

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



EFEITOS DA PROGRAMAÇÃO FETAL NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DOENÇA EM
DUAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS EM PORTUGAL

MARGARIDA MARIA MATOS SILVA

ORIENTADOR(A):
Doutor José Ricardo Dias Bexiga

TUTOR(A):
Dr. Dário Alexandre de Sá Guerreiro

2024

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



EFEITOS DA PROGRAMAÇÃO FETAL NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DOENÇA EM
DUAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS EM PORTUGAL

MARGARIDA MARIA MATOS SILVA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

ORIENTADOR(A):

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

VOGAIS:

Doutor George Thomas Stilwell

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

TUTOR(A):

Dr. Dário Alexandre de Sá Guerreiro

2024

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Margarida Maria Matos Silva

Título da Tese ou Dissertação: EFEITOS DA PROGRAMAÇÃO FETAL NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DOENÇA EM DUAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS EM PORTUGAL

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2024

Designação do curso de
Mestrado ou de
Doutoramento: Mestrado Integrado de Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica Produção Animal e Segurança Alimentar
 Morfologia e Função Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 17 de Outubro de 2024

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Ricardo Bexiga por ter aceitado a orientação desta dissertação, que em conjunto com o Professor Dr. Gonçalo Pereira me sugeriram e deixaram interessadíssima nesta temática.

Ao Dr. Dário Guerreiro, ao Dr. André Parada e ao Dr. Pedro Carreira por tão bem me terem recebido nos estágios que realizei no último ano, sempre com boa disposição e transmitindo-me todo o conhecimento teórico e prático que adquiri nos estágios.

À Dr^a Sofia Almendra por me ter inspirado e incentivado a seguir Medicina Veterinária e, principalmente, por me ter aconselhado a estudar na FMV-ULisboa.

A todos os professores, tanto da UAc como da FMV, por todo o conhecimento que nos transmitiram ao longo do curso.

Ao meu pai e ao Luís que sempre me ajudaram na parte prática, incentivam-me a praticar o máximo possível e têm paciência para a falta de experiência de uma estudante curiosa.

Aos meus pais e irmão que sempre me apoiaram e ajudaram ao longo de toda a vida, mas essencialmente nestes últimos 6 anos, em que com 17 anos fui para a ilha Terceira e agora finalizo o curso que sempre sonhei em Lisboa, que sem o apoio deles seria muito mais difícil.

Aos meus avós por todo o orgulho que têm nos netos, mesmo que nem todos consigam assistir a esta tão bonita fase final.

Ao Leonardo por todo o apoio e paciência nas fases mais difíceis, motivação para alcançar os meus objetivos, companhia e amizade, e por acreditar nas minhas capacidades mais que ninguém.

Aos meus colegas, Ana, Ana Maria, Maria e Guilherme, que sempre foram um grande apoio ao longo do curso, tanto para o convívio e diversão como para fazermos companhia a estudar nas alturas de maiores dificuldades.

Às minhas amigas de Alcobaça, Catarina, Anita, Beatriz, Filipa, Maria João, Matilde e Marta, que acompanharam de perto todo este percurso, pelo apoio e boa disposição.

A todas as explorações que visitei ao longo dos estágios que sempre me receberam bem e permitiram a evolução da minha experiência prática, especialmente às duas explorações que forneceram os dados para a elaboração deste estudo.

Por último, mas não menos importante, a toda a restante família e amigos que sempre me apoiaram e motivaram a seguir o que realmente gosto.

RESUMO: EFEITOS DA PROGRAMAÇÃO FETAL NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DOENÇA EM DUAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS EM PORTUGAL

Este estudo teve como objetivo verificar a influência da programação fetal na produção, reprodução e incidência de doenças do pós-parto em novilhas de duas explorações leiteiras em Portugal. A programação fetal refere-se ao impacto de insultos ambientais durante a vida embrionária e fetal na função física e fisiológica normal de um indivíduo na idade adulta, através da programação do epigenoma. Alguns dos fatores capazes de programar o desenvolvimento fetal são a nutrição da vaca, o número de partos da vaca gestante, a produção de leite materno durante a gestação e o stress térmico.

A amostra foi composta por 1020 nulíparas de duas explorações, uma em Palmela e outra em Benavente, tendo os dados sido processados no software SAS (SAS 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC). As variáveis analisadas da vaca gestante foram a produção média diária de leite materno, a época de concepção e o número de partos da vaca gestante. As variáveis estudadas na filha foram a produção de leite aos 305 dias de lactação, o sexo da cria, se foi ou não refugada, intervalo parto-concepção (IPC), se ficou gestante e a ocorrência de doenças no pós-parto (retenção placentária, metrite, deslocamento do abomaso, acetonémia, mastite).

Os resultados demonstraram que a fertilidade das vacas filhas, avaliada pelo IPC, foi influenciada pela produção média diária da mãe durante a gestação ($P=0,0003$), sendo que quanto mais leite a mãe produz menor a probabilidade de a filha ficar gestante nos 250 dias pós-parto ($HR=0,973$). A produção de leite da filha aos 305 dias de lactação teve uma relação positiva com a produção de leite materno ($P=0,0018$) e com a época de concepção ($P=0,0384$), verificando-se que filhas concebidas no outono produziram mais do que as que foram concebidas na primavera, inverno e verão. Quanto à incidência de doenças, constatou-se que a programação fetal apenas teve influência na incidência de deslocamento do abomaso e de acetonémia, sendo que filhas concebidas no verão fizeram mais deslocamentos do abomaso, embora de forma não estatisticamente significativa ($P=0,0974$), e filhas de nulíparas tiveram menor probabilidade de desenvolver acetonémia ($P=0,0354$).

Através dos resultados obtidos é possível perceber que a programação fetal tem um papel essencial no desempenho produtivo, reprodutivo e na saúde do futuro efetivo animal de cada exploração leiteira. Assim, a compreensão destes fatores pelos produtores tem o potencial de permitir melhorar a eficiência produtiva e reprodutiva das suas explorações, implementando sistemas de ventilação e chuveiros nos parques dos animais que não estão em produção, reduzindo a incidência de algumas doenças, otimizando as práticas de manejo e minimizando alguns custos da exploração leiteira.

Palavras-chave: Programação fetal; Produção de leite; Fertilidade; Doenças pós-parto; Bovinos

ABSTRACT: EFFECTS OF FETAL PROGRAMMING ON PRODUCTION, REPRODUCTION AND DISEASES ON TWO DAIRY FARMS IN PORTUGAL

This study aimed to evaluate the influence of fetal programming on production, reproduction and the incidence of postpartum diseases in heifers from two dairy farms in Portugal. Fetal programming refers to the impact of environmental insults during embryonic and fetal life on the normal physical and physiological function of an individual in adulthood, through the programming of the epigenome. Some of the factors capable of programming fetal development are cow nutrition, maternal parity, maternal milk production during pregnancy and heat stress.

The sample consisted of 1020 nulliparous cows from two farms, one in Palmela and the other in Benavente, and the data was processed with the SAS software (SAS 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC). The variables analyzed for the pregnant cow were average daily maternal milk production, time of conception and maternal parity. The variables studied in the offspring were milk production at 305 days of lactation, the sex of the calf, whether or not it was culled, calving-conception interval (CCI), whether it became pregnant and the occurrence of postpartum diseases (placental retention, metritis, abomasal displacement, acetonemia, mastitis).

The results showed that fertility, as assessed by the CCI, was influenced by the mother's average daily production during pregnancy ($P=0,0003$), and that the more milk the cow produced, the less likely the daughter was to become pregnant up to 250 days postpartum ($HR=0,973$). The daughter's milk production at 305 days of lactation had a positive relationship with maternal milk production ($P=0,0018$) and with the season of conception ($P=0,0384$). It was found that the offspring conceived in the fall produced more than the one conceived in the spring, winter and summer. As for the incidence of diseases, only abomasal displacement and acetonemia were found to be influenced by fetal programming, with the offspring conceived in the summer having more abomasal displacement, although this was not statistically significant ($P=0,0974$), and daughters of nulliparous females being less likely to develop acetonemia ($P=0,0354$).

The results obtained show that fetal programming plays an essential role in the productive and reproductive performance, and health of the future herd of each dairy farm. Understanding these factors allows farmers to improve the productive and reproductive efficiency of their farms, reducing the incidence of some diseases, optimizing management practices and minimizing some dairy farm costs.

Key-words: Fetal programming; Milk production; Fertility; Postpartum diseases; Dairy cattle

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE GRÁFICOS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
1. RELATÓRIO DE ESTÁGIO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. INTRODUÇÃO	5
2.2. PROGRAMAÇÃO FETAL E EPIGENÉTICA.....	5
2.3. EMBRIOLOGIA BOVINA	6
2.4. EFEITOS DE FATORES EXTERNOS E CONSEQUÊNCIAS.....	8
2.4.1. NUTRIÇÃO.....	8
2.4.2. NÚMERO DE PARTOS DA VACA GESTANTE	11
2.4.3. PRODUÇÃO DE LEITE MATERNO.....	13
2.4.4. STRESS TÉRMICO.....	15
3. EFEITOS DA PROGRAMAÇÃO FETAL NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DOENÇA EM DUAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS EM PORTUGAL.....	19
3.1. OBJETIVOS	19
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.2.1. CARACTERIZAÇÃO DAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS.....	19
3.2.2. RECOLHA DE DADOS.....	20
3.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
3.3. RESULTADOS	22
3.3.1. FERTILIDADE	22
3.3.2. PRODUÇÃO DE LEITE	24

3.3.3.	SOBREVIVÊNCIA	24
3.3.4.	DOENÇAS.....	25
4.	DISCUSSÃO DE RESULTADOS	27
4.1.	FERTILIDADE	27
4.2.	PRODUÇÃO DE LEITE	28
4.3.	SOBREVIVÊNCIA	30
4.4.	DOENÇAS.....	30
4.4.1.	METRITE.....	30
4.4.2.	DESLOCAMENTO DO ABOMASO.....	31
4.4.3.	ACETONÉMIA.....	32
4.4.4.	MASTITE	33
5.	CONCLUSÃO	35
6.	BIBLIOGRAFIA	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Necrópsia de porca reprodutora com achado de um abscesso de elevadas dimensões na cavidade abdominal	1
Figura 2 – Ovariohisterectomias em gatas. A) ovários poliquísticos e B) piómetra	2
Figura 3 - Parto distócico de <i>Perosomus elumbis</i>	2
Figura 4 – Cesariana em vaca. A) Sutura de Cushing não perfurante para encerrar a parede uterina e B) Sutura encadeada na pele.....	3
Figura 5 – Material para realização de exames andrológicos. A) Microscópio ótico com placa aquecida a 37°C, micropipeta, lâminas, corante “eosina-negrosina” e B) eletroejaculador.....	3
Figura 6 – Esquema representativo das interações entre os eixos hipotálamo-hipofisário-adrenal (HPA) e hipotálamo-hipofisário-gonadal (HPG) sob stress (adaptado de Huber et al. (2020)).....	17
Figura 7 – Diagrama representativo da fase gestacional de exposição ao stress térmico da descendência <i>in utero</i> , ao longo dos diferentes meses do ano, baseando-se apenas na época do ano (adaptado de Mozaffari Makiabadi et al. (2023)).....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores diários médios do ano 2023, relativos às explorações A e B19

Tabela 2 - Valores médios por época de concepção, com o respetivo erro padrão, de produção de leite aos 305 dias.....24

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curvas de Kaplan-Meier com a produção média diária da mãe durante a gestação em quartis em função do IPC.....	23
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH - Hormona Adrenocorticotrófica

AINEs – Anti-inflamatórios não esteróides

AMH – Hormona Anti-Mülleriana

BEN – Balanço energético negativo

BHBA – Beta-hidroxubutirato

BVD – Diarreia viral bovina

CAV2 - Adenovírus canino tipo 2

CCS – Contagem de células somáticas

CDV - Canine Distemper Vírus

CPi - Vírus da parainfluenza canina

CPV – Parvovírus canino

CRH - Hormona libertadora de corticotrofinas

DNA – Ácido desoxirribonucleico

FMV-ULisboa – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

FSH – Hormona folículo estimulante

GCs – Glucocorticóides

GnRH - Hormona libertadora de gonadotrofinas

HPA – Eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal

HPG – Eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

IBR – Rinotraqueíte infecciosa bovina

ICH - Infectious canine hepatitis

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina - tipo 1

IgG – Imunoglobulina G

IPC – Intervalo parto-concepção

LH – Hormona luteinizante

NEFA – Ácidos gordos não esterificados

OR – Odds Ratio

PCEDA - Plano de Controlo e Erradicação da Doença de Aujeszky

T.B. – Teor butiroso

T.P. – Teor proteico

UTAD - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

1. RELATÓRIO DE ESTÁGIO

Terminadas todas as unidades curriculares letivas com sucesso, chegou a fase de iniciar os estágios no âmbito do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa), de modo a adquirir algumas competências práticas, aplicando o conhecimento teórico adquirido anteriormente. A autora optou por realizar dois estágios, um durante o primeiro semestre e outro no segundo.

O estágio do primeiro semestre foi realizado sob a mentoria do Dr. Pedro Carreira que se tornou médico veterinário em 1993 pela UTAD, sendo atualmente clínico de espécies pecuárias e diretor clínico de uma clínica de animais de companhia. Este estágio decorreu entre os dias 10 de outubro e 30 de novembro de 2023, perfazendo um total de cerca de 400 horas. A área de atuação era principalmente em suinicultura, tanto a nível clínico como de consultoria, no entanto também incluía clínica e cirurgia de ruminantes, reprodução de bovinos e clínica e cirurgia de animais de companhia.

Relativamente à área de suinicultura, foram realizadas diversas visitas às explorações que são acompanhadas regularmente por este médico veterinário, com as devidas condições de biossegurança, sendo que a consultoria e o diálogo com os suinicultores e engenheiros zootécnicos das explorações tinham um especial relevo para ajudar no aperfeiçoamento da produção. Em determinadas explorações era da responsabilidade do médico veterinário a execução de ecografias para diagnóstico e confirmação das gestações e a aplicação dos planos profiláticos para determinadas doenças, como a Doença de Aujeszky que é obrigatória, sendo que a profilaxia das restantes doenças variava de exploração para exploração. Outra tarefa da competência do médico veterinário é a colheita de sangue para o Plano de Controlo e Erradicação da Doença de Aujeszky (PCEDA) que requer uma colheita regular de amostras aleatórias e representativas da exploração, de acordo com a tabela oficial de amostragem. Em casos de doença, era prática comum a realização de necrópsias (Figura 1) e colheita de material biológico, tanto dos cadáveres intervencionados como dos animais doentes, enviando posteriormente as amostras para laboratório para pesquisa de agentes patogénicos, de modo a auxiliar no diagnóstico definitivo e no tratamento a aplicar.

Em ruminantes, a espécie com maior casuística era a bovina, tanto em explorações leiteiras, como em explorações de engorda de bovinos. Relativamente às



Figura 1 – Necrópsia de porca reprodutora com achado de um abcesso de elevadas dimensões na cavidade abdominal.

primeiras, as intervenções mais comuns da competência do médico veterinário eram os diagnósticos de gestação por palpação retal e resolução de partos distócicos. No caso das engordas de bovinos, o mais comum era a aplicação de vacinas aquando da entrada de novos animais na exploração, sendo também recorrente a observação de animais com doença respiratória.

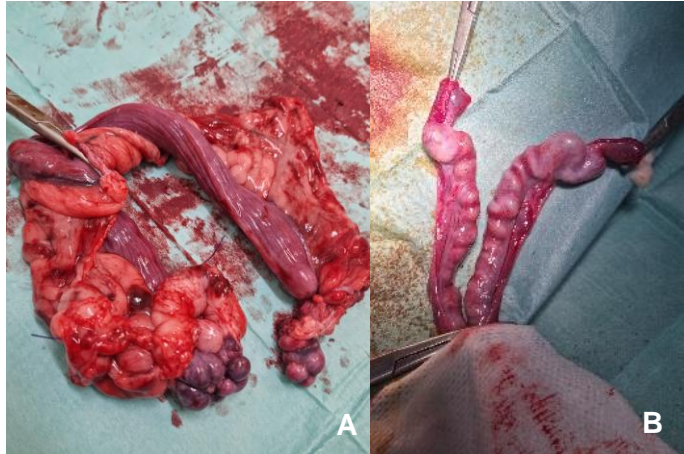


Figura 2 – Ovariohisterectomias em gatas. A) ovários poliquísticos e B) piómetra.

Na clínica de animais de companhia, os procedimentos mais comuns eram a realização de cirurgias, como a remoção de pequenas massas neoplásicas, ovariohisterectomias (Figura 2) e orquiectomias, tanto em cães como em gatos.

O estágio do segundo semestre foi realizado na Sá Guerreiro Vet Lda., entre os dias 3 de janeiro e 3 de maio de 2024, totalizando cerca de 750 horas práticas, sob mentoria do Dr. Dário Guerreiro, que concluiu a licenciatura em 2001 na FMV-ULisboa e fundou esta empresa em 2012, e o Dr. André Parada, que finalizou o mestrado integrado em 2018 na mesma faculdade, juntando-se nesse mesmo ano à equipa. A empresa presta serviço de ambulatório em diversas áreas como clínica, cirurgia, sanidade e reprodução, sendo que a principal espécie intervencionada são os bovinos, apesar de também existir alguma casuística de pequenos ruminantes (ovinos e caprinos), seguindo-se equídeos e em menor quantidade canídeos e suínos.

A clínica praticada por esta equipa compreendia uma vasta diversidade de casos, uma vez que diariamente surgiam diferentes urgências. A título de exemplo, diarreias neonatais, em que era administrado tratamento de suporte endovenoso (rehidratação) com associação



Figura 3 - Parto distócico de *Perosomus elumbis*

de antibioterapia e anti-inflamatório. O anti-inflamatório utilizado era um AINEs seletivo para as COX-2 (meloxicam) que origina menos efeitos secundários, essencialmente a nefrotoxicidade, que é fundamental nestes animais devido à desidratação. Mas também partos distócicos (Figura 3), sendo a etiologia mais comum a desproporção feto-materna, em que se realizavam manobras obstétricas para extração do feto, auxiliados pela utilização do extrator fetal, podendo até ter de recorrer a cesariana (Figura

4), realizada com a vaca em estação com anestesia epidural baixa e local, com incisão no flanco esquerdo. Inclusivamente, em casos em que o feto já não apresentava sinais vitais, recorreu-se à fetotomia. Outras doenças frequentemente encontradas neste estágio compreendiam doenças respiratórias, muito comuns tanto em bovinos como em ovinos, doenças digestivas, em que o rúmen não se apresentava com movimento, doenças oculares, como queratoconjuntivites infecciosas, metrites e retenções placentárias, entre outros casos. Nas metrites e retenções placentárias era aplicada antibioterapia intrauterina associada a antibioterapia sistémica, em que eram utilizados comprimidos intrauterinos de Uterab® 2000mg e oxitetraciclina sistémica, visto que não há evidência científica de eficácia da utilização apenas de antibioterapia intrauterina.

Na área da reprodução, foram realizados diagnósticos de gestação em bovinos por palpação retal e recorrendo a ecografia transretal, sendo que esta última também nos permitia diagnosticar endometrites. Normalmente, era realizada uma primeira ecografia a partir dos 30 dias após a inseminação artificial (IA), uma ecografia de confirmação aos 90 ou 120 dias após IA, dependendo do tipo de vacaria e do seu manejo, e um último diagnóstico antes de sear a vaca por volta dos 7 meses para certificação da inexistência de aborto. Após o parto, era realizada uma outra ecografia para verificar que o útero se encontrava saudável para nova inseminação ou para entrar num novo protocolo de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), após o período voluntário de espera. Isto era possível de ser realizado em explorações leiteiras, uma vez que existe um registo correto das inseminações. No entanto, em vacadas de carne é difícil saber as datas exatas de cobrição, pelo que se trabalhava com épocas de cobrição, sendo todos os animais palpados e submetidos a avaliação ecográfica 30 dias após a saída do touro da vacada. Não havendo época reprodutiva, era efetuado o exame reprodutivo a todas as vacas que estivessem paridas há mais de 90 dias, sendo comum vacinar as vacas que se encontravam no último terço de gestação contra as diarreias neonatais dos vitelos. Nos machos

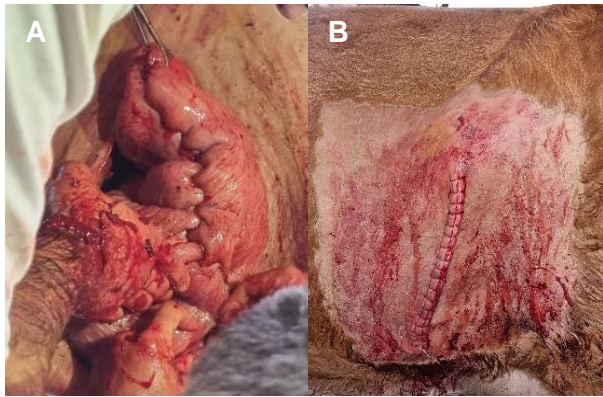


Figura 4 – Cesariana em vaca. A) Sutura de Cushing para encerrar a parede uterina e B) Sutura encadeada na pele.



Figura 5 – Material para realização de exames andrológicos. A) Microscópio ótico com placa aquecida a 37°C, micropipeta, lâminas, corante “eosina-negrosina” e B) sonda retal que se conecta ao eletroejaculador.

reprodutores eram realizados exames andrológicos (Figura 5) para avaliar a sua capacidade reprodutiva, através de um exame externo e posteriormente com recolha do sêmen para a sua observação ao microscópio. Em ovinos, também se realizava avaliação reprodutiva, apesar de com muito menor expressão do que nos bovinos. No entanto, nestes casos, a técnica de avaliação ecográfica era transabdominal.

Estes médicos veterinários eram ainda executores no Agrupamento de Defesa Sanitária da Península de Setúbal, pelo que era da sua responsabilidade a realização da sanidade da maioria do efetivo bovino desta região. Dependendo da exploração, poderia ser necessária colheita de sangue de todos os animais com mais de 1 ano para pesquisa de Brucelose Bovina e Leucose Bovina, realização da prova de intradermotuberculização comparada em todos os animais com mais de 2 meses de idade para diagnóstico de Tuberculose Bovina, tendo ainda, durante o presente ano, passado a ser obrigatória a vacinação dos bovinos para o Vírus da Língua Azul, a partir dos 42 dias de vida. Caso os produtores solicitassem, ainda era possível a vacinação para Clostridioses, Rinotraqueíte Infeciosa Bovina (IBR) e Diarreia Viral Bovina (BVD), assim como a desparasitação. Para poder haver movimentação de animais para outras explorações era necessária a realização de Testes de Pré-movimentação, nos quais é efetuada uma prova de intradermotuberculização comparada a todos os animais com mais de 42 dias.

As cirurgias nos animais de produção são um pouco mais limitadas do que nos animais de companhia, tanto pela dimensão dos animais como pela disponibilidade monetária para a sua realização, no entanto ainda foi possível a observação de diversos casos. Uma das cirurgias mais frequentes era para a correção do deslocamento do abomaso, através da técnica de piloro-omentopexia com incisão do flanco direito, tanto nos deslocamentos à esquerda como à direita, sendo realizado com o animal em estação e sob efeito de anestesia local. Menos frequentes, mas também observáveis, foram cirurgias de correção de prolapso uterinos e vaginais recorrendo à realização de uma sutura de Böhner, cesarianas, como foi referido anteriormente, sendo estas mais comuns em caprinos de raça anã, e orquiectomias, tanto em novilhos como em pequenos ruminantes.

Por último, em equídeos e animais da espécie canina, os procedimentos mais comuns eram a vacinação e identificação eletrónica, através da colocação de microchip no lado esquerdo da tábua do pescoço. Enquanto nos equídeos a vacinação principal era contra o tétano e a gripe (Influenza equina), nos cães era a da raiva, dado o seu carácter obrigatório, sendo também muito comum a polivalente (Nobivac DHPPI) que imuniza contra a esgana canina (CDV), hepatite infecciosa canina causada pelo adenovírus canino tipo 1 (ICH), parvovírus canino (CPV) e doença respiratória causada pela parainfluenza canina (CPi) e adenovírus canino tipo 2 (CAV2).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. INTRODUÇÃO

A produção de leite em Portugal é uma atividade agrícola de grande importância, sendo fundamental para a economia rural e para a alimentação e nutrição humana. Os grandes desafios desta atividade passam por maximizar a eficiência produtiva e melhorar a saúde e bem-estar dos seus animais, de modo que seja economicamente viável e garanta a segurança alimentar.

A programação fetal permite explicar como as condições ambientais e nutricionais durante a gestação podem influenciar o desenvolvimento e o desempenho produtivo e reprodutivo dos bovinos, a longo prazo. A adaptação das práticas de manejo e nutrição às necessidades das vacas gestantes, maximizando a produtividade e o bem-estar animal, pode originar um impacto económico significativo para a exploração.

2.2. PROGRAMAÇÃO FETAL E EPIGENÉTICA

Programação fetal ou programação do desenvolvimento foi inicialmente explorado e desenvolvido por David Barker (1995,2004), que os define como o impacto de insultos ambientais durante a vida embrionária e fetal na função física e fisiológica normal de um indivíduo durante a idade adulta, podendo resultar em algumas doenças crónicas como resposta fetal ao seu ambiente intrauterino. Assim, após diversos estudos, ficou bem definido que perturbações na saúde, nutrição e meio ambiente da mãe durante a gestação podem programar modificações estruturais e fisiológicas permanentes no feto (Wathes 2022).

A base biológica para este fenómeno é a plasticidade do desenvolvimento que pode ser definida pela capacidade de um genótipo originar diferentes estados morfológicos e fisiológicos em resposta a diferentes ambientes, ou seja, diferentes fenótipos mais adaptados ao seu ambiente. Existe um período crítico, que se designa de janela crítica de desenvolvimento, em que os órgãos e sistemas são mais sensíveis ao ambiente (Wu et al. 2006; Barker 2003). Ao longo do desenvolvimento embrionário e fetal existe uma elevada taxa de proliferação e diferenciação celular em muitos tipos diferentes de células, o que torna o período *in utero* particularmente vulnerável às alterações do ambiente uterino. Caso o aporte de nutrientes ou oxigénio seja inadequado, os mecanismos de sinalização irão alterar as taxas de divisão celular e as vias de diferenciação, podendo mesmo haver apoptose (Maloney and Rees 2005). Assim, o organismo do feto em desenvolvimento é programado para sobreviver em condições idênticas às que enfrentou durante o seu período intrauterino. Passados estes períodos críticos, há uma perda progressiva de plasticidade com o evoluir da idade do animal, acabando por atingir uma capacidade funcional fixa (Hopper 2021; Barker 2003).

Os primeiros estudos sobre esta temática centraram-se em tentar perceber se animais que tinham sofrido alterações no desenvolvimento, seriam os que nasciam com um baixo peso. No entanto sabe-se que consoante a fase em que ocorre o insulto pode ou não haver alteração do peso ao nascimento, logo não é por si só um indicador de que tenha havido programação do desenvolvimento (Barker 2004).

Os mecanismos epigenéticos que controlam a programação fetal baseiam-se na sensibilidade do epigenoma durante o desenvolvimento pré-natal, em que as alterações do ambiente fetal podem resultar na programação do epigenoma, modificando a expressão dos genes, mas sem alterar o genoma do indivíduo (Reynolds et al. 2019; Hopper 2021). Este epigenoma pode ser definido como o conjunto de modificações no DNA e nas histonas que regula a expressão dos genes sem alterar a sequência do DNA, ou seja, sem ocorrer uma mutação (Wu and Morris 2001). As modificações na expressão genética devem-se à metilação do DNA, modificação de histonas ou influência do RNA não codificante, o que resulta na ativação ou silenciamento de diversas bases nucleotídicas do DNA de modo que o feto se adapte ao ambiente uterino, originando características fenotípicas diferentes com um mesmo genótipo (Goyal et al. 2019).

O aparelho reprodutor da descendência feminina é um dos mais importantes aparelhos que, quando tem o seu desenvolvimento comprometido pela existência de um ambiente gestacional adverso, não só altera o desempenho reprodutivo da filha (primeira geração), como também compromete a saúde da neta (segunda geração) através de alterações no oócito que se está a formar (Hopper 2021; Yao et al. 2021).

A compreensão destes mecanismos de programação fetal permite explicar alguns fatores importantes na produção animal tais como aumento da morbilidade e mortalidade neonatais, alterações do crescimento pós-parto, distúrbios metabólicos, doenças cardiovasculares e disfunção de órgãos específicos, como os ovários, testículos, glândula mamária, fígado e intestino delgado (Wu et al. 2006). Estas disfunções irão prejudicar a economia da exploração, visto que a produção animal está comprometida: a produção de leite, a fertilidade e os índices de conversão alimentar são afetados, assim como pode ocorrer um aumento da incidência de doenças metabólicas.

2.3. EMBRIOLOGIA BOVINA

Existem duas fases de desenvolvimento *in utero*, que nos bovinos podem ser divididas em fase embrionária, que corresponde ao período compreendido entre a conceção e o final da organogénese ao 42º dia de gestação, seguindo-se a fase fetal que é quando ocorre a diferenciação dos diferentes órgãos, terminando com o parto (Hopper 2021).

O embrião bovino alcança o útero 5-6 dias após a ovulação, havendo um período crítico até ao reconhecimento materno da gestação que ocorre entre os 15 e 18 dias, e só

depois se iniciam as fases iniciais da placentação (Vonnahme 2007). O batimento cardíaco do embrião é visível entre os 21 e 22 dias após a ovulação (Funston et al. 2010), sendo que o desenvolvimento da glândula mamária apenas se inicia por volta do dia 32 após a concepção (Hurley and Looor 2011), com os testículos a desenvolverem-se aos 45 dias e os ovários entre os 50 e os 60 dias (Moreira et al. 2019). O desenvolvimento do aparelho reprodutor ocorre na fase inicial da gestação, com a migração das células germinativas primordiais para as cristas gonadais e a sua conversão em oogónias a ocorrer durante o primeiro mês de gestação, e a posterior propagação das oogónias e desenvolvimentos de quistos de células germinativas a ocorrerem até ao terceiro mês de gestação. Segue-se a rutura destes quistos com a formação de folículos primordiais a partir do terceiro mês, e a partir do quinto mês há a ativação destes folículos que passam a folículos primários e posteriormente a secundários a partir do sétimo mês de gestação (Wrobel and Süß 1998; Yang and Fortune 2008).

Assim, a trajetória de crescimento individual de cada tecido é diferente e com períodos máximos de crescimento a ocorrerem em diferentes fases da gestação (Godfredson et al. 1991), o que resulta em janelas críticas desenvolvimento diferentes para cada tecido quando perante algum tipo de insulto (Redmer et al. 2004). Pensa-se, ainda, que exista uma hierarquia entre os diferentes tipos de tecido em situações de condições adversas, havendo favorecimento de órgãos e sistemas importantes para a sobrevivência do feto, tais como o cérebro, o coração e o fígado (McMillen et al. 2001), sendo o desenvolvimento muscular muito vulnerável a estes insultos uma vez que é um dos tecidos menos importantes aquando da repartição dos nutrientes (Zhu et al. 2006).

Na vaca, a placenta liga-se na parede uterina às carúnculas, que são proliferações aglandulares de tecido conjuntivo salientes na superfície luminal uterina, através dos cotilédones que são vilosidades coriônicas das membranas placentárias, formando uma unidade caruncular-cotiledonar denominada placentoma, que é a área funcional das trocas fisiológicas entre o feto e a vaca (Vonnahme 2007).

O fluxo sanguíneo adequado para o aparelho reprodutor é essencial para um desenvolvimento adequado do feto, tal como a função placentária uma vez que a placenta é responsável pelo transporte de nutrientes e resíduos entre o feto e a progenitora. Assim, a eficiência placentária permite relacionar o peso do vitelo ao nascimento com o peso da placenta, sendo que também pode ser avaliado através do fluxo sanguíneo uterino e umbilical, com Doppler (Hopper 2021).

O crescimento de um feto de ruminante ocorre 75% durante os 2 últimos meses de gestação (Robinson et al. 1977), seguindo um padrão exponencial, em que predomina a hipertrofia celular uma vez que a hiperplasia diminui drasticamente na fase final da gestação (Copping 2017). A placenta tem um papel fundamental na satisfação das necessidades do feto, no entanto o crescimento da placenta não continua no último semestre de acordo com o

crescimento do feto, pelo que tem haver um aumento drástico da função placentária para que a placenta consiga suportar as necessidades do crescimento fetal, sendo que o fluxo sanguíneo uterino aumenta três a quatro vezes na última metade da gestação (Reynolds and Redmer 1995).

2.4. EFEITOS DE FATORES EXTERNOS E CONSEQUÊNCIAS

2.4.1. NUTRIÇÃO

O efeito da nutrição da vaca gestante no desenvolvimento e saúde futura do feto depende da fase e magnitude em que ocorre, relativamente ao desenvolvimento fetal e placentário, podendo afetar o peso à nascença, o crescimento, o peso e qualidade da carcaça ao abate e doenças metabólicas e endócrinas, como a intolerância à glucose (Vonnahme 2007; Funston et al. 2010). Tal como a restrição nutricional, também o excesso de nutrientes interfere com o desenvolvimento fetal (Klein et al. 2021). Nas vacas leiteiras, esta influência da nutrição materna não se aplica tanto como nas vacadas de carne, uma vez que, em Portugal, a grande maioria das explorações leiteiras tem as vacas estabuladas, com uma dieta formulada de acordo com as suas necessidades nutricionais nas diferentes fases de produção, apesar da existência de alguma necessidades e preferências individuais.

Segundo Barker (2003), como resposta à subnutrição durante a vida fetal e infância, os humanos têm predisposição para desenvolver doença coronária, diabetes tipo 2, acidente vascular cerebral e hipertensão, conseguindo justificá-lo através de três pressupostos. O primeiro é que os órgãos-chave das pessoas mais pequenas acabam por ter menos células, como o rim, o que justifica a hipertensão; o segundo é que o feto desenvolve uma forma inadequada de aproveitar os alimentos devido à escassez, o que resulta numa resistência à insulina; e, por último, o rápido aumento de peso na infância.

De acordo com Barker (2003), ensaios em comunidades ocidentais com suplementação materno-placentária de macronutrientes tiveram reduzidos efeitos no peso ao nascimento, o que levou a que se acreditasse que o crescimento e desenvolvimento fetal fosse pouco influenciado pela ingestão nutricional da mãe. No entanto, sabe-se que a ingestão alimentar e composição corporal materna podem ter grandes efeitos na programação do feto (Barker 2003), sendo que o feto não vive unicamente da dieta materna, mas também dos nutrientes armazenados e da transformação de proteínas e gorduras dos tecidos da mãe (James 1997). Barker (2003) afirmou que existem duas razões pelas quais os bebés humanos podiam nascer com baixo peso, sendo que o primeiro era a limitação do crescimento pelo reduzido tamanho da mãe e o segundo por falta de nutrientes para o seu desenvolvimento. Assim, o peso à nascença não é o melhor indicador para avaliar a sobrevivência e produtividade do vitelo, ou seja, se houve algumas alterações das características fenotípicas.

Diversos estudos em bovinos dão importância apenas ao peso ao nascimento para verificar se houve algum tipo de insulto nutricional ao longo da gestação (Hopper 2021). No entanto, se a subnutrição materna ocorrer na fase inicial da gestação, seguindo-se uma nutrição adequada, o feto acaba por nascer com um peso normal, conduzindo a um aumento do comprimento do neonato, sendo mais magro que um vitelo com uma nutrição adequada ao longo de toda a gestação (Vonnahme 2007).

Existem alguns estudos, tanto em humanos como em várias espécies animais, que restringem a dieta materna em diferentes fases da gestação para observar o impacto que isso tem na vida futura do feto. Kwong et al. (2000) realizaram um estudo em ratos, que reduziram a quantidade de proteína da dieta no período pré-implantação do embrião e observaram alterações na fase de blastocisto, taxas de crescimento fetal reduzidas, tamanho dos neonatos reduzido e aumento da pressão arterial na vida adulta. Assim, pensa-se que a melhoria da nutrição periconcepcional aumenta a trajetória do crescimento fetal. Em 1975, Corah et al. relataram que se durante os últimos 90 dias de gestação se reduzisse a dieta de vacas prenhas apenas para 70% das suas necessidades energéticas, os vitelos acabavam por ter taxas de morbidade e mortalidade neo-natais mais elevadas.

Outros estudos avaliaram o efeito da restrição de proteína na transferência de imunidade passiva à descendência em ovinos e em bovinos, tendo sido obtidos resultados distintos. Hammer et al. (2011) que separaram os cordeiros das mães imediatamente após o nascimento, alimentando-os com colostro artificial e medindo os níveis de IgG no sangue ao fim de 24 horas, constataram que cordeiros de mães subnutridas apresentavam maior transferência de IgG. Esta observação está de acordo com a revisão de Klein et al. (2021) que concluíram que a restrição nutricional ao longo da gestação resulta numa compensação do desenvolvimento dos órgãos do sistema digestivo de modo a aumentar a absorção de nutrientes em situações de escassez, como garantia de sobrevivência. No entanto Blecha et al. (1981), avaliaram o efeito da restrição de proteína nos últimos 100 dias de gestação, e não encontraram diferença nas concentrações de IgG no sangue e no colostro das vacas com diferentes níveis de proteína na dieta. Porém a absorção de IgG pelo vitelo foi maior conforme os níveis de proteína da dieta materna, logo vitelos de mães com restrição de proteína apresentaram transferência de imunidade passiva diminuída.

Na fase inicial da gestação, em que as necessidades nutricionais para o crescimento do embrião são negligenciáveis, a nutrição materna tem uma extrema importância pois é durante esta fase que ocorre o crescimento, diferenciação e vascularização da placenta, bem como a organogénese fetal, pelo que é uma fase crítica do desenvolvimento (Vonnahme 2007). Para suportar o crescimento exponencial do feto durante o último trimestre de gestação é necessário que se estabeleça um sistema vascular feto-placentário funcional, sendo que a vasculatura uterina da mãe deve estar corretamente desenvolvida (Reynolds and Redmer

2001), verificando-se a vascularização das carúnculas a partir do 90º dia de gestação com um aumento acentuado ao 120º dia (Ford 1995). Um estudo provocou restrição nutricional numa fase inicial a média da gestação, entre os dias 50 e 180, diminuindo em 60% a energia da dieta, resultando numa diminuição do fluxo sanguíneo uterino e conseqüentemente no peso do feto, apesar de se ter verificado um aumento da eficiência placentária (Lemley et al. 2018).

O músculo esquelético tem uma baixa prioridade na partição de nutrientes quando existe carência, contrariamente ao cérebro e coração, o que o torna particularmente vulnerável (Vonnahme 2007). Assim, a restrição nutricional afeta o crescimento fetal, quando coincide com o desenvolvimento muscular fetal, afetando ainda o desenvolvimento do músculo esquelético do futuro novilho, uma vez que após o nascimento não se verifica qualquer aumento líquido no número de fibras musculares (Greenwood et al. 2000). Greenwood and Cafe (2007) demonstraram que novilhos de vacas que sofreram restrições nutricionais ao longo da gestação tinham pesos vivos e de carcaça inferiores aos 30 meses de idade, quando comparados com novilhos de vacas corretamente alimentadas. No entanto, os descendentes de vacas com restrição alimentar possuíam uma maior capacidade de acumular gordura na carcaça.

A subnutrição resulta num aumento significativo da pressão sanguínea fetal (Murotsuki et al. 1997) e existem mecanismos que ligam o desenvolvimento vascular pulmonar ao crescimento alveolar, logo se a circulação sanguínea fetal estiver alterada, a alveolarização, ou seja o desenvolvimento dos alvéolos, poderá também ser afetada, resultando numa função pulmonar ineficaz que propicia o desenvolvimento de doença respiratória bovina (Funston et al. 2010), uma das doenças com maior morbidade e mortalidade em animais confinados, como por exemplo em engordas intensivas e vacarias de leite.

Um estudo feito por Fowden and Hill (2001) em roedores, demonstrou que as alterações no ambiente nutricional intrauterino causam alterações nos ilhéus pancreáticos, o que provoca efeitos para toda a vida, predispondo o animal à intolerância à glucose e à diabetes. Apesar de menos estudado e da relativa resistência à insulina pelos ruminantes adultos, sabe-se que pequenas alterações no metabolismo e no fornecimento dos nutrientes durante a gestação são suficientes para influenciar a produção de leite (Murphy et al. 2000).

Em relação ao desenvolvimento reprodutivo, a restrição nutricional resulta numa diminuição da taxa de proliferação celular nos folículos primordiais, o que pode comprometer a atividade folicular, a fertilidade e a longevidade reprodutiva da futura reprodutora, como comprovaram Grazul-Bilska et al. (2009), num estudo em ovinos. Em casos de restrição proteica durante a gestação, Guzmán et al. (2006) verificou em roedores, que houve um atraso na puberdade e até atingirem o primeiro cio, em relação às descendentes do grupo de controlo.

Para além das restrições nutricionais, também as suplementações nas diferentes fases da gestação têm efeitos na programação fetal. A revisão bibliográfica de Moreira et al. (2019) menciona que a suplementação proteica de vacas de carne no terço final da gestação, para além de conseguir uma melhor condição corporal da vaca no pós-parto, também leva a um aumento do peso da cria ao nascimento e ao desmame, aumentando a taxa de prenhez e diminuindo a idade à puberdade de novilhas descendentes de vacas suplementadas. No entanto, no estudo de Martin et al. (2007) constataram que a suplementação proteica no último terço da gestação não alterava o peso das crias ao nascimento quando comparadas com as do grupo de controlo, mas confirmou a elevada taxa de prenhez no ciclo reprodutivo seguinte.

Apesar de já estarem publicados diversos estudos, ainda se sabe muito pouco sobre as alterações específicas induzidas pelos nutrientes na programação fetal, que culminam nas alterações permanentes do bovino adulto, tanto a nível de estrutura como de fisiologia e metabolismo (Vonnahme 2007).

2.4.2. NÚMERO DE PARTOS DA VACA GESTANTE

O número de partos da vaca gestante, permite classificá-las como nulíparas, primíparas ou múltiparas, consoante é a primeira gestação, segunda ou da terceira em diante, respetivamente, é um dos principais fatores que influencia a programação fetal em bovinos (Bafandeh et al. 2023).

Em relação ao peso ao nascimento, existem diversos estudos que comprovam que crias nascidas de nulíparas são mais leves, seguindo-se as primíparas e por último as múltiparas que têm crias mais pesadas, apesar de com o aumento do número de partos da vaca poder haver uma redução do peso das crias (Bafandeh et al. 2023), existindo algumas perspetivas que permitem justificar esta diferença de peso consoante o número de partos da vaca gestante. Primeiramente, as nulíparas são animais jovens com aproximadamente 15 meses de idade quando ficam gestantes, para que o primeiro parto ocorra aos 24 meses, ficando gestantes com cerca de 60% do seu peso corporal de adulto, ou seja, ainda em crescimento, pelo que existe uma mobilização de parte dos nutrientes e energia ingeridos para as necessidades de crescimento materno, havendo alteração do ambiente nutricional intrauterino e influenciando o desenvolvimento fetal (Swali and Wathes 2007; Wathes et al. 2014; Bafandeh et al. 2023). Por outro lado, Meyer and Redifer (2024) justificam esta diferença de peso entre neonatos de nulíparas e múltiparas com a “teoria da primeira utilização” dos tecidos, que se baseia na relativa inexperiência fisiológica dos tecidos reprodutivos, como o útero e a glândula mamária, durante a primeira gestação e lactação, permitindo esta teoria explicar a razão de haver diferenças consoante o número de partos da vaca gestante, mesmo quando as vacas já estão próximas do peso da idade adulta. Em 2015, Klewitz et al. também

justificaram este fenómeno com o facto do tamanho das artérias uterinas ser mais reduzido em animais mais jovens, logo o fluxo sanguíneo seria menor, originando placentas de menores dimensões (Duncan et al. 2023) e reduzindo a quantidade de nutrientes a que o feto tem acesso uma vez que é esta circulação materno-fetal que é responsável pelo fornecimento de nutrientes e oxigénio ao feto.

Foi observado recentemente que a produção de leite da descendência era inversamente proporcional ao número de lactações da mãe, ou seja, diminuía com o número de partos da vaca gestante, sendo que novilhas de primeira barriga originavam novilhas melhores produtoras do que as múltíparas (Bafandeh et al. 2023). Esta diferença pode ser justificada pela recente intensificação das explorações de vacas de leite que culminou numa seleção genética de modo a melhorar e rentabilizar a produção leiteira, com um aumento dos méritos genéticos, geração após geração, pelo que vacas mais jovens terão um mérito genético mais elevado do que as vacas múltíparas (Brito et al. 2021).

Relativamente à fertilidade das crias, Akbarinejad et al. (2018) verificaram que vacas múltíparas originavam animais mais férteis do que as nulíparas e primíparas, sendo que utilizaram a concentração sérica da hormona anti-Mülleriana (AMH) pois está associada à dimensão das reservas ováricas, e observaram uma maior concentração desta hormona em vacas múltíparas, sendo que quanto mais parições, maior a concentração na descendência. Bafandeh et al. (2023) obtiveram resultados idênticos, sendo que crias de vacas múltíparas tinham uma maior taxa de conceção no primeiro serviço pós-parto, menos serviços por conceção e um menor intervalo parto-conceção, o que pode ser justificado pela menor produção de leite, maior concentração de AMH e maiores reservas ováricas relativamente às nulíparas. A relativa subnutrição fetal das crias de nulíparas também permite justificar a reduzida concentração de AMH (Mossa et al. 2013). Em oposição a estes resultados, Swali and Wathes (2007) concluíram que a fertilidade foi melhor na descendência de nulíparas do que na de múltíparas, uma vez que a sua conceção no seu primeiro serviço foi mais precoce tendo ficado gestantes mais cedo, apesar de haver uma maior perda de peso pós-parto e concentrações mais baixas de IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina – tipo 1) e de insulina.

A variação das concentrações IGF-1 e insulina resulta da influência que o número de partos da vaca gestante tem no eixo somatotrófico, e as suas concentrações correlacionam-se com o reinício da atividade ovárica após o parto, estando também associada à qualidade dos oócitos (Velazquez et al. 2008). Assim, a maior concentração de IGF-1 e de insulina em vacas múltíparas (Swali and Wathes 2007) permite justificar uma maior taxa de conceção ao primeiro serviço e um menor intervalo parto-conceção (Akbarinejad et al. 2018).

Existe evidência de que o estradiol e a testosterona maternos diminuem com a idade e com o número de partos da vaca gestante (Toriola et al. 2011), e a exposição a estrogénios

pode perturbar a morfologia e desenvolvimento dos folículos antrais na descendência (Smith et al. 2009), o que permitiria explicar as concentrações mais baixas de AMH e a fertilidade reduzida das nulíparas (Akbarinejad et al. 2018).

Em termos de mortalidade e morbidade, os vitelos de nulíparas apresentaram taxas mais elevadas, apresentando indicadores metabólicos de stress mais elevados durante as primeiras 72 horas de vida, o que parece ter comprometido a termorregulação e o metabolismo (Duncan et al. 2023). Esta elevada taxa de mortalidade em vitelos filhos de nulíparas também pode estar associada ao reduzido crescimento fetal e alteração do desenvolvimento fetal associados a alguns fatores perinatais, como a distócia, redução da produção de colostro e de imunoglobulinas e a transferência de imunidade passiva prejudicada (Meyer and Redifer 2024).

Atualmente, nas vacarias de leite os efetivos são constituídos numa grande proporção por nulíparas e primíparas, que acabam por contribuir com uma elevada percentagem para as novilhas de substituição da própria exploração. Assim, apesar da sua boa produção leiteira, acabam por ter um impacto económico negativo para a exploração devido à baixa fertilidade (Akbarinejad et al. 2018).

2.4.3. PRODUÇÃO DE LEITE MATERNO

Outro fator que afeta a programação fetal da descendência é o nível de produção de leite materno. Nas vacas de explorações de leite a época de concepção coincide com a fase em que atingem o pico de lactação, por volta dos 70 a 100 dias em leite, pelo que existe uma elevada competição pela energia e nutrientes disponíveis, estando o animal potencialmente em balanço energético negativo (BEN) aquando da concepção e fase inicial da gestação (González-Recio et al. 2012; Relling et al. 2016). Esta incapacidade de ingestão nutricional suficiente numa fase de elevadas necessidades resulta numa perda de peso da vaca gestante por mobilização de tecido muscular e adiposo de modo a tentar suprir todas as necessidades, tanto da lactação como da gestação (Peiter et al. 2023).

A produção de leite materno influencia positivamente o peso do vitelo ao nascimento, ou seja, vacas com uma alta produção de leite têm crias mais pesadas, o que pode ser justificado pelo aumento de 75% do peso do feto apenas durante os últimos 2 meses de gestação (Robinson et al. 1977), que é aproximadamente o período seco da vaca, em que já não há mobilização de energia e nutrientes para a lactação, sendo tudo o que é ingerido destinado ao desenvolvimento do feto e à manutenção da vaca (Dehghan Harati et al. 2024). No entanto, existem estudos anteriores que relatam que mães mais velhas com um maior nível de produção geraram vitelos mais leves (Swali and Wathes 2006), o que pode ser

explicado pelas possíveis alterações do aparelho reprodutor da vaca, que foram observadas em vacas com mais de 7 partos, ou seja, com mais de 9 anos de idade (Bafandeh et al. 2023).

Contrariamente ao peso ao nascimento, a produção de leite da cria é afetada negativamente pela produção de leite materna, pelo que fêmeas geradas na ausência de lactação materna produzem mais leite (Berry et al. 2008; González-Recio et al. 2012). Assim, vacas com elevado mérito genético podem não o passar à descendência devido à perturbação da programação fetal na produção de leite, pelo que a elevação da produção de leite materna pode prejudicar o efeito da seleção genética. Esta alteração transgeracional observa-se principalmente em crias de mães múltíparas jovens, havendo uma redução significativa da produção na primeira lactação da mãe para a cria, enquanto em crias de mães primíparas e múltíparas mais velhas, existe um aumento pouco significativo da produção, o que pode ser atribuído ao elevado nível de produção das múltíparas jovens (Dehghan Harati et al. 2024). Nesta característica também tem influência o reprodutor que foi utilizado, uma vez que o mérito genético do pai também contribui para o desempenho produtivo da descendência (Bertrand et al. 1985). Outra perspetiva foi apresentada por Banos et al. (2007) que não identificaram efeitos significativos da elevada produção de leite materno no desempenho da cria na primeira lactação.

Relativamente à fertilidade das descendentes, o estudo de Dehghan Harati et al. (2024) revelou que as novilhas filhas de vacas com elevado nível produtivo atingiam a puberdade mais cedo, sendo inseminadas e ficando gestantes em idades mais jovens, o que se deve ao peso mais elevado à nascença e à maior taxa de crescimento. No entanto, o desempenho reprodutivo das crias é prejudicado pela elevada produção de leite materno, havendo um maior intervalo parto-conceção e um estado metabólico pós-parto prejudicado, o que pode ser resultado de um efeito adverso do alto nível de produção na programação fetal da reprodução (Snijders et al. 2001; Dehghan Harati et al. 2024).

A elevada produção de leite materna relaciona-se também com a sobrevivência e longevidade das crias, sendo que crias de vacas com elevada produção no momento da conceção e durante a gestação estão associadas a uma menor sobrevivência (Berry et al. 2008). Segundo González-Recio et al. (2012), as novilhas que são concebidas em vacas não lactantes, ou seja, nulíparas que ainda não produziram leite durante a gestação, têm uma maior longevidade.

Berry et al. (2008) afirmaram que existe uma maior contagem de células somáticas no leite produzido por descendentes de vacas com elevada produção de leite, pelo que pode significar uma elevada incidência de mastites subclínicas nestes animais. Esta é a doença mais comum em bovinos de leite e é caracterizada por uma inflamação e/ou infeção bacteriana da glândula mamária, tendo González-Recio et al. (2012) descrito que embriões

que foram gerados em mães que contraíam mastites apresentaram uma ligeira redução da produção de leite.

O rácio entre a gordura e a proteína no leite é um bom indicador para avaliação do estado metabólico das vacas leiteiras, uma vez que esta razão se correlaciona negativamente com o balanço energético, ou seja, um rácio elevado corresponde a um balanço energético negativo (Grieve et al. 1986). Segundo González-Recio et al. (2012), as crias geradas de vacas em lactação apresentaram um maior rácio gordura-proteína do leite que as geradas de vacas não lactantes, logo apresentavam uma reduzida eficiência metabólica predispondo-as a problemas metabólicos pós-parto, como é o caso da cetose (Rauw et al. 1998).

2.4.4. STRESS TÉRMICO

O stress térmico pelo calor pode ser definido como um aumento da temperatura corporal acima de níveis termo-neutros, induzido pelo ambiente, desencadeando respostas fisiológicas e comportamentais com o objetivo de diminuir a produção de calor endógeno e/ou aumentar a dissipação de calor para o ambiente (West 2003). Este aumento da temperatura das vacas leiteiras é uma das principais ameaças à sua reprodução, prejudicando-as em diversas idades e fases de produção, com diferentes extensões, podendo levar a alterações permanentes na estrutura e funcionamento de tecidos e a alterações na descendência (Ghaffari 2022; Miętkiewska et al. 2022).

Este stress térmico provoca diversas alterações fisiológicas e metabólicas na vaca que se encontra em lactação, como a redução da ingestão de matéria seca, a redução do tempo de descanso, o aumento da frequência respiratória, entre outras. Todas estes mecanismos compensatórios resultam numa diminuição da energia e nutrientes disponíveis para a produção de leite e para o aparelho reprodutor, o que significa que há uma redução da quantidade e qualidade do leite produzido, afetando também a fertilidade da vaca (Ouellet et al. 2021). O stress térmico diminui ainda a fertilidade da vacada através de ovulações silenciosas e anestros e, quando ocorre no período periconcepcional e nas fases iniciais da gestação, mortalidade embrionária precoce, uma vez que os embriões numa fase inicial são altamente sensíveis a temperaturas elevadas, principalmente na primeira semana (Sakatani et al. 2008).

Em relação ao peso dos vitelos ao nascimento, Mozaffari Makiabadi et al. (2023) realizaram um estudo no Irão e observaram que os vitelos concebidos em janeiro, fevereiro, março, outubro, novembro e dezembro apresentavam menores pesos, ou seja, vitelos em que a exposição materna ao stress térmico foi no terceiro trimestre, uma vez que é um país do hemisfério norte. Existem diferentes justificações para esta redução de peso ao nascimento, sendo que a principal se correlaciona com a diminuição da ingestão materna na fase em que

o feto deveria aumentar 75% do seu peso (Robinson et al. 1977). No entanto, o estudo de Almoosavi et al. (2020), que submeteu as vacas do grupo arrefecido, ou seja, que tinham sombra, ventilação e aspersores, a uma alimentação com reduzida quantidade de matéria seca, de modo que a redução da ingestão materna não fosse um fator que diferísse nos dois grupos e influenciasse o crescimento fetal intrauterino, e constataram que o reduzido peso dos vitelos nascidos de mães sujeitas a stress térmico no termo da gestação era independente do consumo materno, pois os vitelos nasciam na mesma com peso inferior aos de mães que foram arrefecidas. Outra explicação passa pela redução do peso da placenta e diminuição da sua vascularização quando a vaca é submetida a stress térmico, reduzindo a concentração sanguínea de hormonas placentárias, o que reflete um comprometimento da função e do desenvolvimento placentário, comprometendo o transporte de oxigénio e nutrientes para o feto (Collier et al. 1982; Regnault et al. 2003). Segundo Ouellet et al. (2021), diversos estudos indicam que vacas expostas a stress térmico nos últimos 46 dias de gestação pariram em média $2,5 \pm 1,6$ dias mais cedo quando comparadas com fêmeas que foram arrefecidas na mesma fase da gestação, pelo que também pode ser outro dos motivos para o baixo peso dos vitelos nascidos destas vacas.

O crescimento dos vitelos concebidos sob condições de stress térmico parece também estar afetado, como relataram Monteiro et al. (2016) que observaram que a diferença de peso, entre as novilhas geradas em stress térmico e as filhas de animais que foram arrefecidos na altura da conceção, se manteve desde o nascimento até ao ano de idade, no entanto após o primeiro parto por volta dos 2 anos essa diferença desapareceu, o que sugere que tenha havido algum ganho compensatório.

Quanto à produção de leite, a janela crítica do desenvolvimento é diferente da do crescimento fetal, sendo que há redução da quantidade de leite produzida em casos em que o stress térmico ocorreu no início da gestação, ou seja, fêmeas concebidas nos meses de junho, julho e agosto (Mozaffari Makiabadi et al. 2023). Tal como foi referido anteriormente, o desenvolvimento da glândula mamária inicia-se ainda no período embrionário (Hurley and Loo 2011), pelo que a exposição do embrião ao stress térmico nesta fase inicial do desenvolvimento provoca alterações neste tecido, resultando num número semelhante de alvéolos, mas com área reduzida, o que explica um menor número de células epiteliais mamárias, com uma consequente capacidade de produção e armazenamento de leite diminuída (Skibieli et al. 2018). Apesar de se programarem negativamente as fêmeas expostas a stress térmico na fase inicial da gestação, esta parece ser uma programação influenciada pela intensidade deste tipo de stress, uma vez que as novilhas cuja conceção foi em setembro, em que havia um stress térmico ligeiro pois não havia tanto calor, não apresentaram este efeito adverso no estudo de Mozaffari Makiabadi et al. (2023). Laporta et al. (2020) relataram que o stress térmico no final da gestação também pode afetar o desempenho produtivo da

descendência, podendo permanecer até à terceira lactação. Referiram ainda, que esta programação pode afetar não só as filhas que foram geradas sob stress térmico (F1), como as netas (F2), que também apresentaram uma produção inferior às F2 descendentes de vacas arrefecidas.

O sistema nervoso dos mamíferos responde ao stress estimulando a síntese e secreção de glucocorticóides, que podem ter efeitos adversos no eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal e no ciclo éstrico da fêmea (Figura 6). Assim, o stress térmico que os embriões e/ou

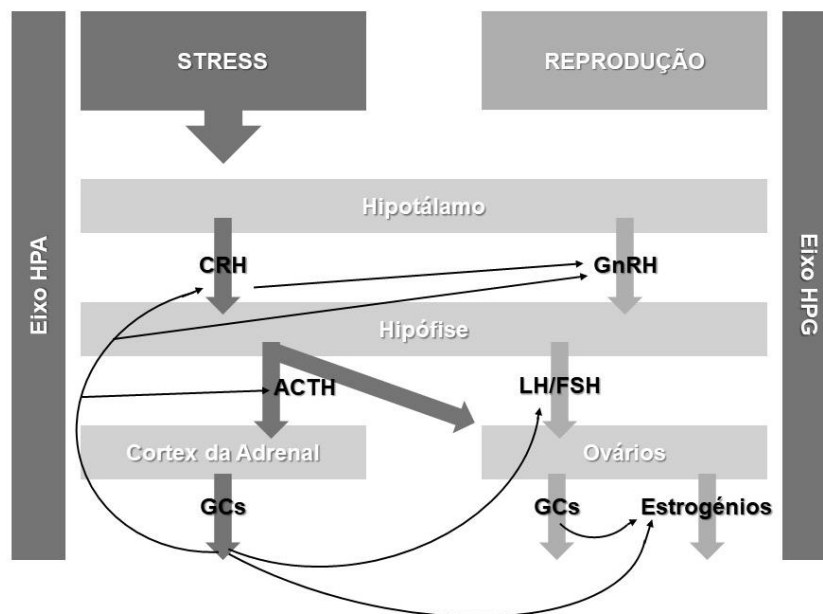


Figura 6 – Esquema representativo das interações entre os eixos hipotálamo-hipofisário-adrenal (HPA) e hipotálamo-hipofisário-gonadal (HPG) sob stress; as setas finas pretas representam os efeitos inibitórios; CRH: hormona libertadora de corticotrofinas; GnRH: hormona libertadora de gonadotrofinas; ACTH: hormona adrenocorticotrófica; LH: hormona luteinizante; FSH: hormona foliculo estimulante; GCs: glucocorticóides (adaptado de Huber et al. (2020)).

fetos sofrem, pode programar a sua resposta aos glucocorticoides, resultando numa fertilidade alterada quando sexualmente maduros (Huber et al. 2020).

Relativamente ao desempenho reprodutivo, Akbarinejad et al. (2017) verificaram era afetado negativamente pelo stress quando comparado com descendência que não foi exposta a stress térmico, e que a menor concentração de AMH era na descendência que foi exposta no segundo e terceiro trimestres de gestação. No entanto, tanto Succu et al. (2020) como Mozaffari Makiabadi et al. (2023) verificaram que a concentração de AMH era menor quando o stress térmico ocorria no primeiro trimestre da gestação, ou seja, quando a conceção ocorria nos meses mais quentes. Esta janela crítica do desenvolvimento na fase inicial da gestação deve-se à maior sensibilidade dos mecanismos iniciais da formação e proliferação das células germinativas e dos folículos primordiais, como foi referido anteriormente neste trabalho.

No estudo de Mozaffari Makiabadi et al. (2023) verificou-se ainda, que a taxa de concepção ao primeiro serviço foi influenciada positivamente pelo stress térmico da mãe, sendo que foi superior nas novilhas em que a concepção foi nos meses de junho, julho e agosto, ou seja, que sofreram stress térmico na fase inicial da gestação, o que coincide com as que também tiveram menor produção de leite, podendo esta relação negativa entre a produção de leite e a taxa de concepção ao primeiro serviço explicar este resultado.

A sobrevivência, tal como os fatores anteriores, também está comprometida em crias geradas sob stress térmico uma vez que a percentagem destes animais que atingem a primeira lactação é inferior à das novilhas que foram geradas em clima arrefecido (Monteiro et al. 2016). No final da gestação, o stress térmico materno prejudica o sistema imunitário do vitelo, visto que mesmo com concentrações idênticas de IgG no colostro materno, os vitelos concebidos sob stress térmico têm uma concentração sérica de IgG menor, o que significa que há uma menor eficácia na absorção intestinal destas imunoglobulinas (Monteiro et al. 2014). Este comprometimento da transferência da imunidade passiva pode ser explicado pelo insuficiente desenvolvimento intestinal e diminuição da área de superfície para absorção de nutrientes, devido ao crescimento fetal comprometido (Laporta et al. 2017), não podendo excluir a curta duração da gestação, quando o stress térmico é na fase final, que pode impedir a maturação final dos enterócitos para atingirem o seu potencial endocítico máximo (Ouellet et al. 2021).

3. EFEITOS DA PROGRAMAÇÃO FETAL NA PRODUÇÃO, REPRODUÇÃO E DOENÇA EM DUAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS EM PORTUGAL

3.1. OBJETIVOS

O principal objetivo deste estudo foi observar a influência que a Programação Fetal pode ter em parâmetros produtivos, reprodutivos e na incidência de doenças em explorações leiteiras em duas explorações de Portugal. Mais concretamente, perceber de que forma é que a produção de leite da mãe gestante, o número de partos da vaca gestante e a época de conceção podem influenciar a fertilidade (intervalo parto-conceção, taxa de conceção ao primeiro serviço), a produção de leite das novilhas na primeira lactação, a sobrevivência e a incidência de doenças no pós-parto, como retenção placentária, metrite, deslocamento do abomaso, acetonémia e mastite clínica.

Assim, este estudo procura contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos pelos quais a programação fetal influencia a saúde e a produtividade das vacas leiteiras, fornecendo dados valiosos para o aperfeiçoamento do manejo nas explorações leiteiras em Portugal.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado com base nos partos de novilhas de primeira barriga de duas explorações leiteiras em Portugal, sendo que os da exploração A se compreenderam entre 30 de junho de 2019 e 9 de janeiro de 2021, enquanto os da exploração B se compreenderam entre 15 de dezembro de 2018 e 18 de abril de 2023, totalizando uma amostra com 1020 novilhas.

3.2.1. CARACTERIZAÇÃO DAS EXPLORAÇÕES LEITEIRAS

As duas explorações leiteiras em que este estudo se baseou localizam-se em Portugal continental, a exploração A no concelho de Palmela, com uma média de 269 vacas em ordenha, e a exploração B no concelho de Benavente, com uma média de 689 vacas em ordenha, em 2023.

O sistema de produção e manejo é idêntico em ambas as vacarias, fazendo 3 ordenhas diárias, com uma média da produção leiteira representada na tabela 1.

Tabela 1 – Valores diários médios do ano 2023, relativos às explorações A e B

EXPLORAÇÃO	Nº VACAS ORDENHA	LEITE (KG)	T.B. (%)	T.P. (%)	CCS X1.000	LEITE 305 DIAS¹(KG)
A	269	36,16	4,13	3,44	312	11 898
B	689	38,98	3,94	3,41	415	12 241

¹ Único valor que não é média diária, é a média das produções de leite aos 305 dias no ano 2023

Para a deteção de cios, ambas as vacarias monitorizam a atividade dos animais através de podómetros e realizam protocolos hormonais de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O protocolo das duas vacarias considera um período voluntário de espera de 54 dias, sendo que só depois desse período se podem inseminar, caso exibam cio, ou introduzir os animais num protocolo de sincronização.

Quanto à gestão do stress térmico, ambas as explorações possuem ventilação forçada e chuveiros nos pavilhões das vacas em produção para arrefecer o ambiente e os animais nas épocas de mais calor, que nesta região deveria ser apenas no verão, no entanto consideram-se meses quentes de maio a outubro.

O encolostramento dos vitelos, em ambas as explorações, é por intubação com administração de cerca de 4L de colostro. Na época em que estas vacas estavam gestantes era utilizado o Kexxtone® 3 a 4 semanas antes do parto, que é um dispositivo intrarruminal de libertação contínua de monensina que reduz a incidência de cetose em vacas predispostas, sendo utilizado em animais com histórico de doenças relacionadas com deficiência energética e animais com escala de condição corporal elevada durante o período seco. Quanto ao programa de vacinação, ambas as explorações incluem prevenção contra agentes de diarreia neonatal, clostridioses, IBR, BVD, BRSV e PI3.

3.2.2. RECOLHA DE DADOS

Tanto a exploração A como a exploração B têm como software o DairyPlan C21® (GEA), pelo que foi recolhido um backup da base de dados de cada exploração e transferidos todos os dados necessários para o processamento para uma folha de Excel®. O registo dos eventos, o diagnóstico das doenças e os tratamentos foram registados no software pelos produtores e/ou médicos veterinários assistentes de cada uma das explorações, de acordo com os protocolos que cada exploração tem estipulados.

Os dados retirados do programa relativamente à mãe foram: o número de identificação da exploração (número de casa), o número de partos, a data de concepção e de parto da gestação da novilha em questão, a produção total de leite e o número de dias em leite. O número de partos da mãe permitiu subdividir em nulíparas as novilhas geradas de uma primeira gestação, primíparas as de segunda gestação e múltíparas quando era a terceira ou mais gestações. A data de concepção da vaca permitiu dividir as novilhas consoante a época do ano em que foram concebidas. A produção total de leite e os dias em leite correspondiam à lactação em que a vaca estava gestante da futura reprodutora em estudo, logo quando eram nulíparas não havia registo de lactação. Com estes indicadores da lactação foi possível obter a produção média diária de leite das mães durante a gestação, subdividindo em quartis.

Relativamente aos dados da filha foram registados: o número de identificação da exploração (número de casa), a data do seu primeiro parto, a idade ao primeiro parto, a produção de leite aos 305 dias de lactação, o sexo da cria, se foi ou não refugada, o intervalo parto-conceção (IPC), se ficou gestante e se foi no primeiro serviço, e a ocorrência de doenças pós-parto. A data do primeiro parto, que é a lactação que pretendemos analisar, permite concluir a estação do ano em que o vitelo nasceu. A produção de leite aos 305 dias de lactação, nas novilhas cuja lactação foi inferior a este período e não era possível retirar a informação do DairyPlan C21®, foi necessário recorrer aos registos do contraste leiteiro que têm a previsão de cada animal consoante a sua curva de lactação. Para avaliar a capacidade de sobrevivência das novilhas, registou-se se foram refugadas durante os primeiros 60 dias de lactação ou se foram refugadas ao longo da lactação, confirmando se existia ou não uma segunda lactação. O intervalo parto-conceção foi considerado apenas até aos 250 dias pós-parto, registando se ficaram gestantes nesse período e se ocorreu na primeira IA ou não, sendo que quando não ficavam gestantes nesse período consideravam-se vazias. Quanto às doenças do pós-parto, foram consideradas retenções placentárias, metrites (apenas até 14 dias pós-parto), deslocamentos do abomaso, acetonémias e mastites clínicas, sendo que mastites subclínicas cujo tratamento era apenas com anti-inflamatório foram excluídas do estudo.

Relativamente à quantificação do stress térmico, o mais correto seria ter utilizado o THI (Temperature-Humidity Index) que representa a sensação térmica obtida pela relação entre a temperatura e a humidade do local. No entanto, apenas uma das explorações possuía estação meteorológica, pelo que acabou por se considerar apenas a estação do ano.

3.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o software SAS (SAS 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC).

A análise do efeito da programação fetal na fertilidade (intervalo parto-conceção) foi feita por regressão de riscos proporcionais de Cox (Proc phreg) e foram produzidas curvas de Kaplan-Meier (Proc lifetest). Foram consideradas as variáveis independentes “produção média diária da mãe durante a gestação”, “número de partos da vaca gestante”, e “época de conceção”.

A análise do efeito da programação fetal na produção leiteira aos 305 dias foi feita com um modelo de regressão linear misto (Proc Mixed). Foram consideradas as variáveis independentes “produção média da mãe durante a gestação”, “número de partos da vaca gestante”, “época de conceção”, “época de parto” e “sexo e número de filhos” da vaca.

A análise do efeito da programação fetal no refugo e incidência de doenças (retenção placentária, metrite, deslocamento de abomaso, acetonemia e mastite) nos período pós-parto foi feita com modelos de regressão generalizados mistos (Proc Glimmix). Foram consideradas as variáveis independentes “produção média da mãe durante a gestação”, “número de partos da vaca gestante”, “época de concepção”, “época de parto” e “sexo e número de filhos” da vaca.

Nos modelos mistos (linear e generalizados) a variável “exploração” foi incluída como efeito aleatório e foram utilizadas as estruturas para as matrizes de covariâncias que resultaram no menor critério de informação de Akaike (AIC).

As variáveis independentes consideradas em todos os modelos foram introduzidas nos modelos iniciais, sem qualquer pré-seleção com recurso a análise univariada. A seleção das variáveis para os modelos finais foi feita através da eliminação gradual das variáveis com maior valor de p no teste tipo III para os efeitos fixos, tendo sido incluídas no modelo final as variáveis com um valor de $P < 0,157$ (Heinze and Dunkler 2017).

Nos modelos finais foram consideradas significativas as diferenças com valor de $P < 0,05$, e classificaram-se como tendências diferenças com valores de P entre 0,05 e 0,1.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. FERTILIDADE

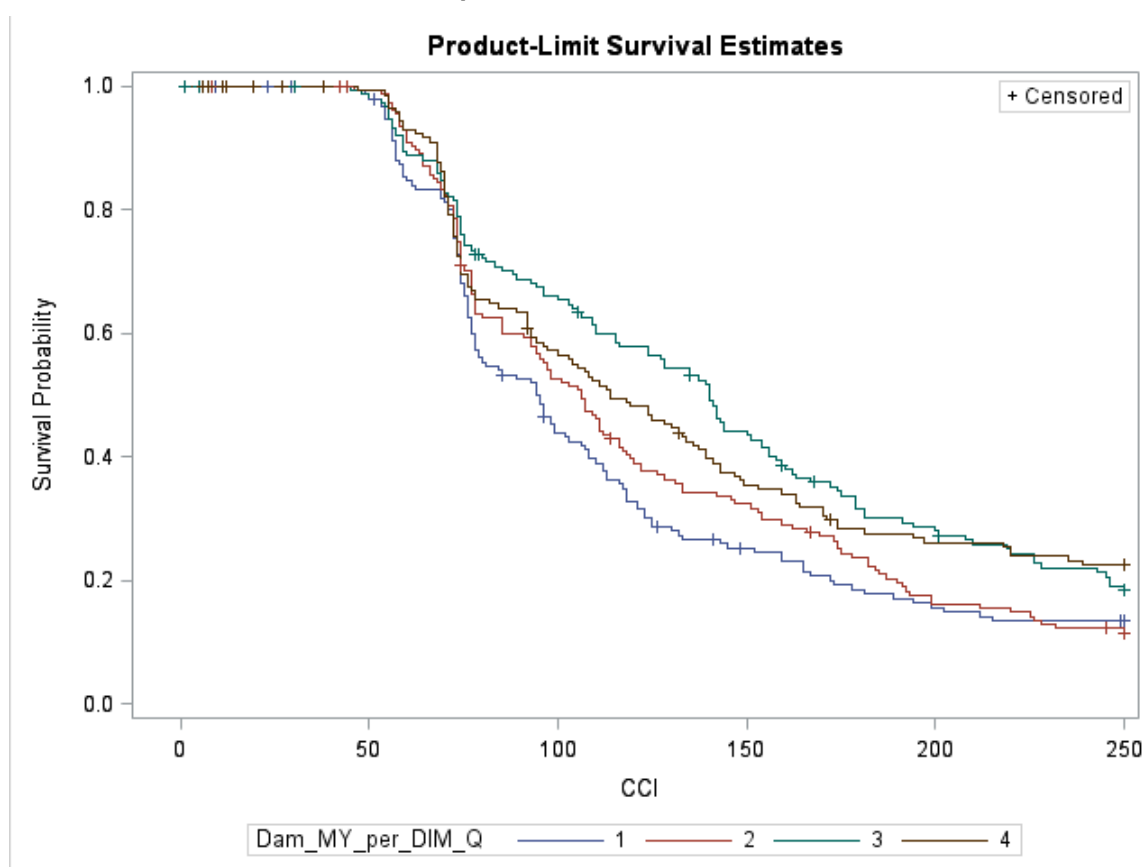
Na regressão de riscos proporcionais de Cox para o “intervalo parto-concepção” (IPC), a única variável que ficou no modelo foi a “produção média diária da mãe durante a gestação” com um valor de $P = 0,0003$, ou seja, foi a única variável com uma associação estatisticamente significativa. O *Hazard Ratio* (ou razão de risco) quantifica a relação entre as duas variáveis, pelo que por cada litro adicional de leite produzido pela mãe por dia, em média, durante a gestação, o *Hazard Ratio* da vaca filha ficar gestante nos primeiros 250 dias da primeira lactação foi de 0,973, ou seja, o risco da vaca filha ficar gestante nos primeiros 250 dias da sua primeira lactação diminui 0,973 vezes. Assim, existe uma relação inversa significativa entre a produção média de leite da mãe durante a gestação e a probabilidade da vaca filha ficar gestante nos primeiros 250 dias de lactação.

O gráfico 1 é um gráfico de sobrevivência de Kaplan-Meier com a “produção média diária da mãe durante a gestação” em quartis, em que Q1 são descendentes de mães que produziam menos leite e Q4 das que produziam mais leite, em função do “intervalo parto-concepção (IPC)”. Na fase inicial temos representado o período voluntário de espera, em que até ao dia 54 não há vacas inseminadas, logo não há vacas gestantes. Posteriormente inicia-se um decréscimo em todas as curvas, sendo que a curva Q1 decresce mais rapidamente, seguindo a Q2, a Q4 e, por fim, por curta margem, a Q3. Assim, as novilhas filhas de vacas

menos produtoras têm, de modo geral, um menor IPC, ficando gestantes mais rápido. A partir do dia 250 pós-parto, se as novilhas ainda não estão gestantes, considera-se que ficaram “vazias”, sendo que das Q1 apenas ficaram vazias cerca de 14% enquanto das Q4 ficaram 24%, ou seja, houve mais novilhas descendentes de vacas com elevada produção média de leite diária a ficar vazias, quando comparadas com filhas de vacas com uma produção mais baixa.

Relativamente ao modelo de regressão generalizado misto para o “sucesso à primeira inseminação artificial (IA)”, não houve variáveis estatisticamente significativas.

Gráfico 1 – Curvas de Kaplan-Meier com a produção média diária da mãe durante a gestação em quartis em função do IPC



Legenda:

- Q1** (Azul) – Descendentes de mães com menor produção leiteira durante a gestação (1º quartil)
- Q2** (Vermelho) – Descendentes de mães com uma produção leiteira intermédia inferior durante a gestação (2º quartil)
- Q3** (Verde) – Descendentes de mães com uma produção leiteira intermédia superior durante a gestação (3º quartil)
- Q4** (Castanho) – Descendentes de mães com maior produção leiteira durante a gestação (4º quartil)

3.3.2. PRODUÇÃO DE LEITE

No modelo de regressão linear misto para a “produção leiteira aos 305 dias”, as variáveis que se apresentaram estatisticamente significativas foram a “produção média da mãe durante a gestação” e a “época de concepção”.

A “produção média diária da mãe durante a gestação” tem um efeito estatisticamente significativo, com $P=0,0018$, sobre a “produção de leite aos 305 dias” da filha, sendo que por cada litro adicional de leite produzido por dia pela vaca mãe, a filha produz mais 31,1 litros até aos 305 dias de lactação. Assim, quanto maior for a produção de leite da mãe durante a gestação, maior a quantidade de leite produzida pelas respectivas filhas.

A “época de concepção”, com $P=0,0384$, também tem um efeito estatisticamente significativo na “produção de leite aos 305 dias” de lactação da filha. As vacas filhas que foram concebidas no outono produziram mais leite do que as que foram concebidas na primavera ($P=0,0066$), inverno ($P=0,0193$) e verão ($P=0,0558$), sendo que este último, como é superior a 0,05, apenas indica uma tendência estatística.

Tabela 2 - Valores médios por época de concepção, com o respetivo erro padrão, de produção de leite aos 305 dias

ÉPOCA DO ANO	MÉDIA (LITROS)	ERRO PADRÃO
OUTONO	11.453,7	121,8
PRIMAVERA	10.985,9	123,8
VERÃO	11.147,1	128,1
INVERNO	11.021,3	137,4

Os dados mostram que vacas concebidas no outono tendem a produzir mais leite aos 305 dias de lactação, com uma média significativamente maior do que aquelas concebidas na primavera e inverno, e com uma tendência de maior produção em relação ao verão. O menor erro padrão da média nas vacas concebidas no outono sugere também uma menor variabilidade na produção de leite quando comparado com as vacas concebidas nas restantes estações do ano (Tabela 2).

Neste modelo de regressão linear misto também foram analisadas as variáveis “época de parto” e “sexo e número de filhos” da vaca filha, de modo a descartar a influência que estas variáveis poderiam ter nas que ficaram no modelo, correspondendo estas à própria filha e não à vaca gestante. No entanto, estas variáveis não apresentaram efeitos estatisticamente significativos.

3.3.3. SOBREVIVÊNCIA

Quanto ao modelo de regressão generalizado misto para o “refugo durante a lactação”, nenhuma das variáveis consideradas, que foram “produção média da mãe durante a

gestação”, “número de partos da vaca gestante”, “época de concepção”, “época de parto” e “sexo e número de filhos”, apresentaram um valor de P inferior a 0,157. Assim, nenhuma das variáveis foi incluída no modelo final (Heinze and Dunkler 2017).

3.3.4. DOENÇAS

Em relação ao modelo de regressão generalizado misto para a ocorrência de “retenção placentária”, não existiram variáveis estatisticamente significativas.

No modelo de regressão generalizado misto para a incidência de “metrite” nas vacas, apenas ficou a variável do “sexo do vitelo”, com $P=0,0396$, pelo que é estatisticamente significativo. Comparando a ocorrência de metrite em vacas que tiveram fêmeas com as que tiveram machos, existe uma probabilidade 0,719 vezes menor de vacas que pariram vitelas terem metrite em relação às que tiveram vitelos, uma vez que o Odds Ratio (OR) foi 0,719.

Pelo modelo de regressão generalizado misto para a ocorrência de “deslocamento do abomaso”, apenas houve uma tendência estatística com a “época de concepção” ($P=0,0974$), uma vez que P se encontra entre 0,05 e 0,1, não existindo significância estatística. Assim, vacas concebidas na primavera tiveram significativamente menos deslocamentos do abomaso do que vacas concebidas no verão ($P=0,0393$ e $OR=0,249$), com uma probabilidade de ocorrência 0,249 vezes inferior. Vacas concebidas no outono ($P=0,0883$ e $OR=0,316$) e no inverno ($P=0,0954$ e $OR=0,409$) tenderam a ter uma probabilidade 0,316 e 0,409 vezes menor de desenvolver deslocamento de abomaso, respetivamente, quando comparadas com as vacas concebidas no verão.

Relativamente ao modelo de regressão generalizado misto para a “acetonémia”, as variáveis que ficaram no modelo foram a “época de parto” ($P=0,0107$) e a “número de partos da vaca gestante” ($P=0,0354$), com efeito estatisticamente significativo. As novilhas que pariram no inverno tiveram mais acetonémia do que as paridas nas outras estações do ano. Em relação ao número de partos da vaca gestante, vacas nascidas de primíparas ($OR=1,612$) e múltiparas ($OR=1,629$) tiveram maior probabilidade de fazer acetonémia do que vacas nascidas de nulíparas, com valores de $P=0,0319$ e $P=0,0197$, respetivamente. Assim, vacas nascidas de primíparas tiveram 1,612 vezes mais probabilidade de fazerem acetonémia no pós-parto quando comparadas com filhas de nulíparas, enquanto as descendentes de múltiparas tiveram 1,629 vezes mais probabilidade de terem acetonémia no pós-parto.

Por último, no modelo de regressão generalizado misto para analisar a ocorrência de “mastite”, apenas houve tendência estatística para a “época de parto”, com um valor geral de $P=0,0705$. Verificou-se, ainda, que novilhas que pariram no outono tiveram significativamente menos mastite do que as que pariram no inverno ($P=0,0263$ e $OR=0,382$), com uma probabilidade 0,382 vezes menor. Quanto às novilhas paridas na primavera, também tiveram

uma incidência significativamente menor de mastite quando comparadas com as paridas no inverno ($P=0,0476$ e $OR=0,387$), em que existe uma redução da probabilidade de 0,387 vezes.

4. DISCUSSÃO

4.1. FERTILIDADE

No presente estudo, a avaliação da fertilidade das novilhas baseou-se, principalmente, no intervalo parto-concepção (IPC) após o primeiro parto das novilhas da amostra, visto que o “sucesso da primeira IA” não teve significado estatístico para que se pudesse avaliar a taxa de concepção ao primeiro serviço, nem se fez medição da concentração sérica de AMH para avaliar a dimensão das reservas ovárias (Akbarinejad et al. 2018).

Quanto à influência que o número de partos da vaca gestante pode ter na fertilidade das descendentes, não se obteve evidência estatística da sua relação com o IPC, ou seja, não se encontrou relação entre o número de partos da vaca e a fertilidade, ao contrário de estudos realizados anteriormente, que concluíram que filhas de vacas multíparas são mais férteis, tendo menores IPC do que as descendentes de nulíparas e primíparas (Akbarinejad et al. 2018; Bafandeh et al. 2023).

A produção média diária de leite materno durante a gestação foi a única variável que demonstrou influenciar negativamente a fertilidade das descendentes: quanto maior for a produção de leite da mãe gestante, menor será a probabilidade de a novilha ficar gestante nos primeiros 250 dias pós-parto. Verificou-se ainda que vacas menos produtoras de leite (Q1) originam uma descendência que fica gestante mais cedo do que vacas de alta produção (Q4), sendo que ao fim dos 250 dias pós-parto existem mais novilhas descendentes de Q4 vazias do que as descendentes de Q1, com 24% e 14%, respectivamente. Esta relação está de acordo com o estudo de Dehghan Harati et al. (2024) onde verificaram que o desempenho reprodutivo da descendência era prejudicado pela alta produção de leite da mãe, resultando num maior IPC. Para além da programação fetal, este resultado pode também ser explicado pelo elevado mérito genético das mães que se relaciona negativamente com a performance reprodutiva (Snijders et al. 2001), uma vez que se observou nos resultados do presente estudo a existência de uma relação de proporcionalidade direta entre a produção de leite da mãe e da filha. Esta relação negativa entre a elevada produção de leite e a fertilidade baseia-se no BEN do pós-parto (Butler et al. 1981), que é de maior grau nas vacas que produzem mais leite existindo uma maior mobilização dos tecidos corporais, aumentando os ácidos gordos não esterificados (NEFA) na circulação sanguínea e diminuindo o IGF-1, que tende depois a aumentar quando o balanço energético do animal melhora (Formigoni et al. 1996). Assim, as vacas de elevado mérito genético para a produção de leite têm menores concentrações de plasmáticas IGF-1 do que as restantes, o que justifica em parte que demorem mais tempo a retomar a ciclicidade ovária (Velazquez et al. 2008).

Quanto à época de concepção, para avaliar a influência do stress térmico ao longo da gestação na programação fetal do aparelho reprodutor da descendência, não obtivemos

evidência estatística que os relacione, o que não era o expectável, uma vez que toda a literatura revista anteriormente indica que o stress térmico, principalmente no primeiro trimestre da gestação, tem influência negativa no desempenho reprodutivo das descendentes (Succu et al. 2020; Mozaffari Makiabadi et al. 2023). Assim, este resultado poderá indicar que a utilização da ventilação e dos chuveiros pode mitigar o stress térmico.

4.2. PRODUÇÃO DE LEITE

Das variáveis avaliadas, apenas o número de partos da vaca gestante não demonstrou influenciar a produção de leite das filhas, ao contrário do que Bafandeh et al. (2023) observaram no seu estudo, em que a produção de leite das filhas diminuía à medida que o número de partos das mães aumentava.

Quanto à produção de leite materna, este estudo demonstrou existir uma relação positiva com a produção de leite da descendência, ou seja, filhas de vacas com elevada produção de leite eram boas produtoras também. Estes resultados não coincidem com os estudos de Berry et al. (2008) e González-Recio et al. (2012), que apresentam a elevada produção leiteira da mãe como sendo prejudicial para a produção de leite das filhas, sendo até um problema para a seleção genética pois não haveria transmissão do elevado mérito genético à descendência. Contudo, e seguindo o estudo de Bertrand et al. (1985), esta relação positiva encontrada entre a produção de leite da mãe e da filha pode resultar do elevado mérito genético, tanto das vacas como do reprodutor utilizado para a inseminação, que permitem transmitir à descendência os genes que favorecem a elevada produção de leite, sobrepondo-se aos insultos ambientais que programem o desenvolvimento do feto.

A diminuição da fertilidade das novilhas cujas mães produziam mais leite, pode estar relacionada com esta elevada produção de leite da descendência, uma vez que existem alguns estudos que relatam uma relação negativa entre a produção de leite e a fertilidade, ou seja, vacas que sejam boas produtoras de leite têm um mau desempenho reprodutivo (Nebel and McGilliard 1993; Snijders et al. 2001).

Relativamente à época de conceção, verificou-se que existe uma relação com a produção de leite das filhas, sendo que as que foram concebidas no outono produziram mais leite, seguindo-se as concebidas no verão, depois as no inverno e, por último, as na primavera, que foram as que produziram menos quantidade de leite aos 305 dias de lactação. As filhas concebidas no outono atravessaram os meses mais quentes, sofrendo stress térmico, durante o último trimestre de gestação (Figura 7). As filhas concebidas no verão sofreram stress térmico no 1º trimestre da gestação, as do inverno foi entre os 2º e 3º trimestres, ou seja, última metade da gestação, e as da primavera foi entre o 1º e 2º trimestre que corresponde à primeira metade da gestação (Figura 7). Isto pode significar que a janela crítica de desenvolvimento da glândula mamária coincide com a primeira metade da gestação, pois são

Época de concepção	Mês de concepção	Mês de gestação								
		1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º
Inverno	Janeiro	Verde	Verde	Verde	Verde	Amarelo	Amarelo	Vermelho	Vermelho	Vermelho
	Fevereiro	Verde	Verde	Verde	Amarelo	Amarelo	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Amarelo
	Março	Verde	Verde	Amarelo	Amarelo	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Amarelo	Verde
Primavera	Abril	Verde	Amarelo	Amarelo	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Amarelo	Verde	Verde
	Maió	Amarelo	Amarelo	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Amarelo	Verde	Verde	Verde
	Junho	Amarelo	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Amarelo	Verde	Verde	Verde	Verde
Verão	Julho	Vermelho	Vermelho	Vermelho	Amarelo	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Agosto	Vermelho	Vermelho	Amarelo	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Setembro	Vermelho	Amarelo	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Amarelo
Outono	Outubro	Amarelo	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Amarelo	Amarelo
	Novembro	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Amarelo	Amarelo	Vermelho
	Dezembro	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Amarelo	Amarelo	Vermelho	Vermelho

Figura 7 – Diagrama representativo da fase gestacional de exposição ao stress térmico da descendência *in utero*, ao longo dos diferentes meses do ano, baseando-se apenas na época do ano (adaptado de Mozaffari Makiabadi et al. (2023)). Verde: meses mais frios, sem stress térmico; Amarelo: meses com stress térmico ligeiro; Vermelho: meses mais quentes, com elevado stress térmico.

as que menos leite produziram, sendo o último trimestre o que menor influência tem no desenvolvimento da glândula mamária. Estes resultados estão de acordo com a literatura revista, visto que o desenvolvimento mamário se inicia na fase embrionária tendo um período crítico do desenvolvimento no início da gestação (Hurley and Loor 2011; Mozaffari Makiabadi et al. 2023). No entanto, de acordo com esta teoria, deveriam ser as filhas concebidas no verão a produzir menos leite pois é quando os meses de maiores temperaturas coincidem com o 1º trimestre de gestação. Assim, de acordo com os resultados do presente estudo, podemos sugerir que a programação do desenvolvimento da glândula mamária é mais sensível à duração do stress térmico, uma vez que as filhas concebidas na primavera atravessam cerca de 5 a 6 meses de stress térmico, enquanto as concebidas no verão apenas têm os 3 meses iniciais. Por outro lado, existe o estudo de Laporta et al. (2020) que se opõe aos resultados do presente estudo indicando que o stress térmico na fase final da gestação afeta o desempenho produtivo da descendência. O estudo mencionado anteriormente foi realizado na Florida (USA), que possui um clima mais tropical que Portugal, ou seja, com temperaturas e humidades mais elevadas, uma vez que a sua latitude é inferior localizando-se mais próxima da linha do equador, o que significa uma maior THI e consequentemente um stress térmico mais rigoroso quando comparado com o que existe em Portugal. Assim, este stress térmico mais intenso pode explicar os resultados de Laporta et al. (2020).

Apesar de ser mais evidente a influência do stress térmico nas fases da gestação em que a vaca se encontra em lactação, ou seja, nos parques em que têm ventilação forçada e chuveiros, uma das melhorias a realizar nas explorações seria a instalação destes mesmos sistemas nos parques das vacas secas, de modo a minimizar a influência negativa do stress térmico no final da gestação.

4.3. SOBREVIVÊNCIA

Em relação à sobrevivência, o único indicador que foi considerado neste estudo foi o refugo das vacas nos primeiros 60 dias pós-parto ou durante a lactação, não tendo obtido qualquer relação com as outras variáveis. Quanto à eficiência na transferência de imunidade passiva para as vitelas, não havia registo das concentrações séricas de IgG entre as 24 horas de vida e os 4 dias, pelo que não foi possível incluir este indicador no presente estudo.

As alterações do desenvolvimento como resposta a insultos ambientais tem como objetivo aumentar a probabilidade de sobrevivência *in utero* (Vautier and Cadaret 2022), no entanto a longo prazo a taxa de sobrevivência fica diminuída. De acordo com a bibliografia anteriormente revista, a elevada produção leiteira está associada a uma menor taxa de sobrevivência e menor longevidade da descendência (Berry et al. 2008; González-Recio et al. 2012). Também o stress térmico afeta negativamente a sobrevivência, como constataram Monteiro et al. (2016) em que crias geradas sob stress térmico teriam menor probabilidade de atingir a primeira lactação, quando comparadas com crias cujas mães foram arrefecidas durante a sua gestação.

4.4. DOENÇAS

As doenças do pós-parto que se incluíram no estudo foram: retenção placentária, metrite, deslocamento do abomaso, acetonémia e mastite. Apenas a retenção placentária não demonstrou ter relação com a programação do feto nem com qualquer uma das restantes variáveis. Ao longo dos anos têm vindo a desenvolver-se cada vez mais estudos sobre a programação do desenvolvimento neste tipo animais, embora a influência da programação fetal nas doenças do pós-parto das futuras reprodutoras ainda seja uma área da qual se sabe pouco, não existindo muita bibliografia sobre o tema.

4.4.1. METRITE

Duas das principais doenças do pós-parto de vacas leiteiras são a metrite e a endometrite, que são inflamações uterinas que estão associadas a substanciais perdas produtivas. Nos primeiros 21 dias pós-parto, uma dilatação do útero com corrimento uterino anormal é considerada uma metrite, que pode ser subdividida em metrite puerperal, quando estão associados sinais sistémicos de doença (ex: diminuição da produção de leite, febre,

anorexia, entre outros), ou metrite clínica, quando não existem estes sinais sistêmicos, sendo apenas observado um corrimento purulento na vagina. Quanto à endometrite, esta pode ser dividida em clínica e subclínica, e ocorre após os 21 dias pós-parto (Sheldon et al. 2006; Giuliadori et al. 2013).

Relativamente à ocorrência de metrite, a única variável que apresentou influência foi o sexo do vitelo, existindo menor probabilidade de desenvolver metrite em vacas que pariram fêmeas do que nas que pariram machos. Este resultado não se inclui no tema do estudo, visto que o sexo do vitelo não interfere na programação fetal da mãe, tendo estas variáveis sido incluídas para verificar a hipótese de influência. Outros autores estão de acordo com este resultado, relatando que é mais provável que vacas que parem vitelos machos tenham maior probabilidade de desenvolver metrite do que as que parem fêmeas (Hossein-Zadeh and Ardalan 2011). A maior incidência de metrites em partos de machos deve-se ao seu maior tamanho, que aumenta a probabilidade de distócia por desproporção feto-materna, e consequente necessidade de assistência ao parto, originando algum trauma do trato genital da mãe e aumentando o risco de infecção devido a maior manipulação do trato reprodutivo. As grandes dimensões dos machos também predispõem a uma maior incidência de retenções placentárias e metrites devido a uma antecipação da data prevista de parto, em que não há uma correta maturação das junções carunculo-cotiledonares. Essa é uma das razões pelas quais, de modo a minimizar casos de metrites nas explorações, muitos produtores optam por utilizar sêmen sexado (Hossein-Zadeh and Ardalan 2011).

4.4.2. DESLOCAMENTO DO ABOMASO

Nos bovinos, o abomaso encontra-se fisiologicamente encostado à parede ventral do abdômen. No entanto, quando existe uma grande acumulação de gás este órgão distende-se e pode deslocar-se para junto da parede abdominal lateral esquerda ou direita, junto à fossa paralombar, resultando num deslocamento do abomaso à esquerda ou à direita, respetivamente (Geishauser 1995). No caso do deslocamento do abomaso à esquerda (DAE) um dos principais fatores predisponentes é a diminuição da ingestão de matéria seca no peri-parto, podendo estar relacionado com outras doenças desta fase (Lyons et al. 2014 Jun 28).

Segundo os resultados do presente estudo, pareceu existir uma relação entre a ocorrência de deslocamento de abomaso e a época de concepção da descendência, sendo que as que foram concebidas na primavera tiveram menos deslocamentos do que as concebidas no verão, e as concebidas no outono e inverno também tenderam a ter menos deslocamentos do que as do verão, mas sem resultado estatisticamente significativo (valores de P entre 0,05 e 0,10). Assim, de acordo com a Figura 7, as filhas que sofreram stress térmico durante o 1º trimestre da gestação foram as que apresentaram maior incidência de

deslocamentos do abomaso, ou seja, as filhas que foram concebidas no verão. Sendo o deslocamento do abomaso uma doença causada por distúrbios metabólicos, como a acetonémia, coexistindo frequentemente, este insulto ambiental na fase inicial da gestação parece programar o desenvolvimento do sistema metabólico da filha.

4.4.3. ACETONÉMIA

A acetonémia ou cetose é uma doença comum no pós-parto, que se caracteriza pela acumulação de corpos cetônicos, como resposta adaptativa de um balanço energético negativo, em que a rápida lipólise resulta numa produção excessiva de NEFA, que com metabolismo hepático inadequado, não existe uma oxidação completa dos mesmos, originando hiperacetonémia, sendo que os corpos cetônicos são o beta-hidroxibutirato (BHBA), acetoacetato e acetona (Grummer 1993).

Na literatura, descreve-se ainda uma forte relação entre a ocorrência simultânea de cetose e de deslocamento do abomaso, podendo ser a cetose primária seguindo-se o deslocamento ou secundária, em que surge após o deslocamento do abomaso (Geishauser 1995). A cetose primária ocorre uma vez que o aumento dos NEFA e dos corpos cetônicos predispõe para o deslocamento do abomaso. Nos casos em que a cetose é secundária, esta ocorre devido ao balanço energético negativo, uma vez que animais com deslocamento apresentam uma diminuição da ingestão de matéria seca. Alguns estudos têm relacionado a resistência à insulina com a ocorrência destas doenças, uma vez que aparecem animais com deslocamento do abomaso com elevadas concentrações de glucose e de insulina, apesar do metabolismo catabólico (Pravettoni et al. 2004). Esta resistência à insulina pode ser influenciada pela restrição nutricional no ambiente fetal, como se constatou na anterior revisão bibliográfica.

O presente estudo detetou relação entre a ocorrência de cetose e a época de parto das novilhas e entre a ocorrência de cetose e o número de partos da vaca gestante. Relativamente à época de parto, não é uma variável que seja alvo de estudo para o tema, no entanto observou-se que novilhas que pariram no inverno tinham maior probabilidade de desenvolver cetose em relação às paridas nas outras estações do ano, o que está de acordo com o estudo de Mellado et al. (2018) que observaram que vacas paridas nas estações quentes têm menos probabilidade de desenvolver cetose. Não existe uma explicação clara para este fenómeno, no entanto, Tveit et al. (1992) concluíram que existia um aumento significativo do acetoacetato nas vacas que pariam nos meses mais frios.

Quanto ao número de partos da vaca gestante, verificou-se que novilhas filhas de nulíparas têm menor probabilidade de desenvolver cetose do que as filhas de primíparas e múltíparas. Este resultado também está de acordo com a bibliografia revista anteriormente,

em que as filhas geradas concomitantemente a uma lactação, ou seja, de primíparas e multíparas, têm um estado metabólico mais instável visto que o rácio gordura-proteína do leite é superior às descendentes de nulíparas, logo têm predisposição para o desenvolvimento de cetose (Grieve' et al. 1986; Rauw et al. 1998; González-Recio et al. 2012). Nos humanos, após as grandes fomes, como é o exemplo da fome holandesa ou da fome da China, os descendentes têm tendência a desenvolver uma síndrome metabólica que consiste num conjunto de doenças como dislipidemia, hipertensão, resistência à insulina e doença cardiovascular (Ravelli et al. 1999).

4.4.4. MASTITE

A mastite é uma das doenças mais comuns nas explorações leiteiras, podendo ser subdividida em mastite clínica e subclínica. Esta doença caracteriza-se por uma inflamação da glândula mamária associada ou não a infeção. Contudo, enquanto nas mastites subclínicas não existem sinais visíveis da doença, as mastites clínicas têm sinais observáveis da doença, tendo de se recorrer a anti-inflamatórios não esteroides, mas também ao uso de antibióticos caso o agente responsável seja Gram-positivo ou a mastite tenha sinais sistémicos, visto que alguns gram-negativos causam mastites autolimitantes.

No presente estudo, a única variável que se relacionou com a incidência de mastites clínicas foi a época de parto da novilha, o que tal como na acetonémia e na metrite, não são variáveis úteis para o estudo. Observou-se que filhas paridas no outono e na primavera tiveram menos mastites do que as paridas no inverno, o que está de acordo com o estudo de Chegini et al. (2016), onde constataram que os partos no inverno tiveram as maiores taxas de incidência, enquanto os do outono tiveram as menores.

Após o processamento estatístico dos dados recolhidos, observamos que nem todos os resultados obtidos estão de acordo com o esperado, tendo obtido alguns resultados que não vão de encontro à literatura existente sobre o tema. Para além disso, houve ainda alguns indicadores que, segundo a literatura, poderiam apresentar significado estatístico, que contudo, não o tiveram, o que se pode dever à reduzida dimensão da amostra em estudo ou à falta de consideração dos dados do produtivos do pai, que também têm elevada influência no desempenho produtivo e reprodutivo da filha.

A nutrição das vacas gestantes não foi incluída como fator importante na programação fetal destas novilhas uma vez que ambas as explorações têm as vacas estabuladas, logo a sua dieta é formulada de acordo com as suas necessidades fisiológicas em cada fase produtiva e reprodutiva.

O peso das vitelas ao nascimento, que é um importante indicador de algum tipo de insulto ambiental ao desenvolvimento fetal, podendo apresentar-se como uma variável cuja análise seria pertinente para o corrente estudo, também não foi analisado, uma vez que as duas explorações incluídas no presente estudo não têm por hábito pesar os vitelos à nascença, não existindo registos destes dados.

5. CONCLUSÃO

Este estudo permitiu-nos compreender como a programação fetal pode influenciar a produção, a reprodução e as doenças do pós-parto das novilhas de duas explorações leiteiras em Portugal. Os resultados demonstram a complexidade e interdependência dos fatores que afetam a performance das vacas leiteiras, destacando como variáveis a produção de leite da mãe durante a gestação, o número de partos da vaca gestante e a época de concepção.

A fertilidade é afetada negativamente pela restrição nutricional da vaca gestante, pela elevada produção leiteira da mãe e pelo stress térmico no primeiro trimestre da gestação; e positivamente pelo número de partos da vaca gestante, ou seja, descendentes de múltíparas acabam por ser mais férteis do que de nulíparas e primíparas. No presente estudo, a fertilidade das filhas, que foi avaliada pelo IPC após o primeiro parto, apenas demonstrou ser influenciada pela produção de leite materno, em que quanto maior a produção menor a probabilidade da filha ficar gestante no período considerado adequado.

No que diz respeito à produção de leite das descendentes, esta diminui com o aumento do número de partos da vaca gestante, com a elevada produção de leite materna e quando o stress térmico ocorre na fase inicial da gestação. Quanto aos resultados obtidos no presente estudo verificou-se existir uma relação positiva entre a produção de leite da mãe e da filha, sendo a produção da filha prejudicada pelo stress térmico quando este ocorre na primeira metade da gestação. Quando o stress térmico ocorre no terceiro trimestre, este tem um reduzido impacto no desenvolvimento da glândula mamária.

Quanto à probabilidade de sobrevivência, não foi possível obter qualquer conclusão no presente estudo, pelo que num estudo posterior deveria ser um parâmetro a aprofundar, utilizando a concentração de IgG, para analisar a capacidade de transferência de imunidade passiva à descendência.

Relativamente à influência da programação fetal na incidência de doenças do pós-parto, ainda é muito reduzida a bibliografia e investigação existente. Neste estudo, a retenção placentária, a metrite e a mastite não demonstraram ter influência da programação fetal, uma vez que a retenção placentária não teve quaisquer resultados e as restantes tiveram influência do sexo do vitelo e da época de parto da novilha, respetivamente, que não são variáveis que influenciem o desenvolvimento da novilha *in utero*. O deslocamento do abomaso sofre influência da época de concepção, demonstrando efeito do stress térmico no primeiro trimestre de gestação predispondo para a ocorrência desta doença. Quanto à acetonémia, houve um aumento da incidência com o número de partos da vaca gestante, pelo que novilhas filhas de nulíparas têm menor probabilidade de apresentar esta condição.

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a programação fetal é um fator determinante na performance futura das vacas leiteiras, sendo as novilhas de substituição, na

maioria das explorações leiteiras, as fêmeas que nascem na vacaria, os produtores podem minimizar os impactos destes insultos ambientais. Os fatores como o stress térmico, o número de partos da vaca gestante, o nível de produção de leite da mãe e a sua nutrição são variáveis que influenciam tanto a produção de leite, quanto a fertilidade e saúde das futuras vacas. Assim, a compreensão destes fatores pelos produtores permitirá melhorar a eficiência produtiva e reprodutiva das suas explorações, reduzindo a incidência de algumas doenças, otimizando as práticas de manejo e minimizando alguns custos da exploração leiteira, como os custos veterinários para correção das doenças do pós-parto.

Em ambas as explorações leiteiras foi detetado um ponto importante a melhorar que foi a falta de ventilação e chuveiros nos parques das vacas secas, da recria e das novilhas inseminadas, em que a sua implementação permitirá reduzir os efeitos da programação fetal devido ao stress térmico.

Os resultados apresentados ressaltam ainda a importância de continuar a investigar as complexas interações entre a genética, o ambiente e o manejo na produção animal, através de estudos com amostras de maiores dimensões e incluindo a influência genética do pai na produção e reprodução da descendência.

6. BIBLIOGRAFIA

Akbarinejad V, Gharagozlou F, Vojgani M. 2017. Temporal effect of maternal heat stress during gestation on the fertility and anti-Müllerian hormone concentration of offspring in bovine. *Theriogenology*. 99:69–78. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.05.018.

Akbarinejad V, Gharagozlou F, Vojgani M, Bagheri Amirabadi MM. 2018. Nulliparous and primiparous cows produce less fertile female offspring with lesser concentration of anti-Müllerian hormone (AMH) as compared with multiparous cows. *Anim Reprod Sci*. 197:222–230. doi:10.1016/j.anireprosci.2018.08.032.

Almoosavi SMMS, Ghoorchi T, Naserian AA, Ramezanpor SS, Ghaffari MH. 2020. Long-term impacts of late-gestation maternal heat stress on growth performance, blood hormones and metabolites of newborn calves independent of maternal reduced feed intake. *Domest Anim Endocrinol*. 72. doi:10.1016/j.domaniend.2019.106433.

Bafandeh M, Mozaffari Makiabadi MJ, Gharagozlou F, Vojgani M, Mobedi E, Akbarinejad V. 2023. Developmental programming of production and reproduction in dairy cows: I. Association of maternal parity with offspring's birth weight, milk yield, reproductive performance and AMH concentration during the first lactation period. *Theriogenology*. 210:34–41. doi:10.1016/j.theriogenology.2023.07.012.

Banos G, Brotherstone S, Coffey MP. 2007. Prenatal maternal effects on body condition score, female fertility, and milk yield of dairy cows. *J Dairy Sci*. 90(7):3490–3499. doi:10.3168/jds.2006-809.

Barker DJP. 1995. The fetal and infant origins of disease. *Eur J Clin Invest*. 25:457–463. doi:10.1111/j.1365-2362.1995.tb01730.x.

Barker DJP. 2003. The developmental origins of adult disease. *Eur J Epidemiol*. 18:733–736. doi:10.1023/a:1025388901248.

Barker DJP. 2004. The developmental origins of well-being. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 359:1359–1366. doi:10.1098/rstb.2004.1518.

Berry DP, Lonergan P, Butler ST, Cromie AR, Fair T, Mossa F, Evans ACO. 2008. Negative influence of high maternal milk production before and after conception on offspring survival and milk production in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 91:329–337. doi:10.3168/jds.2007-0438.

Bertrand JA, Berger PJ, Freeman AE, Kelley DH. 1985. Profitability in Daughters of High Versus Average Holstein Sires Selected for Milk Yield of Daughters. *J Dairy Sci*. 68(9):2287–2294. doi:10.3168/jds.S0022-0302(85)81101-2.

Blecha F, Bull RC, Olson DP, Ross RH, Curtis S. 1981. Effects of prepartum protein restriction in the beef cow on immunoglobulin content in blood and colostral whey and subsequent immunoglobulin absorption by the neonatal calf. *J Anim Sci*. 53(5):1174–1180. doi:10.2527/jas1981.5351174x.

Brito LF, Bedere N, Douhard F, Oliveira HR, Arnal M, Peñagaricano F, Schinckel AP, Baes CF, Miglior F. 2021. Review: Genetic selection of high-yielding dairy cattle toward sustainable farming systems in a rapidly changing world. *Animal*. 15. doi:10.1016/j.animal.2021.100292.

Butler WR, Everett RW, Coppock CE. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J Anim Sci.* 53(3):742–748. doi:10.2527/jas1981.533742x.

Chegini A, Ghavi Hossein-Zadeh N, Hosseini-Moghadam H, Shadparvar AA. 2016. Factors affecting clinical mastitis and effects of clinical mastitis on reproductive performance of Holstein cows. *Revue Méd Vét.* 167(5–6):145–153.

Collier RJ, Doelger SG, Head HH, Thatcher WW, Wilcox CJ. 1982. Effects of heat stress during pregnancy on maternal hormone concentrations, calf birth weight and postpartum milk yield of holstein cows. *J Anim Sci.* 54(2):309–319. doi:10.2527/jas1982.542309x.

Copping KJ. 2017. Fetal programming in cattle: the effects of varying maternal protein intake in adolescent beef heifers on fetal and postnatal growth and development of the calf. [Adelaide]: The University Of Adelaide.

Corah LR, Dunn TG, Kaltenbach CC. 1975. Influence of prepartum nutrition on the reproductive performance of beef females and the performance of their progeny. *J Anim Sci.* 41(3):819–824. doi:10.2527/jas1975.413819x.

Dehghan Harati HR, Mobedi E, Allahyari I, Gharagozlou F, Vojgani M, Hemmati Baghbanani R, Akbarinejad A, Akbarinejad V. 2024. Developmental programming of production and reproduction in dairy cows: III. Association of level of maternal milk production with offspring's birth weight, survival, productive and reproductive performance and AMH concentration from birth to the first lactation period. *Theriogenology.* 216:155–167. doi:10.1016/j.theriogenology.2024.01.001.

Duncan NB, Stoecklein KS, Foote AP, Meyer AM. 2023. Dam parity affects fetal growth, placental size, and neonatal metabolism in spring-born beef calves. *J Anim Sci.* 101:1–13. doi:10.1093/jas/skac399.

Ford SP. 1995. Control of blood flow to the gravid uterus of domestic livestock species. *J Anim Sci.* 73:1852–1860. doi:10.2527/1995.7361852x.

Formigoni A, Cornilf M-C, Prandi A, Mordenti A, Rossi A, Portetelle D, Renaville R. 1996. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. *Journal of Dairy Research.* 63:11–24. doi:10.1017/s0022029900031502.

Fowden AL, Hill DJ. 2001. Intra-uterine programming of the endocrine pancreas. *Br Med Bull.* 60:123–142. doi:10.1093/bmb/60.1.123.

Funston RN, Larson DM, Vonnahme KA. 2010. Effects of maternal nutrition on conceptus growth and offspring performance: Implications for beef cattle production. *J Anim Sci.* 88:E205–E215. doi:10.2527/jas.2009-2351.

Geishauser T. 1995. Abomasal Displacement in the Bovine - a Review on Character, Occurrence, Aetiology and Pathogenesis. *Journal of Veterinary Medicine Series A.* 42:229–251. doi:10.1111/j.1439-0442.1995.tb00375.x.

Ghaffari MH. 2022. Developmental programming: prenatal and postnatal consequences of hyperthermia in dairy cows and calves. *Domest Anim Endocrinol.* 80. doi:10.1016/j.domaniend.2022.106723.

Giuliodori MJ, Magnasco RP, Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, Risco CA, De la Sota RL. 2013. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *J Dairy Sci.* 96:3621–3631. doi:10.3168/jds.2012-5922.

Godfredson JA, Holland MD, Odde KG, Hossner KL. 1991. Hypertrophy and hyperplasia of bovine fetal tissues during development: fetal liver insulin-like growth factor I mRNA expression. *J Anim Sci.* 69:1074–1081. doi:10.2527/1991.6931074x.

González-Recio O, Ugarte E, Bach A. 2012a. Trans-generational effect of maternal lactation during pregnancy: A holstein cow model. *PLoS One.* 7(12). doi:10.1371/journal.pone.0051816.

González-Recio O, Ugarte E, Bach A. 2012b. Trans-Generational Effect of Maternal Lactation during Pregnancy: A Holstein Cow Model. *PLoS One.* 7(12). doi:10.1371/journal.pone.0051816.

Goyal D, Limesand SW, Goyal R. 2019. Epigenetic responses and the developmental origins of health and disease. *Journal of Endocrinology.* 242(1):T105–T119. doi:10.1530/JOE-19-0009.

Grazul-Bilska AT, Caton JS, Arndt W, Burchill K, Thorson C, Borowczyk E, Bilski JJ, Redmer DA, Reynolds LP, Vonnahme KA. 2009. Cellular proliferation and vascularization in ovine fetal ovaries: effects of undernutrition and selenium in maternal diet. *Reproduction.* 137:699–707. doi:10.1530/REP-08-0375.

Greenwood PL, Cafe LM. 2007. Prenatal and pre-weaning growth and nutrition of cattle: long-term consequences for beef production. *Animal.* 1(9):1283–1296. doi:10.1017/S175173110700050X.

Greenwood PL, Hunt AS, Hermanson JW, Bell AW. 2000. Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: II. Skeletal muscle growth and development. *J Anim Sci.* 78:50–61. doi:10.2527/2000.78150x.

Grieve DG, Korver S, Rijpkema S, Hof G. 1986. Relationship between milk composition and some nutritional parameters in early lactation. *Livest Prod Sci.* 14:239–254. doi:10.1016/0301-6226(86)90083-7.

Grummer RR. 1993. Etiology of Lipid-Related Metabolic Disorders in Periparturient Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 76:3882–3896. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77729-2.

Guzmán C, Cabrera R, Cárdenas M, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E. 2006. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *Journal of Physiology.* 572(1):97–108. doi:10.1113/jphysiol.2005.103903.

Hammer CJ, Thorson JF, Meyer AM, Redmer DA, Luther JS, Neville TL, Reed JJ, Reynolds LP, Caton JS, Vonnahme KA. 2011. Effects of maternal selenium supply and plane of nutrition during gestation on passive transfer of immunity and health in neonatal lambs. *J Anim Sci.* 89:3690–3698. doi:10.2527/jas.2010-3724.

Heinze G, Dunkler D. 2017. Five myths about variable selection. *Transplant International.* 30:6–10. doi:10.1111/tri.12895.

Hopper RM. 2021. *Bovine Reproduction. Second.* Auburn: Wiley Blackwell.

Hosseini-Zadeh NG, Ardalán M. 2011. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. *Vet Res Commun.* 35:345–354. doi:10.1007/s11259-011-9479-5.

Huber E, Notaro US, Recce S, Rodríguez FM, Ortega HH, Salvetti NR, Rey F. 2020. Fetal programming in dairy cows: Effect of heat stress on progeny fertility and associations with the hypothalamic-pituitary-adrenal axis functions. *Anim Reprod Sci.* 216. doi:10.1016/j.anireprosci.2020.106348.

Hurley WL, Looor JJ. 2011. Growth, Development and Involution.

James WPT. 1997. Long-term fetal programming of body composition and longevity. *Nutr Rev.* 55(1):S31–S41. doi:10.1111/j.1753-4887.1997.tb06097.x.

Klein JL, Adams SM, Alves Filho DC, Brondani IL, Pizutti LÂD, Antunes DP, Poletto V, Karsten M dos S, Bem PHT de, Mello DA da S. 2021. Programação fetal e as consequências no desenvolvimento da progênie – uma revisão. *Research, Society and Development.* 10(12). doi:10.33448/rsd-v10i12.20766.

Klewitz J, Struebing C, Rohn K, Goergens A, Martinsson G, Orgies F, Probst J, Hollinshead F, Bollwein H, Sieme H. 2015. Effects of age, parity, and pregnancy abnormalities on foal birth weight and uterine blood flow in the mare. *Theriogenology.* 83(4):721–729. doi:10.1016/j.theriogenology.2014.11.007.

Kwong WY, Wild AE, Roberts P, Willis AC, Fleming TP. 2000. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 127.:4195–4202. doi:10.1242/dev.127.19.4195.

Laporta J, Fabris TF, Skibiél AL, Powell JL, Hayen MJ, Horvath K, Miller-Cushon EK, Dahl GE. 2017. In utero exposure to heat stress during late gestation has prolonged effects on the activity patterns and growth of dairy calves. *J Dairy Sci.* 100(4):2976–2984. doi:10.3168/jds.2016-11993.

Laporta J, Ferreira FC, Ouellet V, Dado-Senn B, Almeida AK, De Vries A, Dahl GE. 2020. Late-gestation heat stress impairs daughter and granddaughter lifetime performance. *J Dairy Sci.* 103(8):7555–7568. doi:10.3168/jds.2020-18154.

Lemley CO, Hart CG, Lemire RL, King EH, Hopper RM, Park SB, Rude BJ, Burnett DD. 2018. Maternal nutrient restriction alters uterine artery hemodynamics and placental vascular density in *Bos indicus* and *Bos taurus*. *J Anim Sci.* doi:10.1093/jas/sky329/5071836.

Lyons NA, Cooke JS, Wilson S, Van Winden SC, Gordon PJ, Wathes DC. 2014 Jun 28. Relationships between metabolite and IGF1 concentrations with fertility and production outcomes following left abomasal displacement. *Veterinary Record.* doi:10.1136/vr.102119.

Maloney CA, Rees WD. 2005. Gene-nutrient interactions during fetal development. *Reproduction.* 130:401–410. doi:10.1530/rep.1.00523.

Martin JL, Vonnahme KA, Adams DC, Lardy GP, Funston RN. 2007. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *J Anim Sci.* 85:841–847. doi:10.2527/jas.2006-337.

McMillen C, Adams M, Ross J, Coulter C. 2001. Fetal growth restriction: adaptations and consequences. *Reproduction.* 122:195–204. doi:10.1530/rep.0.1220195.

Mellado M, Dávila A, Gaytán L, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, García E. 2018. Risk factors for clinical ketosis and association with milk production and reproduction variables in dairy cows in a hot environment. *Trop Anim Health Prod.* 50(7):1611–1616. doi:10.1007/s11250-018-1602-y.

Meyer AM, Redifer CA. 2024. The curse of the firstborn: Effects of dam primiparity on developmental programming in ruminant offspring. *Anim Reprod Sci.* 265. doi:10.1016/j.anireprosci.2024.107469.

Miętkiewska K, Kordowitzki P, Pareek CS. 2022. Effects of Heat Stress on Bovine Oocytes and Early Embryonic Development—An Update. *Cells.* 11. doi:10.3390/cells11244073.

Monteiro APA, Tao S, Thompson IM, Dahl GE. 2014. Effect of heat stress during late gestation on immune function and growth performance of calves: Isolation of altered colostral and calf factors. *J Dairy Sci.* 97(10):6426–6439. doi:10.3168/jds.2013-7891.

Monteiro APA, Tao S, Thompson IMT, Dahl GE. 2016. In utero heat stress decreases calf survival and performance through the first lactation. *J Dairy Sci.* 99(10):8443–8450. doi:10.3168/jds.2016-11072.

Moreira E, Neto J, Júnior M, Mello R, Andrade J, Silva G, Nunes V. 2019. Programação fetal e efeito da suplementação pré-parto sobre o desempenho produtivo e reprodutivo da progênie: Revisão. *Pubvet.* 13(04):1–7. doi:10.31533/pubvet.v13n4a310.1-7.

Mossa F, Carter F, Walsh SW, Kenny DA, Smith GW, Ireland JLH, Hildebrandt TB, Lonergan P, Ireland JJ, Evans ACO. 2013. Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. *Biol Reprod.* 88(4). doi:10.1095/biolreprod.112.107235.

Mozaffari Makiabadi MJ, Bafandeh M, Gharagozlou F, Vojgani M, Mobedi E, Akbarinejad V. 2023. Developmental programming of production and reproduction in dairy cows: II. Association of gestational stage of maternal exposure to heat stress with offspring's birth weight, milk yield, reproductive performance and AMH concentration during the first lactation period. *Theriogenology.* 212:41–49. doi:10.1016/j.theriogenology.2023.09.002.

Murotsuki J, G Challis JR, M Han VK, Fraher LJ, Gagnon R. 1997. Chronic fetal placental embolization and hypoxemia cause hypertension and myocardial hypertrophy in fetal sheep. *American Journal of Physiology.*:R201–R207. doi:10.1152/ajpregu.1997.272.1.R201.

Murphy M, Åkerlind M, Holtenius K. 2000. Rumen fermentation in lactating cows selected for milk fat content fed two forage to concentrate ratios with hay or silage. *J Dairy Sci.* 83(4):756–764. doi:10.3168/jds.S0022-0302(00)74938-1.

Nebel RL, McGilliard ML. 1993. Interactions of High Milk Yield and Reproductive Performance in Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 76:3257–3268. doi:10.3168/jds.S0022-0302(93)77662-6.

Ouellet V, Boucher A, Dahl GE, Laporta J. 2021. Consequences of maternal heat stress at different stages of embryonic and fetal development on dairy cows' progeny. *Animal Frontiers.* 11(6):48–56. doi:10.1093/af/vfab059.

Peiter M, Caixeta L, Endres MI. 2023. Association between change in body weight during early lactation and milk production in automatic milking system herds. In: *Short Communication - Health, Behavior, and Well-being.* p. 369–372.

Pravettoni D, Doll K, Hummel M, Cavallone E, Re M, Belloli AG. 2004. Insulin resistance and abomasal motility disorders in cows detected by use of abomasoduodenal electromyography after surgical correction of left displaced abomasum. *American Journal of Veterinary Research*. 65(10):1319–1324. doi:10.2460/ajvr.2004.65.1319.

Rauw WM, Kanis E, Noordhuizen-Stassen EN, Grommers FJ. 1998. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livest Prod Sci*. 56:15–33. doi:10.1016/S0301-6226(98)00147-X.

Ravelli AC, Meulen JH van der, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. 1999. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *American Journal of Clinical Nutrition*. 70:811–816. doi:10.1093/ajcn/70.5.811.

Redmer DA, Wallace JM, Reynolds LP. 2004. Effect of nutrient intake during pregnancy on fetal and placental growth and vascular development. *Domest Anim Endocrinol*. 27:199–217. doi:10.1016/j.domaniend.2004.06.006.

Regnault TRH, de Vrijer B, Galan HL, Davidsen ML, Trembler KA, Battaglia FC, Wilkening RB, Anthony R V. 2003. The relationship between transplacental O₂ diffusion and placental expression of PIGF, VEGF and their receptors in a placental insufficiency model of fetal growth restriction. *Journal of Physiology*. 550(2):641–656. doi:10.1113/jphysiol.2003.039511.

Relling AE, Chiarle A, Giuliadori M. 2016. Fetal Programming in Dairy Cattle. In: *Tri-State Dairy Nutrition Conference*. p. 107–111.

Reynolds LP, Borowicz PP, Caton JS, Crouse MS, Dahlen CR, Ward AK. 2019. Developmental Programming of Fetal Growth and Development. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. 35:229–247. doi:10.1016/j.cvfa.2019.02.006.

Reynolds LP, Redmer DA. 1995. Utero-Placental Vascular Development and Placental Function. *J Anim Sci*. 73:1839–1851. doi:10.1016/j.domaniend.2004.06.006.

Reynolds LP, Redmer DA. 2001. Angiogenesis in the Placenta. *Biol Reprod*. 64:1033–1040. doi:10.1095/biolreprod64.4.1033.

Robinson JJ, McDonald I, Fraser C, Crofts RMJ. 1977. Studies on reproduction in prolific ewes I. Growth of the products of conception. *J Agric Sci*. 88:539–552. doi:10.1017/S0021859600037229.

Sakatani M, Yamanaka K, Kobayashi S, Takahashi M. 2008. Heat Shock-derived Reactive Oxygen Species Induce Embryonic Mortality in In Vitro Early Stage Bovine Embryos. *Journal of Reproduction and Development*. 54(6):496–501. doi:10.1262/jrd.20017.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 65:1516–1530. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.08.021.

Skibieli AL, Peñagaricano F, Amorín R, Ahmed BM, Dahl GE, Laporta J. 2018. In Utero Heat Stress Alters the Offspring Epigenome. *Sci Rep*. 8:1–15. doi:10.1038/s41598-018-32975-1.

Smith P, Steckler TL, Veiga-Lopez A, Padmanabhan V. 2009. Developmental programming: Differential effects of prenatal testosterone and dihydrotestosterone on follicular recruitment, depletion of follicular reserve, and ovarian morphology in sheep. *Biol Reprod*. 80(4):726–736. doi:10.1095/biolreprod.108.072801.

Snijders S, Dillon P, Diskin M, Wylie A, O'Callaghan D, Rath M, Boland M. 2001. Genetic merit for milk production and reproductive success in dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 65:17–31. doi:10.1016/s0378-4320(00)00217-7.

Succu S, Sale S, Ghirello G, Ireland JJ, Evans ACO, Atzori AS, Mossa F. 2020. Exposure of dairy cows to high environmental temperatures and their lactation status impairs establishment of the ovarian reserve in their offspring. *J Dairy Sci.* 103(12):11957–11969. doi:10.3168/jds.2020-18678.

Swali A, Wathes DC. 2006. Influence of the dam and sire on size at birth and subsequent growth, milk production and fertility in dairy heifers. *Theriogenology.* 66(5):1173–1184. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.03.028.

Swali A, Wathes DC. 2007. Influence of primiparity on size at birth, growth, the somatotrophic axis and fertility in dairy heifers. *Anim Reprod Sci.* 102(1–2):122–136. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.10.012.

Toriola AT, Vääräsmäki M, Lehtinen M, Zeleniuch-Jacquotte A, Lundin E, Rodgers KG, Lakso HA, Chen T, Schock H, Hallmans G, et al. 2011. Determinants of maternal sex steroids during the first half of pregnancy. *Obstetrics and Gynecology.* 118(5):1029–1036. doi:10.1097/AOG.0b013e3182342b7f.

Tveit B, Lingaas F, Svendsen M, Sjaastad Ø V. 1992. Etiology of Acetonemia in Norwegian Cattle. Effect of Ketogenic Silage, Season, Energy Level, and Genetic Factors. *J Dairy Sci.* 75(9):2421–2432. doi:10.3168/jds.S0022-0302(92)78003-5.

Vautier AN, Cadaret CN. 2022. Long-Term Consequences of Adaptive Fetal Programming in Ruminant Livestock. *Frontiers in Animal Science.* 3(778440). doi:10.3389/fanim.2022.778440.

Velazquez MA, Spicer LJ, Wathes DC. 2008. The role of endocrine insulin-like growth factor-I (IGF-I) in female bovine reproduction. *Domest Anim Endocrinol.* 35(4):325–342. doi:10.1016/j.domaniend.2008.07.002.

Vonnahme KA. 2007. Nutrition During Gestation and Fetal Programming. In: *Range Beef Cow Symposium.* Vol. 14. Colorado.

Wathes DC. 2022. Developmental Programming of Fertility in Cattle—Is It a Cause for Concern? *Animals.* 12:1–34. doi:10.3390/ani12192654.

Wathes DC, Pollott GE, Johnson KF, Richardson H, Cooke JS. 2014. Heifer fertility and carry over consequences for life time production in dairy and beef cattle. *Animal.* 8:91–104. doi:10.1017/S1751731114000755.

West JW. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 86(6):2131–2144. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X.

Wrobel K-H, Süß F. 1998. Identification and temporospatial distribution of bovine primordial germ cells prior to gonadal sexual differentiation. *Anat Embryol.* 197:451–467. doi:10.1007/s004290050156.

Wu C-T, Morris JR. 2001. Genes, Genetics, and Epigenetics: A Correspondence. *Science (1979).* 293:1103–1105. doi:10.1126/science.293.5532.1103.

Wu G, Bazer FW, Wallace JM, Spencer TE. 2006. Board-invited review: Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *J Anim Sci.* 84:2316–2337. doi:10.2527/jas.2006-156.

Yang MY, Fortune JE. 2008. The capacity of primordial follicles in fetal bovine ovaries to initiate growth in vitro develops during mid-gestation and is associated with meiotic arrest of oocytes. *Biol Reprod.* 78(6):1153–1161. doi:10.1095/biolreprod.107.066688.

Yao S, Lopez-Tello J, Sferruzzi-Perri AN. 2021. Developmental programming of the female reproductive system - a review. *Biol Reprod.* 104(4):745–770. doi:10.1093/biolre/iaaa232.

Zhu MJ, Ford SP, Means WJ, Hess BW, Nathanielsz PW, Du M. 2006. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *Journal of Physiology.* 575(1):241–250. doi:10.1007/s004290050156.