy, P., Duby, R.T. & Boland, M.P. 1996. Effect of concentrate type and quantity on superovulation in cattle. *Proceedings of Techniques for gamete manipulation and storage, 1996. Hamilton, New Zealand* p 37.
- 66 Yaakub, H., O'Callaghan, D., O'Doherty, J.V. & Boland, M.P. 1997. Effect of dietary intake on follicle numbers and oocyte morphology in unsuperovulated and superovulated ewes. *Theriogenology* 47 : 182.
- 67 Yaakub, H., O'Callaghan, D. & Boland, M.P. 1999. Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. *Theriogenology* 51:1259-1266.