

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS RECEPTORAS DE EMBRIÕES COM ÁCIDOS  
GRAXOS POLIINSATURADOS ESTERÍFICADOS**

Juan Camilo Angel Cardona  
Médico Veterinário – Universidade de Antioquia

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de Mestre  
em Zootecnia  
Área de Concentração: Produção Animal

Porto Alegre (RS), Brasil  
Dezembro de 2009

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e muito especialmente a minha mãe Gladys Helena Cardona e meu pai Ruben Dario Angel, que me deram a vida e as bases de todo o que hoje eu sou. Também pelo apoio emocional e econômico no momento que decidi empreender esta nova etapa de mi vida, etapa que hoje felizmente culmina.

A Mônica Marcela Ramirez, colega, amiga, companheira e namorada. Sem ela muitas coisas teriam sido impossíveis, com ela todo foi possível, e mais fácil do que eu tivesse imaginado.

A meu orientador Harold Ospina Patino, pela oportunidade, pelos ensinamentos, pela amizade e especialmente por ser com todas as letras um verdadeiro ORIENTADOR, sempre presente e disposto, sempre com a recomendação certa. Eu considero esta tese a nossa construção, foi escrita a duas mãos.

A meu coorientador Ricardo Macedo Gregory, pela oportunidade de trabalhar com ele e por viabilizar a realização deste trabalho.

A Universidade Federal de Rio Grande do Sul e especialmente a todos os professores que participaram da realização deste mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa de estudos para a realização deste mestrado.

Ao Grupo de Suplementação de Ruminantes (GSR): Mario Sierra, Diogo, Rafael, Gabriel, Lucas, Marcela, Prisila, Mônica e aos que já não estão. Pela oportunidade de conviver com vocês e pela ajuda na realização deste trabalho.

“Ganhei um pouco de sabedoria  
De quem sabe fazer fogo sem fumaça  
E aprendi a laçar certo  
Com um lacito de apenas cinco braças”.

“Trabalhei duro e me fizeram mestre  
Ganhei até um novo tirador  
Mas o que mais ganhei foi a certeza  
Que o trabalho me dera mais valor”.

Extraído do poema: Estância de Pedra Bruta, do autor: Alcy Cheuiche.

# SUPLEMENTAÇÃO DE VACAS RECEPTORAS DE EMBRIÕES COM ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS ESTERIFICADOS<sup>1</sup>

**Author:** Juan Camilo Angel Cardona

**Adviser:** Harold Ospina Patino

**Co - Adviser:** Ricardo Macedo Gregory

## RESUMO

Foi realizado um experimento para avaliar os efeitos da inclusão de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) em suplementos isoenergéticos, fornecidos a novilhas receptoras de embriões, sobre o desempenho produtivo e reprodutivo e sobre alguns parâmetros plasmáticos. Os três tratamentos avaliados foram: suplemento funcional onde as novilhas receberam suplemento contendo 150 gr de sabões cálcicos de PUFA (Megalac-E<sup>®</sup>), suplemento energético onde as novilhas receberam um suplemento sem a inclusão de sabões cálcicos e sem suplementação. O período experimental teve uma duração de 60 dias sendo que a suplementação iniciou 30 dias antes da transferência dos embriões e acabou com a confirmação da prenhez. Foram utilizadas 44 novilhas cruzadas Angus\*Hereford de dois anos de idade e peso médio no início do experimento de 385±36 kg, mantidas num mesmo piquete de campo nativo melhorado e suplementadas diariamente de forma individual. As novilhas foram pesadas a cada 28 dias e a sincronização do estro foi realizada utilizando duas doses de PGF2 $\alpha$  com um intervalo de 11 dias. Sete dias após a detecção do cio foi realizada a medição do corpo lúteo e a transferência dos embriões. Amostras de sangue foram coletadas no dia da transferência dos embriões e no dia da confirmação de prenhez. O tipo de suplemento utilizado não afetou as variáveis de comportamento reprodutivo, o número e tamanho dos corpos lúteos, a taxa de aproveitamento, a taxa de prenhes e a concentração plasmática de insulina. A incorporação de sabões cálcicos de PUFA em suplementos energéticos fornecidos a novilhas receptoras aumentou o ganho de peso e a concentração plasmática de colesterol e progesterona,

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (101 p.) Dezembro, 2009.

## SUPPLEMENTATION OF EMBRYO RECIPIENTS COWS WITH ESTERIFICATED POLYUNSATURATED FATTY ACIDS<sup>2</sup>

**Author:** Juan Camilo Angel Cardona  
**Adviser:** Harold Ospina Patino  
**Co - Adviser:** Ricardo Macedo Gregory

### ABSTRACT

An experiment to evaluate the effects of adding polyunsaturated fatty acids (PUFA) in isocaloric energy supplements feeding to embryo recipient heifers, on the productive and reproductive performance and some plasma parameters. The three treatments evaluated were: functional supplement where the recipient heifers were supplemented with energy supplement containing 150 gr of calcium soaps of fatty acids (Megalac-E<sup>®</sup>), energy supplement where heifers received an supplement without inclusion of calcium soaps and without supplementation. The experiment has been during 60 days, beginning with the supplementation 30 days before of embryo transfer and end at pregnancy confirmation. We are used 44 Angus\*Hereford crossbred heifers of two years age and weight at the beginning of experiment  $385\pm 36$  kg, kept in the same paddock of improved native pasture and individually supplemented daily. Heifers were weighed every 28 days and estrus synchronization was performed using two PGF2 $\alpha$  doses with an interval of 11 days. Seven days after estrus detection was performed measured the corpus luteum and embryo transfer. Blood samples were collected on embryo transfer and pregnancy confirmation days. Heifers consuming supplementation with PUFA had greater weight gains and higher cholesterol and progesterone plasma concentrations. The supplement type offered did not affect reproductive behavior variables, number and size of corpus luteum, utilization rate, pregnant rate and plasma insulin concentration. Incorporation of calcium soaps of fatty acids into energy supplements provided to recipient heifers, increased weight gain and plasma cholesterol and progesterone concentration.

---

<sup>2</sup> Master Science Dissertation in Animal Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil (101 p.) December, 2009.

## RELACAO DE FIGURAS E GRAFICOS

Figura 1. Centro de manejo e baias utilizadas no experimento.....	28
Figura2. Animais e área experimental.....	29
Figura 3. Campo nativo melhorado utilizado no experimento.....	30
Figura 4. Coleta de amostras de disponibilidade e simulação de pastejo.....	33
Gráfico 1. Pluviosidade no período experimental.....	42
Gráfico 2. Temperatura máxima e mínima no período experimental.....	42

## RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela N. 1 Componentes e composição bromatológica dos suplementos.....	31
Tabela 2. Disponibilidade de matéria seca por hectare e composição bromatológica da pastagem no início, metade e final do período experimental.....	42
Tabela 3. Medias de consumo total do suplemento, consumo de matéria seca por dia e do consumo de energia metabolizável (EM).....	44
Tabela 4. Peso vivo médio e ganho médio de peso $\pm$ desvio padrão para cada tratamento.....	46
Tabela 5. Tempo para o Início da atividade sexual e da aceitação de monta após a segunda dose de prostaglandina, duração da aceitação de monta e da atividade sexual, expressas em horas, e, intensidade do cio, expressa como vezes que monta e que aceita a monta, para cada tratamento.....	49
Tabela 6. Tabela de freqüências para tamanho do corpo lúteo (CL) por tratamento.....	50
Tabela 7. Numero de receptoras transferidas, taxa de aproveitamento, taxa de prenhes da transferência e a taxa de prenhes do programa para cada tratamento.....	51
Tabela 8. Media e desvio padrão das concentrações de colesterol (mg/dl) no dia da transferência e no dia da confirmação de prenhes das novilhas.....	53
Tabela 9. Concentração plasmática de progesterona (ng/ml) no dia da transferência dos embriões e no dia da confirmação da prenhes.....	54
Tabela 10. Medias das concentrações plasmáticas ( $\mu$ IU/ml) de insulina no dia da transferência e no dia da confirmação de prenhes para cada tratamento.....	57

## SUMARIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA.....	4
2.1. A transferência de embriões.....	4
2.2. Fatores que afetam o resultado dos programas de transferência de embriões.....	6
2.3. Gorduras na dieta de ruminantes.....	10
2.3.1. Sabões cálcicos para proteção ruminal dos ácidos graxos poliinsaturados.....	12
2.3.2. Ácidos graxos poliinsaturados: essencialidade e potencial de alimento funcional.....	13
2.3.2.1. Efeitos calóricos.....	14
2.3.2.2. Efeitos não calóricos: Alimento funcional.....	15
2.3.2.2.1. Tamanho do folículo pré-ovulatório e do corpo lúteo.....	17
2.3.2.2.2. Efeito sobre a concentração de progesterona.....	19
2.3.2.2.3. Efeito sobre produção e metabolismo das Prostaglandinas.....	20
2.3.2.2.4. efeito sobre a qualidade e desenvolvimento embrionário.....	21
2.4. Sinais hormonais e metabólicos que relacionam o status nutricional e a reprodução.....	22
2.4.1. Insulina.....	22
2.4.2. Colesterol.....	24
3. MATERIAIS E METODOS.....	26
3.1. Local e duração do experimento.....	26
3.2. Área experimental.....	27
3.3. Tratamentos.....	27
3.4. Animais.....	28
3.5. Alimentos e alimentação.....	29
3.5.1. Pastagens.....	29
3.5.2. Suplementos.....	30
3.6. Condução do experimento.....	31
3.6.1. Protocolo de sincronização e detecção do cio.....	33
3.6.2. Transferência dos embriões.....	34
3.6.3. Coleta de amostras de sangue.....	35
3.6.4. Preparação das amostras.....	35
3.7. Análises de laboratório.....	36
3.7.1. Matéria seca e matéria orgânica.....	36
3.7.2. Proteína.....	36
3.7.3. Gordura.....	36
3.7.4. Parede celular.....	37
3.7.5. Progesterona e isulina.....	37
3.7.6. Colesterol.....	37

3.8. Delineamento experimental e análises estatística.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Oferta de forragem e Consumo de suplemento.....	40
4.1.1. Disponibilidade de matéria seca e composição da pastagem.....	40
4.1.2. Consumo de suplemento.....	43
4.2. Desempenho Produtivo.....	44
4.3. Desempenho Reprodutivo.....	47
4.4. Parametros sangüíneas.....	52
4.4.1. Colesterol.....	52
4.4.2. Progesterona.....	53
4.4.3. Insulina.....	56
5. CONCLUSÃO.....	58
6. BIBLIOGRAFIA.....	59
7. APÊNDICES.....	74

## RELAÇÃO DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

EM: energia metabolizável

ENN: estrato não nitrogenado

FSH: hormônio folículo estimulante

GH: hormônio do crescimento

HDL: lipoproteínas de alto peso molecular

IA: inseminação artificial

IGF I: fator de crescimento insulínico tipo um

LDL: lipoproteínas de baixo peso molecular

LH: hormônio luteinizante

mm: milímetros

MS: matéria seca

MSC: matéria seca consumida

µgr/kg: microgramas por quilograma

NDT: nutrientes digestíveis totais

PGf2α: prostaglandina F dois alpha

PGHs: prostaglandina H sintetase

PUFA: ácidos graxos poliinsaturados

TE: transferência de Embriões

UA/hct: unidade animal por hectare

## **1. INTRODUÇÃO**

A vaca receptora de embriões é a principal determinante do sucesso ou fracasso da aplicação da transferência de embriões (TE), já que ela deve receber o embrião, garantir sua implantação, levar a término a prenhes e finalmente dar o suporte nutricional pré-desmama para o desenvolvimento de um terneiro de alto valor genético. Dentro dos programas de TE, a manutenção das receptoras até ficarem prenhas é um dos principais gargalos da aplicação desta técnica. Portanto se faz necessário que o maior numero de receptoras fiquem prenhez, de modo a melhorar a eficiência na aplicação desta biotécnica reprodutiva.

Dentre os fatores de manejo, a nutrição das receptoras de embriões é um dos que mais influenciam as respostas reprodutivas nos programas de TE. As dietas das receptoras de embriões devem ser balanceadas para preencher todas as exigências nutricionais de modo a garantir que se encontrem em condições ótimas para receber, gestar, parir e dar suporte nutricional ao bezerro até a desmama. A nutrição convencional das receptoras de embriões tem priorizado o preenchimento das exigências de energia e minerais. Porém a procura por maior eficiência nos programas de TE tem estimulado a busca e

uso de ferramentas da nutrição tais como os alimentos funcionais, que são aqueles que sendo fornecidos regularmente na dieta, têm outras funções, além da oferta de nutrientes, trazendo benefícios fisiológicos adicionais.

Entre os componentes alimentares com potencial de alimento funcional se encontram os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) os quais tem mostrado melhorar as respostas reprodutivas, já que, além do seu potencial energético (2,25 vezes maior que os carboidratos), apresentam propriedades não calóricas (de alimento funcional) que beneficiam as respostas reprodutivas observadas na aplicação de biotecnologias como a inseminação artificial (IA) e a TE.

A suplementação com PUFA (ácido linoléico Ômega-6 e ácido linolênico Ômega-3) pode alterar parâmetros reprodutivos tais como: número e tamanho de folículos, taxa de ovulação, tamanho do corpo lúteo, produção de progesterona e tempo de luteólise, e com isto influenciar positivamente a taxa de prenhez e ,conseqüentemente, os resultados finais dos programas de TE. Estes efeitos podem ser atribuído ao aumento da concentração sanguínea de colesterol e hormônios esteróides tais como estrogênio e progesterona, além de estar envolvidos na síntese e metabolismo das prostaglandinas.

Ainda que tenham sido observados bons resultados da suplementação energética com fontes de PUFA em fêmeas envolvidas na aplicação de biotecnologias, poucos são os estudos que têm como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com PUFA em vacas receptoras de embriões e seu sobre os resultados nos programas de TE.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da inclusão de sabões cálcicos de ácidos graxos poliinsaturados (Megalac-e<sup>®</sup>) em suplementos fornecidos a novilhas receptoras de embriões e avaliar seu efeito sobre alguns parâmetros produtivos, reprodutivos e sobre a concentração plasmática de progesterona, colesterol e insulina. A nossa hipótese foi que a suplementação com fontes de PUFA aumenta as concentrações plasmáticas de colesterol e progesterona, sem afetar as concentrações plasmáticas de insulina, o que poderá melhorar as respostas reprodutivas avaliadas nos programas de TE.

## 2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

### 2.1. A Transferência de Embriões (TE)

A TE é uma biotecnia reprodutiva que permite que embriões coletados de fêmeas doadoras sejam gestados em fêmeas receptoras. A técnica baseia-se na indução ou sincronização do estro e superovulação das vacas doadoras, seguida da cobertura ou inseminação artificial e colheita dos embriões através da lavagem uterina (no sétimo dia de desenvolvimento do embrião). Os embriões coletados podem ser transferidos *in natura* a vacas receptoras ou poderão ser criopreservados para posterior utilização.

A aplicação da TE permite, entre outras coisas: incrementar a progênie de fêmeas geneticamente superiores, otimizar a utilização de sêmen de touros de alto valor genético, facilitar a comercialização e transporte de material genético e auxiliar na planificação de cruzamentos (BÓ et al., 2009). A utilização de TE nos sistemas pecuários tem aumentado vertiginosamente nos últimos 30 anos, chegando a mais de quinhentos mil embriões coletados, transferidos e/ou congelados por ano na indústria internacional (HASLER, 2001; HASLER, 2003).

A eficiência da aplicação dos programas de TE depende dos resultados

em termos de vacas receptoras prenhas ou embriões congelados. Os resultados dos programas de TE não têm evoluído muito nos últimos vinte anos, permanecendo ao redor de cinco embriões transferíveis coletados por vaca doadora superovulada, que, com taxa média de prenhes de 50% com embriões frescos e de 40% com embriões congelados deixa como resultado final duas a três vacas receptoras prenhas por vaca doadora. Considerando uma situação típica, na qual 12 vacas doadoras são superovuladas, das quais, só 10 respondem ao tratamento de superovulação e destas só 8 produzem embriões transferíveis e destas só 7 darão origem a embriões efetivamente viáveis, com um resultado final de 30 receptoras prenhas. Desta maneira os resultados podem ser apresentados como: 1) 2,5 receptoras prenhas/doadora, se são consideradas as 12 doadoras; 2) 3 receptoras prenhas/doadora, se são consideradas as dez vacas que foram lavadas; 3) 3,75 receptoras prenhas/doadora, se só são consideradas as 8 vacas que efetivamente produziram embriões e finalmente 3) 4,29 receptoras prenhas/lavado se consideradas as sete vacas que efetivamente produzirão embriões que deram origem a uma prenhes (PALMA et al., 2008).

A aplicação e massificação do uso da TE é conseqüência de uma série de desenvolvimentos técnicos da transferência, cultivo e criopreservação dos embriões (HASLER, 2001). Contudo, os resultados em termos de gestação não têm sido melhorados nos últimos 20 anos, pelo que se faz necessário continuar na busca de tratamentos e estratégias complementares que ajudem a melhorar os resultados da técnica.

## **2.2. Fatores que afetam o resultado dos programas de transferência de embriões**

A TE é um processo seqüencial que depende dos cuidados que se tenham em cada um dos passos do processo, e deficiências em alguma destas etapas afetam diretamente os resultados em termos de terneiros nascidos por vacas coletadas (FARIN et al., 2006). Quando as técnicas utilizadas são corretas, o êxito da TE depende de fatores relacionados com o embrião, a receptora e uma serie de interações entre estes (SPELL et al., 200; BÉNYEI et al., 2006; ALVAREZ, 2008). Fatores externos como método de sincronização, mês do ano, origem do embrião e efeitos da propriedade também afetam os resultados dos programas de TE (BÉNYEI et al., 2006; JONES E LAMB, 2008).

Embriões transferidos frescos ou congelados, estágio de desenvolvimento e grau de qualidade do embrião são fatores relacionados ao embrião que influenciam os resultados dos programas de TE (ALVAREZ et al., 2008; JONES E LAMB, 2008). Em geral é aceito que a taxa de prenhez com embriões congelados é 10% menor que quando se transferem embriões frescos (HINSHAW et al., 1998; ALLER et al., 2000; RODRIGUEZ et al., 2007). Maiores taxas de prenhez são obtidas quando os embriões transferidos se encontram no estágio de mórulas compactas ou blastocistos e seu grau de qualidade for excelente ou bom (SCHNEIDER et al., 1980; LOONELY et al., 2006) .

O estado nutricional da receptora, tamanho do corpo lúteo, concentração de progesterona e a sincronia entre a vaca doadora e as receptoras são fatores

relacionados à receptora que afetam o número de ternzeiros nascidos nos programas de TE (CHAGAS et al., 2002; SARTORI et al., 2002; MORENO et al., 2003; ALVAREZ et al., 2008).

O manejo da receptora de embriões é mais crítico nos programas de TE que o manejo da doadora, já que a receptora deve estabelecer a prenhez, levá-la a término, assistir o parto e dar suporte ao bezerro (JONES E LAMB., 2008). O custo do tempo que uma receptora leva para ficar prenha é um dos principais componentes encontrados na avaliação econômica dos programas de transferência de embriões (BELTRAME et al., 2007; TRIBULO E CUTAIA, 2008).

Quando se trabalha com técnicas adequadas e utilizando embriões de boa qualidade, o principal fator limitante do sucesso nos programas de TE são as receptoras. A vaca receptora precisa-se encontrar num estado nutricional ótimo que permita a perfeita sincronia do eixo hipotálamo-hipófises-ovário-útero, garantindo condições adequadas para o correto desenvolvimento do embrião (BÓ et al., 1996; LOONEY et al., 2006; LAMB, 2009).

A raça das receptoras parece não afetar os resultados das TE quando são utilizadas novilhas como receptoras, enquanto que as vacas multíparas de raças leiteiras têm menores taxas de prenhez que as novilhas e vacas multíparas de raças de corte (LOONELY et al., 2006). A idade da receptora é outro fator que influencia os resultados dos programas de TE. Diferentes categorias animais podem ser utilizadas como receptoras de embriões (novilha, vaca de primeiro parto, vaca adulta com ternzeiro ao pé), sendo que não é

recomendado o uso de vaca adulta vazia (TRIBULO E CUTAIA, 2008). Segundo, Wilson et al., (1999) maiores taxa de prenhes (73%) são obtidas quando as receptoras utilizadas são novilhas, porém isto pode aumentar a incidência de parto distócico.

Outro fator relacionado com a receptora e que influencia a taxa de prenhes nos programas de TE é o tamanho do corpo lúteo e as concentrações plasmáticas de progesterona (REMSSEN et al., 1982; NIEMANN et al., 1985; STUBBINGS et al., 1986; TATCHER et al., 2006; BILBY et al., 2006; RODRIGUEZ et al., 2007; BECH-SAÀBAT et al., 2008). O manejo nutricional e do ciclo estral da receptora de embriões que permita a presença de um corpo lúteo funcional e, conseqüentemente, concentrações de progesterona adequadas no dia da transferência é indispensável para melhorar as taxas de prenhes na receptora (JONES E LAMB, 2008).

O conhecimento da fisiologia reprodutiva da vaca tem permitido a evolução das biotécnicas reprodutivas facilitando e viabilizando a aplicação das mesmas. A sincronização do cio independente do método utilizado permite ter um número grande de animais em cio num curto período de tempo viabilizando a aplicação das biotécnicas da reprodução. A dispersão do aparecimento dos cios após a sincronização vai depender entre outras coisas do método de sincronização utilizado.

O tipo de protocolo utilizado para a sincronização do cio e a sincronização do cio da vaca doadora e a receptora é um fator muito importante no estabelecimento da prenhez (BÉNYEI et al., 2006). Quando o cio

da receptora e a doadora coincidem a taxa de prenhez é alta, e começa a diminuir quando a assíncronia na apresentação do cio entre a doadora e a receptora é maior de 24 horas (ROWSON et al., 1972; SCHNEIDER et al., 1980; SREENAN et al., 1987; MISRA et al., 1999; SPELL et al., 2001; PALMA, 2008).

Entre as diferentes alternativas para a sincronização do cio, o protocolo que usa duas doses de prostaglandina F2 alfa (PGF2 $\alpha$ ) tem sido muito utilizado para sincronizar novilhas receptoras de embriões. O protocolo consiste em duas injeções de prostaglandina com um intervalo de 11 a 14 dias, sem precisar considerar a fase do ciclo estral no qual as receptoras se encontram. A aparição do cio ocorre entre 48 a 96 horas depois da última dose (PURSLEY et al., 1996; PALMA, 2008).

A PGF2 $\alpha$  é um agente luteolítico natural associado ao final da fase luteica do ciclo estral, sendo o encarregado da regressão do corpo lúteo. Com a regressão do corpo lúteo, as concentrações de progesterona diminuem e o bloqueio que esta exerce sobre as gonadotrofinas desaparece. Com isto e em presença de um folículo dominante, ocorre um pico de hormônio luteinizante que é o responsável pela ovulação e formação de um novo corpo lúteo.

Num trabalho realizado por Peixoto et al. (2004) onde foram analisadas 4296 transferências de embriões produzidos *in vivo*, reporta-se que a sincronia do cio das receptoras e as doadoras têm um efeito significativo sobre a taxa de prenhez, sendo que as receptoras que apresentaram cio um dia antes que as doadoras foram as que apresentaram maiores taxas de prenhez.

O balanceamento de dietas que preenchem as exigências nutricionais das vacas receptoras e a utilização de alimentos funcionais são ferramentas que auxiliam na obtenção de melhores resultados na taxa de prenhez nos programas de TE. A inclusão de PUFA na dieta das vacas submetidas à aplicação de diferentes biotécnicas da reprodução como a TE e inseminação artificial a tempo fixo é uma das alternativas de alimento funcional com efeito positivo sobre a reprodução e um exemplo do que significa nutrição de precisão. Quando os PUFA são incorporados na dieta de vacas receptoras de embriões podem ocasionar aumento do tamanho do folículo pré-ovulatório, do tamanho do corpo lúteo, da concentração plasmática de colesterol e de hormônios esteróides (progesterona), entre outras funções, podendo desta maneira melhorar as respostas nos programas de transferência de embriões.

### **2.3. Gorduras na dieta dos ruminantes**

A incorporação de fontes lipídicas nas dietas de ruminantes é muito atrativa já que além do potencial energético dos lipídios (2,25 vezes mais energia que aquela contida nos carboidratos) (VAN SOEST, 1994), alguns ácidos graxos (PUFA) tem mostrado ter efeitos nutraceuticos (alimento funcional), os quais beneficiam o desempenho reprodutivo da vaca de cria (WILLIAMS e STANKO, 1999; STAPLES 2000; ZERON et al., 2001; AMBROSE e KASTELIC, 2003; SANTOS et al., 2008; BOWEN, 2009). Um alimento funcional é aquele que sendo fornecido periodicamente na dieta traz benefícios além dos observados só pela ingestão de nutrientes (MORAES e

COLLA, 2006).

A dieta dos herbívoros geralmente tem baixo conteúdo de lipídios devido ao fato que o teor de gordura bruta das pastagens se encontra entre 1 e 4% da Matéria Seca (MS) (VAN SOEST, 1994). Dietas para ruminantes contendo mais de 5% de lipídios na matéria seca consumida (MSC) diminuem a concentração de microorganismos gram positivos (celulolíticos), metanogênicos e os protozoários, gerando alterações na produção de proteína microbiana, diminuindo a relação acético/propionico e a digestibilidade da fibra (IKWUGBU e SUTTON, 1982; WU et al., 1991; BROUDISCOU et al., 1994; DAMIAN et al., 2001).

O alto potencial redutor do rúmen dificulta o aproveitamento dos benefícios de alimento funcional dos PUFA, pois os lipídios ingeridos pelo animal são modificados pela fermentação ruminal, através da biohidrogenação (KEMP et al., 1984; VAN SOEST, 1994; PALMQUIST, 1996; ÂNGULO et al., 2005). A saturação dos PUFA no rúmen ocorre como mecanismo de defesa dos microorganismos ruminais, que, ao saturar os ácidos graxos, diminuem a toxicidade dos mesmos para a microbiota ruminal (VAN SOEST, 1994; ÂNGULO et al., 2005) todavia, os ácidos graxos saturados não apresentam vantagens de alimento funcional (STAPLES, 2001; STAPLES 2003; ÂNGULO et al., 2005; SANTOS et al., 2008).

Uma tecnologia que permite uma maior incorporação de lipídios nas dietas de ruminantes é a esterificação dos ácidos graxos com cálcio, formando sabões de cálcio, os quais passam pelo rúmen sem afetar o seu normal

funcionamento, evitando a biohidrogenação dos PUFA, deixando-os livres para absorção no intestino e permitindo, desta maneira, o aproveitamento tanto dos seus benefícios calóricos como dos benefícios de alimento funcional.

### **2.3.1. Sabões cálcicos para proteção ruminal dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA)**

Os sabões de cálcio de PUFA são lipídios desenvolvidos para sua incorporação em dietas para ruminantes que causam efeitos inibitórios mínimos sobre o metabolismo das bactérias gram positivas e os protozoários, não afetando a digestibilidade intestinal dos mesmos (WU et al., 1991; PALMQUIST, 1991; ÂNGULO et al., 2005). Com a união de dois ácidos graxos a uma molécula de cálcio são formados sabões de cálcio, os quais são estáveis à temperatura e pH normalmente encontrados no rúmen. Quando os sabões cálcicos atingem o abomaso, estes são dissociados em PUFA e cálcio por ação do ácido clorídrico, ficando disponíveis para absorção no jejuno. A utilização de sabões cálcicos é uma opção para aumentar a quantidade de PUFA que alcançam o intestino (SCHNEIDER et al., 1988; PALMQUIST, 1996).

Os sabões de cálcio são compostos considerados ruminalmente inertes pois apresentam um ponto de fusão maior que 90°C, temperatura esta que nunca será atingida pelo rúmen (temperatura ruminal normal 39°C) e só são solúveis em pH menores a 5 (pH ruminal normal se situa entre 6,2 e 6,7).

Os sabões de cálcio contêm não menos de 84% de material gorduroso e

no mínimo 95% de digestibilidade e absorção intestinal (ÂNGULO et al., 2005). Outra característica favorável dos sabões cálcicos é a sua palatabilidade e boa fluidez com as outras matérias primas das rações (FEDNA, 1999). Contudo, seu alto conteúdo de cálcio precisa ser considerado no momento da formulação das dietas (GIL, 2002).

### **2.3.2. Ácidos Graxos Poliinsaturados: essencialidade e potencial de alimento funcional**

Os PUFA linoléico e linolênico são cadeias hidrocarbonadas de dezoito carbonos com grupos carboxila e metila nas extremidades. O ácido linoléico tem duas insaturações (18:2) sendo que a primeira delas encontra-se no carbono seis desde a terminal metila (carbono Omega) e por esta característica pertence à família Omega 6. O ácido graxo linolênico apresenta três insaturações (18:3) sendo que a primeira delas encontra-se no carbono três desde o carbono Omega, e por esta característica pertence à família Omega 3. Tanto o ácido graxo linoléico como o ácido graxo linolênico são utilizados em inúmeros processos como desenvolvimento cerebral, visão e reprodução, e, por falta de desaturases específicas não são sintetizados pelos mamíferos, tendo que ser fornecidos na dieta (WATHES et al., 2007).

Os efeitos benéficos da suplementação com PUFA sobre a reprodução são devidos ao aumento do diâmetro do folículo ovulatório, aumento no volume do corpo lúteo, incremento na concentração de progesterona durante a fase lútea, modificações na síntese de prostaglandinas e a melhor qualidade dos

ovócitos e embriões. Estas respostas dependem do tipo de ácido graxo suplementado, sendo os ácidos graxos da família Omega 3 e Omega 6 os que têm apresentado os melhores resultados (SANTOS et al., 2008).

### **2.3.2.1. Efeitos calóricos**

A produção de energia a partir da completa oxidação dos lipídios é ao redor de 39 MJ/kg de MS, comparado com cerca de 17 MJ/kg de MS de glicogênio (MCDONAL et al., 2002), isto é 2.29 vezes mais energia e sem produção de calor na oxidação (PALMQUIST, 1996). Os efeitos calóricos dos ácidos graxos têm sido associados com a melhora no balanço energético do animal. Quando o animal encontra-se em balanço energético positivo há um incremento na produção e liberação dos hormônios: liberador de gonadotrofinas no hipotálamo (GNRH) e o folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) pela hipófise. O GNRH estimula a produção e liberação de LH e FSH aumentando o diâmetro do folículo pré-ovulatório e favorecendo a ovulação.

A suplementação com gordura incrementa a densidade energética da dieta e aumenta o consumo de energia pelos animais. A suplementação com sebo num nível equivalente a 3% do consumo de MS, diminuiu o desbalanço energético entre as semanas 2 e 12 pós-parto e melhorou a taxas de prenhez das vacas suplementadas (STAPLES et al., 2003).

Os ácidos graxos também podem atuar como repartidores de nutrientes redirecionando a energia metabolizável e incrementando a chance de atingir

um escore de condição corporal ótimo ao início da temporada de monta. Bottger et al. (2002) demonstraram que animais suplementados com ácidos graxos tinham maior escore de condição corporal e conseqüentemente melhor desempenho reprodutivo.

Trabalhos nos quais foram utilizados sabões cálcicos de ácidos graxos como suplemento para vacas de cria mostraram melhora no balanço energético e melhor desempenho reprodutivo (SKLAN et al., 1991; GARCIA-BOJALIL et al., 1998; CASTANEDA-GUTIERREZ, 2005). O que pode ser devido a efeitos não relacionados à melhora do status energético ou melhor, a um somatório dos efeitos calóricos e não calóricos (STAPLES et al., 2003).

#### **2.3.2.2. Efeitos não calóricos**

Os efeitos não relacionados com o conteúdo calórico dos PUFA são denominados efeitos nutraceuticos (alimentos funcionais) (WILLIAMS E STANKO, 1999). Os efeitos positivos da suplementação com PUFA sobre a reprodução provavelmente não sejam devidos a alterações no status nutricional e sim ao efeito dos ácidos graxos sobre o eixo hipófise-ovário-útero (MATTOS et al., 2000).

Os efeitos nutraceuticos dos PUFA estão relacionados com a capacidade de modular o metabolismo do ácido araquidônico e das prostaglandinas, aumentar os níveis circulantes de IGF-I, e, ser substrato para a produção de colesterol, progesterona (P4) e hormônios esteróides (WILLIAMS E STANKO, 1999; BACH, 2003). A essencialidade dos PUFA tem

sido proposta como um dos possíveis mecanismos pelos quais estes podem melhorar o desempenho reprodutivo (ZERON et al., 2001; AMBROSE et al., 2003; CULLENS et al., 2004; SANTOS et al., 2008). Adicionalmente a suplementação com PUFA incrementa a secreção de esteróides e eicosanoides modificando a função do ovário e útero e beneficiando a implantação embrionária (WANG E DEY, 2005). Os PUFA também podem estar diretamente envolvidos na transcrição de genes que codificam a síntese de proteínas específicas (Fosfolipase A2, Prostaglandina H deshidrogenase) relacionadas com a fisiologia reprodutiva (MATTOS et al., 2000).

A suplementação com fontes de PUFA podem alterar o número e tamanho de folículos, a taxa de ovulação, o tamanho do corpo lúteo, a produção de progesterona e o tempo de luteólise (BILBY et al., 2006; WATHES et al., 2007), podendo potencialmente melhorar o desempenho reprodutivo da vaca de cria (STAPLES et al., 2007; CARDOSO et al., 2007).

Os lipídios constituem uma grande proporção da composição das células, fazendo parte das membranas celulares. A quantidade e tipo de PUFA nas membranas modificam as propriedades das mesmas. O conteúdo de PUFA nas células embrionárias está relacionado com melhor desenvolvimento embrionário, maior qualidade dos embriões e conseqüentemente maior taxa de prenhez (ZERON et al., 2001; BILBY et al., 2006; TANGHAVELU et al., 2007).

### **2.3.2.2.1. Efeitos sobre o tamanho do folículo pré-ovulatório e do corpo lúteo**

Evidências demonstram que a suplementação com fontes ricas em PUFA pode modificar a dinâmica de crescimento folicular, aumentando o número de folículos de tamanho médio e grande com decréscimo na população de folículos pequenos e aumentando o tamanho do folículo ovulatório (RYAN et al., 1992; LAMMOGLIA et al., 1996; THOMAS et al., 1997; ABAYASEKARA e WATHES, 1999; AMBROSE et al. 2003; JONES et al., 2008).

As mudanças no padrão de crescimento folicular, função lúteal e desempenho reprodutivo no pós-parto são decorrentes de uma cascata de acontecimentos que incluem mudanças no padrão de fermentação ruminal, sínteses de lipoproteínas e colesterol, incremento na secreção de esteróides ováricos, modificações nas concentrações circulantes de hormônio do crescimento, insulina e síntese e acumulação de IGF-I nas células ováricas (WILLIAMS E STANKO, 1999).

Em um trabalho realizado com vacas Holandesas suplementadas com três diferentes níveis de PUFA na dieta, Beam e Butler (1997) observaram que animais consumindo dietas com altos teores de gordura aumentaram o número e tamanho dos folículos, e que, níveis moderados de suplementação conduziram a um maior pico de estrogênios na primeira onda folicular pós-parto, o que diminuiu o período anovulatório. Williams e Stanko (1999) apresentam um sumário de trabalhos que reportam aumentos médios de 32%

no tamanho do folículo pré-ovulatório de vacas suplementadas com diferentes fontes lipídicas.

O aumento no número de folículos de tamanho médio e grande em animais suplementados com fontes de PUFA pode melhorar a resposta em protocolos de superovulação e, conseqüentemente, o número de embriões coletados e a sua viabilidade (RYAN et al., 1992). Em um trabalho realizado com ovelhas suplementadas com sabões cálcicos de PUFA, Zeron et al. (2002) encontraram um aumento no número e na qualidade dos ovócitos, estando isto relacionado com aumento no número e tamanho dos folículos.

O tamanho do folículo pré-ovulatório está diretamente relacionado com o volume do corpo lúteo formado e a quantidade de progesterona produzida por este (SARTORI et al., 2002; BILBY et al., 2006). Corpos lúteos de maior tamanho produzem uma maior quantidade de progesterona, favorecendo potencialmente o ambiente uterino e a taxa de prenhes (MORENO et al., 2003; TATCHER et al., 2006).

Corpos lúteos de maior tamanho têm sido encontrados em vacas suplementadas com fontes de PUFA (PETIT et al., 2002). Vacas suplementadas com ácido linoléico têm corpos lúteos cinco milímetros maiores que os corpos lúteos de vacas não suplementadas (GARCIA-BOJALIL et al., 1998).

### **2.3.2.2. Efeito sobre a concentração de Progesterona**

A progesterona é um hormônio esteróide produzido pelo corpo lúteo no ovário, responsável por preparar o útero para receber o embrião e por manter a gestação até o parto nos bovinos. Maiores concentrações de progesterona têm sido relacionadas com maiores índices de fertilidade (BACH, 2003) e maiores taxas de prenhez (BURKE et al., 1997; CHAGAS E SILVA et al., 2002; STAPLES et al., 2007; BECH-SÀBAT et al., 2008; RODRIGUES JUNIOR, 2009).

A suplementação com PUFA aumenta as concentrações de progesterona circulantes (LUCY et al. 1993; HAWKINS et al.1995; BILBY et al. 2006; THANGAVELU et al. 2007). O aumento nas concentrações de progesterona pode ser atribuído ao aumento do tamanho corpo lúteo, aumento na concentração de colesterol no plasma, aumento do colesterol no fluido folicular e no corpo lúteo e diminuição no metabolismo da progesterona (RYAN et al., 1992). A suplementação com fontes de PUFA aumenta o tamanho e/ou volume do corpo lúteo o que leva a produção de maiores concentrações de progesterona (FRIES et al., 1998; ABAYASEKARA E WATHES, 1999; AMBROSE et al., 2003; MORENO et al., 2003; JONES et al., 2008).

O colesterol é o precursor da esteroidogênese, e são as lipoproteínas de alto e baixo peso molecular as encarregadas de levar o colesterol às células lúteicas, responsáveis pela síntese da progesterona (GRUMMER e CARROLL, 1991). Dietas ricas em PUFA aumentam os níveis circulantes de colesterol, a quantidade deste no fluido folicular e no corpo lúteo e aumentos na

concentração de progesterona circulante (WILLIAMS, 1989; RYAN et al. 1992; HAWKINS et al., 1995; LAMMOGLIA et al., 1996; STAPLES et al., 1998).

### **2.3.2.2.3. Efeito sobre a produção e metabolismo das Prostaglandinas**

As prostaglandinas são compostos bioativos derivados de ácidos graxos de vinte carbonos. As prostaglandinas da série dois são importantes reguladoras do parto e, em algumas espécies, causam regressão do corpo lúteo dando início a um novo ciclo estral. Para que o estabelecimento da prenhez aconteça se requer de sinais enviados pelo embrião à vaca, sinais que impedem a produção de prostaglandina no endométrio e que evitam a lisis do corpo lúteo, mantendo níveis de progesterona adequados para o estabelecimento da prenhez e correto desenvolvimento do embrião.

Os aumentos na taxa de prenhes em vacas suplementadas com fontes de PUFA parecem estar relacionados com a inibição na produção de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  e a conseqüente permanência do corpo lúteo (PALMQUIST, 1996; MATTOS et al., 2000; CHENG et al., 2003; AMBROSSE E KASTELIC, 2003; TATCHER et al., 2006; SANTOS et al., 2008).

A diminuição da PGF<sub>2</sub> $\alpha$  quando os PUFA são suplementados na dieta de vacas de cria ocorre devido a: diminuição da circulação de precursores do ácido araquidônico, aumento na quantidade de ácidos graxos que competem com o ácido araquidônico pelo processamento via prostaglandina H sintetase (PGHs) e, finalmente, pela ação inibidora dos PUFA sobre a ação da PGHs (MATTOS et al., 2000). Os PUFA também são inibidores da cicloxigenase,

suprimindo a secreção de PGF2 $\alpha$  pelo tecido endometrial, prevenindo potencialmente a morte embrionária precoce (THATCHER et al., 1994; MATTOS et al., 2000; LOPES et al., 2002; WATHES et al., 2007).

#### **2.3.2.2.4. Efeito sobre a qualidade e desenvolvimento embrionário**

Estudos recentes têm demonstrado que a inclusão de fontes de PUFA na dieta de ruminantes está relacionada com melhor desenvolvimento e qualidade embrionária (FOULADI-NASHTA et al., 2007; TANGHAVELU et al., 2007; SANTOS et al., 2008). Isto pode estar relacionado com o aumento da quantidade de PUFA presentes na composição das membranas celulares que modifica as suas características de fluidez e resistência a processos de estresse.

Os PUFA incrementam a secreção de esteróides e eicosanóides que podem estar envolvidos na melhoria do desenvolvimento e qualidade do embrião (WANG e DEY, 2005).

Vacas suplementadas com fontes de PUFA produziram embriões com maior número de blastômeros que vacas suplementadas com fontes de ácidos graxos saturados, mas não foram achados aumentos na taxa de fertilização, número de folículos, ovulações e número de embriões transferíveis (TANGHAVELU et al., 2007).

Alguns trabalhos não têm encontrado diferenças em qualidade e desenvolvimento embrionário de embriões produzidos *in vitro*, utilizando

ovócitos provenientes de doadoras suplementadas com fontes de PUFA (BADER et al., 2004; ADAMIAK et al., 2006; BILBY et al., 2006). Pode-se pensar que a melhoria na qualidade e desenvolvimento embrionário seja devido a modificações na esteroidogênese que influenciam o ambiente uterino beneficiando desta maneira ao embrião (MANN et al., 1999; TANGHAVELU et al., 2007; FORDE et al., 2009).

## **2.4. Sinais hormonais e metabólicos que relacionam o status**

### **nutricional e a reprodução**

Os efeitos da nutrição sobre a reprodução são mediados por indicadores metabólicos e endócrinos, que juntos se convertem em sinais que informam ao sistema nervoso central sobre a capacidade ou incapacidade de se reproduzir. A suplementação com fontes de PUFA pode influenciar as concentrações circulantes de indicadores fisiológicos como a insulina e o colesterol.

#### **2.4.1. Insulina**

A insulina por ser um facilitador do metabolismo da glicose é um candidato lógico como indicador do status energético do animal. Vários trabalhos tem demonstrado que a insulina constitui uma sinal nutricional que modifica a dinâmica folicular na vaca, modificando junto com a glicose a liberação de GnRH pelo hipotálamo (WEBB et al., 2004).

A insulina é um potente estimulador da função celular ovárica. Estudos

*in vitro*, onde foram coletadas células de folículos pequenos e médios, e colocadas em meios com ou sem insulina, mostraram que as células cultivadas em presença de insulina apresentaram maior proliferação celular e maior produção de progesterona (LANGHOUT et al., 1991; SPICER et al., 1993). A insulina, por estar relacionada com o status energético, é um dos principais mediadores dos efeitos da nutrição sobre a reprodução.

As concentrações plasmáticas de insulina controlam a produção do fator de crescimento insulínico tipo I (IGF1) e do hormônio do crescimento (GH). O IGF1 é um potente estimulador das células da granulosa que em condições de baixa concentração de insulina influencia positivamente o crescimento folicular (SPICER et al., 1993), modificando o número e tamanho dos folículos após a sincronização do cio (LUCY et al., 1991).

A suplementação energética com fontes lipídicas diminui a concentração de insulina circulante, funcionando como repartidor de nutrientes permitindo manter altos níveis energéticos na dieta sem excessos na deposição de gordura (PALMQUIST, 1996). Contudo, alguns autores afirmam que, quando a suplementação com fontes gordurosas está relacionada com melhorias no status energético, as concentrações plasmáticas de insulina podem não diferir das concentrações plasmáticas de animais não suplementados com fontes lipídicas (BLUM et al., 1985; BLUM et al., 2000). Dietas ricas em fontes gordurosas podem adicionalmente estimular a lipogênese no tecido adiposo (GRUMMER E CARROLL et al., 1991).

### 2.4.2. Colesterol

O colesterol é um esteroide [lipídico](#) encontrado nas membranas das células animais e transportado no [plasma sanguíneo](#) pelas lipoproteínas de alta (HDL) e baixa (LDL) densidade. Entre 90 a 95 % do colesterol encontra-se ligado às HDL sendo estas as encarregadas por transportar o colesterol até o fluido folicular e às células lúteas, onde o colesterol é utilizado pelo tecido ovariano na esteroidogênese (GRUMMER e CARROLL, 1988; CARROLL e GRUMER, 1992; WEHRMAN et al., 1992).

As concentrações plasmáticas de colesterol e as lipoproteínas de alto e baixo peso molecular encontram-se aumentados em dietas onde são incorporadas fontes lipídicas (GRUMMER e CARROLL, 1988; GRUMMER e CARROLL, 1991; STAPLES et al., 1998). O aumento nos níveis circulantes de colesterol está relacionado com os maiores níveis circulantes de progesterona durante o pós-parto e a prenhez (WILLIAMS, 1989; CARROL E GRUMMER, 1992; RYAN et al., 1992; STAPLES et al., 1998; LOPEZ et al., 2004). A suplementação com fontes lipídicas também aumenta a quantidade de gordura nas células luteais, influenciando positivamente a produção de progesterona, diminuindo a mortalidade embrionária precoce (STAPLES et al., 1998).

A suplementação com fontes lipídicas aumenta os níveis circulantes de colesterol no pós-parto, sendo evidenciada uma diminuição na duração do período anovulatório em animais com maiores concentrações de colesterol (BEAM E BUTTLER, 1997). Cultivos de células luteais aos quais foi adicionado colesterol produziram maiores quantidades de progesterona (CARROLL et al.,

1992).

Ryan et al. (1992) encontraram maiores níveis circulantes de colesterol em vacas doadoras de embriões que receberam dietas ricas em gordura, não encontrando diferença na resposta ao protocolo de superovulação. Sklan e Moallem (1991) acharam maiores concentrações de lipídios plasmáticos, com conseqüente aumento na concentração de progesterona e na taxa de prenhez. O status lipídico metabólico modifica o potencial reprodutivo da vaca independentemente do consumo de energia na dieta (WEHRMAN et al., 1991).

### **3. MATERIAL E METODOS**

#### **3.1. Local e duração do experimento**

O trabalho foi realizado na Estância da Barragem, localizada no Município de Quaraí, região fisiográfica da Campanha, no sudoeste do Rio Grande do Sul, situada no paralelo 30<sup>o</sup> 23' 15" latitude sul e no meridiano 56<sup>o</sup> 27' 05" latitude oeste, num clima considerado subtropical, segundo a classificação de Köppen (Moreno, 1961). O período experimental iniciou no dia 20/10/2008 com a pesagem dos animais e o início da suplementação, e terminou no dia 20/12/2008 com a confirmação de prenhez mediante ultrasonografia. Os dados sobre pluviometria e temperatura (mínima e máxima) durante o experimento são apresentados no Apêndice 1.

As análises laboratoriais foram realizadas nos laboratórios de Nutrição de Ruminantes (LANUR) e de Nutrição Animal Prof. Dulphe Pinheiro Machado, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e no laboratório de Reprodução Animal (REPROLAB) da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS.

### 3.2. Área experimental

A área experimental utilizada foi um piquete de campo nativo melhorado com sobresemeadura de Trevo Branco (*Trifolium repens*) e Azevém (*Lolium multiflorum* L) com uma área de 50 hectares. No piquete os animais tinham acesso a um açude como fonte de água de bebida.

O centro de manejo continha 8 baias individuais (Figura 1) cada uma delas com cochos plásticos, e dois currais onde os animais foram agrupados para o fornecimento do suplemento mineral.

### 3.3. Tratamentos

Os tratamentos avaliados consistiram no fornecimento de suplementos isoenergéticos formulados com e sem a inclusão de uma fonte de ácidos graxos poliinsaturados protegida da degradação ruminal (MEGALAC-E<sup>®</sup>). Os tratamentos avaliados foram:

Suplemento funcional: Animais em pastejo recebendo suplemento formulado com a inclusão de PUFA protegidos da degradação ruminal (150 g MEGALAC-E<sup>®</sup>/animal/dia)

Suplemento energético: Animais em pastejo recebendo suplemento isoenergético sem a inclusão de PUFA protegidos da degradação ruminal

Sem suplemento: Animais em pastejo sem suplementação (controle)



Figura 1. Centro de manejo e baias utilizadas no experimento

### 3.4. Animais

Os animais utilizados para o experimento foram 44 novilhas cruza de Angus x Hereford com 24 meses de idade, peso médio no início do experimento de  $383,57 \pm 36,16$  kg (80% do peso vivo adulto estimado) e condição corporal superior a 3 (escala 1 a 5). Todas as novilhas foram previamente avaliadas (1/10/2008) quanto a sua ciclicidade, normalidade do aparelho reprodutivo e ausência de patologias mediante avaliação ultrasonográfica transrectal utilizando um ecografo Falco da Pie Medical.

As novilhas foram aleatoriamente distribuídas entre os três tratamentos ficando 15 animais no tratamento alimento funcional, 14 animais no tratamento suplemento isoenergetico e 15 animais no tratamento sem suplemento. Todos os animais permaneceram juntos e pastaram no mesmo potreiro e diariamente

às 7 horas da manhã foram conduzidos ao centro de manejo. No centro de manejo os animais foram separados em baias individualizadas e fornecidos os suplementos correspondentes. O fornecimento individualizado do suplemento permitiu controlar a quantidade consumida por animal, permitindo desta maneira que o animal fosse a unidade experimental.

Um vermífugo injetável a base de Ivermectina foi subministrado aos animais utilizando uma dose de 200 µg/kg de peso vivo.



Figura 2. Animais e área experimental.

### **3.5. Alimentos e alimentação**

#### **3.5.1. Pastagens**

No experimento foram utilizadas pastagens nativas do Rio Grande do Sul melhoradas com sobresemeadura de Trevo Branco (*Trifolium repens*) e Azevém (*Lolium multiflorum L.*). (Figura 3). Prévio ao início do experimento a pastagem foi diferida durante 50 dias de modo a permitir o acúmulo de uma quantidade de MS superior aos 1150 kg/ha, considerado o valor crítico a partir

do qual podem ocorrer restrições ao consumo voluntário de forragem (NRC, 2000).



Figura 3. Campo nativo melhorado utilizado no experimento

### **3.5.2. Suplementos**

Os suplementos isoenergéticos utilizados no experimento foram formulados utilizando grão de milho ou um produto a base de PUFA como fontes energéticas. Os componentes utilizados na formulação dos suplementos e composição bromatológica dos suplementos são apresentados na Tabela 1. Nos apêndices 3, encontram-se a composição bromatológica dos componentes do suplemento.

Tabela 1. Componentes e composição bromatológica dos suplementos

Componentes	Tratamentos	
	Suplemento funcional	Suplemento energético
Megalac-E <sup>®</sup> (%) <sup>*</sup>	30	0
Milho (%)	0	70
Farelo de Soja (%)	20	30
Ração comercial (%)	50	0
Composição bromatológica		
MS (%)	83	80,46
Proteína (%)	21,65	19,32
ENN (%)	39,63	64,57
Gordura (%)	21,48	6,41
NDT (%)	86,45	85,52

\*saboes cálcicos de PUFA. ARM & HAMMER animal nutrition

### 3.6. Condução do experimento

O experimento consistiu na suplementação de novilhas receptoras de embriões e o acompanhamento do protocolo de sincronização do cio e TE coletando informações sobre consumo de suplemento, disponibilidade e qualidade das pastagens, ganho de peso, resposta ao tratamento de sincronização, taxa de prenhez e concentrações de progesterona, insulina, glicose e colesterol no dia da TE e no dia da confirmação da prenhes.

Todos os animais foram conduzidos diariamente até o centro de manejo

onde foram separados e suplementados individualmente em cochos plásticos. O consumo de suplemento foi determinado diariamente mediante a pesagem das sobras de cada baia, permitindo o controle do consumo e garantindo que os animais consumissem uma quantidade de suplemento equivalente a 0.1% do peso vivo médio do grupo no período. Todos os animais tinham livre acesso a suplemento mineral comercial (Apêndice 7), o qual foi fornecido em cochos plásticos colocados no curral onde os animais se re-agrupavam após a suplementação.

A disponibilidade de forragem nos poteiros foi determinada a cada 28 dias mediante a coleta de sete amostras de 0,25 m<sup>2</sup> por hectare utilizando um quadro de ferro e uma tesoura de jardinagem, cortando rente ao solo. Para o cálculo da matéria seca das amostras de forragem coletadas foi utilizado um forno microondas, as amostras foram pesadas e colocadas no forno microondas junto com um copo com água durante cinco minutos. Após este tempo, as amostras foram retiradas, deixadas esfriar e pesadas novamente. O processo foi repetido até a amostra não apresentar mudança no peso.

Para determinação da qualidade da pastagem disponível a cada 28 dias foram coletadas amostras de forragem utilizando a simulação de pastejo acompanhando os animais no pastoreio durante uma hora no período da manhã e uma hora durante o período da tarde (Figura 4). Estas amostras foram submetidas à separação botânica e análises laboratoriais para determinação da sua composição.

Os animais foram pesados a cada 28 dias sempre na primeira hora da

manhã e após jejum de sólidos e líquidos. O ganho de peso no período e o ganho médio diário (GMD) foram calculados.



Figura 4. Coleta de amostras de disponibilidade e simulação de pastejo

### **3.6.1. Protocolo de sincronização e detecção do cio**

A sincronização do estro das novilhas foi realizada utilizando duas doses de PGF2 $\alpha$  com um intervalo de 11 dias entre a primeira e a segunda dose. Para avaliar a resposta ao tratamento de sincronização foi acompanhada a apresentação do estro após a aplicação da prostaglandina.

O protocolo de sincronização do cio iniciou no dia 31/10/2008. Após a segunda dose de PGF2 $\alpha$  foi realizado um acompanhamento de 24 horas ao dia durante 72 horas coletando informações sobre comportamento sexual (início da atividade sexual, início da aceitação de monta, número de montas, aceitação

de montas, hora final da atividade sexual, etc), em busca de possíveis diferenças entre os tratamentos no comportamento sexual durante o cio sincronizado. O acompanhamento da apresentação do cio começou na hora 34 após a aplicação da segunda dose de PGF2 $\alpha$  e as observações foram realizadas até a hora 106 após a segunda dose de PGF2 $\alpha$ . O início da atividade sexual foi considerado como o momento no qual a receptora tentou montar outras pela primeira vez. O início da aceitação de monta foi considerado como o momento no qual a receptora aceitou a monta. O final da aceitação de monta foi considerado como o horário no qual a receptora rejeitou a monta quando outras tentavam montá-la. O final da atividade sexual foi considerado como o horário no qual a receptora não apresentou atividade de monta nem aceitação da monta durante mais de uma hora. Também foram coletadas informações da intensidade do cio contando as vezes que a receptora montou e aceitou a monta.

### **3.6.2. Transferência dos embriões**

Sete dias após a detecção do cio foi realizada a medição do corpo lúteo mediante palpação retal, qualificando o corpo lúteo como: pequeno não transferível ( $\leq 5$  mm) (1), pequeno (5 a 10 mm) (2), médio (10 a 15 mm) (3), grande ( $\geq 15$  mm) (4) ou inexistente (0). A transferência dos embriões foi realizada nos animais que apresentavam corpo lúteo 2, 3 e 4. Os embriões foram depositados no corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo.

Devido à distribuição dos cios, a transferência ocorreu em três dias

(18/11/2008 até 20/11/2008), garantindo que a transferência como a coleta de sangue fosse realizada no sétimo dia após o cio. Os embriões utilizados na transferência foram embriões congelados com etilenoglicol, da raça Angus e provenientes de duas vacas. A distribuição dos embriões nos tratamentos foi ao acaso, garantindo a presença em cada tratamento do mesmo número de embriões de cada vaca. A confirmação da prenhez foi realizada mediante avaliação da gestação por ultra-sonografia no dia 20/12/2008.

### **3.6.3. Coleta de amostras de sangue**

Para a determinação das concentrações plasmáticas de progesterona, insulina e colesterol no dia da transferência de embriões e no dia da confirmação da prenhez foram coletadas amostras de sangue da veia coxígea utilizando o sistema Vacutainer® com tubo sem anticoagulante. As amostras foram deixadas em repouso para formar o coágulo e o soro foi separado e congelado para posterior análises.

### **3.6.4. Preparação das amostras**

As amostras coletadas por simulação de pastoreio foram conservadas em congelamento até o momento do seu processamento. As amostras foram submetidas a separação botânica. O material verde foi pesado, secado em estufa de ar forçado a 60 °C por um período de 72 horas e posteriormente retiradas da estufa mantendo em desecadores à temperatura ambiente por 30

minutos e novamente pesadas.

As amostras dos suplementos e das amostras de forragem coletadas mediante a simulação do pastejo foram moídas em um moinho tipo Willey, com peneira de 1mm.

As amostras de soro foram congeladas em tubos Eppendorf ® e conservadas sob congelamento até o momento do análise laboratorial.

### **3.7. Análises de laboratório**

#### **3.7.1. Matéria seca e matéria orgânica**

Os teores de matéria seca das amostras de pastagem e dos suplementos foram determinados por secagem em estufa a 105 °C. Os teores de cinzas foram obtidos após a queima do material a 550 °C por 4h em mufla. (AOAC, 1995).

#### **3.7.2. Proteína**

Os teores de nitrogênio (N) das amostras da pastagem e dos suplementos foram obtidos pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995), sendo a proteína bruta obtida pela formula  $PB = N \times 6,25$ .

#### **3.7.3. Gordura**

A porcentagem de gordura foi calculada utilizando o extrato etéreo obtido na utilização do método de Goldfish (AOAC,1995)

#### **3.7.4. Parede celular**

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) das amostras da pastagem foram analisados segundo Van Soest & Robertson (1985).

#### **3.7.5. Progesterona e Insulina**

A concentração plasmática de progesterona e insulina foi medida pelo método de radioimunoensaio (RIA), com a utilização de kits comerciais (DPC Medlab), para a medição quantitativa de progesterona, e kit comercial (MP Biomedicals) para a medição da insulina.

#### **3.7.6. Colesterol**

A dosagem de colesterol é realizada utilizando um colorímetro. Esta técnica se baseia na análise da concentração de cor, a qual é diretamente proporcional à dosagem de colesterol (mg/dL) encontrada na amostra. (SOMMERS et al., 1975).

### **3.8. Delineamento experimental e análises estatística**

Foi utilizado um delineamento completamente casualizado com 3 tratamentos, sendo que a unidade experimental foi o animal. Foram utilizados 44 unidades experimentais no experimento, 15 repetições para os tratamento um e três e 14 repetições para o tratamento dois. O peso inicial foi analisado por ANDAVA geral (STATISTIX,1995) para comprovar se existiam diferenças entre os pesos dos animais nos diferentes tratamentos ao início do experimento. Os dados de peso no dia da transferência, peso final e ganho de

peso, assim como a duração da atividade e da aceitação da monta no cio sincronizado foram analisados utilizando um modelo linear com o procedimento ANDAVA geral (STATISTIX,1995). Os resultados das análises sanguíneas foram avaliadas utilizando o procedimento ANDAVA geral considerando os pesos no dia da transferência e no dia da confirmação da prenhez como covariáveis. As comparações de médias foram realizadas utilizando Tukey ( $P < 0,05$ ).

O tamanho do corpo lúteo e a taxa de prenhes foram analisados utilizando o teste de qui-quadrado (STATISTIX, 1995). As informações de hora de início da atividade sexual e da aceitação de monta foram analisadas por ANDAVA geral (STATISTIX,1995) para verificar se existiam diferenças entre as médias dos tratamentos. Para verificar se existiu maior sincronia na aparição do cio em algum dos tratamentos as variáveis início da atividade sexual e aceitação da monta foram categorizadas e analisadas pelo teste de chi-quadrado (STATISTIX, 1995).

O modelo estatístico para: peso inicial, peso no dia da transferência e peso no final assim como para os ganhos de peso e do horário de início da atividade e da aceitação de monta foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ijk}$$

onde:

$Y_{ijkl}$  = j-ésima observação no i-ésimo tratamento,

$\mu$  = efeito médio,

$T_i$  = efeito do i-ésimo tratamento ( $i=1, 2, 3$ )

$\varepsilon_{ijk}$  = j-ésimo erro associado à ij-ésima observação

O modelo estatístico para concentração plasmática de progesterona, colesterol e insulina foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j P_j + E_{ijk}$$

onde:

$Y_{ijkl}$  = j-ésima observação no i-ésimo tratamento,

$\mu$  = efeito médio,

$T_i$  = efeito do i-ésimo tratamento ( $i=1, 2, 3$ )

$\beta_j$  = j-ésimo regressor associado à co-variável peso vivo (na transferência e/ou na confirmação da prenhez) do j-ésimo animal ( $j=1, 2, \dots, 44$ )

$\varepsilon_{ijk}$  = j-ésimo erro associado a ij-ésima observação

Todas as variáveis apresentaram distribuição normal e variâncias homogêneas

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Oferta de forragem e Consumo de suplemento**

#### **4.1.1. Disponibilidade de matéria seca e composição bromatológica da pastagem**

Os dados sobre a disponibilidade de matéria seca por hectare e a composição bromatológica da pastagem para cada um dos períodos em que foram feitas as determinações (início, metade e final do período experimental) são apresentados na Tabela 2. Os dados sobre pluviosidade e temperatura são apresentados no Apêndice 1.

A pluviosidade total durante o período experimental (61 dias) foi de 226 milímetros (mm), com a concentração das chuvas ocorrendo ao início do experimento (216 mm) (Gráfico 1). A temperatura mínima média foi de 18°C e temperatura máxima média foi de 27°C (Gráfico 2).

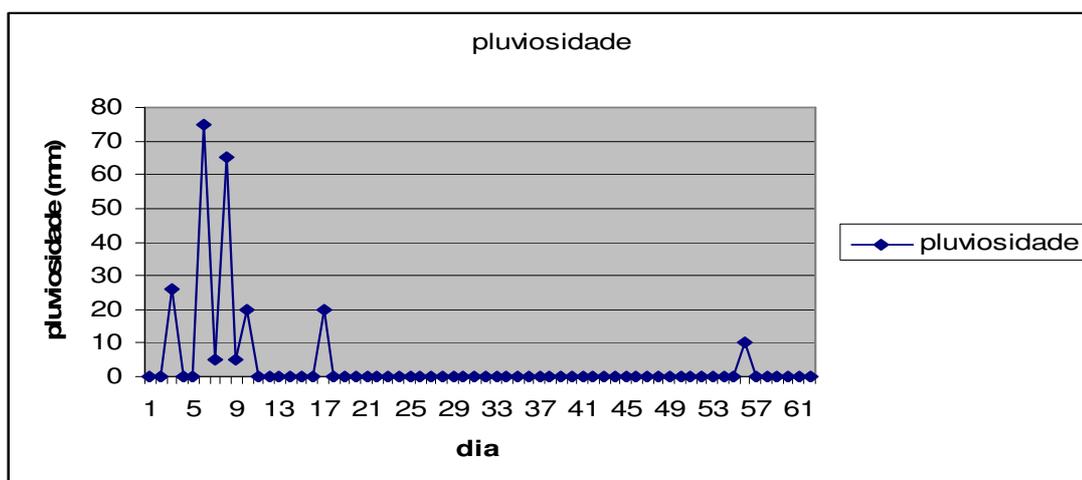


Gráfico 1. Pluviosidade diária durante o período experimental.

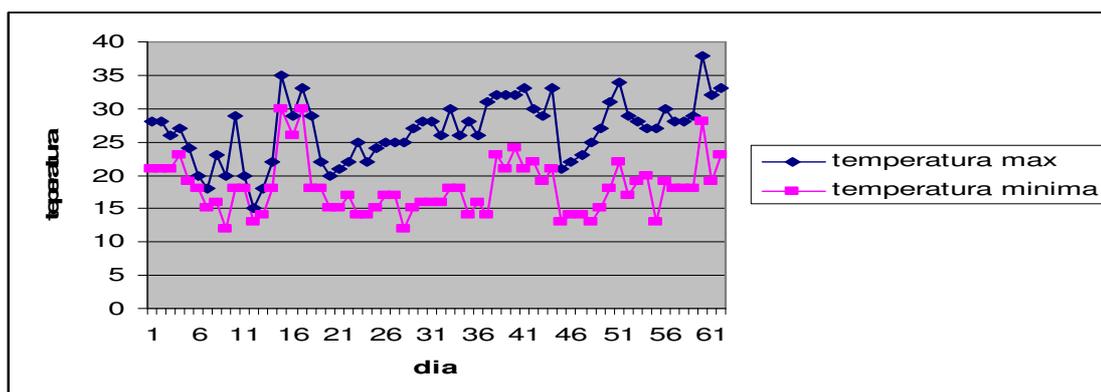


Gráfico 2. temperatura máxima e mínima diária no período experimental.

A disponibilidade de matéria seca por hectare esteve entre 3937 e 1976 kg de matéria seca por hectare ao longo do período experimental, sugerindo que a disponibilidade de pasto não causou restrições ao consumo voluntário de matéria seca (Tabela 2). Para este trabalho foi realizado um diferimento do piquete de 50 dias o que permitiu uma alta disponibilidade inicial, mas é importante lembrar que em condições de campo não é comum se fazer diferimentos por períodos tão prolongados.

Tabela 2. Disponibilidade de matéria seca por hectare e composição bromatológica da pastagem no início, metade e final do período experimental.

Variáveis	Início	Metade	Final
Disponibilidade de Matéria Seca (kg/ha)	3937	2267	1976
Proteína Bruta (%)	10,24	9,27	7,75
Extrato Etéreo (%)	3,41	2,86	2,48
Nutrientes Digestíveis Totais (NDT)(%)	61,70	58,19	59,25
Fibra em Detergente Neutro (FDN) (%)	64,97	60,84	61,27
Fibra em Detergente Ácida (FDA) (%)	30,38	31,24	31,82
Lignina (%)	4,72	5,62	8,51

Sob condições de pastejo é considerado que valores de disponibilidade de pasto abaixo de 2000 kg de matéria seca por hectare podem comprometer o consumo voluntário máximo de forragens (MINSON, 1990; ALVES FILHO, 2000). Para o NRC (2000), a restrição no consumo de matéria seca por bovinos em pastejo pode apresentar-se em situações onde os valores de massa de forragem disponível são menores do que 1150 kg/ha.

Sob condições de pastejo em campo nativo, a carga animal é um dos principais determinantes das respostas reprodutivas. Alguns trabalhos tem mostrado que maiores taxas de prenhez foram obtidas em condições de manejo onde a carga animal esteve entre 280 e 320 kg de peso vivo por hectare (QUADROS e LOBATO., 1996; LOBATO, 2003).

No presente trabalho a carga animal durante o período experimental foi de 329 kg de peso vivo por hectare (0,73 UA/ha), considerada adequada para otimizar o desempenho reprodutivo de vacas em campo nativo.

O pasto apresentou teores médios de proteína bruta durante o período experimental de 9,1%, valor este superior ao valor de 7% PB considerado o limite marginal para a otimização da atividade microbiana ruminal e o consumo

de volumosos (COCHRAN et al., 1998).

Os teores de NDT, FDN, FDA e lignina do pasto ao longo do período experimental permitem caracteriza-lá como uma pastagem de qualidade média, com digestibilidade da matéria orgânica entre 55 e 70% e potencial de consumo de matéria seca entre 2 e 3% do peso vivo (PATINO et al., 2002). Isto provavelmente seja uma consequência da pastagem utilizadas durante a realização do experimento apresentar uma boa condição de cobertura vegetal, pela contribuição de diversas espécies de gramíneas e de leguminosas que compõem a flora das pastagens nativas: grama-forquilha (*Paspalum notatum*), capim-melador (*Paspalum dilatatum*), grama-tapete (*Axonopus compressus*), pega-pega (*Desmodium pratensis*) e trevo nativo (*Tripholium polimorfum*).

#### **4.1.2. Consumo de suplemento**

Os resultados do consumo total de suplemento, o consumo de MS por dia e o consumo de energia metabolizável (EM) por dia decorrente do consumo de suplemento em cada período são apresentados no apêndice 5 e 6. As médias de consumo total de suplemento, consumo de MS por dia e do consumo de energia metabolizável decorrente do consumo de suplemento são apresentados na Tabela 3. As respectivas análises de variância são apresentadas nos Apêndices 15 a 22.

O fornecimento dos suplementos neste experimento permitiu o conhecimento do consumo individual de cada animal e converteu o animal na unidade experimental diferentemente de como foi realizado em outros trabalhos

que utilizaram grande numero de animais porém o suplemento foi fornecido a um grupo de animais (piquete).

Não foram detectadas diferenças estatísticas entre o consumo de matéria seca e energia metabolizável entre os dois tipos de suplementos nos dois períodos avaliados ( $p>0,05$ ) (Tabela 3).

Tabela 3. Medias de consumo total do suplemento, consumo de matéria seca por dia e do consumo de energia metabolizável (EM).

Variáveis	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplementação
Primeiro período (pré-transferência)			
Consumo total (kg)	12,60±0,86	12,16±1,03	0
Consumo MS (kg/dia)	0,394±0,03	0,380±0,03	0
Consumo MS (% PV)	0,101±0,01	0,096±0,01	0
Consumo EM (Mcal/dia)	1,14±0,08	1,09±0,09	0
Segundo período (pós-transferência)			
Consumo total (kg)	13,02±0,41	12,75±0,35	0
Consumo MS (kg/dia)	0,407±0,01	0,399±0,01	0
Consumo MS (% PV)	0,098±0,007	0,096±0,009	0
Consumo EM (Mcal/dia)	1,18±0,04	1,15±0,03	0

Considerando que o consumo e a concentração de energia metabolizáveis foram similares entre os suplementos utilizados é possível afirmar que as respostas reprodutivas e no perfil sanguíneo encontradas podem estar relacionadas com as características de alimento funcional apresentadas pelos PUFA. A energia consumida no suplemento representou 8,67% das exigências de EM para os ganhos apresentados.

#### 4.2. Desempenho Produtivo

As avaliações individualizadas do peso vivo inicial, no dia da transferência e final, assim como os ganhos de peso médios diários no primeiro

(desde o início até a transferência) e no segundo período (desde a transferência até o final) são apresentados no Apêndice 7 e 8. As respectivas análises de variância são apresentadas nos Apêndices 23 até 27. Os pesos vivos médios e os ganhos de peso médios para cada tratamento são apresentados na Tabela 4.

Os pesos vivos das novilhas ao início do experimento, na transferência de embriões e na confirmação da prenhez, não diferiram entre os tratamentos ( $p>0.05$ ) apresentando um valor médio de 377, 411 e 428 kg, respectivamente (Tabela 4). Considerando um peso adulto do biótipo animal utilizado neste experimento de 500 kg, as novilhas utilizadas atingiram ao início do experimento em média 75% do peso adulto, superando em 25% o valor de peso vivo mínimo recomendado pelo NRC (2000) para incluir novilhas taurinas de corte em programas reprodutivos (60% do peso vivo adulto). Segundo Dias, (2004), o peso para as novilhas serem incluídas em programas reprodutivos depende do nível nutricional no qual as mesmas se encontram, sendo de 50 a 55 % quando o nível nutricional é adequado, 60 a 70 % com nível nutricional razoável e de 75 a 80 % quando o nível nutricional é inadequado.

O ganho médio das novilhas até a transferência dos embriões foi afetado pelo tipo de suplemento utilizado ( $p<0,05$ ) (Tabela 4). As novilhas que receberam suplemento contendo PUFA apresentaram ganho de peso 11 e 27% superior ao apresentado pelas novilhas que receberam suplemento energético e sem suplementação, respectivamente ( $P<0,05$ ). No período compreendido entre a transferência de embriões e a confirmação da prenhez, o ganho médio diário das novilhas que receberam suplementos com PUFA foi

49% superior ao apresentado pelas novilhas recebendo suplementação energética e sem suplementação ( $p < 0.05$ ).

Tabela 4. Peso vivo médio e ganho médio de peso  $\pm$  desvio padrão para cada tratamento.

Variáveis	Tratamentos		
	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplementação
Peso vivo inicial (kg)	376,4 <sup>a</sup> $\pm$ 28,87	361,3 <sup>a</sup> $\pm$ 39,55	392,2 <sup>a</sup> $\pm$ 39,88
Peso vivo na transferência (kg)	404,8 <sup>a</sup> $\pm$ 29,73	412,7 <sup>a</sup> $\pm$ 40,23	414,6 <sup>a</sup> $\pm$ 39,91
Ganho médio diário (kg/dia)	1,016 <sup>a</sup> $\pm$ 0,093	0,913 <sup>b</sup> $\pm$ 0,91	0,800 <sup>c</sup> $\pm$ 0,13
Peso vivo final* (kg)	430,1 <sup>a</sup> $\pm$ 31,69	427,4 <sup>a</sup> $\pm$ 39,32	427,7 <sup>a</sup> $\pm$ 42,18
Ganho médio diário final* (kg/dia)	0,900 <sup>a</sup> $\pm$ 0,107	0,639 <sup>b</sup> $\pm$ 0,074	0,571 <sup>b</sup> $\pm$ 0,081

Medias seguidas de letra diferente na mesma fila apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \* o peso médio final e o ganho médio diário no segundo período foram calculados com número diferente de animais

Os maiores ganhos de peso dos animais suplementados (funcional e energético) quando comparados com os animais não suplementados, podem ser explicados pelo consumo dos suplementos, os quais disponibilizam energia e proteína para otimização do ambiente ruminal melhorando a digestibilidade dos recursos forrageiros (VANSOEST., 1994). Além disto, a suplementação aumenta a densidade energética da dieta, aumentando o consumo de energia metabolizável. Por outro lado os melhores ganhos de peso observados nas novilhas que receberam suplementos onde foram incluídos PUFA podem ser explicados pelo potencial que a suplementação lipídica tem de gerar alterações na concentração de metabólitos e hormônios metabólicos responsáveis pela repartição de nutrientes no metabolismo intermediário, (BROCKMAN e LAARVELD, 1986), melhorando o escore de condição corporal e o ganho de peso (HOUGHTON et al., 1990; FENZO, 2002; HESS et al., 2005). As novilhas

suplementados com PUFA apresentaram maiores concentrações plasmáticas de progesterona ( $P < 0,05$ ), um hormônio esteróide que apresenta efeitos anabólicos, que podem ter influenciado o maior ganho médio de peso.

Contudo, vários trabalhos de pesquisa realizados em gado de corte têm mostrado que a suplementação com fontes lipídicas não teve efeito sobre o ganho de peso e o escore de condição corporal (HILL e WEST, 1991; FLUHARTY e LOERCH, 1997; LOPEZ et al., 2002). Bottger et al. (2002) não encontraram diferenças no ganho de peso vivo nem no escore de condição corporal de novilhas primíparas suplementadas com fontes de PUFA, quando comparadas com novilhas suplementadas com milho como fonte energética.

O escore de condição corporal médio ao início do experimento foi de 3,5 não sendo observadas variações entre os animais. Escores de condição corporal entre 3 e 4 são considerado ótimo para receptoras de embriões, sendo que receptoras com escores corporal entre 3 e 4 apresentam taxas de prenhes maiores que vacas com condição corporal maior de 4 ou menores de 2 (TRIBULO e CUTAIA, 2008). Também não foram observadas diferenças quanto ao escore de condição corporal entre os animais durante as avaliações posteriores (transferência dos embriões e na confirmação da prenhez).

### **4.3. Desempenho Reprodutivo**

Os resultados da sincronização do cio em termos de tempo após a segunda dose de prostaglandina para o início da atividade sexual, início da aceitação de monta e os resultados da duração do cio e da atividade sexual em horas são apresentado no Apêndice 9. Os valores médios da resposta ao protocolo de sincronização do cio de cada tratamento são apresentados na Tabela 5. Os valores de tamanho do corpo lúteo no dia da transferência para

cada animal são apresentados no Apêndice 10 e as freqüências do tamanho do corpo lúteo para cada tratamento são apresentadas na Tabela 6. A taxa de aproveitamento das receptoras (transferidas das sincronizadas), a taxa de prenhez da transferência (prenhes em relação às transferidas) e a taxa de prenhez do programa (prenhes em relação às sincronizadas) são apresentadas na Tabela 7, assim como os resultados totais do programa de transferência. Os dados individuais são apresentados no Apêndice 11. As respectivas análises de variância são apresentadas nos Apêndices 28 até 40.

Nenhuma das variáveis relacionadas com o comportamento sexual foi afetada pelo tipo de suplemento utilizado ( $p < 0,05$ ) (Tabela 5). Contudo, as novilhas que receberam suplementos contendo PUFA apresentaram uma tendência a iniciar mais cedo o cio ( $p = 0,093$ ) e prolongar a atividade sexual ( $p = 0,0801$ ) em relação aos animais que receberam suplemento energético e aos que não foram suplementados. Isto pode ser explicado pelo aumento no tamanho do folículo pré-ovulatório que tem sido evidenciado em animais suplementados com fontes de PUFA e que pode aumentar as concentrações de estrogênio circulantes (JONES et al., 2008).

Um dos fatores externos que mais influencia a taxa de prenhez nos programas de transferência de embriões é a sincronia entre a receptora e a doadora (PALMA, 2008), a qual pode ser avaliada pela aparição mais sincrônica do cio.

O tamanho do corpo lúteo é muito importante na tomada de decisões quanto a escolha das receptoras sincronizadas que efetivamente receberão um embrião. Corpos lúteos de maior tamanho estão correlacionados com maiores concentrações de progesterona e com maior taxa de prenhez (TATCHER et al.,

2006).

Tabela 5. Tempo para o início da atividade sexual e da aceitação de monta após a segunda dose de prostaglandina, duração da aceitação de monta e da atividade sexual, expressas em horas, e, intensidade do cio, expressa como vezes que monta e que aceita a monta, para cada tratamento.

Variáveis	Tratamentos		
	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplemento
Início atividade	49,57±12,67	50,54±13,29	60,80±17,27
Aceita monta	63,92±18,91	54,70±14,99	69,06±17,64
Duração aceitação	12,58±4,34	15,70±7,63	10,86±7,20
Duração atividade	28,46±12,73	27,54±7,98	23,60±8,14
Veze que monta	44,5±28,26	61,90±38,51	51,73±29,11
Veze aceita monta	23,85±25,51	38,54±34,95	37,80±40,09

Teste de tukey ( $p \leq 0,05$ )

Os dados apresentados mostram que o tipo de suplemento utilizado não afetou o tamanho do corpo lúteo ( $p > 0,05$ ) (Tabela 6). Da mesma forma a correlação entre o tamanho do corpo lúteo no dia da transferência e o número de receptoras prenhas, não foi estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

Tabela 6. Tabela de frequências para tamanho do corpo lúteo (CL) por tratamento.

Corpo lúteo (CL)	Tratamentos		
	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplemento
CL grandes (4)	3	3	3
CL medios (3)	5	6	3
CL pequenos (2)	2	1	5
CL pequenos (não transferir) (1)	2	1	2
Corpo lúteo ausente (0)	3	3	2

Teste de qui-quadrado

Estes resultados coincidem com os obtidos por Garcia-Bojalil et al,

(1998), que usando um número de animais similar ao utilizado neste experimento, só detectaram tendência ( $P=0,076$ ) no número e tamanho dos corpos lúteos apresentados por animais suplementados com fontes lipídicas.

No entanto alguns autores têm encontrado maior tamanho do corpo lúteo em animais suplementados com fontes de ácido linolênico (Omega-3) (PETIT et al., 2003). Bilby et al. (2006) encontraram maior tamanho do folículo ovulatório e aumento no volume do corpo lúteo em animais suplementados com PUFA. Em parte a discrepância dos dados relacionando o uso de fontes lipídicas com o tamanho do corpo lúteo pode estar relacionado com o número de unidades experimentais utilizadas nos experimentos.

O tipo de suplemento utilizado não afetou as taxas de prenhez da transferência nem do programa ( $p>0,05$ ) (Tabela 7). Os dados de taxa de prenhez encontrados neste experimento precisam ser avaliados com precaução devido ao baixo número de animais utilizado. Segundo Chapman e Seidel (2008) para achar diferenças de 10% na taxa de prenhes entre dois tratamentos, com um poder de 0,90 é necessário contar com um grande número de animais ( $n=496$ ). Em 5 trabalhos realizados recentemente por Lopes et al. (2009) utilizando grandes números de animais ( $n=2667$ ), foram observadas taxas de prenhez 12% maiores em vacas que foram suplementadas com sabões cálcicos de PUFA.

Rodrigues Junior (2009), num trabalho utilizando 432 receptoras de embriões encontraram aumentos de 12% na taxa de prenhez de vacas Nelore suplementadas com sabões cálcicos de PUFA (Megalac-e). Similarmente, receptoras Nelore suplementadas com sabões cálcicos de PUFA e submetidas a um programa de IATF apresentaram maiores taxa de prenhez quando

comparados com animais que não receberam suplementação (LOPES et al., 2008).

Tabela 7. Numero de receptoras transferidas, taxa de aproveitamento, taxa de prenhez da transferência e a taxa de prenhez do programa para cada tratamento.

Variáveis	Tratamentos		
	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplemento
Número transferidas (n)	10	9	11
Taxa aproveitamento (%)	66,66 (10/15)	64,28 (9/14)	73,33 (11/15)
Taxa prenhez transferência (%)	40 (4/10)	77,77 (7/9)	36,36 (4/11)
Taxa prenhez programa (%)	26,66 (4/15)	50 (7/14)	26,66 (4/15)

Teste de tukey ( $p \leq 0,05$ )

Considerando todos os tratamentos, a taxa de prenhez total obtida neste experimento foi de 34,1% (15/44), que pode ser considerada similar a obtida em programas de TE onde são utilizados embriões congelados (HASLER, 2003; BETTERIDGE, 2003; PALMA, 2008). Contudo, os maiores valores numéricos apresentados pelas novilhas recebendo suplemento energético sugerem a possibilidade de que as fontes de energia não lipídica disponibilizem precursores metabólicos para síntese da glicose (gliconeogênese) necessário nos processos reprodutivos intra-uterinos. Isto reforça a necessidade de desenvolver trabalhos para avaliar a utilização conjunta de suplementos formulados com fontes de energia não lipídica e PUFA.

#### 4.4. Parâmetros sanguíneos

##### 4.4.1. Colesterol

As medias das concentrações de colesterol por tratamento e em cada coleta são apresentados na Tabela 8. Os dados individualizados da concentração de colesterol em cada coleta são apresentados no apêndice 12, as análises estatísticas são apresentadas nos apêndices 41 e 42.

O tipo de suplemento consumido pelos animais afetou a concentração de colesterol avaliada em amostras de sangue coletadas no dia em que foi realizada a transferência de embriões e no dia da confirmação da prenhez ( $p < 0,05$ ) (Tabela 8). Novilhas que receberam suplementos com sabões cálcicos de PUFA apresentaram concentrações de colesterol 17 e 33% superiores no dia da transferência e no dia da confirmação da prenhez respectivamente ( $p < 0,05$ ). Estes resultados são similares aos reportados em vários trabalhos nos quais foram fornecidas fontes lipídicas a vacas de cria (DKLAN et al., 1991; RYAN et al., 1994; LAMMOGLIA et al., 1996; LOPEZ et al., 2004). Vacas suplementadas com gorduras inertes no rúmen apresentaram concentrações de colesterol 21% maiores que as vacas controle (CAROLL et al., 1992).

Tabela 8. Media e desvio padrão das concentrações de colesterol (mg/dl) no dia da transferência e no dia da confirmação de prenhes das novilhas

Concentração de colesterol (mg/dl)	Tratamentos		
	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplemento
Na transferência	171,26 <sup>a</sup> ± 30,90	146,64 <sup>b</sup> ± 25,96	146,73 <sup>b</sup> ± 25,37
Na confirmação da prenhez	198 <sup>a</sup> ± 36,84	154 <sup>b</sup> ± 20,04	143,3 <sup>b</sup> ± 17,54

Medias seguidas de letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

O aumento na concentração plasmática de colesterol em animais

suplementados com fontes protegidas de ácidos graxos ocorre pelo aumento da absorção intestinal de quilomicrones de ácidos graxos e lipoproteínas de muito baixa densidade. Incrementos na concentração de colesterol circulante podem beneficiar a reprodução de duas maneiras, em primeiro lugar o colesterol funciona como sinal metabólico influenciando positivamente a reprodução e, em segundo lugar, a maior concentração plasmática de colesterol está relacionada com maior produção de progesterona pelo corpo lúteo (WILLIAMS 1989; CARROLL e GRUMMER, 1992; RYAN et al. 1992; HAWKINS et al. 1995; LAMMOGLIA et al.,1996; STAPLES et al. 1998; LOPEZ et al., 2004) e com maiores taxas de concepção (SKLAN e MOALLEM, 1991).

A pesar da suplementação com sabões cálcicos de PUFA ter aumentado a concentração plasmática de colesterol e conseqüentemente a concentração de progesterona, isto não se traduziu em aumentos na taxa de prenhez das novilhas ( $p>0,05$ ), possivelmente pelo pequeno numero de animais utilizado no experimento que não permitiu detectar diferencias entre os tratamentos quanto a taxa de prenhez.

#### **4.4.2. Progesterona**

As medias das concentrações de progesterona por tratamento e em cada período de coleta são apresentados na Tabela 9. Os dados individualizados da concentração de progesterona em cada coleta são apresentadas no apêndice 13, as análises estatísticas estão nos apêndices 43 e 44.

No día da transferência de embriões, as novilhas recebendo suplemento com a inclusão de sabões cálcico de PUFA apresentaram concentrações de

progesterona 48% superiores do que as receptoras que receberam o suplemento energético e as que não receberam suplementação ( $p < 0,05$ ) (Tabela 9). No dia da confirmação da prenhez as novilhas recebendo suplemento com PUFA apresentaram concentrações de progesterona 71% superiores do que novilhas não suplementadas ( $p < 0,05$ ) sem que fossem detectadas diferenças com relação as novilhas recebendo um suplemento energético ( $p > 0,05$ ) (Tabela 9).

Tabela 9. Concentração plasmática de progesterona (ng/ml) no dia da transferência dos embriões e no dia da confirmação da prenhez.

Concentração (ng/ml)	progesterona	Tratamentos		
		Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplemento
<b>No dia da transferência</b>		5,41 ± 1,84 <sup>a</sup>	3,65 ± 1,55 <sup>b</sup>	3,68 ± 1,17 <sup>b</sup>
<b>No dia da confirmação da prenhez</b>		7,32 ± 1,34 <sup>a</sup>	5,77 ± 0,93 <sup>ab</sup>	4,27 ± ,56 <sup>b</sup>

Medias seguida de letras diferentes na mesma linha apresentam diferenças significativas teste de tukey ( $P < 0,05$ )

Aparentemente a suplementação com milho durante os 30 dias após a transferência dos embriões teve o mesmo efeito do que a suplementação com fontes de PUFA sobre a concentração plasmática de progesterona.

Entre 25 a 55% das perdas embrionárias precoces são devidas à inadequada função do corpo lúteo (NISWENDER e NETT, 1994). Maiores concentrações circulantes de colesterol tem sido encontrados em animais que receberam fontes lipídicas na dieta (SKALN e MOALLEM, 1991; GRUMMER e CARROLL, 1991; CARROLL et al., 1992). Os PUFA aumentam as concentrações plasmáticas de colesterol e a quantidade de células adiposas no corpo lúteo com conseqüente aumento das concentrações plasmáticas de

progesterona (RYAN et al., 1992; HAWKINNS et al., 1995), maiores concentrações plasmáticas de progesterona 7 a 8 dias após a ovulação em animais suplementados com PUFA tem sido associadas com aumentos na taxa de prenhez (SKLAN e MOALLEM, 1991; GARCIA-BOJALIL et al., 1997; LOPES et al., 2008; RODRIGUES JUNIOR, 2009), estímulo do desenvolvimento embrionário (MANN e LAMMING, 2001) e diminuição das perdas embrionárias precoces (CHAGAS E SILVA et al., 2001; INSKEEP, 2004; BECH-SÁBAT et al., 2008).

Neste trabalho, embora os animais suplementados com PUFA tivessem concentrações de colesterol e progesterona superiores quando comparado com os outros tratamentos, não foram detectadas diferenças na taxa de prenhez entre os tratamentos, provavelmente devido ao pequeno número de animais utilizados no experimento.

Todos os tratamentos tinham concentrações de progesterona adequadas para a TE congelados ( $\geq 2$ ng/ml) (NIEMANN et al., 2003), estando isto relacionado com o ótimo estado nutricional de todos os animais envolvidos no experimento. Níveis plasmáticos de progesterona entre 2 e 5 ng/ml otimizam a taxa de prenhez (51,1%) nos programas de TE congelados. Stubbing e Walton (1986) observaram que com concentrações de progesterona inferiores a 3 ng /ml a taxa de prenhez em programas de TE congelados caiu de 44 para 34%. Remsen et al., (1982) encontraram taxas de prenhez para transferência de embriões frescos de 20, 74 e 60%, quando as concentrações de progesterona foram menores do que 2 ng/ml, entre 2 e 5 ng/ml e superiores a 5 ng/ml, respectivamente.

Bilby et al. (2006) não acharam diferenças entre as medias da

concentração plasmática de progesterona no dia 7 após a ovulação, quando compararam animais que recebiam PUFA com animais suplementados com fontes de ácidos graxos monoinsaturados, demonstrando que tanto fontes de PUFA como de ácidos graxos monoinsaturados tem o mesmo efeito sobre a produção de progesterona, já que ambos aumentam as concentrações plasmáticas de colesterol. No entanto maiores tamanhos do corpo lúteo foram encontrados nos animais que receberam fontes de PUFA.

#### 4.4.3. Insulina

As médias das concentrações de insulina por tratamento e em cada período de coleta são apresentados na Tabela 10. Os dados individualizados da concentração de insulina em cada coleta são apresentados no apêndice 14, as análises estatísticas para insulina encontram-se nos apêndices 45 e 46.

O tipo de suplemento utilizado não afetou a concentração plasmática de insulina em nenhum dos dias avaliados (Tabela 10) ( $p > 0,05$ ) (Tabela 10).

Tabela 10. Médias das concentrações plasmáticas ( $\mu\text{IU/ml}$ ) de insulina no dia da transferência e no dia da confirmação de prenhez para cada tratamento

Concentração de Insulina ( $\mu\text{IU/ml}$ )	Tratamentos		
	Suplemento funcional	Suplemento energético	Sem suplemento
No dia da transferência	13,66 $\pm$ 3,82	12,52 $\pm$ 3,27	14,01 $\pm$ 4,26
No dia da confirmação de prenhez	14,97 $\pm$ 5,24	14,21 $\pm$ 3,03	15,07 $\pm$ 7,01

Staples et al. (1998) apresentam um sumario de 17 trabalhos onde foram medidas as concentrações plasmáticas de insulina de vacas suplementadas com fontes lipídicas. Os autores relatam que, em 8 trabalhos a

insulina plasmática foi diminuída significativamente em vacas que receberam suplementação lipídica, não sendo detectadas diferenças estatísticas nas concentrações plasmáticas de insulina nos trabalhos restantes.

Segundo Blum et al. (1985), quando a suplementação lipídica melhora o status energético do animal, o efeito direto da suplementação lipídica sobre os níveis circulantes de insulina pode não aparecer. Neste trabalho a suplementação com sabões cálcicos de PUFA melhorou o ganho de peso dos animais e provavelmente seu status energético, sem que fossem detectadas diferenças estatísticas significativas nos níveis plasmáticos de insulina ( $P > 0,05$ ).

## **5. CONCLUSOES**

A incorporação de sabões cálcicos de ácidos graxos poliinsaturados em suplementos energéticos fornecidos a novilhas receptoras num programa de transferência de embriões aumentou o ganho médio diário de peso e as concentrações plasmáticas de colesterol e progesterona sem que o comportamento reprodutivo, o número e tamanho dos corpos lúteos e a taxa de prenhez fossem alteradas.

Se faz necessário realizar trabalhos utilizando maior numero de animais para detectar diferencias entre os tratamentos no comportamento sexual e desempenho reprodutivo.

## 6. BIBLIOGRAFIA

ABAYASEKARA, D.; WATHES, D. Effects of altering dietary fatty acid composition on prostaglandin synthesis and fertility. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, College Street, London, v. 61, p. 275–287, 1999.

ADAMIAK, S. et al. Body composition, dietary carbohydrates and fatty acids determine post-fertilization development of bovine oocytes in vitro. **Reproduction Research**, Glamorgan, UK, v. 138, p. 247-258, 2006.

ALLER, J.F.; ALBERIO R.; PALMA G. Gestación con embriones producidos in vitro a partir de ovocitos recuperados de vacas ovariectomizadas. **Archivos de Medicina Veterinaria**, Balcarce, Argentina, v. 32, n.1, 2000.

ALVAREZ, R. **Infobibos informações tecnológicas 2008**. Disponível em: [http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_1/embrioes/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/embrioes/index.htm). Acesso em: jun. 2009.

ALVES FILHO, D.; BERNARDES, R.; BRONDANI, I. Alternativas para a suplementação em campo nativo: avaliação técnica e econômica. In: RESTLE, J. **Eficiência na produção de bovinos de corte**. Santa Maria, RS: UFSM, 2000. p.117-146.

AMBROSE, D.; KASTELIC, J. Dietary fatty acids and dairy cow fertility. **Advances in Dairy Technology**, Huntingdon, UK, v.15, p.35-47, 2003.

ANGULO, J.; MAHECHA, L.; OLIVERA, M. Produccion y uso de grasas protegidas en alimentacion de bovinos. In: BIOQUIMICA, Nutricion y alimentación de la vaca. Medellin, Colombia : Biogénesis, 2005. p.137-157.

A.O.A.C. **Official methods of analysis**. 16th ed. Washington, D.C., 1995.

BACH, A. La reproducción del vacuno lechero: nutrición y fisiología . In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA, 26., Purina, España, 2003. **Anais...**[Purina, 2003].

BADER, J. et al. Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 85, p. 61-70, 2005.

BEAM, S.; BUTLER, W. Energy Balance and Ovarian Follicle Development Prior to the First Ovulation Postpartum in Dairy Cows Receiving Three Levels of Dietary Fat. **Biology of Reproduction**, Champaign, IL, v. 56, p. 133-142, 1997.

BECH-SÁBAT, G. et al. Factors affecting plasma progesterone in the early fetal period in high producing dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 69, p. 426-432, 2007.

BELTRAME, R. et al. Economic optimization of the number of recipients in bovine embryo transfer programs. **Science Agriculture**, [s.l.], v. 64, p. 221-226, 2007.

BÉNYEI, B. et al. The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 93, p. 268-279, 2006.

BILBY, T. et al. Effects of Dietary Unsaturated Fatty Acids on Oocyte Quality and Follicular Development in Lactating Dairy Cows in Summer. **Journal Dairy Science**, Champaign, IL, v. 89, p. 3891-3903, 2006.

BÓ, G. et al. Follicular wave emergence after treatment with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices in beef cattle. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION,13., Sydney, Australia, 1996. **Abstracts...** [Sydney, 1996]

BÓ, G. et al. **Especialidad en reproducción bovina**: superovulación y transferencia de embriones. Córdoba, Argentina : [s.n.], 2009.

BOTTGE, J. et al. Effects of supplementation with high linoleic or oleic cracked safflower seeds on postpartum reproduction and calf performance of primiparous beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2023-2030, 2002.

BOWEN, A.; JONES, B.; SHUPE, K. **Essential Fatty Acids Improve Reproduction in Holstein Cows**. Tucson : University of Arizona. Department of Animal Sciences, 2009.

BLUM, J. et al. Twenty-Four-Hour Patterns of Hormones and Metabolites in Week 9 and 19 of Lactation in High-Yielding Dairy Cows fed Triglycerides and Free Fatty Acids. **Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, v. 47, p. 43-60, 2000.

BROCKMAN, R.; LAARVELD, B. Hormonal regulation of metabolism in ruminants: A review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 14, p. 313–334, 1986.

BROUDISCOU, L; POCHET, S. ; PONCET, C. Effect of linseed oil supplementation on feed degradation and microbial synthesis in the rumen of ciliate-free and refaunated sheep. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 49, p. 189-202, 1994.

BURKE, J. M. et al. Effect of Ruminant Grade Menhaden Fish Meal on Reproductive and Productive Performance of Lactating Dairy Cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, IL, v. 80, p. 3386–3398, 1997.

CARDOSO DE OLIVEIRA, D. et al. Efeito da suplementação com ácidos graxos sobre a eficiência reprodutiva de vacas de corte. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., Jaboticabal, SP, 2007. **Anais...** [Jaboticabal, 2007]

CARROLL, D.; GRUMMER, R.; CLAYTON, M. Stimulation of Luteal Cell Progesterone Production by Lipoproteins from Cows Fed Control or Fat-Supplemented Diets. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 75, p. 2205-2214, 1992.

CASTANEDA-GUTIÉRREZ, E. et al. Dietary Supplements of Two Doses of Calcium Salts of Conjugated Linoleic Acid During the Transition Period and Early Lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 88, p. 1078-1089, 2005.

CHAPMAN, P.; SEIDEL, G. Experimental Design, Power and Sample Size for animal reproduction experiment. **Reproduction fertility**, [Melbourne, Austr.], v. 20, p. 33-44, 2008.

CHAGAS E SILVA, L.; LOPEZ DA COSTA L.; ROBALO SILVA L. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 58, p.51-59, 2002.

CHENG, Z. et al. Effects of conjugated linoleic acid on prostaglandins produced by cells isolated from maternal intercotyledonary endometrium, fetal allantochorion and amnion in late pregnant ewes. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1633, p.170 -178, 2003.

COCHRAN, R. Supplemental protein sources for grazing beef cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, Gainesville, Florida, 1998. **Proceedings...** [Gainesville, 1998]. p.123-136.

DAMIAN, F. **Suplementacion con lipidos en bovinos de carne: metabolismo, efectos sobre la calidad de la carne y sobre la salud humana.** In: CURSO SUPERIOR DE PRODUCCION ANIMAL, Instituto Mediterraneo de Zaragoza, 2001. Disponível em: <http://www.redeveterinaria.com/cyber/teresina.php>. Acesso em: mar. 2009.

DE FRIES, C.; NEUENDORFF, D.; RANDEL, R. Fat supplementation influences postpartum reproductive performance in Brahman cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.76, p. 864-870, 1998.

DIAS, M. **Estratégias de suplementação de vacas primíparas de corte.** Campo Grande, MS : Macal Nutrição Animal, 2004. (Informe técnico)

FARIN, P.; MOORE, K.; DROST, M. Assisted reproductive technologies in cattle. In: CURRENT therapy in large animals. [S.I.] : Saunders Elsevier, 2006. p. 497-508.

FEDNA. **Jabon calcico mezcla.** Normas FEDNA para formulacion de piensos compuestos. Madrid, España : Fundacion espanola para el desarrollo de la nutricion animal, 1999. Disponível em: [http://www.etsia.upm.es/fedna/grasasyaceites/jabon\\_calcico\\_mezcla.htm](http://www.etsia.upm.es/fedna/grasasyaceites/jabon_calcico_mezcla.htm) . Acesso em: fev. 2009.

FLUHARTY, F.; LOERCH, S. Effects of concentration and source of supplemental fat and protein on performance of newly arrived feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2308-2316, 1997.

FORDE, N. et al. Progesterone-Regulated Changes in Endometrial Gene Expression Contribute to Advanced Conceptus Development in Cattle. **Biology of Reproduction**, Champaign, IL, v. 81, p. 784-794, 2009.

FOULADI-NASHTA, A. et al. Impact of Dietary Fatty Acids on Oocyte Quality and Development in Lactating Dairy Cows. **Biology of Reproduction**, Champaign, IL, v.77, p. 9-17, 2007.

GARCIA-BOJALIL, C.M. et al. Protein Degradability and Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids in the Diets of Lactating Dairy Cows: Reproductive Responses. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v.81, p. 1385-1395, 1998.

GIL, F. **Grasa protegida, rumen by-pass**. Disponível em: <http://www.mundofree.com/pacogil/jabones.htm>. Acesso em: out. 2008.

GRUMMER, R.; CARROLL, D. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 66, p. 3160-3173, 1988.

GRUMMER, R.; CARROLL, D. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3838-3852, 1991.

HANSEN, P. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 33-44, 2002.

HASLER, J. Current Status and Potential of Embryo Transfer and Reproductive Technology in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 75, p. 2857-2879, 1992.

HASLER, J. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 56, p. 1401-1415, 2001.

HASLER, J. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 79, p. 245-264, 2003.

HASLER, J. The Holstein cow in embryo transfer today as compared to 20 years ago. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 65, p. 4-16, 2006.

HAWKINS, D. et al. An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p. 541-545, 1995.

HINSHAW, R. et al. **Effects of embryo freezing method on pregnancy rate following bovine embryo transfer.** 1998. Disponível em: <http://www.ashbyvets.com/research/AABP98ET.PDF> Acesso em: 10 set. 2009.

HOUGHTON, P. et al. Reproductive performance of beef cows and pre-weaning calf gain Effects of body composition, pre- and postpartum energy level and early weaning on reproductive performance of beef cows and pre-weaning calf gain. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p.1438-1446, 1990.

HESS, B. et al. Nutritional control of beef cow reproduction. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. E90-E106, 2005.

HILL, G.; WEST, J. Rumen protected fat in kline barley or corn diets for beef cattle: digestibility physiological, and feedlot responses. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3376-3388, 1991.

IKWUEGBU, O.; SUTTON, J. The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep. **The British Journal Nutrition**, Sutton, v. 48, p. 365-375, 1982.

JONES, A.; LAMB, G. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 69, p. 107-115, 2008.

INSKEEP E. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, USA, v. 82, p. E24-E39, 2004.

LANGHOUT, D.; SPICER, L.; GEISERT R. Development of a culture system for bovine granulosa cells: effects of growth hormone, estradiol, and gonadotropins on cell proliferation, steroidogenesis, and protein synthesis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3321-3334, 1991.

LAMB, C. **Relationship Between Nutrition and Reproduction in Beef Cows**. North Florida : North Florida Research and Education Center, 2009. p. 54-66.

LAMMOGLIA, M. et al. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and on hormonal, cholesterol, triglycerides, follicular patterns, and postpartum reproduction in Brahman cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, p. 2253-2262, 1996.

LOONEY, C. et al. Improving fertility in beef cow recipients. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 65, p. 201-209, 2006.

LOPES, C. et al. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on reproductive performance of *Bos indicus* beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, p. 3935-3943, 2009.

LÓPEZ, S.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos latinoamericanos de produção animal**, Viçosa, v. 12, p. 96-102, 2004.

LOPEZ, R. et al. Crecimiento y características de la canal de bovinos charolais y beefmaster alimentados con dos fuentes de proteína y dos niveles de grasa sobrepasante. **Técnica Pecuária Mexicana**, Mexico, v. 40, p. 291-298, 2002.

LUCY, M. et al. Energy Balance and Size and Number of Ovarian Follicles Detected by Ultrasonography in Early Postpartum Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 74, p. 473-482, 1991.

MANN, G. et al. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction Fertility**, [Leics, UK], v. 54, p. 317-328, 1999.

MANN, G.; LAMMING, G. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, Loughborough, UK, v.121, p. 175–180, 2001.

MATTOS, R.; STAPLES, C.; THATCHER, W. Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants. **Reviews of reproduction**, Cambridge, UK, v. 5, p. 38-45, 2000.

MATTOS, R. et al. Polyunsaturated Fatty Acids and Bovine Interferon- $\tau$  Modify Phorbol Ester-Induced Secretion of PGF $2\alpha$  and Expression of Prostaglandin Endoperoxide Synthase-2 and Phospholipase-A2 in Bovine Endometrial Cells. **Biology Reproduction**, Champaign, IL, , v.10, p. 1095, 2003

McDONALD, J.; GREENHALGH, C.; MORGAN, A. **Animal Nutrition**. 6.ed. Londres: Prentice Hall, 2002.

MINSON, D. **Forage in ruminant nutrition**. London: Academic Press, 1990. p. 483.

MISRA, A. et al. Factors affecting pregnancy rates following nonsurgical embryo transfer in buffalo: a retrospective study. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 52, p. 1-10, 1999.

MORENO, D. et al. Concentración plasmática de progesterona, área del cuerpo lúteo e índices de preñez en vacas receptoras de embriones. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 5., Buenos Aires, 2003. **Abstracts...** [Buenos Aires, 2003].

MORAES, F.; COLLA L. Alimentos funcionais e nutraceuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Passo Fundo, Brasil, v. 3, p.109-122, 2006.

NISWENDER, G.; NETT, T. Corpus luteum and its control in infraprimate species. **The Physiology of Reproduction**, [New York], p.781-816, 1994

NIEMANN, H.; SACHER, B. ; ELSAESSER, F. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. [Theriogenology](#), Stoneham, Mass, v. 4, p. 631-639, 1984.

PALMA, G. Recolección de embriones bovinos. In: PALMA, G. **Bioteecnologías de la reproducción**. Mar del Plata: Reprobiootec, 2008. p.221-236.

PALMA, G. transferencia de los embriones y comunicación embriomaterna. In: PALMA, G. **Bioteecnologías de la reproducción**. Mar del Plata: Reprobiootec, 2008. p. 251-270.

PALMQUIST, D. Influence of Source and Amount of Dietary Fat on Digestibility in Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 74, p. 1354-1360, 1991.

PALMQUIST, D. Utilización de lípidos en dietas de rumiantes. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA, 12., Madrid, España, 1996. **Anais...** [Madrid, 1996].

PATINO, H.; SCHULER, F.; MATEUS, G. Desafios da suplementação frente as demandas dos sistemas de produção de bovinos de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RAÇAS ZEBUINAS, 2002, Jaboticabal, Brasil. **Anais...** [Jaboticabal, 2002]. p. 151-169.

PETIT, H. et al. Milk production and composition, ovarian function, and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 85, p. 889-899, 2002.

PURSLEY, J. et al. Pregnancy Rates Per Artificial Insemination for Cows and Heifers Inseminated at a Synchronized Ovulation or Synchronized Estrus. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 80, p. 295-300, 1997.

QUADROS, S.; LOBATO, J. Efeitos da lotação animal na produção de leite de vacas de corte primíparas e no desenvolvimento dos bezerros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.26, n. 2, p. 27-33, 1996.

RYAN, D.; SPOON, R.; WILLIAMS, G. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high-fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 3505-3513, 1992.

REMSEN, L.; ROUSSEL, J.; E KARIHALOO, A. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 8, p. 365-372, 1982.

RODRÍGUEZ, J. et al. Análisis multifactorial de las tasas de preñez en programas de transferencia de embriones en Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, Montería, Colombia, v. 12, p. 978-984, 2007.

RODRIGUES JUNIOR, M. **Efeito da suplementação mineral protéica com megalac-e® na taxa de prenhez em receptoras de embrião.** Campo Grande : [s.n.], 2009. Relato Técnico.

ROWSON, L. et al. Egg transfer in the cow: synchronization requirements. **Journal of Reproduction Fertility**, Huntingdon Road, Cambridge, v. 28, p. 427-431, 1972.

SANTOS, J. et al. Long Chain Fatty Acids of Diet as Factors Influencing Reproduction in Cattle. **Reproduction of Domestic Animals**, Gainesville, Florida, v. 43, p. 23-30, 2008.

SANTOS, J. Impact of Nutrition on Dairy Cattle Reproduction. In: HIGH PLAINS DAIRY CONFERENCE, 2008, Albuquerque, MN. [**Proceedings...**] [Albuquerque, 2008]. p. 26-36.

SARTORI, R.; ROSA, G.; WILTBANK, M. Ovarian Structures and Circulating Steroids in Heifers and Lactating Cows in Summer and Lactating and Dry Cows in Winter. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 85, p. 2813-2822, 2002.

SCHNEIDER, P. et al. Feeding Calcium Salts of Fatty Acids to Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 71, p. 2143-2150, 1988.

SKLAN, D., MOALLEM, U. Effect of Feeding Calcium Soaps of Fatty Acids on Production and Reproductive Responses in High Producing Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, IL, v. 74, p. 510-517, 1991.

SOMMERS, P. et al. Direct determination of total serum cholesterol by use of double-wavelength spectrophotometry. **Clinical Chemistry**, New Haven, Conn, v. 21, p. 703-707, 1975.

SPELL, A. et al. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 56, p. 287-297, 2001.

SPICER, L.; ALPIZAR, E.; ECHTERNKAMP, S. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and(or) insulin-like growth factor I production in vitro. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 1232-1241, 1993.

STAPLES, C.; BURKE, J.; THATCHER, W. Influence of Supplemental Fats on Reproductive Tissues and Performance of Lactating Cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 856-871, 1998.

STAPLES, C. et al. Feeding Fatty Acids for Fertility?. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, Gainesville, Florida, 13., 2001. **Proceedings...** [Gainesville], 2001. p. 71-85.

STAPLES, C. et al. Using Fat Supplementation to Improve the Chances of Pregnancy of Lactating Dairy Cows. In: WESTERN DAIRY MANAGEMENT CONFERENCE, Gainesville, Florida, 2003. **Proceedings...**[Gainesville], 2003. p. 1-14.

STAPLES, C. et al. **Uso de grasa suplementaria para mejorar las posibilidades de preñez en vacas lecheras en lactación.** Gainesville : Department of Animal Sciences. University of Florida, 2007.

STATISTIX. **Software analyze statistical.** Version 1.0. [S.l. : s.n.], 1996.

STUBBINGS, R.; WALTON, J. Relationship between plasma progesterone concentrations and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or previously frozen embryos. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 26, p. 145-155, 1986.

THANGAVELU, G. et al. Diets enriched in unsaturated fatty acids enhance early embryonic development in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 68, p. 949-957, 2007.

THATCHER, W. et al. Embryo Health and Mortality in Sheep and Cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 16-30, 1994.

THATCHER, W. et al. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, Stoneham, Mass, v. 65, p. 30-44, 2006.

THOMAS, M.G.; BAO, B.; WILLIAMS, G. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2512-2519, 1997.

TRIBULO, H. E CUTAIA, L. Selección y manejo de receptoras de embriones bovinos. In: PALMA, G. **Biotecnología de la Reproducción**. Mar del Plata: Reprobiootec, 2008. p. 171-188,

VAN SOEST, P.J.; ROBERSON. Lipids. In: SOEST, P. J. VAN. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2<sup>nd</sup>. ed. New York : Cornell University, 1994. p.325-336.

WANG, H.; DEY, S.K. Lipid signaling in embryo implantation. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, Nashville, USA, v. 75, p. 84–102, 2005.

WATHES, D. Polyunsaturated Fatty Acids in Male and Female Reproduction. **Biology of Reproduction**, Champaign, IL, v. 77, p. 190-201, 2007.

WEBB, R et al. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. E63-E74, 2004.

WEHRMAN, M.; WELSH, T.; WILLIAMS, G. Diet-Induced Hyperlipidemia in Cattle Modifies the Intrafollicular Cholesterol Environment, Modulates Ovarian

Follicular Dynamics, and Hastens the Onset of Postpartum Luteal Activity. **Biology of Reproduction**, Champaign, IL, v. 45. p. 514-522, 1991.

WILLIAMS, G.; STANKO R. Dietary fats as reproductive nutraceuticals in beef cattle. **Proceedings of the American Society of Animal Science**, Champaign, IL, v. 77, p. 1-12, 2000.

WILSON, D. et al. **Beef Cattle Breeding Project Foundation Herd**: Effect of Recipient Cow Age on Embryo Transfer Pregnancy Rates. Ames : Iowa State University, 1999. p. 1-3.

WU, Z.; OHAJURUKA, A.; PALMQUIST, D. Ruminal Synthesis, Biohydrogenation, and Digestibility of Fatty Acids by Dairy Cows. **Journal Dairy Science**, Champaign, IL, v. 74, p. 3025-3034, 1991.

ZERON, Y. et al. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. **Reproduction**, [Cambridge, UK], v. 121, p. 447-454, 2002.

## **7. APENDICES**

### Apêndice 1. Temperatura máxima e mínima e registros pluviométricos

Data	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Pluviosidade (mm)
<b>20/10/2008</b>	28	21	0
21	28	21	0
22	26	21	26
23	27	23	0
24	24	19	0
25	20	18	75
26	18	15	5
27	23	16	65
28	20	12	5
29	29	18	20
30	20	18	0
31	15	13	0
<b>11/10/2008</b>	18	14	0
2	22	18	0
3	35	30	0
4	29	26	0
5	33	30	20
6	29	18	0
7	22	18	0
8	20	15	0
9	21	15	0
10	22	17	0
11	25	14	0
12	22	14	0
13	24	15	0
14	25	17	0
15	25	17	0
16	25	12	0
17	27	15	0
18	28	16	0
19	28	16	0
20	26	16	0
21	30	18	0
22	26	18	0
23	28	14	0
24	26	16	0
25	31	14	0
26	32	23	0
27	32	21	0
28	32	24	0
29	33	21	0
30	30	22	0
<b>12/10/2008</b>	29	19	0
2	33	21	0
3	21	13	0
4	22	14	0
5	23	14	0
6	25	13	0
7	27	15	0

## Apêndice 2. Perfil de ácidos graxos do Megalac-E® em % do total de ácidos graxos

Item	MEGALAC-E
ácido laurico (12:0), %	0,1
ácido mirístico (14:0), %	0,2
ácido palmítico (16:0), %	17,5
ácido palmitoleico (16:1), %	0,3
ácido estearico (18:0), %	5,1
ácido oleico (18:1), %	31,7
ácido linoleico (18:2), %	39,8
ácido Inolenico (18:3), %	2,7
otros	2,6

## Apêndice 3. composição dos componentes do suplemento

Componente	MS (%)	PB (%)	EE (%)	CZ (%)	FDN (%)	FDA (%)	lignina	NDT (%)
Ração								
Comercial	89,54	13,35	8,44	11,54	44,68	5,73	2,33	77,84
Soja	91,59	26,2	6,26	32,22	5,08	0,88	82,47	
Milho	88,74	9,58	5,51	3,81	50,64	3,1	0,85	80,85
MEGALAC-E	91,62	0,4	44,16	24,36				105,98

## Apêndice 4. Composição do suplemento mineral

g/kg de produto	
Cálcio	160
Fósforo	88
Sódio	135
Magnésio	11
Enxofre	15
mg/kg de produto	
Manganês	500
Cromo	15
Zinco	2650
Cobre	450
Cobalto	20
Selênio	18
Iodo	60
Flúor Máximo	880

**Apêndice 5. Consumo de suplemento e consumo de energia metabolizável do suplemento no primeiro período (pré-transferência).**

Numero	Trat	Consumo total kg MS	Consumo MS kg/dia	Consumo MS % PV/dia	Consumo EM Mcal/dia
4	1	13,280	0,415	0,100	1,206
20	1	13,033	0,407	0,107	1,184
23	1	13,190	0,412	0,114	1,198
24	1	12,578	0,393	0,111	1,142
28	1	11,388	0,356	0,103	1,034
157	1	12,888	0,403	0,102	1,171
162	1	12,878	0,402	0,104	1,170
168	1	12,846	0,401	0,111	1,167
175	1	13,032	0,407	0,102	1,184
189	1	10,768	0,336	0,092	0,978
351	1	13,147	0,411	0,104	1,194
357	1	12,666	0,396	0,097	1,150
359	1	13,280	0,415	0,097	1,206
361	1	13,204	0,413	0,095	1,199
438	1	10,891	0,340	0,079	0,989
5	2	9,024	0,282	0,073	0,811
10	2	12,550	0,392	0,087	1,128
16	2	12,874	0,402	0,083	1,157
17	2	12,320	0,385	0,098	1,107
150	2	12,497	0,391	0,093	1,123
159	2	11,572	0,362	0,095	1,040
167	2	11,473	0,359	0,095	1,031
173	2	12,557	0,392	0,112	1,128
180	2	12,643	0,395	0,095	1,136
183	2	12,874	0,402	0,104	1,157
352	2	11,594	0,362	0,081	1,042
365	2	12,874	0,402	0,106	1,157
368	2	12,713	0,397	0,115	1,142
439	2	12,740	0,398	0,107	1,145
6	3	0	0,000	0	0
7	3	0	0,000	0	0
15	3	0	0,000	0	0
19	3	0	0,000	0	0
142	3	0	0,000	0	0
155	3	0	0,000	0	0
156	3	0	0,000	0	0
165	3	0	0,000	0	0
178	3	0	0,000	0	0
184	3	0	0,000	0	0
354	3	0	0,000	0	0
355	3	0	0,000	0	0
360	3	0	0,000	0	0
362	3	0	0,000	0	0
182	3	0	0,000	0	0

**Apêndice 6. Consumo de suplemento e consumo de energia metabolizável do suplemento no segundo período (pós-transferência).**

Numero	Trat	Consumo total (kg MS/dia)	Consumo MS (kg/dia)	Consumo MS (% PV /dia)	Consumo de EM (Mcal/dia)
20	1	13,280	0,415	0,102	1,206
23	1	13,280	0,415	0,107	1,206
24	1	12,580	0,393	0,103	1,143
168	1	13,280	0,415	0,108	1,206
175	1	12,780	0,399	0,093	1,161
351	1	13,280	0,415	0,106	1,106
357	1	12,080	0,378	0,089	1,097
359	1	13,280	0,415	0,091	1,096
361	1	13,114	0,410	0,089	1,191
438	1	13,280	0,415	0,091	1,206
10	2	12,874	0,402	0,085	1,157
150	2	12,874	0,402	0,091	1,157
159	2	11,825	0,370	0,092	1,062
167	2	12,874	0,402	0,100	1,157
173	2	12,874	0,402	0,109	1,157
180	2	12,874	0,402	0,092	1,157
352	2	12,874	0,402	0,085	1,157
365	2	12,874	0,402	0,099	1,157
368	2	12,874	0,402	0,110	1,157
6	3	0	0	0	0
7	3	0	0	0	0
19	3	0	0	0	0
142	3	0	0	0	0
155	3	0	0	0	0
156	3	0	0	0	0
165	3	0	0	0	0
178	3	0	0	0	0
354	3	0	0	0	0
360	3	0	0	0	0
362	3	0	0	0	0
182	3	0	0	0	0

### Apêndice 7. Medições de peso, e ganho médio diário de peso no primeiro período

Numero	Tratamento	Peso no inicio (kg)	Peso na transferência (kg)	GMD (kg/dia)
4	1	400	432	1,143
20	1	369	394	0,893
23	1	349	373	0,857
24	1	340	367	0,964
28	1	330	359	1,036
157	1	380	408	1,000
162	1	375	402	0,964
168	1	348	374	0,929
175	1	383	413	1,071
189	1	350	380	1,071
351	1	379	412	1,179
357	1	391	423	1,143
359	1	415	442	0,964
361	1	421	449	1,000
438	1	416	445	1,036
5	2	375	400	0,893
10	2	440	463	0,821
16	2	472	500	1,000
17	2	381	408	0,964
150	2	405	433	1,000
159	2	367	394	0,964
167	2	363	392	1,036
173	2	340	363	0,821
180	2	404	426	0,786
183	2	378	398	0,714
352	2	435	463	1,000
365	2	367	395	1,000
368	2	335	357	0,786
439	2	358	386	1,000
6	3	380	400	0,714
7	3	375	399	0,857
15	3	390	416	0,929
19	3	392	408	0,571
142	3	465	488	0,821
155	3	375	396	0,750
156	3	353	377	0,857
165	3	345	365	0,714
178	3	394	415	0,750
184	3	374	400	0,929
354	3	439	463	0,857
355	3	440	462	0,786
360	3	420	435	0,536
362	3	425	454	1,036
182	3	316	341	0,893

### Apêndice 8. Medições de peso, e ganho médio diário de peso no segundo período

Numero	Tratamento	Peso transferência (kg)	Peso final (kg)	GMD (kg/dia)
20	1	394	420	0,929
23	1	373	402	1,036
24	1	367	395	1,000
168	1	374	395	0,750
175	1	413	442	1,036
189	1	380	402	0,786
351	1	412	436	0,857
359	1	442	466	0,857
361	1	449	471	0,786
438	1	445	472	0,964
10	2	463	482	0,679
150	2	433	449	0,571
159	2	394	412	0,643
167	2	392	413	0,750
173	2	363	377	0,500
180	2	426	444	0,643
352	2	463	480	0,607
365	2	395	415	0,714
368	2	357	375	0,643
6	3	400	419	0,679
7	3	399	413	0,500
19	3	408	425	0,607
142	3	488	504	0,571
155	3	396	413	0,607
156	3	377	391	0,500
165	3	365	380	0,536
178	3	415	430	0,536
354	3	463	482	0,679
360	3	435	447	0,429
362	3	454	469	0,536
182	3	341	360	0,679

## Apêndice 9. Resposta à sincronização do cio

Tratamento	Vaca	Início actividade	Início aceitação	vezes monta	vezes aceita	duração aceitação	duração actividade
1	4						
1	20						
1	189						
1	23	62	64	23	4	2	39
1	24	41	55	60	36	13	28
1	28	57	89	28	7	7	44
1	157	34	39	67	27	16	26
1	162	54	66	19	5	16	28
1	168	50	54	38	16	12	16
1	175	76	77	29	39	17	18
1	351	61	66	56	28	15	25
1	357	42	81	40	10	11	50
1	359	42	54	55	48	15	46
1	361	37	42	99	95	15	23
1	438	41	43	91	18	12	19
2	5						
2	16						
2	183						
2	10	37	41	82	112	17	25
2	17	42	53	78	16	7	36
2	150	55	60	24	10	5	24
2	159	68	ND	13	0	ND	33
2	167	79	90	18	33	12	23
2	173	37	43	102	14	18	31
2	180	55	66	123	47	22	36
2	352	48	51	34	18	8	13
2	365	41	43	105	55	25	28
2	368	42	43	41	30	16	17
2	439	52	57	61	89	27	37
3	6	41	43	83	122	18	20
3	7	62	63	67	127	28	29
3	15	71	79	77	22	17	30
3	19	79	79	4	1	1	22
3	142	77	78	11	5	5	14
3	155	40	42	47	61	7	15
3	156	42	57	78	41	12	32
3	165	40	59	73	18	9	28
3	178	41	43	58	50	14	19
3	182	66	100	36	16	2	36
3	184	43	64	81	42	11	37
3	354	77	80	84	45	16	23
3	355	80	85	5	4	2	10
3	360	75	79	31	2	11	17
3	362	78	85	41	11	10	22

### Apêndice 10. Tamanho do corpo lúteo no dia da transferência

tratamento	Numero	Tamanho CL
1	4	NCL
1	162	NCL
1	20	grande
1	23	grande
1	24	medio
1	28	NCL
1	157	pequeno NT
1	168	pequeno
1	175	medio
1	189	pequeno NT
1	351	medio
1	357	medio
1	359	pequeno
1	361	grande
1	438	medio
2	17	NCL
2	16	NCL
2	5	NCL
2	10	grande
2	150	medio
2	159	medio
2	167	medio
2	173	grande
2	180	medio
2	183	medio
2	352	medio
2	365	pequeno
2	368	grande
2	439	pequeno NT
3	355	NCL
3	19	NCL
3	6	pequeno
3	7	medio
3	15	pequeno NT
3	142	grande
3	155	pequeno
3	156	pequeno
3	165	grande
3	178	medio
3	184	pequeno NT
3	354	pequeno
3	360	pequeno
3	362	medio
3	182	grande

### Apêndice 11. Animais que receberam embrião e confirmação da prenhes

Tratamento	Numero	Embrião	Tamanho do corpo lúteo	confirmação da prenhes
1	20	1	grande	Vazia
1	23	1	grande	Vazia
1	24	1	médio	Prenha
1	168	1	pequeno	Prenha
1	175	1	médio	Prenha
1	351	2	médio	Vazia
1	357	1	médio	Vazia
1	359	2	pequeno	Vazia
1	361	1	grande	Vazia
1	438	1	médio	Prenha
2	10	1	grande	Prenha
2	150	1	médio	Vazia
2	159	1	médio	Prenha
2	167	2	médio	Prenha
2	173	1	grande	Prenha
2	180	1	médio	Prenha
2	352	2	médio	Vazia
2	365	1	pequeno	Prenha
2	368	1	grande	Prenha
3	6	2	pequeno	Vazia
3	7	1	médio	Vazia
3	142	1	Grande	Vazia
3	155	2	Pequeno	Prenha
3	156	1	Pequeno	Prenha
3	165	1	Grande	Vazia
3	178	1	Médio	Prenha
3	182	1	Grande	Vazia
3	354	1	Pequeno	Prenha
3	360	1	Pequeno	Vazia
3	362	1	Médio	Vazia

**Apêndice 12. Concentrações plasmáticas de colesterol no plasma sanguíneo no dia da transferência e no dia da confirmação da prenhes**

Numero	Tratamento	Colesterol na transferência mg/dl	Colesterol na confirmação de prenhes mg/dl
4	1	191	
162	1	120	
20	1	185	217
23	1	158	182
24	1	212	226
28	1	153	
157	1	210	
168	1	155	132
175	1	161	195
189	1	140	
351	1	137	171
357	1	192	213
359	1	201	185
361	1	213	261
438	1	141	
17	2	188	
16	2	155	
5	2	130	
10	2	139	180
150	2	135	134
159	2	126	150
167	2	188	148
173	2	178	147
180	2	137	140
183	2	137	
352	2	164	192
365	2	147	160
368	2	135	135
439	2	94	
355	3	135	
19	3	181	120
6	3	164	147
7	3	139	133
15	3	131	
142	3	127	
155	3	207	143
156	3	123	145
165	3	146	166
178	3	111	126
184	3	162	
354	3	118	
360	3	155	157
362	3	145	171
182	3	157	125

**Apêndice 13. Tamanho do corpo lúteo e concentração de progesterona no plasma sanguíneo no dia da transferência e no dia da confirmação da prenhes**

Numero	Tratamen	Tamanho CL	Progesterona (ng/ml) na transferência	progesterona (ng/ml) na confirmação da prenhes
4	1	NCL	inf 0.1	
162	1	NCL	0,98	
20	1	grande	7,2	
23	1	grande	8,5	
24	1	medio	5,3	8
28	1	NCL	2,2	
157	1	pequeno NT	3,7	
168	1	pequeno	5	8,6
175	1	medio	5,3	7,2
189	1	pequeno NT	3,7	5,5
351	1	medio	6	
357	1	medio	3	
359	1	pequeno	4	
361	1	grande	8,6	
438	1	medio	4,7	
17	2	NCL	inf 0.1	
16	2	NCL	0,59	
5	2	NCL	0,7	
10	2	grande	5	5,3
150	2	medio	2,4	
159	2	medio	3,7	5,4
167	2	medio	2,4	7,2
173	2	grande	4,8	6
180	2	medio	3	4,2
183	2	medio	6	
352	2	medio	4,3	
365	2	pequeno	4	6,3
368	2	grande	5,4	6
439	2	pequeno NT	2,2	
355	3	NCL	inf 0.1	
19	3	NCL	0,25	
6	3	pequeno	1,25	
7	3	medio	2,6	
15	3	pequeno NT	2,4	
142	3	grande	5,2	
155	3	pequeno	4,4	3,7
156	3	pequeno	4,4	4,4
165	3	grande	4,6	
178	3	medio	4,8	5
184	3	pequeno NT	3,8	
354	3	pequeno	3,6	4
360	3	pequeno	2,4	
362	3	medio	4,4	
182	3	grande	4	

**Apêndice 14. Concentrações plasmáticas de insulina no dia da transferência e da confirmação da prenhes**

Numero	Tratamento	Insulina no dia da transferência (µU/ml)	Insulina no dia da confirmação de prenhes (µU/ml)
4	1	15.7	
162	1	16.4	
20	1	15.3	14.2
23	1	10.9	17.6
24	1	16	14.8
28	1	16.5	
157	1	9.6	
168	1	11.3	8.6
175	1	8.5	12.6
189	1	10.5	19
351	1	22.5	15
357	1	15.8	
359	1	12.4	24.5
361	1	8.7	8.4
438	1	14.8	
17	2	6.8	
16	2	15.3	
5	2	14.2	18.3
10	2	15.7	
150	2	14.8	15.8
159	2	15	12.3
167	2	14.2	16.3
173	2	15.1	11.4
180	2	10	18.3
183	2	10.7	
352	2	5.9	16
365	2	14.9	12.2
368	2	12.7	10.8
439	2		
355	3	10.7	
19	3	17	34
6	3	14.8	12
7	3	16	14.2
15	3	8.2	
142	3	19	
155	3	8.5	10.7
156	3	13.6	12.5
165	3	8	7.7
178	3	11.7	12.4
184	3	11	
354	3	18.7	16
360	3	15.1	7.9
362	3	22	19.3
182	3	15.8	15.1

### Apêndice 15. Análise estatística do consumo total de matéria seca do suplemento no primeiro período (pre-transferência)

Analysis of Variance Table for constot

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	1517.14	758.571	1306.60	0.0000
Error	41	23.80	0.581		
Total	43				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 8.2502 CV 9.24

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of constot for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	12.586	A
2	12.165	A
3	-2.66E-15	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.2782 TO 0.2831

Critical Q Value 3,440 Critical Value for Comparison 0.6767 TO 0.6887

Error term used: Error, 41 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

### Apêndice 16. Consumo de matéria seca do suplemento por dia (g) no primeiro período (pre-transferência)

Analysis of Variance Table for consMSd

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	1.48401	0.74200	1292.18	0.0000
Error	41	0.02354	0.00057		
Total	43				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.2580 CV 9.29

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of consMSd for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.3939	A
2	0.3801	A
3	0.0000	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 8.750E-03 TO 8.905E-03

Critical Q Value 3,440 Critical Value for Comparison 0.0213 TO 0.0217

Error term used: Error, 41 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

### Apêndice 17. Consumo de matéria seca do suplemento por dia em porcentagem do peso vivo (%PV) no primeiro período (pre-transferencia)

Analysis of Variance Table for conspv

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.09640	0.04820	662.47	0.0000
Error	41	0.00298	0.00007		
Total	43				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.0657 CV 12.98

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of conspv for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.1012	A
2	0.0958	A
3	-1.39E-17	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 3.115E-03 TO 3.170E-03

Critical Q Value 3,440 Critical Value for Comparison 7.576E-03 TO 7.710E-03

Error term used: Error, 41 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

### Apêndice 18. Consumo de energia metabolizável do suplemento (Mcal/dia) e consumo de energia metabolizável por unidade de tamanho metabólico (Mcal/UTM/dia) no primeiro período (pre-transferencia)

Analysis of Variance Table for consEM

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	12.4166	6.20830	1295.76	0.0000
Error	41	0.1964	0.00479		
Total	43				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.7459 CV 9.28

Analysis of Variance Table for EMUTM

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.00160	7.980E-04	875.29	0.0000
Error	41	0.00004	9.117E-07		
Total	43				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 8.45E-03 CV 11.30

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of consEM for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	1.1448	A
2	1.0930	A
3	1.11E-16	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0253 TO 0.0257  
 Critical Q Value 3,440 Critical Value for Comparison 0.0615 TO 0.0626  
 Error term used: Error, 41 DF  
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of EMUTM for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.0131	A
2	0.0123	A
3	-2.17E-18	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 3.487E-04 TO 3.548E-04  
 Critical Q Value 3,440 Critical Value for Comparison 8.480E-04 TO 8.630E-04  
 Error term used: Error, 41 DF  
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

### Apêndice 19. Consumo total de suplemento no segundo período (pos-transferencia)

Analysis of Variance Table for constot

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	1223.74	611.868	6782.05	0.0000
Error	28	2.53	0.090		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 8.5935 CV 3.50

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of constot for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	13.023	A
2	12.757	A
3	8.88E-16	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.1286 TO 0.1380  
 Critical Q Value 3,500 Critical Value for Comparison 0.3183 TO 0.3415  
 Error term used: Error, 28 DF  
 There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

## Apêndice 20. Consumo de matéria seca do suplemento por dia (g) no segundo período (pos-transferencia)

Analysis of Variance Table for consMS

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	1.19505	0.59753	6782.03	0.0000
Error	28	0.00247	0.00009		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.2685 CV 3.50

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of consMS for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.4070	A
2	0.3987	A
3	0.0000	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 4.019E-03 TO 4.313E-03

Critical Q Value 3,500 Critical Value for Comparison 9.946E-03 TO 0.0107

Error term used: Error, 28 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

## Apêndice 21. Consumo de matéria seca do suplemento em porcentagem do peso vivo (pos-transferencia)

Analysis of Variance Table for consPV

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.06926	0.03463	782.96	0.0000
Error	28	0.00124	0.00004		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.0647 CV 10.29

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of consPV for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.0980	A
2	0.0960	A
3	6.94E-18	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.848E-03 TO 3.056E-03

Critical Q Value 3,500 Critical Value for Comparison 7.048E-03 TO 7.563E-03

Error term used: Error, 28 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

**Apêndice 22. Consumo de energia metabolizável do suplemento (Mcal/dia) e de energia metabolizável por unidade de tamanho metabólico (Mcal/UTM/dia) no segundo período (pos-transfeerência)**

Analysis of Variance Table for EMUTM

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.00118	5.898E-04	1296.97	0.0000
Error	28	0.00001	4.547E-07		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 8.43E-03 CV 8.00

Analysis of Variance Table for consEM

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	9.80347	4.90174	4804.25	0.0000
Error	28	0.02857	0.00102		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.7694 CV 4.15

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of EMUTM for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.0128	A
2	0.0124	A
3	8.67E-19	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 2.887E-04 TO 3.098E-04  
 Critical Q Value 3,500 Critical Value for Comparison 7.146E-04 TO 7.668E-04  
 Error term used: Error, 28 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of consEM for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	1.1619	A
2	1.1462	A
3	5.55E-17	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0137 TO 0.0147  
 Critical Q Value 3,500 Critical Value for Comparison 0.0338 TO 0.0363  
 Error term used: Error, 28 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

### Apêndice 23. Análises estatística dos pesos no início do experimento para cada tratamento

#### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR PESOINICI

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMEN (A)	2	1949.44	974.722	0.74	0.4852
RESIDUAL	41	54285.7	1324.04		
TOTAL	43	56235.2			

### Apêndice 24. Análises estatística dos pesos no dia da transferência dos embriões para cada tratamento

#### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR PESOTRANS

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	795.355	397.677	0.29	0.7479
RESIDUAL	41	55724.2	1359.13		
TOTAL	43	56519.5			

### Apêndice 25. Análises estatística dos ganhos de pesos no primeiro período (desde o início até a transferência)

#### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR GANHO

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	0.35232	0.17616	13.92	0.0000
RESIDUAL	41	0.51883	0.01265		
TOTAL	43	0.87114			

#### TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS OF GANHO BY TRATAMENT

TRATAMENT	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
1	1.0167	I
2	0.9133	.. I
3	0.8000	.... I

ALL 3 MEANS ARE SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE	3.440	REJECTION LEVEL	0.050
CRITICAL VALUE FOR COMPARISON	0.0999		
STANDARD ERROR FOR COMPARISON	0.0411		

ERROR TERM USED: RESIDUAL, 41 DF

### Apêndice 26. Análises estatístico do peso no final do período experimental

Analysis of Variance Table for pesfin

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	42.2	21.09	0.01	0.9857
Error	28	40987.4	1463.83		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 428.43 CV 8.93

### Apêndice 27. Análises estatístico do ganho médio diário no segundo período (pos-transferencia)

Analysis of Variance Table for GMD2

Source	DF	SS	MS	F	P
tratament	2	0.63169	0.31585	40.20	0.0000
Error	28	0.22001	0.00786		
Total	30				

Note: SS are marginal (type III) sums of squares

Grand Mean 0.7034 CV 12.60

Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of GMD2 for tratament

tratament	Mean	Homogeneous Groups
1	0.9000	A
2	0.6389	B
3	0.5714	B

Alpha 0.05 Standard Error for Comparison 0.0380 TO 0.0407

Critical Q Value 3,500 Critical Value for Comparison 0.0939 TO 0.1008

Error term used: Error, 28 DF

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

### Apêndice 28. Análise estatístico da hora de início da atividade sexual (ANAVA)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR INACTIU

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	1099.34	549.672	2.53	0.0931
RESIDUAL	37	8028.56	216.988		
TOTAL	39	9127.90			

### Apêndice 29. Análise estatístico da hora de início da atividade sexual (chi-square test)

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
FOR FREQU = HIACEP TRATAMENT

HIACEP		TRATAMENT			
		1	2	3	
1	OBSERVED	6	7	6	19
	EXPECTED	6.00	5.50	7.50	
	CELL CHI-SQ	0.00	0.41	0.30	
2	OBSERVED	4	3	6	13
	EXPECTED	4.11	3.76	5.13	
	CELL CHI-SQ	0.00	0.15	0.15	
3	OBSERVED	2	1	3	6
	EXPECTED	1.89	1.74	2.37	
	CELL CHI-SQ	0.01	0.31	0.17	
		12	11	15	38
OVERALL CHI-SQUARE		1.50			
P-VALUE		0.8266			
DEGREES OF FREEDOM		4			

### Apêndice 30. Análise estatístico da hora de início da aceitação de monta (ANAVA)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR HINICIO

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	1157.04	578.522	2.17	0.1297
RESIDUAL	35	9345.51	267.015		
TOTAL	37	10502.6			

### Apêndice 31. Análise estatístico da hora de início da aceitação de monta (chi-square test)

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
FOR FREQU = INACEPT TRAT

INACEPT		TRAT			
		1	2	3	
1	OBSERVED	9	7	6	22
	EXPECTED	7.70	6.05	8.25	
	CELL CHI-SQ	0.22	0.15	0.61	
2	OBSERVED	5	4	9	18
	EXPECTED	6.30	4.95	6.75	
	CELL CHI-SQ	0.27	0.18	0.75	
		14	11	15	40
OVERALL CHI-SQUARE		2.18			
P-VALUE		0.3357			
DEGREES OF FREEDOM		2			
CASES INCLUDED 6		MISSING CASES 9			

### Apêndice 32. Análises estatístico da duração da atividade

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR DURACTIU					
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	187.109	93.5543	0.96	0.3926
RESIDUAL	36	3509.56	97.4877		
TOTAL	38	3696.67			

### Apêndice 33. Análise estatístico da duração do cio

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR DURACAO CI					
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	268.537	134.268	2.72	0.0801
RESIDUAL	35	1730.83	49.4523		
TOTAL	37	1999.37			

### Apêndice 34. Análise estatístico das vezes que monta (ANAVA)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR UMONTA					
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	1868.66	934.329	0.93	0.4027
RESIDUAL	37	37077.3	1002.09		
TOTAL	39	38946.0			

### Apêndice 35. Análises estatístico das vezes que monta (chi-square test)

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
FOR FREQ = UMON TRATA

UMON		TRATA			
		1	2	3	
1	OBSERVED	9	6	8	23
	EXPECTED	7.26	6.66	9.08	
	CELL CHI-SQ	0.42	0.07	0.13	
2	OBSERVED	3	5	7	15
	EXPECTED	4.74	4.34	5.92	
	CELL CHI-SQ	0.64	0.10	0.20	
		12	11	15	38
OVERALL CHI-SQUARE		1.54			
P-VALUE		0.4626			
DEGREES OF FREEDOM		2			

**Apêndice 36. Análise estatístico das vezes que aceita a monta (ANOVA)**  
**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR UACEITA**

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	1853.53	926.767	0.79	0.4596
RESIDUAL	37	43184.8	1167.16		
TOTAL	39	45038.4			

**Apêndice 37. Análise estatístico das vezes que aceita a monta (chi-square test)**

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
 FOR FREQ = UACEP TRATA

UACEP		TRATA			
		1	2	3	
1	OBSERVED	11	9	13	33
	EXPECTED	10.42	9.55	13.03	
	CELL CHI-SQ	0.03	0.03	0.00	
2	OBSERVED	1	0	0	1
	EXPECTED	0.32	0.29	0.39	
	CELL CHI-SQ	1.48	0.29	0.39	
3	OBSERVED	0	2	2	4
	EXPECTED	1.26	1.16	1.58	
	CELL CHI-SQ	1.26	0.61	0.11	
		12	11	15	38
OVERALL CHI-SQUARE		4.22			
P-VALUE		0.3772			
DEGREES OF FREEDOM		4			

### Apêndice 38. Análise estatística do tamanho do corpo lúteo

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
FOR FRQUENCIA = CL TRATAMENT

CL		TRATAMENT			
		1	2	3	
0	OBSERVED	3	3	2	8
	EXPECTED	2.73	2.55	2.73	
	CELL CHI-SQ	0.03	0.08	0.19	
1	OBSERVED	2	1	2	5
	EXPECTED	1.70	1.59	1.70	
	CELL CHI-SQ	0.05	0.22	0.05	
2	OBSERVED	2	1	5	8
	EXPECTED	2.73	2.55	2.73	
	CELL CHI-SQ	0.19	0.94	1.89	
3	OBSERVED	5	6	3	14
	EXPECTED	4.77	4.45	4.77	
	CELL CHI-SQ	0.01	0.54	0.66	
4	OBSERVED	3	3	3	9
	EXPECTED	3.07	2.86	3.07	
	CELL CHI-SQ	0.00	0.01	0.00	
		15	14	15	44
OVERALL CHI-SQUARE		4.87			
P-VALUE		0.7719			
DEGREES OF FREEDOM		8			

CAUTION: 15 cell(s) have expected values less than 5.0

CASES INCLUDED 15 MISSING CASES 0

### Apêndice 39. Análises estatística da taxa de aproveitamento (transferidas das sincronizadas)

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
FOR TAXAPROU = TRANSFER TRATAMENT

TRANSFER		TRATAMENT			
		1	2	3	
1	OBSERVED	10	9	12	31
	EXPECTED	10.57	9.86	10.57	
	CELL CHI-SQ	0.03	0.08	0.19	
2	OBSERVED	5	5	3	13
	EXPECTED	4.43	4.14	4.43	
	CELL CHI-SQ	0.07	0.18	0.46	
		15	14	15	44
OVERALL CHI-SQUARE		1.02			
P-VALUE		0.6017			
DEGREES OF FREEDOM		2			

### Apêndice 40. Análise estatística da prenhes (prenhas das transferidas)

CHI-SQUARE TEST FOR HETEROGENEITY OR INDEPENDENCE  
FOR FREQUENCI = PRENHES TRATAMENT

PRENHES		TRATAMENT			
		1	2	3	
1	OBSERVED	4	7	4	15
	EXPECTED	4.84	4.35	5.81	
	CELL CHI-SQ	0.15	1.61	0.56	
2	OBSERVED	6	2	8	16
	EXPECTED	5.16	4.65	6.19	
	CELL CHI-SQ	0.14	1.51	0.53	
		10	9	12	31
OVERALL CHI-SQUARE		4.48			
P-VALUE		0.1063			
DEGREES OF FREEDOM		2			

### Apêndice 41. Análise estatística da concentração plasmática do colesterol no dia da transferência

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR COLESTERO

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	5770.25	2885.12	3.71	0.0333
RESIDUAL	40	31103.5	777.586		
TOTAL	42	36873.7			

COVARIATE SUMMARY TABLE

COVARIATE VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P
PESTRANS	-0.02861	0.11813	-0.24	0.8098
RESIDUAL SS IGNORING COVARIATES			31149.1	
RESIDUAL SS ADJUSTED FOR COVARIATES			31103.5	
REDUCTION IN SS DUE TO COVARIATES			45.6250	
F TEST FOR COVARIATES			0.06	P < F, 1, 40 > 0.8098

TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS OF COLESTERO BY TRATAMENT

TRATAMENT	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
1	171.27	I
3	146.73	.. I
2	146.64	.. I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE	3.440	REJECTION LEVEL	0.050
CRITICAL VALUE FOR COMPARISON	24.480		
STANDARD ERROR FOR COMPARISON	10.065		

ERROR TERM USED: RESIDUAL, 41 DF

### Apêndice 42. Análise estatística das concentrações plasmáticas de colesterol no dia da confirmação de prenhes

#### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR COLEST2

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	15519.9	7759.93	11.28	0.0004
RESIDUAL	24	16513.9	688.078		
TOTAL	26	32033.7			

#### COVARIATE SUMMARY TABLE

COVARIATE VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P
PESO	-0.10113	0.14642	-0.69	0.4964
RESIDUAL SS IGNORING COVARIATES			16842.1	
RESIDUAL SS ADJUSTED FOR COVARIATES			16513.9	
REDUCTION IN SS DUE TO COVARIATES			328.232	
F TEST FOR COVARIATES	0.48		P (F, 1, 24)	0.4964

### Apêndice 43. Análise estatística das concentrações plasmáticas de progesterona no dia da transferência

#### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR P4

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	39.1295	19.5647	9.80	0.0005
RESIDUAL	33	65.8646	1.99590		
TOTAL	35	104.994			

#### COVARIATE SUMMARY TABLE

COVARIATE VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P
PESO	-0.20574	0.07551	-2.72	0.0102
RESIDUAL SS IGNORING COVARIATES			80.6835	
RESIDUAL SS ADJUSTED FOR COVARIATES			65.8646	
REDUCTION IN SS DUE TO COVARIATES			14.8190	
F TEST FOR COVARIATES	7.42		P (F, 1, 33)	0.0102

#### TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS OF P4 BY TRATAMENT

TRATAMENT	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
1	5.4167	I
3	3.6808	.. I
2	3.6583	.. I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE 3.466 REJECTION LEVEL 0.050  
STANDARD ERRORS AND CRITICAL VALUES OF DIFFERENCES VARY BETWEEN COMPARISONS BECAUSE OF UNEQUAL SAMPLE SIZES.

#### Apêndice 44. Análises estatísticas das concentrações plasmáticas de progesterona no dia da confirmação da prenhes

##### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR P4US

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	18.1920	9.09599	12.64	0.0014
RESIDUAL	11	7.91453	0.71950		
TOTAL	13	26.1065			

##### COVARIATE SUMMARY TABLE

COVARIATE VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P
PESO	-0.01471	0.00647	-2.27	0.0441
RESIDUAL SS IGNORING COVARIATES			11.6293	
RESIDUAL SS ADJUSTED FOR COVARIATES			7.91453	
REDUCTION IN SS DUE TO COVARIATES			3.71476	
F TEST FOR COVARIATES	5.16		P <F, 1, 11>	0.0441

##### TUKEY (HSD) COMPARISON OF MEANS OF P4US BY TRATAMENT

TRATAMENT	MEAN	HOMOGENEOUS GROUPS
1	7.3250	I
2	5.7714	I I
3	4.2750	.. I

THERE ARE 2 GROUPS IN WHICH THE MEANS ARE NOT SIGNIFICANTLY DIFFERENT FROM ONE ANOTHER.

CRITICAL Q VALUE 3.783 REJECTION LEVEL 0.050  
STANDARD ERRORS AND CRITICAL VALUES OF DIFFERENCES VARY BETWEEN COMPARISONS BECAUSE OF UNEQUAL SAMPLE SIZES.

#### Apêndice 45. Análise estatística das concentrações plasmáticas de insulina no dia da transferência

##### ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR INSULIN

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATAMENT (A)	2	17.2693	8.63464	0.58	0.5660
RESIDUAL	40	598.145	14.9536		
TOTAL	42	615.415			

##### COVARIATE SUMMARY TABLE

COVARIATE VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P
PESOTRANS	-0.00269	0.01638	-0.16	0.8703
RESIDUAL SS IGNORING COVARIATES			598.549	
RESIDUAL SS ADJUSTED FOR COVARIATES			598.145	
REDUCTION IN SS DUE TO COVARIATES			0.40353	
F TEST FOR COVARIATES	0.03		P <F, 1, 40>	0.8703

**Apêndice 46. Análise estatística da concentração plasmática de insulina no dia da confirmação da prenhes**

**ANALYSIS OF VARIANCE TABLE FOR INSU2**

SOURCE	DF	SS	MS	F	P
TRATA2 (A)	2	5.23717	2.61858	0.09	0.9158
RESIDUAL	27	801.623	29.6897		
TOTAL	29	806.860			

**COVARIATE SUMMARY TABLE**

COVARIATE VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P
PESOF	-0.02701	0.02848	-0.95	0.3513
RESIDUAL SS IGNORING COVARIATES			828.336	
RESIDUAL SS ADJUSTED FOR COVARIATES			801.623	
REDUCTION IN SS DUE TO COVARIATES			26.7128	
F TEST FOR COVARIATES	0.90		P (F, 1, 27)	0.3513