

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA, PRODUÇÃO E QUALIDADE DE
EMBRIÕES E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE VACAS
SUPLEMENTADAS COM GRÃOS DE LINHAÇA OU CANOLA

Autora: Karina Perekouskei Albuquerque
Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração Produção Animal”

MARINGÁ
Estado do Paraná
janeiro – 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA, PRODUÇÃO E QUALIDADE DE
EMBRIÕES E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE VACAS
SUPLEMENTADAS COM GRÃOS DE LINHAÇA OU CANOLA

Autora: Karina Perehouskei Albuquerque
Orientador: Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado

“Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração Produção Animal”

Maringá
Estado do Paraná
janeiro – 2007

Quem conhece os outros é inteligente,

Quem conhece a si mesmo é sábio,

Quem vence os outros é forte,

Quem vence a si mesmo é poderoso.

Lao-Tsé

À Teresa Perehouskei Albuquerque e João Santos Albuquerque:

Mãe e Pai, a vocês, que me deram a vida e o presente de tê-los como pais;

Que foram o alicerce, o incentivo, a força, a confiança;

A vocês que me ensinaram os valores de uma vida digna, que nunca me permitiram

desistir e desacreditar, por meio de tão valiosos exemplos;

Que fizeram dos meus sonhos, seus sonhos e lutaram incansavelmente para que eu
pudesse conquistá-los;

À Priscila Perehouskei Albuquerque:

Irmã, a você, que é meu exemplo de dedicação, perseverança, força;

Que chorou ao meu lado as derrotas;

Que vibrou as conquistas;

E que acima de tudo foi sempre amiga;

Aos meus avós:

Helena Mendes Perehouskei

Nestor Perehouskei (*in memoriam*)

Iadeviga Glós Albuquerque

José Santos Albuquerque (*in memoriam*)

Que aqui ou em outro plano, torceram, rezaram e hoje se orgulham desta conquista;

Ao Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado:

Inicialmente orientador, hoje também amigo;

Pelos exemplos, incentivo, paciência, dedicação e ensinamentos, mas, especialmente,
pelas grandiosas lições de vida!

Dedico a vocês, a **NOSSA VITÓRIA!!!**

AGRADECIMENTOS

A Deus, início, luz e força.

Ao CNPq Programa Nacional de Desenvolvimento Científico, pela concessão da bolsa;

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia;

Ao Centro Universitário de Maringá (CESUMAR);

Ao Prof. Dr. Ivanor Nunes do Prado, pela orientação constante, pelo exemplo de determinação, por todos esses anos de muita paciência, amizade e compreensão;

Ao Prof. Dr. Luiz Paulo Rigolon, pela co-orientação, pelo carinho, amizade e participação constante na condução deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Elias Nunes Martins, pelas análises estatísticas e conhecimentos passados com muita paciência e compreensão;

Ao Prof. Dr. Orlando Rus Barbosa, pelas idéias enriquecedoras de bioclimatologia, entusiasmo e auxílios;

As Prof^a. Dr^a. Claudete Alcalde e Prof^a. Dr^a. Lúcia Zeoula, pelos ensinamentos;

Ao Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer pelos ensinamentos e auxílios nas análises químicas;

Ao Prof. Dr. Fábio Luiz Bim Cavalieri, pela participação, amizade, incentivo e entusiasmo que nunca faltaram;

Ao Prof. Dr. Luiz Carlos Capovilla, exemplo de profissionalismo, dedicação, e participação durante o trabalho;

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, Antônio, Agamenon, Vicente e Ezupério; Em especial ao José Carlos, amigo querido, que não deixou faltar força, que não viu dificuldades e que por meio do sorriso, fez horas difíceis tornarem-se mais brandas;

As técnicas do Laboratório de Análises de Nutrição Animal, Cleuza, Creuza e Dilma pelo auxílio e carinho;

Ao Alexandre Rodrigues, não somente pelo empréstimo das vacas, mas também pela confiança, amizade, compreensão e paciência, a minha eterna gratidão;

Ao Msc. Vanderlei Scomparin e Livia Macedo, pela amizade, carinho, incentivo e auxílio durante a condução e redação do trabalho;

Ao doutorando Alexandre Lenza, pela força e amizade;

À amiga mestranda Fabíola dos Santos Ramos, pela amizade, carinho e auxílio neste trabalho;

Ao doutorando Roberto Haruyoshi Ito pela amizade e auxílio durante as análises bromatológicas;

Ao doutorando Ricardo Kazama pela amizade, carinho e auxílios;

Aos graduandos em Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Cláudio Roma, Lílian Tesoulin, Polyana Rotta, Juliana Gallo, Rodolpho do Prado, Flávia Lopes, Aline Moura, Vivian Orieni e Aline de Almeida por terem sido sempre compreensivos, solícitos, responsáveis e acima de tudo queridos amigos;

À “Vó” Helena e Sr. Bernardo pela hospedagem e carinho durante trabalho a campo;

Aos animais, que foram a base de tudo, que com um olhar terno suportaram indefesos todos os percalços de um trabalho experimental, meu respeito e gratidão.

A todos aqueles que estiveram presentes através de um abraço apertado, um cafezinho, uma boa risada, uma palavra ou olhar amigo, muito obrigada!!!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Karina Perehouskei Albuquerque, filha de Teresa Perehouskei Albuquerque e João Santos Albuquerque, nasceu em Curitiba, Paraná, no dia 12 de março de 1980.

Em janeiro de 2003, concluiu o curso de graduação em Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em fevereiro de 2003, iniciou o Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, o qual em dezembro de 2004 foi transformado para nível de Doutorado nesta mesma instituição.

No dia 18 de janeiro de 2007, submeteu-se a banca para defesa de Tese.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
Efeito da energia sobre a reprodução.....	2
Energia e crescimento folicular.....	2
Mecanismos de ação do aumento da energia na dieta no crescimento folicular.....	4
Excesso de energia na dieta na qualidade do ovócito e produção de embriões.....	5
Ácidos graxos na alimentação de ruminantes.....	7
Linhaça em grão.....	8
Canola em grão.....	9
Ácidos graxos e transferência de embriões.....	9
Ácidos graxos e a congelabilidade de embriões.....	10
Fatores que interferem na variabilidade da resposta superovulatória.....	12
Fatores intrínsecos.....	12
Raça.....	12
Idade.....	12
População de folículos.....	13
Nutrição.....	13
Fatores extrínsecos.....	13
Hormônio.....	13
Estações do ano.....	14
LITERATURA CITADA.....	14
OBJETIVO GERAL.....	21
Resposta superovulatória, produção e qualidade de embriões de vacas suplementadas com grãos de linhaça ou canola.....	22
Resumo.....	22
Abstract.....	23
Introdução.....	24

Material e métodos.....	25
Resultados e discussão.....	32
Conclusões.....	43
Literatura Citada.....	43
Concentração de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular de vacas suplementadas com linhaça ou canola em grãos.....	47
Resumo.....	47
Abstract.....	48
Introdução.....	49
Material e métodos.....	50
Resultados e discussão.....	55
Conclusões.....	67
Literatura Citada.....	67
CONCLUSÕES GERAIS.....	69

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURA

	Página
Resposta superovulatória, produção e qualidade de embriões de vacas suplementadas com grãos de linhaça ou canola.....	22
Tabela 1. Composição química dos alimentos e das rações experimentais.....	26
Tabela 2. Composição percentual das rações experimentais (% MS).....	27
Tabela 3. Percentual de ácidos graxos das rações experimentais.....	28
Tabela 4. Médias das variáveis ambientais durante o protocolo hormonal e o dia da colheita dos embriões.....	29
Tabela 5. Resposta superovulatória e número de corpos lúteos totais de vacas Nelores alimentadas com linhaça ou canola em grãos.....	33
Tabela 6. Resposta superovulatória e número de corpos lúteos totais de vacas Nelores durante as estações do ano.....	34
Tabela 7. Médias e percentagem de estruturas totais e médias e percentagens de estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis de vacas Nelores alimentadas com linhaça ou canola em grãos.....	36
Tabela 8. Médias e percentagem de estruturas totais e médias e percentagens de estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis em função das estações do ano.....	38
Tabela 9. Efeito da interação entre tratamento x estação do ano para o número total de estruturas produzidas.....	40
Tabela 10. Efeito da interação tratamento x estação do ano sobre o número de estruturas infertilizadas.....	40
Tabela 11. Efeito da interação tratamento x estação do ano sobre o número de embriões degenerados.....	41
Figura 1. Número de animais responsivos a superovulação em relação ao aumento da temperatura retal.....	42
Concentração de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular de vacas suplementadas com linhaça ou canola em grãos.....	47
Tabela 1. Composição química dos alimentos e das rações experimentais.....	51
Tabela 2. Composição percentual das rações experimentais (% MS).....	52
Tabela 3. Percentagem de ácidos graxos das rações experimentais.....	53
Tabela 4. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular do tratamento testemunha (TES).....	56

Tabela 5. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular em função do tratamento linhaça (LIN).....	59
Tabela 6. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular em função do tratamento canola (CAN).....	61
Tabela 6. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo em relação à adição de linhaça ou canola em grãos.....	63
Tabela 7. Percentagem de ácidos graxos no líquido folicular em relação à adição de linhaça ou canola em grãos.....	65

RESUMO

Os objetivos foram avaliar a suplementação com linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6) em grãos e a interferência das estações do ano sobre a produção de embriões e a composição dos ácidos graxos do plasma sanguíneo e no líquido folicular de vacas Nelores. No primeiro trabalho avaliou-se a resposta superovulatória, a produção e qualidade de embriões de vacas Nelore suplementadas com grãos de linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6) e a interferência das estações do ano. O experimento foi composto por quatro estações, nas quais 16 vacas foram distribuídas aleatoriamente e receberam suplementação referente a cada tratamento: TES (testemunha), LIN (linhaça) e CAN (canola). Não houve diferenças ($P>0,15$) para a resposta superovulatória e número total de corpos lúteos em função dos tratamentos. Por outro lado, o número de vacas que responderam a superovulação foi superior ($P<0,15$) no inverno em relação ao verão. Para o número total de corpos lúteos o outono foi superior ($P<0,15$) ao verão. Os tratamentos (TES, LIN e CAN) não diferiram ($P>0,15$) para a média de estruturas totais produzidas (6,20, 4,96 e 6,50), estruturas infertilizadas (2,53, 1,17 e 1,60) ou embriões congeláveis (3,40, 1,30 e 3,80). A média de embriões degenerados foi maior ($P<0,15$) para as vacas do tratamento LIN (2,48) em comparação ao TES (0,32), sendo o CAN intermediário (1,10). Quanto às estações, não houve diferenças para as médias de estruturas infertilizadas (2,00, 1,22, 3,30 e 0,38) e embriões degenerados (2,25, 0,50, 0,63 e 2,00). Todavia, a média de estruturas totais produzidas foi superior ($P<0,15$) para inverno (3,57) e verão (3,50) em relação ao outono (8,75) e intermediária para primavera (3,40). A adição de linhaça ou canola em grãos e as estações não alteraram a resposta superovulatória ou a produção de embriões. Entretanto, a qualidade dos embriões foi inferior com adição de linhaça na alimentação de vacas e durante o verão. No segundo trabalho foram utilizadas 11 vacas Nelores, distribuídas ao acaso, em um

dos tratamentos: TES (testemunha), LIN (linhaça) e CAN (canola), nos quais receberam as referidas rações por 80 dias. Previamente as colheitas as vacas foram submetidas à sincronização estral. Foram colhidos 15 mL de sangue da veia jugular e os folículos iguais ou maiores que 10 mm foram aspirados. No tratamento TES as concentrações foram superiores para os AGs C18:0, C18:2 n-6 ($P<0,20$) e C20:3 n-6 ($P<0,05$) no plasma em relação ao líquido folicular. Da mesma forma, as concentrações foram superiores no plasma para os AGPI (ácidos graxos poliinsaturados $P<0,15$), os AGs da série n-6 ($P<0,21$) e a razão entre AGPI e AGS (ácidos graxos saturados $P<0,17$) e os AGs da série n-6 e n-3 ($P<0,05$). Ao contrário, as concentrações foram inferiores no plasma para o AG C18:1 n-9 ($P<0,07$) e os AGMI ($P<0,08$). No tratamento LIN foram superiores as concentrações dos AG C18:0 ($P<0,05$), C18:2 n-6 ($P<0,06$), AGPI ($P<0,12$), AGs da série n-6 ($P<0,07$) e a razão entre os AGPI e AGS ($P<0,21$) no plasma em comparação ao líquido folicular. Todavia, as concentrações foram inferiores para os AGs C14:0, C16:1 n-7, AGMI ($P<0,05$), C16:0 e C18:1 n-9 ($P<0,06$) no plasma. Para o tratamento CAN, as concentrações foram superiores para os AGs C18:0 ($P<0,05$), AGS ($P<0,07$) e a razão entre os AGs da série n-6 e n-3 no plasma. No entanto, foram inferiores os AGs C20:3 n-6 ($P<0,21$), C22:5 n-3 ($P<0,10$), AGPI ($P<0,09$) e os AGs da série n-3. No plasma sanguíneo em função dos tratamentos, as concentrações do AG C18:1 n-9 e AGMI foram superiores ($P<0,05$) para o tratamento CAN, intermediários para o tratamento LIN e inferiores para o tratamento TES. Os AGs da série n-3 foram superiores ($P<0,10$) para LIN e CAN, enquanto a razão entre os AGs da série n-6 e n-3 foi superior ($P<0,05$) no TES. No líquido folicular, as concentrações dos AG C14:0, C16:0 e AGS foram superiores ($P<0,05$) no tratamento LIN. O AG C16:1 n-7 foi superior ($P<0,05$) para LIN em relação ao TES, sendo o CAN intermediário. O C18:1 n-9 foi superior ($P<0,05$) para LIN em relação a CAN e o TES intermediário. O CAN apresentou concentrações superiores ($P<0,05$) ao TES e LIN para os AGs C18:2n-6, C18:3n-3 e C20:3n-6, C22:5 n-3, AGPI, AGs da série n-6 e n-3 e a razão entre os AGPI e AGS.

Palavras-chaves: ácidos graxos, biohidrogenação, inverno, nelore, reprodução, verão

ABSTRACT

The aims of this study were to evaluate either linseed (n-3) or canola (n-9 and n-6) grains supplementation and the seasons' interference on embryos production and plasma and follicular liquid fatty acids composition of Nellore cows. In the first work it was evaluated the superovulatory response, the embryos production and quality of either linseed (n-3) or canola (n-9 e n-6) supplemented Nellore cows and the year seasons' interference. The experiment was composed by four seasons, in which the cows were randomly allocated and received supplementation according to following treatments: CON (control), LIN (linseed) and CAN (canola). There were no differences ($P>0.05$) to superovulatory response and total number of corpus luteus in relation to treatments. On the other hand, the number of cows that were responsible to superovulation was higher ($P<0.15$) in the winter than in the summer. The total number of corpus luteus during fall was higher ($P<0.15$) than summer. The treatments (CON, LIN and CAN) did not differ ($P>0.15$) to the mean of total structures produced (6.20, 4.96 and 6.50), unfertilized structures (2.53, 1.17 and 1.60) or freezable embryos (3.40, 1.30 and 3.80). The degenerated embryos mean was higher ($P<0.15$) to cows of LIN treatment (2.48) in relation to CON (0.32), while CAN was intermediate (1.10). There were not differences to unfertilized structures (2.00, 1.22, 3.30 and 0.38) and degenerated embryos (2.25, 0.50, 0.63 and 2.00) averages among year seasons. However, the mean of total structures produced was superior ($P<0.15$) to winter (3.57) and summer (3.50) in relation to fall (8.75) and intermediate to spring (3.40). The linseed or canola addiction and the year seasons did not modify the superovulatory response or embryos production. However, the embryos quality was lower when linseed was addicted in the cows feeding, as well as during the summer. In the second work, eleven Nellore cows were randomly distributed in the following treatments: CON

(control), LIN (linseed) and CAN (canola). The cows received the diets for 80 days. Previously to collect, the cows were submitted to estrus synchronization. A total of 15 mL of blood were collected from jugular vein and follicles like or bigger than 10 mm were aspirated. The concentrations of C18:0, C18:2n-6 ($P<0.20$) and C20:3n-6 ($P<0.05$) fatty acids were higher in plasma in relation to follicular liquid in CON treatment. As well as, the PUFA ($P<0.15$) and n-6 ($P<0.21$) concentrations, the PUFA:SFA ratio ($P<0.17$) and the n-6 and n-3 ($P<0.05$) fatty acid in plasma were higher. On the other hand, the C18:1n-9 ($P<0.07$) and MUFA ($P<0.08$) concentrations were lower in plasma. On LIN treatment the C18:0 ($P<0.05$), C18:2n-6 ($P<0.06$), PUFA ($P<0.12$) and n-6 ($P<0.07$) concentrations and MUFA:SFA ratio ($P<0.21$) were higher in plasma than in the follicular liquid. Nevertheless, the C14:0, C16:1n-7, PUFA ($P<0.05$), C16:0 and C18:1n-9 ($P<0.06$) concentrations were lower to plasma. To treatment CAN, the C18:0 ($P<0.05$) and SFA ($P<0.07$) concentrations and the PUFA:SFA and n-6:n-3 ratios ($P<0.06$) were higher on plasma. However, the C20:3n-6 ($P<0.21$), C22:5n-3 ($P<0.10$), PUFA ($P<0.09$) and n-3 concentrations were lower. In relation to treatments, the C18:1n-9 and PUFA concentrations in the plasma were higher ($P<0.05$) to CAN, intermediate to LIN and lower to CON. The n-3 fatty acids were superior ($P<0.10$) to LIN and CAN, while the ratio between n-6 and n-3 fatty acids was superior to ($P<0.05$) CON. On follicular liquid, the C14:0, C16:0 and SFA concentrations were higher ($P<0.05$) to LIN. The C16:1n-7 concentration was higher ($P<0.05$) to LIN than CON, and the CAN was intermediate. The C18:1n-9 concentration was higher ($P<0.05$) to LIN in relation to CAN, and the CON was intermediate. The CAN showed the highest concentrations of C18:2n-6, C18:3n-3, C20:3n-3, PUFA, n-6 and n-3 and the highest PUFA:SFA ratio. The plasma and follicular liquid fatty acids concentrations are not correlated to all fatty acids. The linseed or canola grains addition did not show efficiency to alter the PUFA concentrations in Nellore cows' plasma. Nevertheless, the canola grains addition increased the PUFA concentrations of the follicular liquid.

Key-words: biohydrogenation, fatty acids, Nellore, reproduction, summer, winter

INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro em 2005 atingiu 207,200 milhões de animais, o que representou um aumento de 1,3% em relação a 2004 (IBGE, 2005). O Estado do Paraná, dentro deste contexto, ocupa a sétima posição no *ranking* da pecuária, com um rebanho de aproximadamente 10,400 milhões de cabeças (SEAB/DERAL, 2003). Ainda, o Estado do Paraná, destaca-se por possuir uma pecuária de corte relativamente desenvolvida no aspecto tecnológico, com rebanhos de alto nível genético, em que vários animais destacam-se em importantes exposições nacionais e internacionais (Pessuti & Mezzadri, 2004).

A reprodução de bovinos passa atualmente por mudanças e inovações biotecnológicas importantes que advêm da associação dos interesses da ciência e de produtores, em especial, os que exploram o rebanho de elite. Ainda, a pecuária desenvolvida já não concebe a idéia de sistemas de criação sem a disponibilidade da inseminação artificial ou mesmo a transferência de embriões.

Os investimentos na biotecnologia em produção animal no Brasil são respaldados por dois principais fatores: o primeiro, é que o Brasil ainda lidera como um dos países com maior biodiversidade e o segundo, é que o mercado interno por carne e leite é o terceiro maior mercado potencial do mundo (Rumpf et al., 2003). Ainda, segundo os mesmos autores, as biotecnologias mais inovadoras também estão inclusas na busca incessante de manutenção e propagação de animais de produção e, mais intensamente em animais geneticamente superiores.

Segundo dados da IETS (Sociedade Internacional de Transferência de Embriões) o Brasil em 2002, realizou aproximadamente 12.000 colheita em que 110.000 embriões foram inovulados (Thibier, 2003). O mesmo autor sugere que devido a algumas falhas na comunicação dos embriões inovulados ocorrem, subestimando os dados.

Destacando a técnica de transferência de embriões (TE) diversos pesquisadores estudam novas tecnologias para melhorar os resultados utilizando a TE. Entre os trabalhos podemos enfatizar a manipulação da dieta de vacas doadoras (Cavalieri et al.,1998; Petit, 2002; Muller, 2003; Cavalieri 2005a; Cavalieri 2005b; Capovilla et al., 2006).

A grande variação na resposta superovulatória dos animais doadores é um dos maiores problemas relacionados à transferência de embriões (Boland et al., 1991). Todavia, esta variação na resposta superovulatória pode estar relacionada à população de folículos responsivos para as gonadotropinas, no período da superovulação (Gong et al.,1997).

A importância da nutrição para o sucesso reprodutivo é bem conhecida e dentre os fatores nutricionais podem se destacar: o nível de proteína bruta na dieta (Garcia - Bajalil et al.,1994); o nível de vitamina A (Shaw et al.,1995); concentração de gordura (Thomas et al.,1997) e energia da dieta (Gutiérrez et al.,1997).

Efeito da energia sobre a reprodução

Energia e crescimento folicular

O desenvolvimento folicular em vacas ocorre em ondas. Uma onda de crescimento folicular é definida como o desenvolvimento sincrônico de vários folículos em ambos os ovários, que, normalmente, ocorre em duas ou três vezes durante um ciclo estral completo. A cada onda de crescimento folicular ocorre o desenvolvimento de um folículo dominante que pode tornar-se ovulatório, caso ocorra uma luteólise (Santos & Amstalden, 1998).

O aumento de energia na dieta em curto prazo tem mostrado alterar o recrutamento de folículos, isto tanto em ovinos, quanto bovinos (Maurasse et al.,1985).

Em ovinos, muitos autores têm atribuído um efeito positivo ao aumento do aporte energético da dieta por um curto período de tempo, sobre a taxa de ovulação. Nestes animais, o efeito da nutrição tem dois componentes: estático e dinâmico, sendo que o primeiro está relacionado ao efeito positivo do peso e condição corporal na taxa de ovulação, e o segundo, ao efeito imediato do nutriente, associado à taxa de absorção de glicose e aminoácidos (Molle et al.,1995).

Em relação ao crescimento folicular, Haresign (1981), verificou-se um aumento no número de folículos medindo 2-3 mm de diâmetro de 0 a 48 horas após o estro, ao

suplementarem as ovelhas com uma ou duas vezes o nível de manutenção durante um ciclo estral. Entretanto, este aumento no crescimento folicular é independente da condição corporal e sem alteração nas concentrações basais de FSH (hormônio folículo estimulante) e LH (hormônio luteinizante) (Dowing et al., 1991).

Em bovinos, apesar de serem espécies mono-ovulatórias, parece ter efeitos semelhantes do *flushing* no crescimento folicular, como observado em ovinos. Maurasse et al. (1985) trabalharam com 16 novilhas mestiças alimentadas com feno de média qualidade (2,18 Mcal de ED/kg de MS), ou o mesmo feno, mais uma mistura concentrada com 3,03 Mcal de ED/kg de MS do início do cio até o abate, do 12º ou 16º dias do ciclo estral. Os autores verificaram que o aumento de energia em curto prazo na dieta elevou o *pool* de folículos medindo 0,29 até 0,67 e 0,68 até 1,57 mm, sugerindo que o aumento de energia pode alterar a taxa de crescimento e o *turnover* dos folículos ovarianos.

Gutiérrez et al. (1997), ao trabalharem com 28 novilhas Hereford-Frisian, com 2 ou 3 anos de idade, divididas em 4 tratamentos: 100% das exigências de manutenção; 200% das exigências de manutenção em 2 refeições diárias; 200% das exigências de manutenção em 6 refeições diárias e restrição alimentar por um curto período de tempo observaram que os animais alimentados com 200% das exigências de manutenção aumentaram o número de folículos pequenos (< 4 mm) em torno de 37%.

Todavia, em animais Nelore, Rigolon et al. (2003), não observaram ($P>0,05$) diferenças entre os níveis de ingestão de matéria seca (IMS) de 1,2%, 1,6% ou 2,6% do peso corporal sobre a resposta superovulatória, número de corpos lúteos, produção e qualidade de embriões, tanto em vacas como novilhas.

Gong et al. (1997) afirmaram que o número de folículos responsivos às gonadotrofinas no início do tratamento hormonal parece ser um dos principais fatores que afeta a resposta superovulatória e produção de embriões.

Cavalieri et al. (2000), também não observaram efeito na resposta superovulatória quando aumentaram a quantidade de grãos (*flushing*) na dieta 10 dias antes da superovulação até a coleta dos embriões em vacas da raça Holandesa. Parece que o aumento no número de folículos pelo maior consumo de energia, tanto em ovinos quanto em bovinos não superovulados (Leury et al., 1990; Molle et al., 1995; Gutiérrez et al., 1997), não se repetiria em animais superovulados (Rigolon et al., 2003).

Assim, o aporte nutricional, em curto período, poderia alterar a dinâmica folicular podendo estar associado ao aumento da insulina. Em contra partida, o aumento

no crescimento folicular poderia melhorar a resposta superovulatória e a produção de embriões (Gutiérrez et al.,1997).

Mecanismo de ação do aumento da energia na dieta no crescimento folicular

O aumento no recrutamento folicular parece ser mediado por alterações nas concentrações sanguíneas de glicose, insulina, GH e IGF-I, os quais são importantes mediadores entre a nutrição e reprodução animal (Gutiérrez et al.,1997).

O fornecimento de grãos para ruminantes altera a população de microrganismos, bem como a produção e a proporção dos ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen, favorecendo a produção de ácido propiônico (Nussio et al., 2006). O ácido propiônico, depois de absorvido pela parede ruminal, é conduzido ao fígado e metabolizado até glicose através da gluconeogênese (O'Callaghan & Boland,1999), podendo elevar o nível de glicose circulante (Leury et al.,1990) e, por sua vez, o nível de insulina sanguínea (Gutiérrez et al.,1997).

Spicer & Echternkamp (1995) afirmaram que a insulina e o IGF-I estimulam a proliferação e diferenciação das células da granulosa e a produção de progesterona, concluindo que ambos atuam como promotores do crescimento folicular, especialmente em bovinos e suínos (Monget & Monniaux, 1995).

Segundo Weeb & Armstrong (1998), o GH, IGF-I e insulina podem regular a foliculogênese, aumentando o pool de folículos responsivos ou dependentes de gonadotropinas hipofisárias ou, de alguma forma, diminuindo o mecanismo de atresia folicular (Dowing et al.,1991). Ainda, o IGF-I atua aumentando os efeitos do FSH no crescimento folicular, pelo aumento da afinidade dos receptores de FSH nas células da granulosa (Adashi, 1992).

De acordo com Yaakub et al. (1999), o status nutricional do animal é o maior fator que controla a concentração de IGF-I na circulação.

O aumento no número de folículos, mediados por tratamentos nutricionais, pode ser interessante nos programas de transferência de embriões. Entretanto, pode existir um efeito da superovulação no número de folículos, frente aos tratamentos nutricionais, como demonstrado por Yaakub et al. (1997a), os quais encontraram diferença ($P < 0,05$) no número de folículos > 3 mm em ovelhas alimentadas com uma dieta representando 100% ($2,4 \pm 0,3$) ou 200% ($3,5 \pm 0,3$) das exigências diárias de manutenção durante 28

dias. No entanto, este efeito não foi verificado nos animais superovulados alimentados com 100% ($12,0 \pm 2,6$) ou 200% ($12,3 \pm 1,4$) vezes a manutenção.

Excesso de energia na dieta na qualidade do ovócito e produção de embriões

A energia da dieta assim como outros nutrientes são de suma importância no desenvolvimento do embrião. A formação do blastocisto é um processo importante no crescimento embrionário, e a blastocela é formada através do transporte de fluidos pelo trofotoderma, sendo este processo facilitado por uma enzima denominada ATPase de Na/K (O'Callaghan & Boland, 1999). Wrenzycki et al. (1999) mostraram que a energia na dieta altera a quantidade relativa de RNAm para ATPase de Na/K em diferentes pontos do desenvolvimento embrionário, demonstrando o efeito da nutrição em nível molecular no crescimento e qualidade do embrião.

No entanto, o excesso de energia na dieta, próximo da ovulação, fecundação e desenvolvimento embrionário influencia negativamente a qualidade do ovócito, taxa de gestação e a produção de embriões, por um mecanismo ainda desconhecido (Yaakub et al., 1999; Boland et al., 2001). Dunne et al. (1997) verificaram que o elevado nível energético da dieta durante o período pré-ovulatório foi prejudicial à sobrevivência dos embriões, o que poderia estar relacionado com o aumento no nível de glicose circulante (Yaakub et al., 1997b; O'Callaghan & Boland, 1999).

Ainda, Yaakub et al. (1999) demonstraram que o tipo e o nível de concentrado podem afetar a produção de embriões em novilhas de corte, uma vez que as novilhas que foram alimentadas com dieta restrita (3 kg concentrado) produziram mais embriões do que aquelas em que a dieta era fornecida *ad libitum*, assim também as novilhas alimentadas com polpa de citrus e polpa de beterraba produziram mais embriões do que aquelas alimentadas com cevada. Estes autores obtiveram uma menor produção de embriões transferíveis no segundo grupo (*ad libitum*) ($2,8 \pm 0,4$), quando comparado aos animais alimentados com 3 kg de concentrado/dia ($4,8 \pm 0,7$).

Segundo Moley et al. (1996), trabalhos com humanos têm mostrado que as mulheres diabéticas apresentam alta incidência de morte embrionária precoce, que pode ser causada pela alta concentração de glicose sanguínea.

Em sistemas de produção de embriões *in vitro*, quando o nível de glicose no meio encontra-se superior àquele encontrado *in vivo*, o desenvolvimento embrionário

precoce é retardado ou até mesmo bloqueado (Thompson, 1999). Nesta fase embrionária inicial, a principal fonte de energia provém do piruvato e lactato, sendo a fosforilação oxidativa a principal fonte de produção de ATP nestes embriões.

Moley et al. (1996) verificaram que ao cultivar embriões de camundongos com altas concentrações de glicose no meio, houve aumento na via do sorbitol, o qual causa um aumento na proporção citoplasmática de NADH/NAD⁺, inibindo enzimas do ciclo de Krebs, podendo atrasar o desenvolvimento embrionário.

Além do ambiente uterino o efeito do excesso de energia pode também afetar a qualidade do ovócito, como observado por Nolan et al. (1998), ao trabalharem com 36 novilhas de 18 - 20 meses de idade, em um esquema fatorial 2 x 2, ou seja, dieta com baixa ou alta energia e punção folicular uma ou duas vezes por semana. As novilhas foram alimentadas durante 4 semanas e as que receberam dieta com alta energia (7 kg de concentrado/dia mais feno *ad libitum*) apresentaram um maior número de folículos aspirados por coleta, mesmo número de ovócitos. No entanto, menor taxa de clivagem e de produção de blastocisto após cultivo *in vitro*, comparado aos animais alimentados com baixa energia na dieta (1 kg de concentrado/dia + 3 kg de feno/dia).

Como mencionado o aumento de energia na dieta estimula o crescimento folicular (Maurasse et al., 1985; Gutiérrez et al., 1997; Nolan et al., 1998), o que seria determinante para a superovulação. Por outro lado, esse aumento de energia poderia estar prejudicando a qualidade do ovócito ou o desenvolvimento embrionário (McEvoy et al., 1997; Yakuub et al., 1997b; Yaakub et al., 1999).

Outro mecanismo pelo qual o excesso de energia afeta a produção de embriões é através da concentração sanguínea de progesterona. Este efeito foi observado por Nolan et al. (1998) em trabalho com bovinos, os quais observaram uma diminuição na concentração de progesterona em novilhas alimentadas com alta energia próxima a superovulação. Este resultado pode estar associado ao aumento no fluxo sanguíneo hepático, e conseqüentemente, maior passagem de progesterona pelo fígado, aumentando o catabolismo da mesma, ou também, através de um aumento das oxidases hepáticas e/ou a massa do fígado (Aswhort, 1995; McEvoy et al., 1997). Além do mais, a concentração circulante de progesterona modifica a quantidade e a composição dos polipeptídeos secretados pelo endométrio, muitos dos quais responsáveis pelo desenvolvimento do embrião (Aswhort, 1995).

Ácidos graxos na alimentação de ruminantes

Os ácidos graxos são considerados ácidos orgânicos que possuem de 4 a 24 átomos de carbono e um único grupo carboxílico (Bondi, 1988). A estrutura dos ácidos graxos, ou seja, o comprimento da cadeia, o número de duplas ligações e o tipo de isômero formado em cada dupla ligação determina sua função biológica (Mattos et al., 2000). Quanto à presença da dupla ligação, os ácidos graxos podem ser saturados (não apresentam dupla ligação), ou insaturados (apresentam uma ou mais duplas ligações) (Mattos et al., 2000).

Os ácidos graxos presentes nos animais vertebrados são obtidos a partir da síntese *de novo* do acetato ou absorvidos via intestinal através da dieta. O produto final da síntese dos ácidos graxos é o ácido palmítico (C16:0) o qual pode ser alongado para ácido esteárico (C18:0) . Todavia, as membranas das células animais necessitam de ácidos graxos insaturados para manter sua estrutura, fluidicidade e função (Miles & Calder, 1998). Desta forma, animais e plantas têm plenas condições de adicionar uma dupla ligação no carbono 9, pela enzima $\Delta 9$ dessaturase, transformando o ácido esteárico (C18:0) em ácido oléico (C18:1) (Lehninger, 1995).

O ambiente ruminal é responsável por algumas transformações nos lipídeos da dieta, alterando com isso sua composição e o perfil de ácidos graxos que chega ao duodeno sendo que essas alterações são decorrentes, principalmente, dos processos de lipólise e de biohidrogenação (Oliveira et al., 2004).

A lipólise corresponde ao início do processo de metabolismo dos lipídeos no rúmen, sendo imprescindível para que ocorra a biohidrogenação (Harfoot & Hazlewood, 1997). Segundo Church (1998) nem todas as bactérias possuem atividade lipolítica, o mesmo acontecendo com os protozoários do rúmen.

O produto final da hidrólise é ácidos graxos livres (Tamminga & Doreau, 1991), galactose e glicerol os quais são rapidamente metabolizado até ácidos graxos voláteis. Kemp e Lander (1984) classificaram as bactérias em dois grupos baseados nas reações e produtos finais da biohidrogenação. O grupo A são bactérias que primeiro isomerizam ácido linoléico (C18:2 cis 9 cis12) a C18:2 cis9 trans12 (Ácido linoléico conjugado - CLA) e posteriormente biohidrogeniza o mesmo até o C18:1 trans 11, sendo este o produto final. O grupo B são as bactérias que utilizam o C18:1 trans 11 como um dos principais substratos, sendo o ácido esteárico (C18:0) o produto final (Modesto et al., 2002).

A extensão da lipólise é dependente também da natureza do lipídeo da dieta, sendo que óleos de plantas assim como óleo de linhaça são quase que completamente hidrolisados (em torno de 90%) enquanto que óleos de origem animal, como exemplo o óleo de peixe, tendem a ser menos hidrolisados (em torno de 50%) (Church, 1998).

Menos do que 10% dos ácidos graxos poliinsaturados escapam da biohidrogenação no rúmen, de tal forma que os produtos da digestão que chegam no intestino delgado, são basicamente, ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico), pequenas quantidades de ácidos graxos monoinsaturados, poliinsaturados e lipídeos microbianos (Oliveira et al., 2004).

Assim, devido ao processo de hidrogenação os ácidos graxos têm suas cadeias alteradas e são absorvidos na forma de outros ácidos graxos, diferentes na sua maioria daqueles que foram fornecidos na dieta. Ainda, Santos & Almstandem (1998) afirmaram que a gordura na dieta pode cobrir as partículas dos alimentos e inibir a colonização e digestão dos carboidratos, sendo que os ruminantes em geral não podem tolerar níveis acima de 7% de gordura na dieta (com base na matéria seca), sem problemas de consumo, digestibilidade e produção de leite.

Existem várias fontes de gordura que podem ser utilizadas na dieta de ruminantes. Estas se estendem desde o óleo de soja até gorduras de origem vegetal ou de animal protegidas comercialmente (Hightshoe et al., 1991), semente de linhaça e canola tratadas com formaldeído (Petit, 2003) e sementes inteiras de oleaginosas (Talavera et al., 1985; Williams, 1989), fontes protegidas naturalmente.

As sementes de oleaginosas são bastante utilizadas pelas altas concentrações de lipídios e por apresentarem características interessantes com relação à taxa de liberação do óleo. Este é liberado à medida que o animal vai consumindo através da mastigação, chegando em pequenas frações no ambiente ruminal (Coppock & Wilks, 1991).

Linhaça em grãos

Além destas características, as sementes de oleaginosas, em especial a semente de linho (*Linum usitatissimum*), possuem uma característica importante por proporcionar uma mistura de proteína (23,5%), fibra (13,3%) e gordura (37,4%) (Romans et al., 1995a). A semente de linho também possui uma excelente composição de ácidos graxos, rica em ômega-3 (52%) (Romans et al., 1995b). No entanto, devido a baixa disponibilidade e, por conseqüência preço elevado no Brasil, existe a dificuldade

na realização de trabalhos utilizando esta semente na suplementação de gordura para ruminantes.

Canola em grãos

A semente de canola (*Brassica napus L.*) recebeu este nome devido à sigla canadense canadian oil low acid, pois esta é uma variedade geneticamente modificada da colza, diferenciando-se desta por conter uma porcentagem inferior a dois em ácido erúico, do total de ácidos graxos e, menos que 3 mg/g de matéria seca em glicosinolatos. Além disso, a sua produção é favorecida por ser uma cultura de inverno, não competindo com as culturas tradicionais de verão, como a soja e o milho. Esta semente possui alto teor em lipídios (30% a 50% de extrato etéreo e 23% a 25% de proteína bruta) (Bett et al., 1999). Os lipídios são compostos por 63% de oléico, 20% de linoléico, 8,6% de linolênico e somente 4,7% de palmítico (Downey, 2000).

Os ácidos graxos, transferência de embriões e taxa de gestação

Com o objetivo de avaliar o número de folículos aptos a responder ao tratamento superovulatório e o número e qualidade de embriões produzidos, Ryan et al. (1992), forneceram dieta sem suplementação ou com suplementação de 5,40% de óleo de soja para 55 novilhas. Os autores observaram que aquelas que receberam a suplementação apresentaram aumento no número de folículos médios, aumento na concentração de colesterol total e progesterona do líquido folicular, porém não observaram variações para resposta superovulatória e o número e qualidade dos embriões produzidos. Todavia, afirmaram que a presença de um folículo dominante no 6º dia do ciclo estral, pode ter suprimido o crescimento dos folículos mediante a superovulação.

Thomas & Willians (1996) tentaram diminuir o efeito do folículo dominante, puncionando o mesmo quatro dias após o estro. Os autores trabalharam com 21 novilhas mestiças de 18 a 20 meses de idades alimentadas com três dietas: uma controle e outras duas suplementadas com óleo de soja (insaturado) ou gordura animal (saturado), por um período de 35 a 40 dias. Após 20 dias de tratamentos, os animais foram sincronizados com prostaglandina e a população folicular foi monitorada com ultra-som via retal por 4 dias, sendo que no quarto dias após o estro o folículo dominante foi aspirado e as novilhas foram tratadas com FSH para induzir a superovulação. Os autores concluíram que os animais alimentados com gordura animal e óleo de soja aumentaram o número

de folículos médios e a concentração sanguínea de GH em relação à dieta controle, mas não houve efeito na produção de embriões.

Pode-se verificar que a alteração na dinâmica folicular com a utilização na dieta de ácidos graxos poliinsaturados é acompanhada de mudança nas concentrações sanguíneas de insulina, colesterol, GH e nas concentrações intrafoliculares de IGF-I e HDL-colesterol (Ryan et al.,1992; Thomas et al.,1997). De acordo com Spicer e Echterkamp (1995) a insulina e IGF-I exercem um efeito mitogênico e esteroidogênico nas células da granulosa. Moniaux et al. (1997) em sua revisão, também afirmam que o IGF-I atua como um amplificador dos receptores de FSH nas células da granulosa potencializando a ação do FSH. Todavia, Kweon et al. (1986) observaram que a concentração de colesterol total maior que 90 mg/dL em novilhas e maior que 130 mg/dL em vacas pode ser correlacionada positivamente com número de embriões coletados. No entanto, Solti et al. (1996) verificaram que novilhas que responderam a superovulação (> 03 corpos lúteos) apresentavam menor concentração de colesterol total e HDL-colesterol no momento da superovulação e coleta quando comparado aos animais que não responderam a superovulação (< 02 corpos lúteos).

Ainda, em recente trabalho, Ambrose et al. (2006) observaram maiores taxas de gestação, por meio de inseminação artificial, em vacas alimentadas com linhaça em grãos comparadas com aquelas tratadas com semente de girassol. Os mesmos autores observaram também o aumento no folículo ovulatório ao adicionar linhaça em grãos na dieta.

Petit (2002) sugere que o fornecimento de ácidos graxos n-3 na dieta de vacas doadoras poderia aumentar o perfil deste ácido graxo na circulação. Ainda, poderia aumentar a quantidade de ácidos graxos da série n-3 na membrana das células embrionárias, e desta forma auxiliar na diminuição das injúrias causadas pelos crioprotetores durante o processo de congelamento (McEvoy et al., 2000). Desta forma, segundo Reichenbach et al. (2002), a redução das injúrias durante o processo de congelamento acarretaria no aumento da taxa de gestação de embriões congelados.

Ácidos graxos e a congelabilidade de embriões

Em observações de campo, a taxa de prenhez de embriões congelados oriundos de fêmeas da raça Nelore é inferior e inconsistente quando comparado com raças européias como Holandesa e Red Angus. De maneira geral, a taxa de gestação de

embriões a fresco é sempre superior a embriões congelados. Isto está diretamente relacionado com as lesões celulares ocorridas durante o processo de congelação do embrião (Reichenbach et al., 2002).

O princípio da criopreservação é proteger as células contra os danos decorrentes da formação de gelo intracelular e do aumento da concentração de sais (efeito da solução) que ocorrem, respectivamente, durante os processos de congelação e de descongelação dos embriões (Visintin, 1996). As membranas celulares parecem ser o principal local a ser lesado no processo de resfriamento dos embriões. Segundo Zeron et al. (2002) a fluidez da membrana determina a concentração de lesão a ser causada na mesma durante o processo de congelação do embrião.

Stubbs & Smith (1984) também observaram que um aumento na fluidez da membrana está diretamente correlacionado com a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados presentes na membrana plasmáticas das células a serem congeladas.

Arav et al. (2000) observaram um aumento na resistência dos espermatozoides de carneiros ao aumentar a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados na membrana plasmática do mesmo, sugerindo uma relação íntima entre o perfil de ácidos graxos da membrana e a suscetibilidade dos gametas dos animais domésticos ao congelamento. Isto também foi observado por Imai et al. (1997), que inseriram 1 mg/mL de ácido linoléico no meio de cultivo dos embriões bovinos *in vitro* e verificaram um aumento de 28% na taxa de sobrevivência embrionária pós-descongelamento quando comparado aos embriões que não receberam ácido linoléico no meio de cultivo.

Seus resultados assemelham-se com Vam Soom et al. (2001), que observaram um aumento na resistência dos embriões bovinos ao congelamento ao alterar o conteúdo de lipídeos do meio de cultivo dos embriões.

Mattos et al. (2000) relataram ainda que a fonte de gordura da dieta dos animais pode alterar o perfil de ácidos graxos das membranas plasmáticas das células.

Foram observados por Cavalieri et al. (2005a) ao trabalharem com novilhas receptoras da raça Holandesa divididas em dois tratamentos: T1 – Megalac® (Volac ltd., Roston, Hertfordshire, UK) e T2 – Linhaça em grãos, que receberam embriões congelados de vacas alimentadas com linhaça ou Megalac® não houve diferença ($P > 0,05$) entre tratamentos para a taxa de gestação das novilhas receptoras. No entanto, os autores observaram que as novilhas que receberam embriões das vacas alimentadas com linhaça apresentaram ($P < 0,05$) aumento na taxa de gestação, sugerindo que embriões colhidos e congelados de doadoras suplementadas com linhaça em grãos

podem ser mais resistentes ao processo de congelação, em relação os embriões daquelas suplementadas com Megalac®.

Por outro lado, quanto ao aumento ou melhora na qualidade de embriões de vacas holandesas, Cavalieri et al. (2005b), observaram que a alteração do perfil de ácidos graxos da dieta pela adição de linhaça em grão ou Megalac®, não alterou ($P>0,05$) a qualidade e quantidade de embriões produzidos.

Fatores que interferem na variabilidade da resposta superovulatória

O número de embriões a serem coletados não pode ser determinado com precisão, uma vez que os tratamentos disponíveis para a superovulação provocam respostas variadas (Donaldson, 1984). A média de embriões transferíveis mascara uma variabilidade com extremos entre 0 e superior a 50 embriões (Hasler, 1992).

Esta variabilidade é um dos principais desafios na transferência de embriões (Boland et al., 1991). Diversos são os fatores que influenciam a resposta superovulatória e conseqüentemente a produção de embriões.

Os fatores que interferem na resposta superovulatória podem ser divididos em fatores intrínsecos e extrínsecos ao animal (Breuel, et al. 1991; Armstrong, 1993; Kafi & McGowan, 1997).

Fatores intrínsecos

Raça

A produção de embriões para animais *Bos taurus* apresenta diferenças entre as raças, como observado por Donaldson (1984). O autor obteve trabalhando com vacas *Bos taurus* média de 11,10 estruturas, sendo 5,30 embriões transferíveis em média.

Em vacas *Bos indicus*, o autor obteve média de 9,20 estruturas totais e 3,40 embriões transferíveis, sendo que ambas as espécies foram superovuladas com FSH (Hormônio Folículo Estimulante).

Por outro lado, outros trabalhos demonstram produções superiores às observadas por Donaldson (1984). Ao trabalhar com vacas *Bos indicus*, Gradela et al. (1996) obtiveram para vacas doadoras da raça Nelore 10,30 estruturas totais, sendo 5,20 transferíveis. Tais resultados podem ser reflexos do intenso processo de seleção na raça Nelore.

Idade

É comum encontrar alguns criadores que desejam aproveitar a genética de vacas

senis de forma mais eficiente e numerosa. Para tanto, recorrem à técnica da colheita de embriões. No entanto, alguns trabalhos demonstram que vacas senis respondem menos aos tratamentos superovulatórios, produzindo número inferior de embriões (Garcia-Winder et al. 1988; Hasler, 1992).

Por sua vez, Breuel et al. (1991) trabalhando com doadoras da raça Angus e que demonstram que a resposta superovulatória pode variar entre as raças, podendo ser a raça mais importante na resposta superovulatória do que a idade das doadoras. Lerner et al. (1986) e Hasler (1992) trabalhando com vacas Holandesas também não observaram alterações causadas pela idade das doadoras, dosagem de FSH ou sua interação nas raças.

População de folículos

Segundo Monniaux et al. (1983) o número de folículos pequenos e médios no início da superovulação parece estar associado ao aumento na resposta superovulatória e com a diminuição da variabilidade da resposta superovulatória. Por sua vez, Manik et al. (1998) sugeriram que o número de folículos passa por mudanças dinâmicas durante a superovulação e que a população folicular no momento da superovulação teve aplicações limitadas como indicador da resposta superovulatória.

Nutrição

Como descrito anteriormente, é sabido que a nutrição afeta diretamente a reprodução. Rigolon et al. (2003) observaram aumento na resposta superovulatória em vacas ao aumentar o nível energético da dieta. De acordo com Weeb & Armstrong (1998), a nutrição pode influenciar o número de folículos antrais menores de 4 mm de diâmetro, sem alteração nas concentrações de gonadotropinas circulantes, sendo que, tais folículos parecem ser completamente funcionais, respondendo ao tratamento superovulatório. No entanto, Boland et al. (2001) observaram que o excesso de energia provocou um efeito negativo no desenvolvimento do embrião.

Fatores extrínsecos

Hormônio

O hormônio comumente utilizado nos tratamentos para indução da superovulação é derivado da pituitária de suínos ou ovinos, podendo ser utilizado também o eCG (Gonadotropina Coriônica Equina). De maneira geral, as melhores

respostas são obtidas com FSH (Hormônio Folículo Estimulante) comparado ao eCG (Boland et al. 1991). Isto, segundo o mesmo autor, pode estar associado à diferença atribuída a longa meia-vida do eCG e a ação luteinizante desse hormônio, o que resultaria em uma luteinização prematura ou mesmo a ovulação do folículo.

Além disso, de acordo com Kanitz et al. (1996) altas doses de FSH podem suprimir a ovulação. Os autores observaram que à medida que a dose de FSH foi aumentada, alcançou-se um platô, ocorrendo redução da resposta superovulatória em um nível excedente de FSH.

Estações do ano

As ações da estação do ano sobre a reprodução apresentam dados contraditórios. Em vacas Holandesas, Lerner et al. (1986) observaram maior número de estruturas totais e embriões transferíveis na primavera quando comparado com as demais estações. Em vacas *Bos indicus*, Bastidas & Randel (1987) e Totey et al. (1991) observaram para vacas Brahman, que as estruturas totais e embriões transferíveis foram menores durante colheita no inverno. No entanto, Basile et al. (1998) não observaram influência das estações sobre a resposta superovulatória em vacas Holandesas.

Literatura Citada

- ADASHI, E.Y. Intraovarian regulation: the IGF-I example. **Reproduction Fertility Development**, v.4, p.497-504, 1992.
- AMBROSE, D.J.; KASTELIC, J.P.; CORBETT, R. et al. Lower pregnancy losses in lactating dairy cows fed a diet enriched in α -linolenic acid. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3066-3074, 2006.
- ARAV, A.; PEARL, M.; ZERON, Y. Does lipid profile explain chilling sensitivity and membrane lipis phase transition of espermatozoa and oocytes. **Cryo Letters**, v.21, n.3, p.179-186, 2000.
- ARMSTRONG, D.T. Recent advances in superovulation of cattle. **Theriogenology**, v.39, p.7-23, 1993
- ASWORTH, C.J. Maternal and conceptus factors affecting historophic nutrition and survival of embryos. **Livestok Production Science**, v.44, p.99-105, 1995.
- BASILE, J.R.; CHEBEL, R.J.; BASILE, L.F. Efeito da época do ano na transferência de embriões em vacas holandesas superovuladas com PMSG. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.6, p.257-259, 1998.
- BASTIDAS, P.R.; RANDEL, R.D. Seasonal effects on embryo transfer results in Brahman cows. **Theriogenology**, v.28, p.531-540, 1987.

- BETT, V.; SANTOS, G.T.; AROEIRA, L.J.M. et al. Digestibilidade *in vivo* de cordeiros alimentados com canola em grão integral em diferentes formas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999. Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, [1999] CR-ROM. Nutrição de Ruminantes.
- BOLAND, M.P.; GOULDING, D.; ROCHE, J.F. Alternative gonadotrophins for super ovulation in cattle. **Theriogenology**, v.35, p.5-17, 1991.
- BOLAND, M.P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. **Theriogenology**, v.55, p.1323-1340, 2001.
- BONDI, A.A. **Nutricion animal**. 1.ed. Zaragoza: Acribia, 1988. 546p.
- BREUEL, K.F.; BAKER, R.D.; BUTCHER, R.L. et al. Effects of breed, age of donnor and dosage of follicle stimulating hormone on superovulatory response of beef cows. **Theriogenology**, v.36, p.241-255, 1991.
- CAPOVILLA, L.C.T; RIGOLON, L.P.; CAVALIERI, F.L.B. et al. Superovulação e viabilidade de embriões de ovelhas santa Inês alimentadas com ácidos gaxos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.4, n.3, p.32-47, 2006.
- CAVALIERI, F.L.B.; RIGOLON, L.P., Efeito do nível de suplementação energética e protéica na resposta superovulatória em ovelhas da raça Corriedale. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1998. p. 202-204.
- CAVALIERI, F.L.B.; PEIXER, M.A.S.; PEREIRA, D.C. et al. Efeito do *flushing* nutricional associado ou não ao BST no crescimento folicular e produção de embriões em vacas das raças Simental e Blonde D'Aquitaine. In: ARQUIVOS DA FACULDADE DE VETERINÁRIA UFRGS, 28., 2000, Rio Quente. **Anais...** Rio Quente: Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2000. p.235.
- CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; PETIT, H. et al. Taxa de gestação de novilhas alimentadas com duas fontes de gordura (Megalac® ou linhaça em grão) na dieta recebendo embriões congelados de vacas leiteiras alimentadas com LAC-100 ou linhaça em grão. **Acta Scientiae Veterinariae** (Suplemento 1) n. 33 p.216, 2005a.
- CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; PETIT, H. et al. Efeito de duas fontes de gordura (Megalac® ou linhaça em grão) na dieta na produção de embriões em vacas leiteiras da raça Holandesa. **Acta Scientiae Veterinariae** (Suplemento 1) n. 33 p.217, 2005b.
- CHURCH, D.C. **El ruminant: fisiologia digestive y nutrición**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1998. p.630.
- COPPOCK, C.E.; WILKS, D.L. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3826-3837, 1991.
- DONALDSON, L.E. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. **Theriogenology**, v.21, p.1013-1018, 1984.
- DOWING, J.A.; SCARAMUZI, R.J.; LAMMING, G.E. et al. Nutrientes effect on ovulation rate, ovarian function and secretion of gonadotrophic and metabolic

- hormones in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.43, n.1, p.209-227, 1991.
- DOWNEY, R.K. Canola: a quality brassica oilseed, 10/11/2000, < http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings_03/02/2006.
- DUNNE, L.D.; DISKIN, M.G.; BOLAND, K.J. et al. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on early embryo survival in cattle. *Proceedure Brithisty Society Animal Science*, v. 36, p.35, 1997.
- GARCIA-BAJALIL, C.M.; STAPLES, C.R.; THACTHER, W.W. et al, Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.2573-2548, 1994.
- GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P.E.; BRYNER, R.W. et al. Effect of age and norgestomet on endocrine parameters and production of embryos in superovulated beef cows. **Journal of Animal Science**, v.66, p.1974-1981, 1988.
- GONG, J.G.; BAXTER, G.; BRAMLEY, T.A. et al. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.110, p.91-97, 1997.
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; ROSA E SILVA, A.A.M. Plasma concentrations of progesterone, 17 β estradiol and androstenedione and superovulatory response of Nelore cows (*Bos indicus*) treated with FSH. **Theriogenology**, v.45, p.843-850, 1996.
- GUTIÉRREZ, C.G.; OLDHAM, J.; BRAMLEY, T.A. et al. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v. v. 75, p.1876-1884, 1997.
- HARESIGN, W. The influence of nutrition on reproduction in the ewe. **Animal Production**, v.32, p.197-202, 1981.
- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson P N et Stewart CS (eds). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic, 1997, p.382-426.
- HASLER, J.F. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.75, p. 2857-2879, 1992.
- HIGHTSHOE, R.B.; COCHRAN, R.C.; CORAH, L.R. et al. Effects of calcium soaps of fatty acids on postpartum reproductive function in beef cows. **Journal of Animal Science**, v.69, p.4097-4103, 1991.
- IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 11/12/2006 < <http://www.ibge.gov.br> 01/02/2007.
- IMAI, K.; KOBAYASHI, S.; GOTO, Y. et al. Cryopreservation of bovine embryos obtained by in-vitro culture of ivm-ivf oocytes in the presence of linoleic- acid albumin. **Theriogenology**, v.47, p.347, 1997.
- KAFI, M.; MCGOWAN, M.R. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. **Animal Reproduction Science**, v.48, p.137-157, 1997.
- KANITZ, W.; SCHNEIDER, F.; BECKER, F. Dose-response-relations after applications of FSH: Follicular growth and results of superovulation. **Archives of Animal Breeding**, v.39, n.4, p.387-400, 1996.

- KEMP, P.; LANDER, D.J. Hydrogenation in vitro of α – linolenic acid to estearic acid by mixed cultures of pure strain of rumen bacteria. **Journal of Genetic and Microbiologic**, v.130, p.527-533, 1984.
- KWEON, O.K.H.; KANAGAWA, H.; TAKAHASHI, Y. et al. Factors affecting superovulation response in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 48, p.495, 1986.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995, 839p.
- LERNER, S.P.; THAYNE, W.V.; BAKER, R.D. et al. Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v.63, p. 176-183, 1986.
- LEURY, B.J.; MURRAY, P.J.; ROWE, J.B. Effect of nutrition on the response in ovulation rate in merino ewes following short-term supplementation and insulin administration. **Australian Journal Agriculture Research**, v.4, p.751-759, 1990.
- MANIK, R.S.; SINGLA, S.K.; PALTA, P. et al. Ovarian follicular populations prior to and during superovulation in cattle: Relationship with superovulatory response. **Journal of Animal Science**, v.11, n.5, p.486-490, 1998.
- MATTOS, R.; STAPLES, C.R.; THACTHER, W.W. Effects of dietary on reproduction in ruminants. **Review Reproduction**, v.5, p.38-45, 2000.
- MAURASSE, C.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Ovarian follicular populations at two stages of an estrus cycles given high energy diets. **Journal of Animal Science**, v.61, n.1, p.1194-1200, 1985.
- McEVOY, T.G.; SINCLAIR, K.D.; STAINES, M.E. et al. *In vitro* blastocyst production in relation to energy and protein intake prior to oocyte collection. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 19, p.51, 1997.(abstract).
- McEVOY, T.G.; COULL, G.D.; BROADBENT, P.J. et al. Fatty acid composition of lipids in immature cattle, pig and sheep oocytes with intact zona pellucida. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.118, p.163-170, 2000.
- MILES, E.A.; CALDER, P.C. Modulation of immune function by dietary fatty acids. **Society Production and Nutrition**, v. 57, p. 277-292. 1998.
- MODESTO, E.C.M.; SANTOS, G.T.; VILELA, D. et al. Efeitos nutricionais e metabólicos de dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados para os ruminantes e os benefícios para o homem. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v.5, n.1, p.119-134, 2002.
- MOLEY, K.H.; CHI, M.M.; MANCHESTER, J.K. et al. Alteration of intraembryonic metabolites in preimplantation mouse embryos exposed to elevated concentrations of glucose: A metabolic explanation for the developmental retardation seen in preimplantation embryos from diabetic animals. **Biology and Reproduction**, v. 54, p.1209-1216, 1996.
- MOLLE, G.; BRANCA, A.; LIGIOS, S. et al. Effect of grazing background and flushing supplementation on reproductive performance in Sarda ewes. **Small Ruminant. Reserch**, v.17, p.245-254, 1995.
- MONGET, P.; MONNIAUX, D. Growth factors and the control of folliculogenesis. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.49, p.321-333, 1995.

- MONNIAUX, D.; CHUPIN, D.; SAUMANDE, J. Superovulatory response of cattle. **Theriogenology**, v.19, p.55-81, 1983.
- MONNIAUX, D.; MONGET, P.; BESNARD, N. et al. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. **Theriogenology**, v.47, p.3-12, 1997.
- MÜLLER, M. **Fontes de gordura e flushing no desempenho de novilhas e vacas de corte no pós-parto**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2003. 135p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, 2003.
- NOLAN, R.; DUFFY, P.; WADE, M. et al. Effect of quantity and type of diet and frequency of trans-vaginal ovum aspiration on *in-vitro* embryo development in heifers. **Theriogenology**, v.49, p.402, 1998 (abstract).
- NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. 1.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.183-223.
- O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.68, p.299-314, 1999.
- OLIVEIRA, S.G.; SIMAS, J.M.C.; SANTOS, F.A.P. Main aspects related to changes in the profile of fatty acids in ruminant milk fat. **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.1, p. 73-80, 2004.
- PESSUTI, O., MEZZADRI, F.P. Atualidades e perspectivas da pecuária paranaense. In: 1º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina. **Anais...** Londrina: Universidade de São Paulo, 2004. p.246.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal Dairy Science**, v. 85, p.1482-1490, 2002.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. **Journal Dairy Science**, v. 86, p.2637-2646, 2003.
- REICHENBACH, H.D.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. et al. Transferência e criopreservação de embrião bovino. **Biotécnicas aplicada a reprodução bovina**. 1.ed. São Paulo: Varela, 2002. 560p.
- RIGOLON, L.P.; PRADO, I.N.; CAVALIERI, F.L.B. et al. Efeito de diferentes níveis de energia sobre a produção e viabilidade de embriões em novilhas e vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p.1304-1310, 2003.
- ROMANS, J.R.; JOHNSON, R.C.; WULF, D.M. et al. Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and omega-3 fatty acid content of pork: I. Dietary level of flaxseed. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1982-1986, 1995a.
- ROMANS, J.R.; WULF, D.M.; JOHNSON, R.C. et al. Effects of ground flaxseed in swine diets on pig performance and on physical and sensory characteristics and omega-3 fatty acid content of pork: II. Duration of 15% dietary flaxseed. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1987-1999, 1995b.
- RUMPF, R.; DODE, M.A.N.; SILVA, A.E.D. Avanços na Biotecnologia da Reprodução dos Bovinos. **Arquivo da Faculdade de Medicina Veterinária. UFRGS**, v.25, n.1, p.145-149, 2003.

- RYAN, D.P.; SPOON, R.A.; WILLIAMS, G.L. Ovarian follicular characteristics, embryo recovery, and embryo viability in heifers fed high-fat diets and treated with follicle-stimulating hormone. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3505-3513, 1992.
- SANTOS, J.E.; AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. In: ARQUIVOS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE VETERINÁRIA, 26., 1998, Atibaia. **Anais...** Atibaia: Sociedade Brasileira de Veterinária, 1998. p.89.
- SEAB/DERAL/DCA/PR. **Bovincultura de Corte**. Curitiba, 2003 p. 94
- SHAW, D.W.; FARIM, P.W.; WASHBURN, D.A. et al. Effect of Retinol Palmitate rate and Embryo quality in superovulated cattle. **Theriogenology**, v.44, p.51-58, 1995.
- SOLTI, L.; CSECH, S.; KULCSAR, et al. Plasma progesterone and lipid profiles in superovulated heifers. **Theriogenology**, v.45, p.328, 1996.
- SPICER, L.J.; ECHTERKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor with an emphasis on domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, p.223-245, 1995.
- STUBBS, C.D.; SMITH, A.D. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. **Biochimistry and Biophysic Acta**, v.779, p.89-137, 1984.
- TALAVERA, F.C.S.; PARK, T.R.; WILLIAMS, G.L. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol, and ovarian function in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**, v. 60, p.1045-1051, 1985.
- TAMMINGA, S.; DOREAU, M. Lipids and rumen digestion. In: Jouany, J.P. (Ed) **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. INRA Editions, Paris, 1991. p.151-163.
- THIBIER, M. Data Retrieva Committee Annual Report. **Embryo Newsletter**, December, 2003.
- THOMAS, M.G.; BAO, B.; WILLIAMS, G.L. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence growth in cows fed isoenergetic diets. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2512-2519, 1997.
- THOMAS, M.G.; WILLIAMS, G.L. Metabolic hormone secretion and FSH-induced superovulatory responses of beef heifers fed dietary fat supplements containing predominantly saturated or polyunsaturated fatty acids. **Theriogenology**, v.45, p.451-458, 1996.
- THOMPSON, J.G. Cultura in vitro de embriões bovinos: novas técnicas e considerações pós-transferência. In: ARQUIVOS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE VETERINÁRIA, 27., 1999, Campos do Jordão. **Anais...** Campos do Jordão: Sociedade Brasileira de Veterinária, 1999. p.133-146.
- TOTEY, S.M.; SIGH, G.; TANEJA, M. et al. Effect of season on superovulation and embryo recovery in Sahiwal and crosses of Holstein x Sahiwal donor cows. **Animal Reproduction Science**, v.12, p.179-181, 1991.
- VAN SOOM.; MAHMOUDZADEH, A.R.; CHRISTOPHE, A. et al. Silicone oil used in microdrop culture can affect bovine embryonic development and freeability. **Reproduction in Domestic Animals**, v.36, n.3-4, p.169-176, 2001.

- VISINTIN, J.A. Crioconservação de embriões *Bos Tauros Indicus*. In: ARQUIVOS DA FACULDADE DE VETERINÁRIA, 24, 1996, Porto Alegre. *Anais...*Porto Alegre, 1996. p.83-97.
- WEEB, R.; ARMSTRONG, D.G. Control of ovarian function: effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. **Livestock Production Science**, v.53, p.95-112, 1998.
- WILLIAMS, G.L. Modulation of luteal activity in postpartum beef cows through changes in dietary lipid. **Journal of Animal Science**, v. 67, p.785-793, 1989.
- WRENZYCKI, C.; DESOUZA, P.; HERMANN, D. et al. Effect of type and quantity fed during superovulation on the relation abundance of mRNA in bovine embryos. **Theriogenology**, v.51, n.1, p.195, 1999 (abstract).
- YAAKUB, H.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Effect of type and quality of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. **Theriogenology**, v.51, p.1259-1266, 1999.
- YAAKUB, H.; OCALLAGHAN, D.; DOHERTY, J.V. et al. Effect of dietary intake on follicle numbers and oocyte morphology in unsuperovulated and superovulated ewes. **Theriogenology** , v.47, p.182, 1997a (abstract).
- YAAKUB, H.; WILLIAMS, S.A.; O'CALLAGHAN, D. et al. 1997b. Effect of dietary intake and glucose infusion on ovulation rate and embryo quality in superovulated ewes. **Theriogenology**, v.47, p.57, 1997b (abstract).
- ZERON, Y.; TOMCZAK, M.; CROWE, J. et al. The effect of liposomes on thermotropic membrane phase transitions of bovine spermatozoa and oocytes: implications for reducing chilling sensitivity. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.45, p.143-152, 2002.

OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a suplementação com linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6) em grãos e a interferências das quatro estações do ano sobre a resposta superovulatória, produção e qualidade de embriões de vacas nelores confinadas.

Avaliar as concentrações de ácidos graxos no plasma sanguíneo e no líquido folicular de vacas nelores suplementadas com linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6) em grãos.

Resposta superovulatória, produção e qualidade de embriões de vacas suplementadas com linhaça ou canola em grãos.

Resumo: Avaliou-se a resposta superovulatória, a produção e qualidade de embriões de vacas Nelore suplementadas com grãos de linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6) e a interferência das estações do ano. Foram usadas 16 vacas Nelores, com idade média de cinco anos e peso médio de 550 kg. O experimento foi composto por quatro estações, nas quais as vacas receberam suplementação referente a cada tratamento: TES (testemunha), LIN (linhaça) e CAN (canola). Durante cada estação houve um período experimental, com duração de 46 dias, referentes à alimentação e ao protocolo hormonal. Ao término de cada período, as vacas eram alojadas em piquete de grama estrela (*Cynodon nlemfuensis*), onde permaneciam durante os intervalos entre as estações. Na estação seguinte, as vacas eram distribuídas ao acaso, em um dos tratamentos diferentes ao anterior. Durante o experimento, foi aferida a temperatura do bulbo seco, bulbo úmido, globo negro ao sol, globo negro à sombra e a velocidade do vento. No 16º dia do início do protocolo (D16) foi feita a colheita dos embriões. Os embriões classificados em nível 1, 2 ou 3 foram congelados, independentemente, do estágio de desenvolvimento. Não houve diferenças ($P>0,15$) para a resposta superovulatória e número total de corpos lúteos em função dos tratamentos. Por outro lado, o número de vacas que responderam a superovulação foi superior ($P<0,15$) no inverno em relação ao verão. Para o número total de corpos lúteos o outono foi superior ($P<0,15$) ao verão. Os tratamentos (TES, LIN e CAN) não diferiram ($P>0,15$) para a média de estruturas totais produzidas (6,20, 4,96 e 6,50), estruturas infertilizadas (2,53, 1,17 e 1,60) ou embriões congeláveis (3,40, 1,30 e 3,80). A média de embriões degenerados foi maior ($P<0,15$) para as vacas do tratamento LIN (2,48) em comparação ao TES (0,32), sendo o CAN intermediário (1,10). Quanto às estações, não houve diferenças para as médias de estruturas infertilizadas (2,00, 1,22, 3,30 e 0,38) e embriões degenerados (2,25, 0,50, 0,63 e 2,00). Todavia, a média de estruturas totais produzidas foi superior ($P<0,15$) para inverno (3,57) e verão (3,50) em relação ao outono (8,75) e intermediária para primavera (3,40). A adição de linhaça ou canola em grãos e as estações não alteraram a resposta superovulatória ou a produção de embriões. Entretanto, a qualidade dos embriões foi inferior com adição de linhaça na alimentação de vacas e durante o verão.

Palavras-chaves: inverno, nelore, ômega-3, ômega-6, verão

Superovulatory response, production and quality of embryos from cows supplemented with linseed or canola

Abstract: It was evaluated the superovulatory response, production and embryos quality of Nellore cows supplemented with either linseed (n-3) or canola (n-6) and the year seasons' interference during the hormonal protocol. Sixteen Nellore cows (pure breeds), with average of five years old and weight of 550 kg were used. The trial was composed by four seasons, in which the cows received supplementation concerning to each treatment: CON (control), LIN (linseed) and CAN (canola). During each season, there was an experimental period of 46 days, referring to feed and hormonal protocol. In the end of each period, the cows were allotted in *Cynodon nlemfuensis* pastures, where they remain during the intervals between seasons. In the following season, the cows were randomly distributed in one of the treatments different from the previous. During the trial, it was measured the dry bulb, wet bulb, black-globe at sun, black-globe at shadow temperatures and the wind speed. Sixteen days (D16) after the protocol starts, the embryos were collected up. The embryos classified on level 1, 2 or 3 were frozen, independent of the development stage. There were not differences ($P>0.15$) to superovulatory response and total number of corpus luteus in function of treatments. On the other hand, the number of cows who were responsible to superovulation was higher ($P<0.15$) in the winter than in the summer. The treatments (CON, LIN and CAN) did not differ ($P>0.15$) between them to average of total structures collected (6.20; 4.96 and 6.50), unfertilized structures (2.53, 1.17 and 1.60) or freezable embryos (3.40, 1.30 and 3.80). The average of degenerated embryos was higher ($P<0.15$) to cows from LIN treatment (2.48) than CON (0.32), while CAN was intermediate (1.10). There were not differences to unfertilized structures (2.00, 1.22, 3.30 and 0.38) and degenerated embryos (2.25, 0.50, 0.63 and 2.00) averages among year seasons. However, the mean of total structures produced was higher ($P<0.15$) to winter (3.57) and summer (3.50) in relation to fall (8.75) and intermediate to spring (3.40). The linseed or canola addiction and the year seasons did not modify the superovulatory response or embryos production. However, the embryos quality was lower when linseed was addicted in the cows feeding, as well as during the summer.

Key words: nellore, omega-3, omega-6, summer, winter

Introdução

O rebanho de elite, ou seja, formado por animais puros de origem (PO) ou puros de origem importados (POI) é um dos segmentos da bovinocultura em desenvolvimento. Isto porque o valor de matrizes, reprodutores e produtos (embriões ou bezerros) é muito elevado. Dentro desta categoria, encontram-se animais de alto potencial genético para produção de leite e carne, o que justifica preços tão elevados.

O empenho por parte de técnicos e produtores está em difundir de forma rápida e lucrativa este material genético, para tanto, a utilização de biotecnologias é indispensável para alcançar tais objetivos.

Dentre as biotecnologias, podemos destacar o uso da transferência de embriões (TE) e a fertilização *in vitro* (FIV). Essas técnicas possibilitam o aumento dos índices reprodutivos das fêmeas, maior intensidade de seleção, redução do intervalo das gerações e maior disponibilidade de animais para reposição (Penna, 1993).

A reprodução está intimamente relacionada ao manejo adequado, controle da sanidade e uma nutrição equilibrada. Estes fatores tornam-se ainda mais relevantes com o uso de biotecnologias reprodutivas como a TE.

A influência de diversos nutrientes como, proteína e energia, sobre a TE são complexas, uma vez que o excesso de energia pode provocar efeito negativo no desenvolvimento dos embriões (Boland et al., 2001). Por outro lado, aumento adequado no nível energético da dieta pode aumentar o número de folículos responsivos ao tratamento de superovulação (Rigolon et al., 2003). Ainda, a fonte da dieta utilizada na alimentação das doadoras, também pode influenciar a resposta superovulatória e a qualidade dos embriões (Yaakub et al., 1999; Petit et al., 2002; Muller, 2003, Cavalieri et al., 2005; Capovilla et al., 2006).

Dentro deste seguimento, trabalhos recentes apontam os benefícios do uso de fontes ricas em ácidos graxos essenciais. Muller (2003) observou aumento no número de embriões viáveis com adição de canola em grãos (ácido linoléico n-6) na dieta de novilhas Nelores. Da mesma forma, Capovilla et al. (2006), também obteve maior número de embriões viáveis ao suplementar ovelhas Santa Inês com Lac 100® (ácido linoléico n-6).

Além dos fatores nutricionais, o clima também pode alterar a resposta superovulatória e a produção de embriões. Durante o período de inverno, na região noroeste do Paraná, ocorrem oscilações bruscas de temperatura. Quando as quedas de

temperatura ocorrem durante o protocolo hormonal para colheita de embriões, em especial próximo à ovulação, observa-se a campo redução na resposta superovulatória e conseqüentemente no número de embriões em vacas Nelore.

Segundo Pinto Neto et al. (1999), a maioria das investigações ligadas à tecnologia de embriões tem sido destinada a animais de raças européias, com poucos estudos realizados em animais zebuínos. Diferenças em vários aspectos reprodutivos vêm sendo apontadas entre vacas zebus e européias, porém, poucas são as informações existentes sobre o desempenho de raças zebuínas, particularmente da raça Nelore, em programas de transferência e conservação de embriões (Pinto Neto et al., 1999).

O objetivo foi avaliar a resposta superovulatória, a produção total de estruturas e a produção de estruturas viáveis para congelamento de vacas Nelore PO, recebendo linhaça ou canola em grãos na dieta durante as quatro estações do ano.

Material e Métodos

Local: O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Corte da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). As análises bromatológicas dos alimentos e a composição de ácidos graxos das rações foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal e Laboratório de Análises de Alimentos da UEM.

Animais: foram utilizadas 16 vacas da raça Nelore PO (Pura de Origem), sendo a média observada para idade igual a 5 anos, peso de 550 kg \pm 48 kg e escore corporal igual a 3 (escala de 1 a 5).

Instalações: As vacas foram alojadas em baias individuais de 10m². As baias eram cercadas com vergalhões de ferro, com piso em concreto e parcialmente coberta com telhas de zinco. Cada animal dispunha de comedouro com 2 m lineares e bebedouro com capacidade de 250 litros para cada duas baias.

Alimentação: Foi fornecida duas vezes ao dia às 8 e 16 horas. O período de alimentação foi de 46 dias, que correspondem a 30 dias de alimentação inicial e 16 dias de protocolo hormonal, até a colheita dos embriões. As rações foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (1996) na tentativa de serem isoprotéicas e isoenergéticas. Foi utilizado o valor tabelado (NRC, 1996) para estimar o NDT das rações (nutrientes digestíveis totais). A composição química dos alimentos e das rações está apresentada

na Tabela 1. A percentagem dos alimentos nas rações experimentais está na tabela 2. A composição em ácidos graxos das rações está na tabela 3.

Tabela 1. Composição química dos alimentos e das rações experimentais

Table 1. Chemical composition of foods and experimental diets

Ingredientes <i>Ingredients</i>	MS ¹ <i>DM¹</i>	PB ² <i>CP²</i>	FDN ³ <i>NDF³</i>	CZ ⁴ <i>ASH⁴</i>	EE ⁵ <i>EE⁵</i>	NDT ⁶ <i>TDN⁶</i>
Casca de algodão <i>Cottonseed hulls</i>	92,50	3,64	82,98	1,62	0,90	48,80
Farelo de algodão <i>Cottonseed meal</i>	93,30	34,39	51,30	4,34	1,62	63,00
Milho quirera <i>Ground corn</i>	90,70	9,51	14,68	1,22	2,56	80,00
Gérmen de milho <i>Corn germ</i>	84,60	14,00	26,17	3,08	6,30	77,00
Linhaça <i>Linseed</i>	94,40	24,53	42,30	3,75	28,4 3	127,00
Canola <i>Canola</i>	95,40	30,04	44,95	3,57	29,3 0	127,00
Sal reprodução ⁷ <i>Reproduction salt</i>	97,83	-	-	-	-	-
Calcário <i>Limestone</i>	98,00	-	-	-	-	-
TES ⁷ <i>CON⁷</i>	90,64	9,44	51,41	2,00	2,43	67,19
LIN ⁸ <i>LIN⁸</i>	92,90	9,10	69,05	2,08	5,96	72,07
CAN ⁹ <i>CAN⁹</i>	92,92	9,09	67,85	1,92	5,75	71,89

¹Matéria seca, ²Proteína bruta, ³Fibra em detergente neutro, ⁴Cinzas, ⁵Extrato etéreo, ⁶Nutrientes Digestíveis Totais, ⁷Níveis de garantia: cálcio (Mín.) - 150g; fósforo (Mín.) - 90g; enxofre - 15g; magnésio - 13g; sódio - 115g; cobre - 1.650mg; zinco-4.400mg; manganês - 1.500mg; cobalto - 90mg; iodo - 90mg; selênio - 27mg; ferro - 3.710mg; flúor (máx.) - 900mg; solubilidade do fósforo em ác. Cítrico 2% (min) - 95%; ⁸Ração Testemunha, ⁹Ração com adição de linhaça em grãos e ¹⁰Ração com adição de canola em grãos.

¹Dry matter, ²Crude protein, ³Neutral Detergent Fiber, ⁴Ash, ⁵Ether extract, ⁶Total Nutrients Digestible, ⁷Guarantee level: calcium (Min.) - 150g; phosphorus (Min.) - 90g; sulfur - 15g; magnesium - 13g; sodium - 115g; copper - 1,650mg; zinc - 4,400mg; manganese - 1,500mg; cobalt - 90mg; iodine - 90mg; selenium - 27mg; iron - 3,710mg; fluorine (max.) - 900mg; phosphorus solubility in Citric ac. 2% (min) - 95%; ⁸Control Diet, ⁹Diet with linseed and ¹⁰Diet with canola.

Tabela 2 - Composição percentual das rações experimentais (% MS)

Table 2 - Percentual composition of experimental diets (%DM)

Ingredientes (% MS)	TES ¹	LIN ²	CAN ³
<i>Ingredients (%DM)</i>	<i>TES¹</i>	<i>LIN²</i>	<i>CAN³</i>
Casca de algodão	47,53	69,88	69,59
<i>Cottonseed hulls</i>			
Farelo de algodão	8,03	4,83	1,99
<i>Cottonseed meal</i>			
Milho quirera	23,33	4,93	9,50
<i>Ground corn</i>			
Gérmen de milho	19,05	0,00	0,00
<i>Corn germ</i>			
Linhaça	0,00	18,36	0,00
<i>Linseed</i>			
Canola	0,00	0,00	16,93
<i>Canola seed</i>			
Sal reprodução	1,07	1,05	1,04
<i>Reproduction salt</i>			
Calcário	1,07	1,05	1,04
<i>Limestone</i>			
Total	100,00	100,00	100,00
<i>Total</i>			

¹Ração Testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos.¹Test Diet, ²Diet with linseed and ³Diet with canola seed.

Tabela 3. Percentual em ácidos graxos das rações experimentais
 Table 3. Percentage of experimental diets total fatty acids

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	TES ¹ <i>CON¹</i>	LIN ² <i>LIN²</i>	CAN ³ <i>CAN³</i>
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	12,93	5,38	5,51
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	7,01	8,17	2,82
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoíco) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	40,89	29,12	64,83
C18:1 n-7 (ácido 11-octadecenoíco) <i>C18:1 n-7 (11-octadecenoic acid)</i>	0,28	0,23	0,00
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienoíco) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	38,05	19,33	21,31
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienoíco) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	0,85	37,77	5,53
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	38,90	57,10	26,84
AGMI (Ácidos Graxos Moinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	41,17	29,35	64,83
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acids)</i>	19,94	13,56	8,33
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	38,05	19,33	21,30
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	0,85	37,77	5,53
AGPI/AGS <i>PUFA/SFA</i>	1,95	5,03	3,23
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	44,93	0,52	3,86

¹Ração Testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos, ³Ração com adição de canola em grãos,
¹Control Diet, ²Diet with linseed and ³Diet with canola.

Tratamentos: Os tratamentos foram baseados em três rações experimentais. A ração TES (testemunha), LIN (adição de linhaça em grãos inteiros) e CAN (ração com adição de canola em grãos inteiros). Nas três rações, a casca de algodão, foi fornecida como volumoso.

Períodos e temperaturas: O experimento foi composto por quatro períodos, referentes às estações do ano, outono, inverno, primavera e verão. Nos dias determinados para as avaliações de comportamento foram anotados às 8h30 e 14h30 a Temperatura do Bulbo Seco (TBS), Temperatura do Bulbo Úmido (TBU), e a Umidade Relativa do Ar (UR) através de um Psicrometro não ventilado de Bulbo Seco (BS) e Bulbo Úmido (BU), a temperatura do globo Negro ao sol e a sombra, através do uso de um globo de Vernom de 0.15 m de diâmetro. Os dados foram correlacionados para a avaliação pelos índices de conforto térmico (Tabela 4).

Tabela 4. Médias das variáveis ambientais durante o protocolo hormonal e o dia da colheita dos embriões

Table 4. Environmental temperature means during the hormonal protocol and day of embryos collection

Estações Seasons		TBS ⁵ DBT ⁵	TBU ⁶ HBT ⁶	URA ⁷ RHU ⁷	TGL ⁸ TGS ⁸	TGM ⁹ TGH ⁹	VVE ¹⁰ WSP ¹⁰	WBG ^{T11} WBG ^{T11}	WBG ^{T12} WBG ^{T12}	THU ¹³ THI ¹³	
Outono Fall	DIP ¹ IDHP ¹	28,5	21,5	46,1	18,5	18,5	4,0		21,6	21,6	77,7
	DOV ² PDO ²	23,5	21,5	54,1	19,5	19,3	0,9		21,3	21,3	72,7
	DEM ³ ECD ³	21,3	16,6	55,5	27,0	18,0	1,7		19,2	17,4	68,8
	MED ⁴ MTP ⁴	25,7	19,9	51,2	21,7	18,6	2,2		20,8	20,2	74,4
	DIP ¹ IDHP ¹	16,5	13,0	54,5	29,0	23,0	1,2		16,6	15,4	62,7
Inverno Winter	DOV ² PDO ²	10,3	9,5	62,2	9,0	9,0	1,0		9,5	9,5	55,2
	DEM ³ ECD ³	10,3	11,5	76,4	11,0	11,0	1,3		11,3	11,3	55,9
	MED ⁴ MTP ⁴	16,8	11,4	64,4	16,4	14,4	1,2		12,9	12,5	62,4
	DIP ¹ IDHP ¹	27,5	26,0	53,2	31,0	26,0	1,1		27,2	26,2	78,4
	DOV ² PDO ²	26,6	22,5	58,3	24,0	22,9	0,5		23,2	23,0	76,2
Primavera Spring	DEM ³ ECD ³	29,5	24,8	58,3	33,3	25,0	1,4		27,0	25,3	79,9
	MED ⁴ MTP ⁴	27,7	24,4	56,6	29,4	24,6	1,0		25,7	24,8	78,0
	DIP ¹ IDHP ¹	29,0	28,0	60,2	24,5	24,0	0,7		27,4	27,3	80,6
	DOV ² PDO ²	28,8	24,8	64,6	40,5	28,0	0,3		28,3	25,8	79,2
	DEM ³ ECD ³	30,3	29,0	84,0	25,0	23,5	0,4		28,3	28,0	82,2
Verão Summer	MED ⁴ MTP ⁴	30,1	27,3	69,6	30,0	25,2	0,5		28,1	27,2	81,4

¹DIP-Dia de início do protocolo hormonal, ²DOV-Dia previsto da ovulação, ³DEM-Dia da colheita dos embriões, ⁴MED-Média das variáveis ambientais durante o período, ⁵TBS-Temperatura do bulbo seco, ⁶TBU-Temperatura do Bulbo úmido. ⁷URA-Umidade relativa do ar, ⁸TGL-Temperatura do globo negro ao sol, ⁹TGM-Temperatura do globo negro à sombra, ¹⁰VVE-Velocidade do vento, ¹¹WBG^T-Índice da Temperatura do Globo pela manhã, ¹²WBG^T-Índice da Temperatura do Globo a tarde e ¹³THI-Índice de Temperatura e Umidade.

¹IDP-Inicial day of hormonal protocol, ²PDO- predicted day to ovulation, ³ECD-Embryos collect day and ⁴MTP-Mean of temperature during the period, ⁵DBT- Dry Bulb Temperature, ⁶RHU-Relative Humidity, ⁷TGS-Temperature of black-globe at sun, ⁸TGH-Temperature of black-globe at shadow, ⁹WSP-Wind speed, ¹⁰WBG^T- Index of the Temperature of the Globe in the morning, ¹⁰WBG^T- Index of the Temperature of the Globe in the afternoon and ¹³THI-Index of Temperature and Humidity.

Os índices utilizados nessa análise de dados foram os seguintes:

Índice da Temperatura do Globo (WBG^T), proposto por Bond e Kelly (1955).

$WBG^T = 0.7 TBU + 0.2 TG + 0.1 TA$, em que:

WBG^T - Índice da Temperatura do Globo;

TBU - Temperatura do Bulbo Úmido (°C);

TG - Temperatura do Globo Negro (°C);

TA - Temperatura do Ar (°C).

Índice de Temperatura e Umidade Relativa do Ar (THI), desenvolvido por Thom (1958).

$THI = TBS + 0.36 TBU + 41.5$, em que:

THI - Índice de Temperatura e Umidade Relativa do Ar;

TBS - Temperatura do Bulbo Seco (°C);

TBU - Temperatura do Bulbo Úmido (°C).

Temperatura retal: Durante os dias referentes ao protocolo hormonal, pela manhã foi aferida a temperatura retal dos animais para controle das condições fisiológicas.

Delineamento experimental: O experimento foi composto por quatro períodos, referentes as quatro estações do ano. Cada período experimental teve duração de 46 dias e intervalo de 25 dias em média, entre um período e outro de forma a ter-se um período experimental em cada estação. As vacas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado para formação de três lotes. Em cada estação, dois lotes eram formados por cinco animais e um lote por seis animais e recebiam a ração respectiva a cada tratamento. Ao término de cada período, as vacas eram alojadas em piquete formado por pastagem de grama estrela (*Cynodon nlemfluensis*), onde permaneciam durante os intervalos entre períodos. Na estação seguinte, as vacas eram novamente distribuídas ao acaso, em um dos tratamentos diferentes ao anterior. Desta forma, todas as vacas receberam os três tratamentos, porém, em estações diferentes.

Sincronização do estro e protocolo hormonal: Após 30 dias de alimentação, as vacas foram submetidas à sincronização estral com implante auricular contendo 5,0 mg de Norgestomet (Crestar® - Lab. Intervet Ltda), o qual foi considerado o primeiro dia do protocolo hormonal ou dia 0 (D0). No D1, foi administrado, via intramuscular, 2,0 mg de benzoato de estradiol (Estrogin® - Lab. Farmavet Ltda). No D5, iniciou-se a superovulação (SOV) com aplicações de hormônio folículo estimulante (FSH) (Pluset® - Lab. Serono Ltda.) em duas aplicações diárias, por quatro dias, em doses decrescentes, totalizando 250 UI por vaca, sendo, 100 UI no primeiro dia, 75 UI no segundo, 50 UI no terceiro e 25 UI no quarto dia. Na tarde do D7, foi aplicado 2,0 mL de hormônio

luteolítico, prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) (Ciosin® - Lab. Coopers Ltda) via intramuscular. Na manhã do D8, o implante auricular foi retirado e 24 horas após (D9), foram aplicadas 2.500 UI de Gonadotropina Coriônica Humana (hCG) (Chorulon® - Lab. Intervet Ltda). Após 12 horas foi realizada a primeira inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e a segunda IATF 12 horas após a primeira. No D16 realizou-se a colheita dos embriões.

Sêmen: O sêmen utilizado foi analisado tendo como exigência a motilidade igual ou superior a 35 % e vigor de pontuação 3.

Resposta superovulatória e número estimado de corpos lúteos: Por palpação retal, a resposta superovulatória foi determinada pela presença de corpos lúteos, da mesma forma foi feita a contagem estimada de corpos lúteos nos ovários direito e esquerdo.

Colheita de embriões: Foi realizada a colheita dos embriões por método transcervical, no sétimo dia após a primeira inseminação artificial. A lavagem uterina foi feita com 500 mL do meio Dulbecco modificado (DMPBS) (Nutricell Nutrientes Celulares Ltda), aquecido a 37°C. O mesmo foi introduzido através de sonda de *Folley* de duas vias, número 20, através da cérvix. O efluente recolhido utilizando filtro de 75µ foi transferido para uma placa de *Petry* quadriculada. Nesta mesma placa, os embriões localizados através de microscópio estereoscópio com aumento de 8 vezes foram transferidos para mini-placa de *Petry*, contendo a solução de manutenção (Holding Plus® - Lab. AB Technology Ltda). Utilizando aumento de 40 vezes, as estruturas embrionárias foram classificadas, quanto ao estágio de desenvolvimento e a qualidade, segundo a classificação proposta pelo manual da IETS - International Embryo Transfer Society (1999): grau 1 (excelente ou bom), grau 2 (regular), grau 3 (pobre) e grau 4 (morto ou degenerado). No entanto, neste trabalho foram considerados embriões congeláveis, todos aqueles que apresentavam nível 1, 2 ou 3 independentes do estágio de desenvolvimento.

Congelamento dos embriões: Os embriões selecionados para congelamento (grau 1, 2 e 3), foram lavados em solução de manutenção (Holding Plus® - Lab. AB Technology Ltda) por cinco vezes, e em seguida foram colocados em solução crioprotetora de congelamento, etilenoglicol 1,5 M, onde permaneceram por quatro minutos. Dentro deste período de tempo, os embriões foram envazados em *paillets* 0,25 mL e posteriormente transferidos para o recipiente do congelador previamente resfriado à temperatura de -

6°C. Os *paillets* foram equilibrados a esta temperatura e em seguida feito o *seeding*, e após este, estabilização por dez minutos. A curva de resfriamento foi de 0,5°C por minuto até atingir a temperatura de -33°C, quando nova estabilização de dez minutos foi feita. Após estes procedimentos os *paillets* foram colocados em *raques* identificados e armazenados em botijão de nitrogênio líquido a temperatura de - 196°C.

Análises estatísticas: Para a variável resposta superovulatória admitiu-se função de distribuição de probabilidade Binomial e função de ligação logiti. Para as variáveis, número de corpos lúteos, nos ovários esquerdo e direito, número de estruturas totais, estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis, admitiu-se a função de distribuição de probabilidade Poisson e função de ligação logarítmica estimados por meio da metodologia de modelos lineares generalizados (Nelder & Wedderburn, 1972), utilizando-se o software GLIM 4.0. As médias foram comparadas pelo teste de Tuckey a 15% de probabilidade. Para todas as variáveis o modelo estatístico foi o mesmo e foram incluídos nestes os fatores tratamento e período.

O modelo estatístico aplicado foi o seguinte:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + TE_{ij} + e_{ijk}, \text{ onde:}$$

Y_{ijk} = Observação referente ao animal “k”, submetido ao tratamento i (i=1,2 e 3), no período “j” (1, 2, 3 e 4);

T_i = Efeito do tratamento i (i= 1, 2 e 3);

E_j - Efeito da estação j (j= 1, 2, 3 e 4);

TE_{ij} – Efeito da interação entre tratamento e estação;

e_{ijk} = Erro aleatório associado a cada observação.

Para determinação do comportamento da resposta superovulatória, número de corpos lúteos nos ovários esquerdos e direitos, número de estruturas totais, estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis, em função da temperatura retal procedeu-se o desdobramento dos efeitos em polinômios ortogonais, utilizando o programa SAS (2006).

Resultados e discussão

A adição de grãos de linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6) à ração de vacas nelores não teve efeito ($P>0,15$) sobre a resposta superovulatória e corpos lúteos totais (tabela 5).

Tabela 5. Resposta superovulatória e número de corpos lúteos totais de vacas Nelores alimentadas com linhaça ou canola em grãos

Table 5. Superovulatory response, number of salient luteus corpus in the ovaries (left and right) of Nellore cows fed linseed or canola

Tratamentos <i>Treatments</i>	TES ¹ <i>CON</i> ¹	LIN ² <i>LIN</i> ²	CAN ³ <i>CAN</i> ³
Número de vacas <i>Number of cows</i>	16	14	16
Número de vacas responsivas <i>Number of responsive cows</i>	13	12	13
Variáveis <i>Variables</i>			
Resposta a superovulação, % <i>Superovulatory response, %</i>	81,25	85,71	81,25
CLT ⁴ <i>TSC</i> ⁴	10,00	10,00	11,00

¹Ração testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos,

⁴Corpos lúteos totais observados nos ovários esquerdo e direito.

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola, ⁴Total Salient corpus observed on the left and right ovary.

A resposta superovulatória não é constante entre fêmeas bovinas estimuladas para coleta de embriões. Desta forma, grande variação na resposta superovulatória das fêmeas doadoras é um dos maiores problemas relacionados à transferência de embriões (Boland et al., 1991). Segundo Gong et al. (1997) esta variação poderia estar relacionada à população de folículos responsivos para as gonadotrofinas no período da superovulação. Da mesma forma, o aumento da densidade energética na dieta pode aumentar o número de folículos responsivos (Gutierrez et al., 1997; Rigolon et al., 2003).

Quando a proporção de grãos de cereais na ração para ruminantes, de maneira geral, é elevada, a população dos microrganismos pode ser alterada (Nussio et al., 2006).

Quando ocorre uma maior quantidade de bactérias amilolíticas, ocorre também uma maior produção de ácido propiônico (Nussio et al., 2006). O ácido propiônico, após ser absorvido pela parede ruminal, é conduzido ao fígado e metabolizado até glicose, através da gluconeogênese (O'Callaghan & Boland, 1999), elevando os níveis de glicose circulante no sangue (Leury et al., 1990) e os níveis de insulina sanguínea (Gutiérrez et al., 1997). Spicer & Echtenkamp (1995) afirmaram que a insulina e o IGF-I estimulam a proliferação e diferenciação das células da granulosa e também a produção de progesterona, concluindo que ambos atuam como promotores do crescimento folicular.

Ainda, Webb & Armstrong (1998), afirmaram que o GH (hormônio do crescimento), IGF-I e insulina podem regular a foliculogênese, aumentando o *pool* de folículos dependentes de gonadotropinas hipofisárias ou, de alguma forma, diminuindo o mecanismo de atresia folicular (Dowing et al., 1991). Além do mais, o IGF-I atua amplificando os efeitos do FSH no crescimento folicular, pelo aumento da afinidade dos receptores de FSH nas células da granulosa (Adashi, 1992).

Muller et al. (2003) observaram efeito da adição de linhaça (n-3) ou canola (n-6) em grãos na alimentação de novilhas Nelore sobre o número de corpos lúteos e cistos no ovário esquerdo e direito e o número total de corpos lúteos. As novilhas que receberam canola em grãos (n-6) apresentaram maior número de corpos lúteos no ovário esquerdo, menor número de cistos no ovário direito e menor número total de cistos.

Os resultados obtidos foram semelhantes aos observados por Cavalieri et al. (2005) que trabalharam com vacas doadoras da raça holandesa recebendo linhaça em grãos (n-3) ou Megalac® (n-6).

O aumento de gordura na dieta de fêmeas bovinas aumenta o número de folículos. Todavia, este aumento parece ser independente do perfil dos ácidos graxos da mesma (Cavalieri et al., 2005).

Foram observadas diferenças ($P < 0,15$) sobre a resposta superovulatória e número de corpos lúteos totais em função da estação do ano (tabela 6).

Tabela 6. Resposta superovulatória e número de corpos lúteos totais de vacas Nelore durante as estações do ano

Table 6. Superovulatory response, means of salient corpus on the left and right ovary of Nelore cows in fall, winter, spring and summer

Estação do ano <i>Seasons</i>	Outono <i>Fall</i>	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Verão <i>Summer</i>
Número de vacas <i>Number of cows</i>	16	16	14	16
Número de vacas responsivas <i>Number of responsive cows</i>	14	15	11	10
Variáveis <i>Variables</i>				
Resposta a superovulação, % <i>Superovulatory response, %</i>	87,50ab	93,75b	78,57ab	62,50a
CLT ¹ <i>TSC¹</i>	13,00b	11,00ab	11,00ab	8,00a

¹Corpos lúteos totais observados nos ovários esquerdo e direito.

Letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P < 0,15$).

¹Total Salient corpus observed on the left and right ovary.

Different letters on the same line are different ($P < 0.15$).

Observa-se que houve uma maior resposta a superovulação no inverno (93,75%) em comparação ao verão (62,50%), sendo as estações do outono (87,50%) e primavera (78,57%) intermediárias. No entanto, ao considerar o número total de corpos lúteos presentes, maior média ($P < 0,15$) foi observada para o outono (13,00) em comparação a média observada no verão (8,00).

Como apresentado na tabela 4 os dados relativos as variáveis ambientais anotadas às 8:30 e às 14:30 h do horário oficial do Brasil, obteve-se os valores médios para o período para temperatura ambiente (TA) de 28,80 e 32,40 °C, umidade relativa do ar (UR) de 56,40 e 44,00%, índice de temperatura e umidade (THI) de 75,10 e 81,60 unidades e do Índice de Temperatura do Globo (WBHT) de 21,80 e 21,00 unidades à sombra e 22,70 e 27,10 unidades ao sol, ficando os valores médios gerais em 30,60; 50,20; 78,35 e 24,90, respectivamente.

THI (78,35) demonstra que os animais estavam numa condição de alerta, estando no limite superior deste estágio, segundo a classificação de Rosenberg *et al.* (1983). Esta classificação apresenta que THI entre 68,00 e 74,00 pode causar perdas produtivas aos animais, entre 75,00 e 78,00 o produtor deve ficar em alerta, pois pode haver morte de animais, entre 79,00 e 84,00 é sinal de perigo principalmente para rebanhos confinados e se ultrapassar 85,00 é sinal de morte se não forem tomadas providências urgente. Apesar desse índice ter sido desenvolvido para bovinos nas condições norte-americanas, Hahn (1999), tomando por base esta classificação, cita que THI abaixo de 75,00 pode não causar danos à produção de animais confinados, desde que as temperaturas noturnas não excedam 23,00 o C.

No presente trabalho, apesar do THI estar acima de 75,00; as temperaturas médias noturnas ficaram em 16,00 o C e 18,10 o C, respectivamente, para os meses de setembro e outubro. No entanto, o THI de 78,35 pode ter afetado o desempenho global dos animais, independente de tratamento. Corroborando com as informações de Silva *et al.* (2002), que afirmaram ser este índice um parâmetro importante, pois THI acima de 72,00 resultou em declínio da produção de leiteira em vacas Holandesas de alta produção.

A possível influência das estações do ano sobre a resposta superovulatória em vacas é conflitante (Kafi & McGowan, 1997). Segundo esses autores, é necessário considerar que as estações podem variar de um ano para outro e entre as diferentes regiões, e ainda que tais fatores são de difícil controle.

Recente trabalho realizado com raças zebuínas (Gir e Nelore), objetivando avaliar o efeito da estação do ano (inverno e verão) sobre a dinâmica folicular e o momento da ovulação, Borges et al. (2004) observaram a predominância em ambas as raças de ciclos estrais com três ondas foliculares, não havendo influência das estações do ano. Quanto ao momento da ovulação, este ocorreu em média, 23,10 horas após a detecção do estro, não apresentando diferenças entre raças e estações. Estes autores observaram média de temperatura máxima (°C), média de temperatura mínima (°C) e média de umidade relativa (%) de 27,60; 12,20 e 61,00 para o inverno e de 34,30; 21,30 e 71,20 para o verão.

Para a interação tratamento x estação do ano, não foi observada diferença ($P > 0,15$) para as médias de resposta superovulatória e números de corpos lúteos totais.

As médias de estruturas totais produzidas, estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis em função dos tratamentos são apresentados na tabela 7.

Tabela 7. Média e percentagem de estruturas totais e médias e percentagens de estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis de vacas Nelores alimentadas com linhaça ou canola em grãos

Table 7. Means and percentage of total structures and means of unfertilized structures, degenerated embryos and congelable embryos of Nelore cows fed linseed or canola

Tratamentos <i>Treatments</i>	TES ¹ <i>CON¹</i>	LIN ² <i>LIN²</i>	CAN ³ <i>CAN³</i>
Número de Vacas <i>Number of cows</i>	16	14	16
Variáveis <i>Variables</i>			
Média de estruturas totais <i>Means of total structures</i>	6,20	4,96	6,50
Média de estruturas infertilizadas <i>Means of unfertilized structures</i>	2,53	1,17	1,60
% de estruturas infertilizadas <i>% of unfertilized structures</i>	40,81	23,59	24,62
Média de embriões degenerados <i>Means of degenerated embryos</i>	0,32a	2,48b	1,10ab
% de embriões degenerados <i>% of degenerated embryos</i>	5,16a	49,80b	16,92ab
Média de estruturas congeláveis <i>Means of freezable structures</i>	3,40	1,30	3,80
% de estruturas congeláveis <i>% of freezable structures</i>	54,84	26,21	58,46

¹Ração testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos.

Letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P < 0,15$).

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola.

Different letters on the same line are different ($P < 0,15$).

Não houve diferença ($P>0,15$) entre tratamentos (TES, LIN e CAN) para as médias de estruturas totais produzidas, estruturas infertilizadas e embriões congeláveis.

As médias de estruturas totais (5,89) foram inferiores às observadas por Donaldson (1984), que obteve para animais zebuínos, média de estruturas totais igual a 9,20. Ainda, Gradela et al. (1996) em estudos com zebuínos, obtiveram média superior (11,50) às observadas neste trabalho.

Muller (2003), ao adicionar linhaça ou canola em grãos para vacas nelores doadoras de embriões, obteve média superior ($P<0,05$) de estruturas totais produzidas para os tratamentos SGO (sem adição de gordura 10,40) e CAN (canola em grãos 8,70), comparados ao LIN (linhaça em grãos 5,30). De forma semelhante, Cavalieri et al. (2005) obtiveram valores superiores para esta variável (42,00% para LIN e 32,00% para Megalac®).

Quanto às estruturas infertilizadas neste experimento o protocolo de inseminação foi em tempo fixo, o que dispensa a observação do estro. Ainda, o sêmen utilizado foi previamente analisado quanto a sua motilidade e vigor. Pode ser sugerido que um maior número de estruturas produzidas poderia estar associado ao aumento da percentagem de estruturas infertilizadas, por mecanismos biológicos não esclarecidos neste experimento.

Para a média de embriões degenerados, o tratamento LIN (2,48) foi superior ($P<0,15$) ao tratamento TES (0,32), sendo o tratamento CAN (1,10) intermediário. A média de embriões degenerados obtidas neste trabalho foram menores do que as observadas por Muller (2003). A autora obteve maiores médias de embriões degenerados para os tratamentos SGO (73,00%) e LIN (69,80%) comparadas ao tratamento CAN (23,00%).

Por outro lado, Cavalieri et al. (2005) não observaram diferença para embriões degenerados entre os tratamentos com adição de linhaça ou Megalac®, obtendo valores próximos entre os tratamentos (21,60% e 18,90%), respectivamente. Ao contrário de Cavalieri et al. (2005) e corroborando com os dados obtidos neste trabalho, Capovilla et al. (2006), observaram maiores percentagens de estruturas infertilizadas e embriões degenerados para o tratamento LIN (33,58%) em comparação com Lac-100® (0,00%), atribuindo menor produção e qualidade de embriões oriundos que ovelhas suplementadas com grãos de linhaça.

Muller (2003) também observou maior percentagem de estruturas viáveis para o tratamento CAN (76,90%) em comparação ao SGO (26,90%) e LIN (22,00%). No presente trabalho, não foi observada diferença ($P>0,15$) para a média de embriões

congeláveis, variável relacionada à qualidade dos embriões. Da mesma forma, Cavalieri et al. (2005) observou que a produção e a qualidade dos embriões de vacas Holandesas não foram alteradas em função da alteração do perfil de ácidos graxos da dieta pela adição de linhaça em grão ou Megalac®.

As médias de estruturas infertilizadas e embriões degenerados foram semelhantes ($P>0,15$) entre as estações do ano (Tabela 8). Todavia, houve diferença ($P<0,15$) entre as médias de estruturas totais e embriões congeláveis em função das estações do ano.

Tabela 8. Média e percentagem de estruturas totais e médias e percentagens de estruturas infertilizadas, embriões degenerados e embriões congeláveis em função das estações do ano

Table 8. Means and percentage of total number of structures, unfertilized structures, degenerate embryos and embryos viable for frozen in fall, winter, spring and summer

Estações do ano <i>Seasons</i>	Outono <i>Fall</i>	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Verão <i>Summer</i>
Número de Vacas <i>Number of cows</i>	16	16	14	16
Variáveis <i>Variables</i>				
Média de estruturas totais <i>Means of total structures</i>	8,75b	3,57a	7,25ab	3,50a
Média de estruturas infertilizadas <i>Means of unfertilized structure</i>	2,00	1,22	3,30	0,38
% de estruturas infertilizadas <i>% of unfertilized structures</i>	22,86	34,17	45,52	10,86
Média de embriões degenerados <i>Means of degenerated embryos</i>	2,25	0,50	0,63	2,00
% de embriões degenerados <i>% of degenerated embryos</i>	25,71	14,01	8,69	57,14
Média de embriões congeláveis <i>Means of freezable embryos</i>	4,50b	1,90a	3,40ab	1,10a
% de embriões congeláveis <i>% to become freezable embryos</i>	51,43	53,22	46,90	31,43

Letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P<0,05$).
Different letters on the same line are different ($P<0.05$).

As médias de estruturas totais produzidas no outono (8,75) e primavera (7,25) foram superiores ($P<0,15$) às produzidas no inverno (3,57) e verão (3,50). Ainda, o número de estruturas congeláveis foi menor ($P>0,15$) no verão (1,10) e no inverno (1,90) comparando com o outono (4,50).

A média de estruturas totais produzidas influencia na média de embriões congeláveis. Assim, médias inferiores de estruturas totais produzidas resultariam em menor média de embriões congeláveis.

Alguns trabalhos como os de Critser et al. (1980); Massey & Oden (1984) e Shea et al. (1984), comparando a influência das estações do ano sobre a produção de embriões em vacas zebuínas e européias, não observaram diferenças para esta variável em função das estações do ano para nenhuma das subespécies estudadas.

Badingaa et al. (1993), trabalhando com vacas Holandesas durante o verão na Flórida, observaram influência desta estação sobre a dinâmica folicular e a esteroidogênese. Durante o verão, sobre condição de estresse térmico, o folículo dominante apresentou menor diâmetro e volume de líquido folicular (14,5 mm e 1,1 ml) comparado com vacas termoneutras (16,4 mm e 1,9 ml). Os autores sugeriram que o estresse calórico pode alterar a eficiência da seleção e dominância folicular, assim como, prejudicar a qualidade dos folículos.

Como já mencionado o THI neste trabalho foi de 78,35 o que pode sugerir que as vacas estavam numa condição de alerta, estando no limite superior deste estágio, segundo a classificação de Rosenberg et al. (1983). Por outro lado, Hahn (1999), tomando por base esta classificação, cita que THI abaixo de 75,00 pode não causar danos à produção de animais confinados, desde que as temperaturas noturnas não excedam 23,00 °C. Mesmo sendo a média das temperaturas noturnas obtidas no presente experimento inferior a 23,00 °C, é possível que o THI de 78,35 tenha prejudicado o desempenho global dos animais, independente do tratamento recebido.

Poucos trabalhos objetivam o estudo da influência das estações do ano sobre os aspectos reprodutivos de vacas zebuínas. Ainda, as informações são poucos consistentes, uma vez que o desencontro de informação é grande.

Observa-se na tabela 9 o efeito de interação entre tratamentos e estações do ano ($P < 0,15$). No outono, o número total de estruturas produzidas pelas vacas do tratamento TES (6,20) foi menor ($P < 0,15$) em relação às vacas do tratamento LIN (8,00) e CAN (11,50) (tabela 8). Por outro lado, no inverno, o número total de estruturas produzidas foi maior ($P < 0,15$) pelas vacas do tratamento TES (6,40) em comparação às vacas dos tratamentos LIN (1,50) e CAN (2,40).

Durante a primavera, as vacas do tratamento CAN produziram maior ($P < 0,15$) número de estruturas totais (9,60) em relação às vacas dos tratamentos TES (8,00) e LIN (4,66).

Tabela 9. Efeito da interação entre tratamento x estação do ano para o número total de estruturas produzidas

Table 9. Interaction effect among treatment x seasons for total number of structures produced

Tratamentos <i>Treatments</i>	Outono <i>Fall</i>	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Verão <i>Summer</i>	Média <i>Mean</i>
TES ¹ CON ¹	6,20b	6,40a	8,00b	3,75ab	6,09
LIN ² LIN ²	8,00a	1,50b	4,66b	5,00a	4,79
CAN ³ CAN ³	11,50a	2,40b	9,60a	0,25b	5,94
Média <i>Mean</i>	8,56	3,43	7,42	3,00	

¹Ração testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos.

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (P<0,15).

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola.

Different letters on the same column are different (P<0.15).

Para a média de estruturas infertilizadas foi observada interação (P<0,15) entre tratamento e estação do ano apenas na primavera (tabela 10).

Tabela 10. Efeito da interação tratamento x estação do ano sobre o número de estruturas infertilizadas

Table 10. Interactions effect of treatments x seasons on number of unfertilized structures

Tratamentos <i>Treatments</i>	Outono <i>Fall</i>	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Verão <i>Summer</i>	Média <i>Mean</i>
TES ¹ CON ¹	0,80	2,40	5,20b	1,50	2,48
LIN ² LIN ²	3,40	0,25	1,50a	0,00	1,29
CAN ³ CAN ³	1,83	0,80	3,40ab	0,00	1,51
Média <i>Mean</i>	2,01	1,15	3,37	0,50	

¹Ração testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos.

Letras diferentes na mesma coluna são diferentes (P<0,15).

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola.

Different letters on the same column are different (P<0.15).

No outono, inverno e verão não houve efeito do tratamento (P>0,15) sobre o número de estruturas infertilizadas (P>0,05). No entanto, na primavera as vacas do tratamento TES produziram uma quantidade superior (P<0,15 – 5,20) de estruturas infertilizadas em relação às vacas dos tratamentos LIN (1,50). O tratamento CAN apresentou média semelhante (P>0,15 – 3,40) ao tratamento TES e LIN.

Houve interação (P<0,05) para a média do número de embriões degenerados (tabela 11).

Tabela 11. Efeito da interação tratamento x estação do ano sobre o número de embriões degenerados

Table 11. Interaction effect of treatment x seasons on number of degenerated embryos

Tratamentos <i>Treatment</i>	Outono <i>Fall</i>	Inverno <i>Winter</i>	Primavera <i>Spring</i>	Verão <i>Summer</i>	Média <i>Mean</i>
TES ¹ CON ¹	0,00	0,40ab	0,20	0,75	0,34
LIN ² LIN ²	4,60	1,00b	0,17	3,62	2,35
CAN ³ CAN ³	2,17	0,20a	1,60	0,00	0,99
Média <i>Mean</i>	2,26	0,53	0,66	1,46	

¹Ração testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos.

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si (P<0,15).

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola.

Different letters on the same column are different (P<0.15).

Não houve diferença (P>0,15) entre os tratamentos para a média de embriões degenerados durante o outono, primavera e verão. Todavia, os tratamentos LIN (1,00) e CAN (0,20) diferiram entre si (P<0,15) no inverno, sendo observada média superior para embriões degenerados para o tratamento LIN. A média de embriões degenerados foi no tratamento TES (0,40) foi semelhante a LIN e CAN.

Putney et al. (1988), ao trabalharem com vacas Holandesas no processo de TE, observaram diferenças na qualidade de embriões. Durante as estações frias, a qualidade dos embriões era superior àqueles embriões coletados durante o verão. Assim, os autores recomendaram que a colheita dos embriões fosse realizada durante o período frio. No entanto, que os mesmos fossem armazenados durante o frio e inovulados durante o verão, obtendo assim, melhores resultados nas taxas de gestação.

Não houve interação (P>0,15) para o número de embriões congeláveis.

Quando a variação entre os indivíduos que compõem as amostras é grande, esta diferença encobre os possíveis efeitos de tratamento, assim como qualquer diferença entre eles.

Segundo Hasler (1992), a média de 5 embriões transferíveis por colheita de uma doadora, esconde a variabilidade da resposta, com extremos de 0 a mais de 50 estruturas. Essa variabilidade pode ser relacionada com diversos fatores e que permanecem pouco compreendidos (Alvarez, 1994; Kafí & McGowan, 1997). Por sua vez, os mecanismos envolvidos na variação entre indivíduos, não podem ser facilmente determinados (Hasler, 1992).

Quanto à influência da TR (temperatura retal) sobre a resposta superovulatória, pode ser observado um aumento linear ($P < 0,05$) do número de animais que responderam a superovulação em função do aumento da temperatura retal (figura 1).

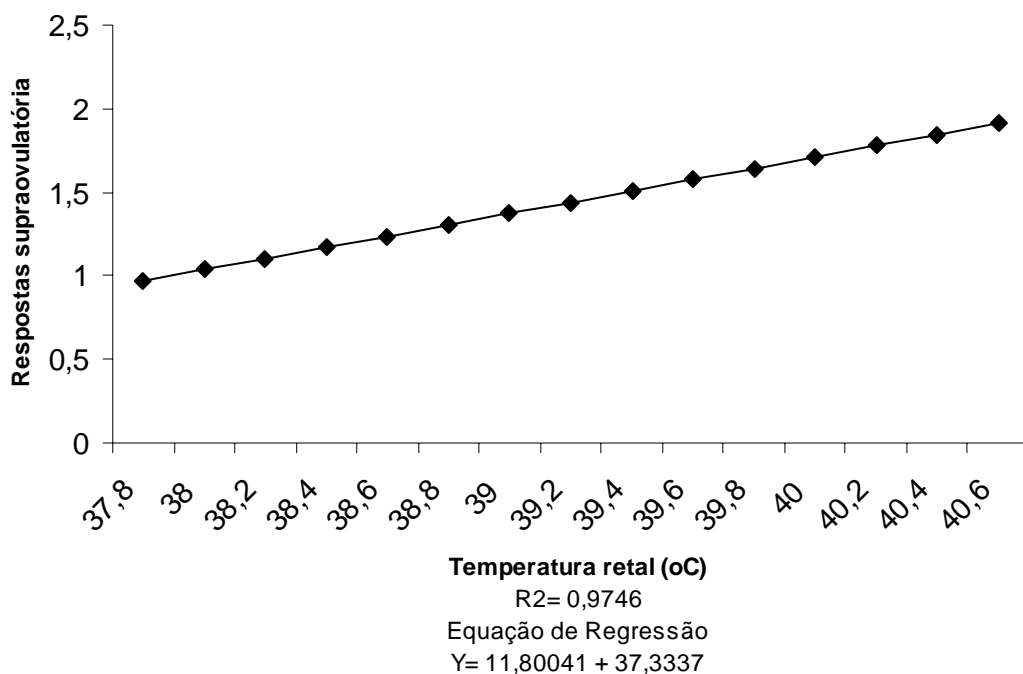


Figura 1. Número de animais responsivos a superovulação em relação ao aumento da temperatura retal.

Figure 1. Number of responsive animals to superovulation in relation to the rectal temperature increase.

Segundo Silva (2000), para zebuínos adultos a temperatura retal está dentro da faixa de 38,5 a 39,7 °C, sendo a média 39,1 °C. Ainda, o mesmo autor descreve que a zona de conforto térmico para esta subespécie está entre 7 °C a 35 °C (temperatura ambiente), sendo consideradas temperaturas críticas as inferiores e superiores (TCI e TCS), respectivamente. Quando a temperatura ambiente ultrapassa a TCI o animal passa para condição de estresse pelo frio, e quando acima da TCS o estresse passa a ser pelo calor (Silva, 2000).

O estresse térmico pode resultar no aumento ou redução da temperatura corporal, hipertermia ou hipotermia respectivamente. No entanto, a manifestação do estro também resulta no aumento da temperatura corporal o que explica o comportamento observado no gráfico 1. O aumento na temperatura corporal entre 1,0 e 1,5 °C é considerado normal próximo à ovulação.

Putney et al. (1988), observaram que apenas 20,7% dos 82 embriões recuperados de vacas Holandesas em estresse pelo calor eram normais, comparados com 51,5% de 68 embriões oriundos de vacas termoneutras.

Todavia, neste trabalho a TR não apresentou influência ($P>0,05$) sobre o número de corpos lúteos nos ovários esquerdos e direitos, média de estruturas totais, infertilizadas, embriões degenerados e congeláveis. Tais resultados foram obtidos em virtude das médias de temperatura e umidade relativa do ar durante as quatro estações estarem dentro da zona de conforto térmico para zebuínos.

Conclusões

A adição de fontes de ômega-3, como por exemplo, a linhaça em grãos, ou fonte de ômega-6 e ômega-9, como por exemplo, canola em grãos, fornecidas para vacas nelores em confinamento, não alterou a resposta superovulatória, a produção e qualidade dos embriões. Desta forma não se justifica o uso destas fontes para vacas doadoras, em função do alto custo destes alimentos.

As estações do ano, inverno e verão, influenciaram a produção e qualidade de embriões na região noroeste do Paraná. Desta forma, pode haver restrição quanto à realização de colheitas de embriões em diferentes estações do ano.

Literatura Citada

- ADASHI, E.Y. Intraovarian regulation: the IGF-I example. **Reproduction Fertility Development**, v.4, p.497-504, 1992.
- ALVAREZ, R. H. Recentes progressos na superovulação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.3, p.1-3, 1994.
- BADINGAA, L.; THATCHERA, W.W., DIAZA, T. et al. Effects of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v.39, n.4, p.797-810, 1993.
- BOLAND, M.P.; GOULDING, D.; ROCHE, J.F. Alternative gonadotrophins for super ovulation in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.5-17, 1991.
- BOLAND, M.P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. **Theriogenology**, v.55, p.1323-1340, 2001.
- BOND, T.E. C.F. KELLY. 1955. The globe thermometer in agriculture research. *Agricultural Engineer*, 36:251-260.

- BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; ROCHA JUNIOR, V.R. et al. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.346-354, 2004.
- CAPOVILLA, L.C.T; RIGOLON, L.P.; CAVALIERI, F.L.B. et al. Superovulação e viabilidade de embriões de ovelhas santa Inês alimentadas com ácidos gaxos essenciais. **Revista de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.4, n.3, p.32-47, 2006.
- CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; PETIT, H. et al. Efeito de duas fontes de gordura (Megalac® ou linhaça em grão) na dieta na produção de embriões em vacas leiteiras da raça Holandesa. **Acta Scientiae Veterinariae** (Suplemento 1) n. 33 p.217, 2005.
- CRISTER, J.K.; ROWE, M.P.; DELCAMPO, M.R. et al. Embryo transfer in cattle and factors affecting superovulatory response, number of transferable embryo and length of post-treatment oestrus cycle. **Theriogenology**, v.13, p.397-406, 1980.
- DONALDSON, L.E. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. **Theriogenology**, v.21, p.1013-1018, 1984.
- DOWING, J.A.; SCARAMUZI, R.J.; LAMMING, G.E. et al. Nutrients effect on ovulation rate, ovarian function and secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.43, n.1, p.209-227, 1991.
- GONG, J.G.; BAXTER, G.; BRAMLEY, T.A. et al. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.110, p.91-97, 1997.
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; ROSA E SILVA, A.A.M. Plasma concentrations of progesterone, 17 β estradiol and androstenedione and superovulatory response of Nelore cows (*Bos indicus*) treated with FSH. **Theriogenology**, v.45, p.843-850, 1996.
- GUTIÉRREZ, C.G.; OLDHAM, J.; BRAMLEY, T.A. et al. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p.1876-1884, 1997.
- HAHN, G.L. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. **Journal of Animal Science**, v. 77 (supplement 2), p.10-20, 1999.
- HASLER, J.F. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.75, p. 2857-2879, 1992.
- HASLER, J.F.; McCAULEY, A.D.; SCHERMERHORN, E.C. et al. Superovulatory responses of Holstein cows. **Theriogenology**, v.19, p.83-99, 1983.
- IETS – **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. International Embryo Transfer Society, 3.ed, São Paulo: SBTE, 1999. 180p.
- KAFI, M.; MCGOWAN, M.R. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. **Animal Reproduction Science**, v.48, p.137-157, 1997.
- MASSEY, J.M.; ODEN, A.J. No seasonal effect on donor performance in southwest region of USA. **Theriogenology**, v.21, p.196-217, 1984.
- MÜLLER, M. **Fontes de gordura e flushing no desempenho de novilhas e vacas de corte no pós-parto**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2003. 135p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, 2003.

- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th Revised Edition, National Academy Press. Washington, D.C. 1996. 242 p.
- NELDER, J.; WEDDERBURN, R.W. Generalize linear models. **Journal Research Statistic Science**, v.135, p.370-384, 1972.
- NUSSIO, L.G.; CAMPOS, F.P.; LIMA, M.L.M. Metabolismo de carboidratos estruturais. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. (Ed.) **Nutrição de ruminantes**. 1.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. p.183-223.
- O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.68, p.299-314, 1999.
- PENNA, V. M. Núcleos MOET em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n.4, p.82-104, 1993.
- PETIT, H.V.; DEWHURST, R.J.; SCOLLAN, N.D. et al. Milk production and composition, ovarian function, and prostaglandin secretion of dairy cows fed omega-3 fats. **Journal Dairy Science**, v.85, p.889-899, 2002.
- PINTO NETO, A.; SILVA FILHO, J.M.; FONSECA, J.F. et al. Morphological aspects and pregnancy rate of Nellore cow embryos, cooling in a modified Celle container during 24 hours at 5°C. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 2, p.159-162, 1999. (on-line) <http://www.scielo.br/06/03/2006>.
- PUTNEY, D.J.; THATCHER, W.W.; DROST, M. et al. Influence of environmental temperature on reproductive performance of embryo donors and recipients in the southwest region of United States. **Theriogenology**, v. 30, p. 905–922, 1988.
- RIGOLON, L.P.; PRADO, I.N.; CAVALIERI, F.L.B. et al. Efeito de diferentes níveis de energia sobre a produção e viabilidade de embriões em novilhas e vacas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p.1304-1310, 2003.
- ROSENBERG, N.J.; B.L. BLAD AND S.B. VERMA. 1983. Human and animal biometeorology. In: N.J. Rosenberg, B.L. Blad and S.B. Verma. *Microclimate: The biological environment*. Wiley-Interscience. 2nd. Ed. pp.425-467.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT. **User's guide**, Version 9.1, Cary, North Carolina: SAS Institute, 2006.
- SHEA, B.F.; JANZEN, R.E.; MCDERMAND, D.P. Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. **Theriogenology**, v.21, p.186-195, 1984.
- SILVA, R.G. **Introdução a bioclimatologia animal**. 1.ed. São Paulo: Nobel, 2000, 286p.
- SILVA, I.J.O.; H. PANDORFI, JR.; I. ACARARO. et al. Efeito da climatização do curral de espera na produção de leite de vacas holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.2036, 2002.
- SPICER, L.J.; ECHTERKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor with an emphasis on domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, p.223-245, 1995.
- THOM, E.C. 1958. Cooling degrees: day air- conditioning, heating and ventilating. *Transactions of the American Society of Heating*, 55:65.

WEBB, R.; ARMSTRONG, D.G. Control of ovarian function: effect of local interactions and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. **Livestok Production Science**, v.53, p.95-112, 1998.

YAAKUB, H.; O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Effect of type and quality of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. **Theriogenology**, v.49, p.1259-1266, 1999.

Concentração de ácidos graxos no plasma sanguíneo e no líquido folicular de vacas suplementadas com linhaça ou canola em grãos.

Resumo: Avaliou-se a concentração de ácidos graxos (AGs) no plasma sanguíneo e no líquido folicular de vacas Nelores suplementadas com grãos de linhaça (n-3) ou canola (n-9 e n-6). Foram utilizadas 11 vacas Nelores, distribuídas ao acaso, em um dos tratamentos: TES (testemunha), LIN (linhaça) e CAN (canola), nos quais receberam as referidas rações por 80 dias. Previamente as colheitas, as vacas foram submetidas à sincronização estral. Foram colhidos 15 mL de sangue da veia jugular e os folículos iguais ou maiores que 10 mm foram aspirados. No tratamento TES as concentrações foram superiores para os AGs C18:0, C18:2 n-6 ($P<0,20$) e C20:3 n-6 ($P<0,05$) no plasma em relação ao líquido folicular. Da mesma forma, as concentrações foram superiores no plasma para os AGPI (ácidos graxos poliinsaturados $P<0,15$), os AGs da série n-6 ($P<0,21$) e a razão entre AGPI e AGS (ácidos graxos saturados $P<0,17$) e os AGs da série n-6 e n-3 ($P<0,05$). Ao contrário, as concentrações foram inferiores no plasma para o AG C18:1 n-9 ($P<0,07$) e os AGMI ($P<0,08$). No tratamento LIN foram superiores as concentrações dos AG C18:0 ($P<0,05$), C18:2 n-6 ($P<0,06$), AGPI ($P<0,12$), AGs da série n-6 ($P<0,07$) e a razão entre os AGPI e AGS ($P<0,21$) no plasma em comparação ao líquido folicular. Todavia, as concentrações foram inferiores para os AGs C14:0, C16:1 n-7, AGMI ($P<0,05$), C16:0 e C18:1 n-9 ($P<0,06$) no plasma. Para o tratamento CAN, as concentrações foram superiores para os AGs C18:0 ($P<0,05$), AGS ($P<0,07$) e a razão entre os AGs da série n-6 e n-3 no plasma. No entanto, foram inferiores os AGs C20:3 n-6 ($P<0,21$), C22:5 n-3 ($P<0,10$), AGPI ($P<0,09$) e os AGs da série n-3. No plasma sanguíneo em função dos tratamentos, as concentrações do AG C18:1 n-9 e AGMI foram superiores ($P<0,05$) para o tratamento CAN, intermediários para o tratamento LIN e inferiores para o tratamento TES. Os AGs da série n-3 foram superiores ($P<0,10$) para LIN e CAN, enquanto a razão entre os AGs da série n-6 e n-3 foi superior ($P<0,05$) no TES. No líquido folicular, as concentrações dos AG C14:0, C16:0 e AGS foram superiores ($P<0,05$) no tratamento LIN. O AG C16:1 n-7 foi superior ($P<0,05$) para LIN em relação ao TES, sendo o CAN intermediário. O C18:1 n-9 foi superior ($P<0,05$) para LIN em relação a CAN e o TES intermediário. O CAN apresentou concentrações superiores ($P<0,05$) ao TES e LIN para os AGs C18:2n-6, C18:3n-3 e C20:3n-6, C22:5 n-3, AGPI, AGs da série n-6 e n-3 e a razão entre os AGPI e AGS.

Palavras-chaves: ácidos graxos, biohidrogenação, omega-3, omega-9, vaca

Fatty acids composition of plasma and follicular liquid of cows supplemented with linseed or canola.

Abstract: The plasma and follicular liquid fatty acids composition were evaluated in Nellore cows supplemented with either linseed (n-3) or canola (n-9 and n-6). Eleven Nellore cows were randomly distributed in the following treatments: CON (control), LIN (linseed) and CAN (canola). The cows were fed during 80 days. Previously the collects, the cows were subjected to estrus synchronization. A total of 15 mL of blood of jugular vein were collected and follicles either like or bigger than 10 mm were aspirated. The fatty acids composition was analyzed by gas chromatography (Shimadzu 14-A). The concentrations of C18:0, C18:2n-6 ($P<0.20$) and C20:3n-6 fatty acids on treatment CON were higher in plasma in relation to follicular liquid. As well as, the PUFA ($P<0.15$), n-6 ($P<0.21$) concentrations and the PUFA:SFA ratio ($P<0.17$) and the n-6 and n-3 ($P<0.05$) fatty acid in the plasma were higher. On the other hand, the C18:1n-9 ($P<0.07$) and MUFA ($P<0.08$) concentrations were lower in the plasma. On LIN treatment the C18:0 ($P<0.05$), C18:2n-6 ($P<0.06$), PUFA ($P<0.12$) and n-6 ($P<0.07$) concentrations and MUFA:SFA ratio ($P<0.21$) were higher in the plasma than in the follicular liquid. Nevertheless, the C14:0, C16:1n-7, PUFA ($P<0.05$), C16:0 and C18:1n-9 ($P<0.06$) concentrations were lower to plasma. To treatment CAN, the C18:0 ($P<0.05$) and SFA ($P<0.07$) concentrations and the PUFA:SFA and n-6:n-3 ratios ($P<0.06$) were higher on plasma. However, the C20:3n-6 ($P<0.21$), C22:5n-3 ($P<0.10$), PUFA ($P<0.09$) and n-3 concentrations were lower. In relation to treatments, the C18:1n-9 and PUFA concentrations in the plasma were higher ($P<0.05$) to CAN, intermediate to LIN and lower to CON. The n-3 fatty acids were superior ($P<0.10$) to LIN and CAN, while the ratio between n-6 and n-3 fatty acids was higher ($P<0.05$) to CON. On follicular liquid, the C14:0, C16:0 and SFA concentrations were higher ($P<0.05$) to LIN. The C16:1n-7 concentration was higher ($P<0.05$) to LIN than COM, while CAN was intermediate. The C18:1n-9 concentration was higher ($P<0.05$) to LIN in relation to CAN, and CON was intermediate. The CAN showed the highest concentrations of C18:2n-6, C18:3n-3, C20:3n-3, PUFA, n-6 and n-3 and the highest PUFA:SFA ratio.

keywords: cow, biohydrogenation, fatty acids, omega-3, omega-9

Introdução

Em observações de campo, a taxa de gestação de embriões congelados oriundos de fêmeas da raça Nelore é inferior e inconsistente quando comparado com raças européias como Holandesa e Red Angus. De maneira geral, a taxa de gestação de embriões a fresco é sempre superior a embriões congelados. Isto está diretamente relacionado com as lesões celulares ocorridas durante o processo de congelação do embrião (Reichenbach et al., 2002).

As membranas celulares parecem ser o principal local a ser lesado no processo de resfriamento dos embriões. Segundo Zeron et al. (2002) a fluidez da membrana determina a concentração de lesão a ser causada na mesma durante o processo de congelação do embrião.

Stubbs & Smith (1984) observaram que o aumento na fluidez da membrana está diretamente relacionado à quantidade de ácidos graxos poliinsaturados presentes na membrana plasmática das células a serem congeladas.

Além disso, foram observados por Cavalieri et al. (2005) ao trabalharem com novilhas receptoras da raça Holandesa divididas em dois tratamentos: T1 – Megalac® (Volac Ltd., Roston, Hertfordshire, UK) e T2 – Linhaça em grãos, que receberam embriões congelados de vacas alimentadas com linhaça ou Megalac®, não houve diferença entre tratamentos para a taxa de gestação das novilhas receptoras. No entanto, os autores observaram que as novilhas que receberam embriões das vacas alimentadas com linhaça apresentaram aumento na taxa de gestação. Os autores sugeriram que embriões coletados e congelados de doadoras que foram suplementadas com linhaça em grãos podem ser mais resistentes ao processo de congelação do que os embriões daquelas suplementadas com Megalac®.

No entanto, nos ruminantes, algumas transformações podem ocorrer nos lipídeos da dieta, alterando a composição e o perfil de ácidos graxos que chega ao duodeno, sendo que essas alterações são decorrentes, principalmente, dos processos de lipólise e de biohidrogenação (Oliveira et al., 2004).

Menos de 10% dos ácidos graxos poliinsaturados escapam da biohidrogenação no rúmen, de tal forma que, os produtos da digestão que chegam ao intestino delgado, são basicamente, ácidos graxos saturados (palmítico e esteárico), pequenas quantidades de ácidos graxos monoinsaturados, pequenas quantidades de ácidos graxos poliinsaturados e lipídeos microbianos (Oliveira et al., 2004).

Assim, devido ao processo de hidrogenação os ácidos graxos têm suas cadeias alteradas e são absorvidos na forma de outros ácidos graxos, diferentes na sua maioria daqueles que foram fornecidos na dieta.

O objetivo foi avaliar a composição de ácidos graxos presentes na circulação sanguínea e no líquido folicular de vacas suplementadas com linhaça ou canola em grãos.

Material e métodos

Local: O experimento foi realizado no setor de Bovinocultura de Corte da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). As análises de composição de ácidos graxos foram realizadas no Laboratório de Análises de Alimentos da UEM.

Animais: foram utilizadas 11 vacas Nelore P.O. (Pura de Origem), com idade média de cinco anos, peso de 550 kg \pm 48 kg e escore corporal igual a três (escala de 1 a 5).

Tratamentos: Os tratamentos foram baseados em três rações experimentais. A ração TES (testemunha), LIN (adição de linhaça em grãos inteiros) e CAN (ração com adição de canola em grãos inteiros). As rações foram fornecidas por 80 dias, sendo a quantidade próxima a 10,5 kg/vaca/dia.

Rações: As rações foram formuladas de acordo com as recomendações do NRC (1996) na tentativa de serem isoprotéicas e isoenergéticas. Foi utilizado o valor tabelado (NRC, 1996) para estimar o NDT das rações (nutrientes digestíveis totais). A composição química dos alimentos e das rações está apresentada na Tabela 1. A percentagem dos alimentos nas rações experimentais está na tabela 2. A composição em ácidos graxos das rações está na tabela 3.

Tabela 1. Composição química dos alimentos e das rações experimentais

Table 1. Chemical composition of foods and experimental diets

Ingredientes <i>Ingredients</i>	MS ¹ <i>DM¹</i>	PB ² <i>CP²</i>	FDN ³ <i>NDF³</i>	CZ ⁴ <i>ASH⁴</i>	EE ⁵ <i>EE⁵</i>	NDT ⁶ <i>TDN⁶</i>
Casca de algodão <i>Cottonseed hulls</i>	92,50	3,64	82,98	1,62	0,90	48,80
Farelo de algodão <i>Cottonseed meal</i>	93,30	34,39	51,30	4,34	1,62	63,00
Milho quirera <i>Ground corn</i>	90,70	9,51	14,68	1,22	2,56	80,00
Gérmen de milho <i>Corn germ</i>	84,60	14,00	26,17	3,08	6,30	77,00
Linhaça <i>Linseed</i>	94,40	24,53	42,30	3,75	28,4 3	127,00
Canola <i>Canola</i>	95,40	30,04	44,95	3,57	29,3 0	127,00
Sal reprodução ⁷ <i>Reproduction salt</i>	97,83	-	-	-	-	-
Calcário <i>Limestone</i>	98,00	-	-	-	-	-
TES ⁷ <i>CON⁷</i>	90,64	9,44	51,41	2,00	2,43	67,19
LIN ⁸ <i>LIN⁸</i>	92,90	9,10	69,05	2,08	5,96	72,07
CAN ⁹ <i>CAN⁹</i>	92,92	9,09	67,85	1,92	5,75	71,89

¹Matéria seca, ²Proteína bruta, ³Fibra em detergente neutro, ⁴Cinzas, ⁵Extrato etéreo, ⁶Nutrientes Digestíveis Totais, ⁷Níveis de garantia: cálcio (Mín.) - 150g; fósforo (Mín.) - 90g; enxofre - 15g; magnésio - 13g; sódio - 115g; cobre - 1.650mg; zinco-4.400mg; manganês - 1.500mg; cobalto - 90mg; iodo - 90mg; selênio - 27mg; ferro - 3.710mg; flúor (máx.) - 900mg; solubilidade do fósforo em ác. Cítrico 2% (min) - 95%; ⁸Ração Testemunha, ⁹Ração com adição de linhaça em grãos e ¹⁰Ração com adição de canola em grãos.

¹Dry matter, ²Crude protein, ³Neutral Detergent Fiber, ⁴Ash, ⁵Ether extract, ⁶Total Nutrients Digestible, ⁷Guarantee level: calcium (Min.) - 150g; phosphorus (Min.) - 90g; sulfur - 15g; magnesium - 13g; sodium - 115g; copper - 1,650mg; zinc - 4,400mg; manganese - 1,500mg; cobalt - 90mg; iodine - 90mg; selenium - 27mg; iron - 3,710mg; fluorine (max.) - 900mg; phosphorus solubility in Citric ac. 2% (min) - 95%; ⁸Control Diet, ⁹Diet with linseed and ¹⁰Diet with canola.

Tabela 2 - Composição percentual das rações experimentais (% MS)

Table 2 - Percentual composition of experimental diets (%DM)

Ingredientes (% MS)	TES ¹	LIN ²	CAN ³
<i>Ingredients (%DM)</i>	<i>TES¹</i>	<i>LIN²</i>	<i>CAN³</i>
Casca de algodão	47,53	69,88	69,59
<i>Cottonseed hulls</i>			
Farelo de algodão	8,03	4,83	1,99
<i>Cottonseed meal</i>			
Milho quirera	23,33	4,93	9,50
<i>Ground corn</i>			
Gérmen de milho	19,05	0,00	0,00
<i>Corn germ</i>			
Linhaça	0,00	18,36	0,00
<i>Linseed</i>			
Canola	0,00	0,00	16,93
<i>Canola seed</i>			
Sal reprodução	1,07	1,05	1,04
<i>Reproduction salt</i>			
Calcário	1,07	1,05	1,04
<i>Limestone</i>			
Total	100,00	100,00	100,00
<i>Total</i>			

¹Ração Testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos e ³Ração com adição de canola em grãos.¹Test Diet, ²Diet with linseed and ³Diet with canola seed.

Tabela 3. Percentagem de ácidos graxos das rações experimentais

Table 3. Percentage of experimental diets total fatty acids

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	TES ¹ <i>CON</i> ¹	LIN ² <i>LIN</i> ²	CAN ³ <i>CAN</i> ³
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	12,93	5,38	5,51
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	7,01	8,17	2,82
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoico) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	40,89	29,12	64,83
C18:1 n-7 (ácido 11-octadecenoico) <i>C18:1 n-7 (11-octadecenoic acid)</i>	0,28	0,23	0,00
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienoico) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	38,05	19,33	21,31
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienoico) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	0,85	37,77	5,53
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	38,90	57,10	26,84
AGMI (Ácidos Graxos Monoiinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	41,17	29,35	64,83
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acids)</i>	19,94	13,56	8,33
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	38,05	19,33	21,30
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	0,85	37,77	5,53
AGPI/AGS <i>PUFA/MUFA</i>	1,95	5,03	3,23
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	44,93	0,52	3,86

¹Ração Testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos, ³Ração com adição de canola em grãos.
¹Control Diet, ²Diet with linseed and ³Diet with canola.

Delineamento experimental: As vacas foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, sendo o tratamento TES com 3 repetições (n=3), o tratamento LIN com 4 repetições (n=4) e o tratamento CAN com 4 repetições (n=4).

Sincronização do estro: Após 70 dias de alimentação, as vacas foram submetidas à sincronização estral com implante auricular contendo 5,0 mg de Norgestomet (Crestar® - Lab. Intervet Ltda) e aplicado 2,0 mL 2,0 mg de benzoato de estradiol (Estrogin® - Lab. Farmavet Ltda) via intramuscular, sendo considerado o primeiro dia do protocolo hormonal ou dia 0 (D0). No D9 o implante auricular foi retirado e aplicado aplicado 2,0 mL de hormônio luteolítico, prostaglandina F2 α (PGF2 α) (Ciosin® - Lab. Coopers Ltda) via intramuscular no período da manhã. Na manhã do D11 foi realizada a colheita de sangue e aspiração do líquido folicular.

Colheita de sangue e aspiração: Amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular, em tubos heparinizados, sendo logo em seguida submetidas à centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos. O plasma foi separado, acondicionado em frascos *ependorf* em duplicata de 1 mL cada e armazenado a -20°C para as posteriores análises. A aspiração do líquido folicular, foi realizada por meio de aparelho de ultra-som marca ALOKA tipo SSD500 com sonda setorial convexa de 5 MHz adaptada a um sistema de agulha (18 G) e acoplada ao sistema de vácuo (bomba) com a aspiração folicular correspondendo a aproximadamente 13 a 15 mL de água por minuto. O líquido folicular foi aspirado em tubo *corning* de 50 mL e logo após transferido para *ependorf*.

Extração: A transesterificação dos triacilgliceróis para obtenção dos ésteres metílicos de ácidos graxos foi realizada seguindo a metodologia descrita por Folch (1957). No entanto, foram feitas adaptações proporcionais quanto ao volume de solvente utilizado. Para cada 1 mL de amostra foi adicionado 2 mL de metanol, 2 mL de clorofórmio e 1 mL de água destilada. Após, a solução foi colocada em funil de separação e adicionado 10 mL de clorofórmio, adaptação feita para obter melhor separação das fases. Após repouso de 10 horas, a fase inferior contendo clorofórmio e a amostra foi transferida para balão de vidro e colocada em rota-vapor, em que permaneceu em “banho-maria” (28 °C) em rotação de 130 rpm. Utilizando nitrogênio comprimido, o solvente residual foi retirado e adicionado 2 mL de heptano. Por meio de micropipeta de vidro, a amostra foi transferida para tubo de vidro rosquiável previamente preparado com 2 mL da solução de KOH (hidróxido de potássio) diluído em metanol. O tubo de vidro foi agitado por 1 minuto e refrigerado (10 °C) por 12 horas. Posteriormente, a fase superior foi transferida para *ependorf* identificado.

Cromatografia Gasosa: O cromatógrafo utilizado foi o Shimadzu A-14, equipado com um detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida (100 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 µm de CP-Sil88, ChromPack). Os fluxos de gases foram de 1,2 mL/min para o gás de arraste H₂, 30 mL/min para o gás auxiliar N₂, e 30 e 300 mL/min para os gases da chama H₂ e ar sintético, respectivamente. As temperaturas do injetor e detector foram 220 e 230°C, respectivamente. A temperatura da coluna foi de 60° C por quatro minutos, sendo então elevada para 140° C, a uma taxa de 40°C/min, na qual permaneceu por dez minutos. Em seguida a temperatura foi elevada para 225° C, a uma taxa de 5° C/min, permanecendo

por 12 minutos. As áreas de picos foram determinadas pelo método da normalização, utilizando um Integrador-Processador CG-300. Os picos foram identificados por comparação dos tempos de retenção de padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (Sigma).

Análises estatísticas: As variáveis dependentes foram analisadas utilizando o programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas) descrito por Euclides (1983).

O modelo estatístico aplicado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ijk}, \text{ onde:}$$

Y_{ij} = Observação referente ao animal "j", submetido ao tratamento i (i=1,2 e 3);

μ - constante geral;

T_i = Efeito do tratamento i (i= 1, 2 e 3);

e_{ijk} = Erro aleatório associado a cada observação.

Para comparação entre médias, foi utilizado o teste de Tukey.

Resultados e discussão

No plasma sanguíneo das vacas do tratamento TES a concentração do AG C18:0 (22,20%) foi superior ($P < 0,20$) a concentração observada no líquido folicular (18,33%) como apresentado na Tabela 4.

A concentração do AG C18:2 n-6 também foi superior ($P < 0,20$) para o plasma sanguíneo (16,12%) em relação ao líquido folicular (4,17%).

Da mesma forma, a concentração do AG C20:3 n-6 foi superior ($P < 0,05$) no plasma sanguíneo (2,01%) em relação ao líquido folicular (0,22%). Ao contrário, a concentração do AG C18:1 n-9 (14,49%) foi inferior ($P < 0,07$) a concentração observada no líquido folicular (27,43%).

Tabela 4. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular do tratamento testemunha (TES)

Table 4. Fatty acids percentage of plasma and follicular liquid of control treatment (CON)

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	PLA ¹ <i>PLA¹</i>	LIF ² <i>FLI²</i>	CV ³ <i>CV³</i>
C14:0 ácido tetradecanóico <i>C14:0 (tetradecanoic acid)</i>	1,55	1,43	49,68
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	19,85	19,42	47,42
C16:1n-7 (ácido 9-hexadecenoico) <i>C16:1n-7 (9-hexadecenoic acid)</i>	0,34	0,27	244,94
C17:1n-7 (ácido 10-heptadecenoico) <i>C17:1n-7 (10-heptadecenoic acid)</i>	0,00	0,00	0,00
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	22,20b	18,33a	15,63
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoico) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	14,49 ^a	27,43b	29,67
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienoico) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	16,12b	4,71a	85,83
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienoico) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	0,00	0,00	0,00
C20:3n-6 (ácido 8,11,14-eicosatrienoico) <i>C20:3n-6 (8,11,14-eicosatrienoic acid)</i>	2,01b	0,22a	87,55
C20:4n-6 (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico) <i>C20:4n-6 (5,8,11,14-eicosatetraenoic acid)</i>	0,27	0,31	244,95
C22:0 (ácido docosanóico) <i>C22:0 (docosanoic acid)</i>	0,00	0,00	0,00
C22:5n-3 (ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico) <i>C22:5n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid)</i>	0,31	1,58	208,51
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	18,71b	6,82a	65,51
AGMI (Ácidos Graxos Monoinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	14,82 ^a	27,70b	31,12
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acid)</i>	43,61	39,18	31,10
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	18,40b	5,24a	84,54
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	0,31	1,58	106,66
AGPI/AGS <i>PUFA/SFA</i>	0,43b	0,17a	74,25
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	59,35b	3,32a	11,57
NI ⁴ <i>NI⁴</i>	23,12	26,78	26,40

¹Plasma sanguíneo, ²Líquido folicular, ³Coeficiente de variação e ⁴Ácidos graxos não identificados. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes.

¹Blood Plasma, ² follicular liquid, ³Variation coefficient and ⁴No identified fatty acids. Means followed by different letters on the same line are different.

Como observado para o AG C18:1n-9, a concentração do AGMI foi inferior (P<0,08) no plasma sanguíneo (14,82%) em comparação a concentração no líquido folicular (27,70%). Ao contrário, a concentração de AGPI foi superior (P<0,15) no

plasma sanguíneo (18,71%) em comparação a concentração observada no líquido folicular (6,82%). Todavia a concentração de AGS no plasma sanguíneo (43,61%) foi semelhante ($P>0,05$) aquela observada no líquido folicular (39,18%).

A concentração de AG da série n-6 no plasma sanguíneo (18,40%) foi superior ($P<0,21$) em comparação a concentração no líquido folicular (5,24%). Todavia, não foi observada diferença ($P>0,05$) na concentração do AG da série n-3 entre o plasma sanguíneo (0,31%) e o líquido folicular (1,58%).

A razão entre o AGPI e AGS do plasma sanguíneo (0,43%) foi maior ($P<0,17$) em relação ao líquido folicular (0,17%). Ainda, a razão entre os AGs da série n-6 e n-3, foi superior ($P<0,05$) no plasma em relação ao líquido folicular.

Por outro lado, as concentrações dos demais AGs observadas no plasma sanguíneo e líquido folicular foram semelhantes ($P>0,05$).

Houve um aumento na concentração do AG C18:0 no plasma sanguíneo e no líquido folicular em relação a percentagem deste ácido (7,01%) oferecida na ração. Tal resultado pode estar associado ao processo da biohidrogenação, em que, segundo Medeiros (2002), durante este processo a parte glicerol é fermentada em ácido propiônico e os ácidos graxos insaturados hidrogenados a ácidos graxos saturados.

A alta percentagem do AG C18:2 n-6 na ração, pode ter favorecido a maior concentração do C18:0, isto porque, a hidrogenação do C18:2 n-6 resulta na formação de C18:0, assim como os diferentes isômeros do C18:1 (Tamminga & Doreau, 1991).

A principal fonte de C18:2 n-6 utilizada neste tratamento foi o milho que foi fornecido moído, favorecendo por sua vez a exposição desse ácido graxo ao processo de biohidrogenação.

Outro aspecto que pode ser observado é que as concentrações dos AGPI e AGMI foram menores tanto no plasma sanguíneo como no líquido folicular em relação às percentagens da ração. O contrário pode ser observado com relação aos AGS, que estavam presentes em menores percentagens da dieta. Esta redução nos AGPI e AGMI e o conseqüente aumento nos AGS indicam a saturação em virtude dos processos ruminais.

Quanto aos AGs C20:3 n-6 e C20:4 n-6, mesmo não sendo estes fornecidos na ração, sabe-se que estes AG são produtos do metabolismo do AG C18:2 n-6. Segundo Souza & Visentainer (2006), o AG C18:2 n-6 pode sofrer a ação da enzima D6-dessaturase, formando o AG C18:3 n-6. Ainda, segundo os mesmos autores, pela ação da enzima alongase, forma-se o AG C20:3 n-6. Desta forma, o AG C20:3 n-6 pode

originar as prostaglandinas (PGF) da série 1, o tromboxano A1 e parte pode formar o AG C20:4 n-6, pela ação da enzima D5-dessaturase.

No plasma sanguíneo das vacas do tratamento LIN a concentração do AG C14:0 (0,70%) foi inferior ($P<0,05$) comparada a concentração observada no líquido folicular (4,12%) como apresentado na tabela 5.

Do mesmo modo, as concentrações dos AG C16:0 e C18:1 n-9 apresentaram menores ($P<0,06$) concentrações no plasma sanguíneo (20,74% e 24,58%) comparadas as concentrações observadas no líquido folicular (30,75% e 31,46%).

A concentração do AG C18:0 foi superior ($P<0,05$) no plasma sanguíneo (32,07%) em comparação a concentração no líquido folicular (19,94%). Da mesma forma, a concentração do AG C18:2 n-6 foi superior ($P<0,06$) no plasma sanguíneo (11,41%) com relação ao líquido folicular (5,86%).

As concentrações de AGS no plasma sanguíneo (53,51%) e no líquido folicular (54,81%) foram semelhantes ($P>0,05$). No entanto, a concentração de AGPI foi superior ($P<0,12$) no plasma sanguíneo (15,38%) em comparação a concentração obtida no líquido folicular (6,97%). Por sua vez, os AGMI foram inferiores ($P<0,05$) no plasma sanguíneo (24,58%) em relação ao líquido folicular (33,17%).

Quanto à concentração de AG da série n-6, resultado superior ($P<0,07$) foi obtido no plasma sanguíneo (12,19%) em comparação ao líquido folicular (6,55%). A concentração de AG da série n-3 foi semelhante ($P>0,05$) entre o plasma sanguíneo e o líquido folicular (2,19% e 0,42%), respectivamente. Da mesma forma, a razão entre os AG da série n-6 e n-3 foi semelhante ($P>0,05$) entre plasma sanguíneo e líquido folicular (4,28% e 5,64%).

Por outro lado, a razão entre os AGPI e AGS foi superior ($P<0,21$) no plasma sanguíneo (0,36%) em comparação ao líquido folicular (0,13%).

Tabela 5. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular em função do tratamento linhaça (LIN)

Table 5. Fatty acids percentage of plasma and follicular liquid of linseed treatment (LIN)

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	PLA ¹ <i>PLA¹</i>	LIF ² <i>FLF²</i>	CV ³ <i>CV³</i>
C14:0 ácido tetradecanóico <i>C14:0 (tetradecanoic acid)</i>	0,70a	4,12b	61,43
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	20,74a	30,75b	23,68
C16:1n-7 (ácido 9-hexadecenoico) <i>C16:1n-7 (9-hexadecenoic acid)</i>	0,00a	1,70b	18,58
C17:1n-7 (ácido 10-heptadecenoico) <i>C17:1n-7 (10-heptadecenoic acid)</i>	0,00	0,00	0,00
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	32,07b	19,94a	20,35
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoico) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	24,58a	31,46b	14,74
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienoico) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	11,41b	5,86a	39,60
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienoico) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	2,67	0,42	177,24
C20:3n-6 (ácido 8,11,14-eicosatrienoico) <i>C20:3n-6 (8,11,14-eicosatrienoic acid)</i>	0,27	0,00	282,84
C20:4n-6 (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico) <i>C20:4n-6 (5,8,11,14-eicosatetraenoic acid)</i>	0,78	0,69	127,42
C22:0 (ácido docosanóico) <i>C22:0 (docosanoic acid)</i>	0,00	0,00	0,00
C22:5n-3 (ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico) <i>C22:5n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid)</i>	0,24	0,00	282,84
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	15,38b	6,97a	59,60
AGMI (Ácidos Graxos Moinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	24,58a	33,17b	14,61
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acids)</i>	53,51	54,81	17,63
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	12,46b	6,55a	38,02
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	2,91	0,42	189,75
AGPI/AGS <i>PUFA/SFA</i>	0,36b	0,13a	95,33
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	4,28	5,64	46,41
NI ⁴ <i>NI⁴</i>	6,54	5,05	76,10

¹Plasma sanguíneo, ²Líquido folicular, ³Coeficiente de variação e ⁴Ácidos graxos não identificados. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes.

¹Blood plasma, ² follicular liquid, ³Variation coefficient and ⁴No identified fatty acids. Means followed by different letters on the same line are different.

Semelhante ao ocorrido para o plasma sanguíneo e o líquido folicular no tratamento TES, o AG C16:0 e C18:0 foram superiores em suas concentrações no

plasma sanguíneo e líquido folicular, comparados as percentagens fornecidas na razão do tratamento LIN (5,38% e 8,17%), respectivamente.

Estes resultados podem ser associados não somente ao metabolismo do C18:2 n-6, como também ao metabolismo do AG C18:3 n-3. Normalmente, o produto da hidrogenação do AG C18:3 n-3 é o AG C18:0, enquanto que a hidrogenação do AG C18:2 n-6 resulta não apenas em AG C18:2 n-6, como também em C18:1 (Tamminga & Doreau, 1991).

Segundo Oliveira et al. (2004), para reduzir a biohidrogenação, e assim, aumentar a quantidade de AGPI que chegam ao intestino delgado é necessário fornecer dietas ricas em AGPI, mas também, que elevem o pH ruminal. Palmquist & Jenkins (1980) citam que as bactérias celulolíticas por serem as mais afetadas pela suplementação com gordura e diminuição de pH sejam os microrganismos responsáveis pela biohidrogenação. Ainda, Harfoot & Hazlewood (1997), observaram que a substituição de fibra na dieta por carboidratos de rápida degradação ruminal resultou na redução das taxas de lipólise e biohidrogenação, sugerindo a ação dos microrganismos celulolíticos sobre o processo de biohidrogenação.

No plasma sanguíneo das vacas do tratamento CAN a concentração do AG C18:0 (26,98%) foi superior ($P < 0,06$) em relação ao líquido folicular (22,86%) como apresentado na tabela 6. Assim como, a concentração dos AGS foi superior ($P < 0,07$) para o plasma sanguíneo (48,98%) em comparação ao líquido folicular (43,81%). O contrário observou-se para o AG C20:5 n-3, sendo inferior ($P < 0,10$) sua concentração no plasma sanguíneo (0,00%) em comparação ao líquido folicular (3,44%).

Como para o AG C20:5 n-3, a concentração dos AGPI foi menor ($P < 0,09$) no plasma sanguíneo (20,75%) em relação ao líquido folicular (26,08%). A concentração dos AG da série n-3, também foi inferior ($P < 0,07$) no plasma sanguíneo (2,04%) em comparação ao líquido folicular (5,26%). Por outro lado, a concentração do AG C20:3 n-6 foi inferior ($P < 0,21$) no plasma sanguíneo (0,98%) em relação ao líquido folicular (1,85%).

Quanto à razão entre AGPI e AGS, esta foi semelhante ($P > 0,06$) entre o plasma sanguíneo (0,42%) e o líquido folicular (0,60%). Todavia, a razão entre os AG da série n-6 e n-3 foi superior ($P < 0,16$) para o plasma sanguíneo (9,17%) comparada ao líquido folicular (3,48%).

Tabela 6. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular em função do tratamento canola (CAN)

Table 6. Fatty acids percentage of plasma and follicular liquid of canola treatment (CAN)

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	PLA ¹ <i>PLA¹</i>	LIF ² <i>FLI²</i>	CV ³ <i>CV³</i>
C14:0 ácido tetradecanóico <i>C14:0 (tetradecanoic acid)</i>	1,89	1,50	35,16
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	19,90	19,23	10,97
C16:1n-7 (ácido 9-hexadecenoico) <i>C16:1n-7 (9-hexadecenoic acid)</i>	0,31	0,93	115,30
C17:1n-7 (ácido 10-heptadecenoico) <i>C17:1n-7 (10-heptadecenoic acid)</i>	0,32	0,93	222,80
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	26,98b	22,86a	9,64
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoico) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	26,84	23,65	13,50
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienóico) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	16,47	15,14	30,18
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienóico) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	2,04	1,82	29,42
C20:3n-6 (ácido 8,11,14-eicosatrienóico) <i>C20:3n-6 (8,11,14-eicosatrienoic acid)</i>	0,98a	1,85b	62,16
C20:4n-6 (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenóico) <i>C20:4n-6 (5,8,11,14-eicosatetraenoic acid)</i>	1,26	1,33	58,37
C22:0 (ácido docosanóico) <i>C22:0 (docosanoic acid)</i>	0,51	0,22	200,09
C22:5n-3 (ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenóico) <i>C22:5n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid)</i>	0,00a	3,44b	145,21
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	20,75a	26,08b	15,58
AGMI (Ácidos Graxos Moinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	27,47	25,52	13,60
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acids)</i>	49,28b	43,81a	7,14
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	18,71	18,32	25,62
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	2,04a	5,26b	49,63
AGPI/AGS <i>PUFA/SFA</i>	0,42	0,60	18,69
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	9,17b	3,48a	58,49
NI ⁴ <i>NI⁴</i>	2,82	4,60	63,31

¹Plasma sanguíneo, ²Líquido folicular, ³Coeficiente de variação e ⁴Ácidos graxos não identificados.
Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes.

¹Blood plasma, ²Follicular liquid, ³Variation coefficient and ⁴No identified fatty acids.
Means followed by different letters on the same line are different.

Houve no tratamento CAN uma elevada absorção de C18:2 n-6, uma vez que as concentrações deste no plasma sanguíneo e no líquido folicular estavam próximas a percentagem fornecida na ração.

Assim como no tratamento LIN, houve um aumento na concentração de AGS, em consequência, redução na relação dos AGPI e AGS.

As sementes de oleaginosas são bastante utilizadas pelas altas concentrações de lipídios e por apresentarem características interessantes com relação à taxa de liberação do óleo. Este é liberado à medida que o animal vai consumindo através da mastigação, chegando em pequenas frações no ambiente ruminal (Coppock & Wilks, 1991). Assim mesmo sendo a semente ou grão uma forma protegida para fornecer ácidos graxos insaturados, sua proteção não pode ser totalmente garantida.

De forma geral, independente dos tratamentos o plasma sanguíneo e o líquido folicular não possuem concentrações correlatas para alguns AG.

Yao et al. (1980) em estudo com porcas, observou diferença na concentração de AG em função do tamanho do folículo (1-2 mm; 3-5 mm e 6-12 mm) para o AG 20:4 n-6, sendo que sua concentração aumentou em decorrência a maturação folicular. Verificaram ainda, que as concentrações do C18:0 e do C18:1 foram maiores no soro sanguíneo em relação ao líquido folicular. Resultados semelhantes para as concentrações do AG C18:0 aos obtidos neste trabalho.

As concentrações dos AGs no plasma sanguíneo em função dos tratamentos avaliados estão demonstradas na tabela 7.

No plasma das vacas do tratamento TES as concentrações dos AGs C18:1 n-9 e AGMI (14,49% e 14,82%) foram inferiores ($P < 0,05$) comparadas com o tratamento CAN (26,84% e 27,47%). No plasma das vacas do tratamento LIN, as concentrações obtidas eram intermediárias (24,58 e 24,58) aos tratamentos TES e CAN.

A razão entre os AGs da série n-6 e n-3 foi superior ($P < 0,05$) no tratamento TES (59,35%) em comparação aos tratamentos LIN e CAN (4,28% e 9,17%) respectivamente. A maior razão entre os AGs da série n-6 e n-3 para o tratamento TES se dá ao fato deste mesmo tratamento apresentar menor ($P < 0,10$) concentração de AGs da série n-3 (0,31%) em relação da LIN (2,91%) e CAN (2,04%).

No tratamento LIN as concentrações de C18:1 n-9 e AGMI eram iguais, uma vez que no plasma para esse tratamento o AG C18:1 n-9 foi o único AGMI identificado.

Para os demais ácidos graxos identificados, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) em suas concentrações no plasma em função dos tratamentos.

Tabela 7. Percentagem de ácidos graxos no plasma sanguíneo em relação à adição de linhaça ou canola em grãos

Table 7. Fatty acids percentage of plasma and follicular liquid in relation of linseed and canola addiction

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	TES ¹ <i>CON</i> ¹	LIN ² <i>LIN</i> ²	CAN ³ <i>CAN</i> ³	CV ⁴ <i>CV</i> ⁴
C14:0 ácido tetradecanóico <i>C14:0 (tetradecanoic acid)</i>	1,55	0,70	1,89	57,30
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	19,85	20,74	19,90	233,80
C16:1n-7 (ácido 9-hexadecenoico) <i>C16:1n-7 (9-hexadecenoic acid)</i>	0,34	0,00	0,31	336,80
C17:1n-7 (ácido 10-heptadecenoico) <i>C17:1n-7 (10-heptadecenoic acid)</i>	0,00	0,00	0,32	336,80
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	22,20	32,07	26,98	17,50
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoico) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	14,49a	24,58ab	26,84b	24,23
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienoico) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	16,12	11,41	16,47	49,53
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienoico) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	0,00	2,67	2,04	137,74
C20:3n-6 (ácido 8,11,14-eicosatrienoico) <i>C20:3n-6 (8,11,14-eicosatrienoic acid)</i>	2,01	0,27	0,98	98,51
C20:4n-6 (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico) <i>C20:4n-6 (5,8,11,14-eicosatetraenoic acid)</i>	0,27	0,78	1,26	92,99
C22:0 (ácido docosanoico) <i>C22:0 (docosanoic acid)</i>	0,00	0,00	0,51	336,81
C22:5n-3 (ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico) <i>C22:5n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid)</i>	0,31	0,24	0,00	231,70
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	18,71	15,38	20,75	45,68
AGMI (Ácidos Graxos Moinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	14,82a	24,58ab	27,47b	23,95
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acids)</i>	43,61	53,51	49,28	23,36
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	18,40	12,46	18,71	46,68
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	0,31a	2,91b	2,04b	107,65
AGPI/AGS <i>PUFA/SFA</i>	0,43	0,36	0,42	64,56
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	59,35b	4,28a	9,17a	83,35
NI ⁵ <i>NI</i> ⁵	23,12	6,54	2,82	137,05

¹Ração Testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos, ³Ração com adição de canola em grãos e

⁴Coefficiente de variação e ⁵Ácidos graxos não identificados.

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes.

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola, ⁴Variation coefficient and ⁵No identified fatty acids.

Means followed by different letters on the same line are different.

Petit (2003), ao adicionar linhaça ou semente de girassol em grãos e linhaça ou semente de girassol tratada com formaldeído em vacas holandesas, observaram que as concentrações de AG foram afetadas pela inclusão das sementes. As concentrações no plasma aumentaram para os AG C14:0, C16:0, C18:1 c9, C18:3 n-3 e C20:5 n-3 devido a adição de linhaça em grãos em relação a semente de girassol e os AG C18:1 t9, C18:2 n-6 e o C18:3 n-6 diminuíram. Quanto ao tratamento com formaldeído, os autores observaram maiores concentrações para os AGs C18:1 c9 e C18:2 c6. Quanto a razão dos AGs da série n-6 e n-3, esta foi menor para o plasma das vacas que consumiram linhaça.

No presente trabalho, as razões entre os AGs da série n-6 e n-3 foram superiores nos três tratamentos (TES, LIN e CAN) quando comparados aos valores observados por Petit (2003) para semente de linhaça tratada ou não com formaldeído (2,7) em ambos os casos. No entanto, as razões entre estes AGs da série n-6 e n-3 foram semelhantes aos valores obtidos com a adição de semente de girassol tratada ou não com formaldeído (11,9 e 11,0).

No líquido folicular, maior número de ácidos graxos apresentou diferença na concentração em função dos tratamentos (tabela 8).

Maiores ($P < 0,05$) concentrações para os AGs C14:0, C16:0 e AGS foram observadas no tratamento LIN (4,12%; 30,75% e 54,81%) comparadas com os tratamentos TES (1,43%; 19,42% e 39,18%) e CAN (1,50%; 19,23% e 43,81%).

O tratamento LIN apresentou maior ($P < 0,05$) concentração do AG C16:1 n-7 (1,70%) em relação ao tratamento TES (0,27%), sendo o CAN (0,93%) intermediário aos tratamentos. De forma semelhante, os AGMI apresentaram maior ($P < 0,05$) concentração no tratamento LIN (33,17%) em comparação ao tratamento CAN (25,52%). Todavia, o tratamento TES apresentou concentração intermediária (27,70%) em relação aos tratamentos TES e LIN.

O AG C18:1 n-9, apresentou maior ($P < 0,05$) concentração no tratamento LIN (31,46%) em comparação a CAN (23,65%), sendo por sua vez o tratamento TES (27,43%) intermediário.

Quanto aos ácidos C18:2 n-6, C18:3 n-3 e C20:3 n-6, o tratamento CAN apresentou concentrações superiores ($P < 0,05$) (15,14%; 1,82% e 1,85%) a TES (4,71%; 0,00% e 0,22%) e LIN (5,86%; 0,42% e 0,00%). Associado a esse resultado, a concentração dos ácidos graxos AGPI e a relação AGPI/AGS foram superiores ($P < 0,05$) para o tratamento CAN (26,08% e 0,60%).

Tabela 8. Percentagem de ácidos graxos no líquido folicular em relação à adição de linhaça ou canola em grãos

Table 8. Fatty acids percentage of follicular liquid in relation of linseed and canola addiction

Ácidos Graxos <i>Fatty Acids</i>	TES ¹ <i>CON¹</i>	LIN ² <i>LIN²</i>	CAN ³ <i>CAN³</i>	CV ⁴ <i>CV⁴</i>
C14:0 ácido tetradecanóico <i>C14:0 (tetradecanoic acid)</i>	1,43a	4,12b	1,50a	51,67
C16:0 (ácido hexadecanóico) <i>C16:0 (hexadecanoic acid)</i>	19,42a	30,75b	19,23a	18,30
C16:1n-7 (ácido 9-hexadecenoico) <i>C16:1n-7 (9-hexadecenoic acid)</i>	0,27a	1,70b	0,93ab	53,09
C17:1n-7 (ácido 10-heptadecenoico) <i>C17:1n-7 (10-heptadecenoic acid)</i>	0,00	0,00	0,93	336,81
C18:0 (ácido octadecanóico) <i>C18:0 (octadecanoic acid)</i>	18,33	19,94	22,86	13,01
C18:1 n-9 (ácido 9-octadecenoico) <i>C18:1 n-9 (9-octadecenoic acid)</i>	27,43ab	31,46b	23,65a	11,90
C18:2 n-6 (ácido 9,12-octadecadienoico) <i>C18:2 n-6 (9,12-octadecadienoic acid)</i>	4,71a	5,86a	15,14b	41,87
C18:3 n-3 (ácido 9,12,15-octadecatrienoico) <i>C18:3 n-3 (9,12,15-octadecatrienoic acid)</i>	0,00a	0,42a	1,82b	65,96
C20:3n-6 (ácido 8,11,14-eicosatrienoico) <i>C20:3n-6 (8,11,14-eicosatrienoic acid)</i>	0,22a	0,00a	1,85b	47,55
C20:4n-6 (ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico) <i>C20:4n-6 (5,8,11,14-eicosatetraenoic acid)</i>	0,31	0,69	1,33	100,10
C22:0 (ácido docosanóico) <i>C22:0 (docosanoic acid)</i>	0,00	0,00	0,22	336,81
C22:5n-3 (ácido 7,10,13,16,19-docosapentaenoico) <i>C22:5n-3 (7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid)</i>	1,58a	0,00a	3,44b	152,20
AGPI (Ácidos graxos poliinsaturados) <i>PUFA (Polyunsaturated fatty acids)</i>	6,82a	6,97a	26,08b	20,48
AGMI (Ácidos Graxos Moinsaturados) <i>MUFA (Monounsaturated fatty acids)</i>	27,70ab	33,17b	25,52a	13,19
AGS (Ácidos Graxos Saturados) <i>SFA (Saturated fatty acids)</i>	39,18a	54,81b	43,81a	11,26
n-6 (Ômega-6) <i>n-6 (Omega-6)</i>	5,24a	6,55a	18,32b	36,58
n-3 (Ômega-3) <i>n-3 (Omega-3)</i>	1,58a	0,42a	5,26b	77,28
AGPI/AGS <i>PUFA/SFA</i>	0,17a	0,13a	0,60b	19,88
n-6/n-3 <i>n-6/n-3</i>	3,32a	5,64b	3,48a	44,58
NI ⁵ <i>NI⁵</i>	26,78	5,05	4,60	116,12

¹Ração Testemunha, ²Ração com adição de linhaça em grãos, ³Ração com adição de canola em grãos e ⁴Coefficiente de variação e ⁵Ácidos graxos não identificados.

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes.

¹Control Diet, ²Diet with linseed, ³Diet with canola seed, ⁴Variation coefficient and ⁵Non identified fatty acids. Means followed by different letters on the same line are different.

Para os ácidos graxos da série n-3 e n-6 o tratamento CAN também apresentou concentrações superiores ($P < 0,05$) (18,32% e 5,26%), comparadas aos tratamentos TES (5,24% e 1,58%) e LIN (6,55% e 0,42%).

Estes resultados têm implicações diretas ao processo de congelamento de embriões. Segundo Zeron et al. (2002) a fluidez da membrana determina a concentração de lesão a ser causada na mesma durante o processo de congelamento. Ainda, a fluidez da membrana pode ser associada a maior eficiência de troca da água intracelular pelo crioprotetor, favorecendo a proteção do embrião que por consequência, aumentaria as taxas de gestação de embriões congelados.

Stubbs & Smith (1984) observaram que o aumento na fluidez da membrana está diretamente relacionado à quantidade de ácidos graxos poliinsaturados presentes na membrana plasmática das células a serem congeladas.

No líquido folicular das vacas que receberam ração contendo linhaça em grãos, houve o aumento na concentração dos AGS e conseqüentemente, menor razão entre os AGPI e AGS. Assim, o próprio processo da mastigação pode ter causado quebra parcial ou total dos grãos, favorecendo ao processo de biohidrogenação.

Quanto aos AGs da série n-3 e n-6, nota-se uma reduzida concentração no líquido folicular. Dado este pode ser contraditório ao fornecer uma fonte com altas concentrações desses mesmos ácidos na dieta. Todavia, Petit (2002) observou que os grãos de linhaça inteiros dificultaram a digestibilidade do EE (extrato etéreo) e da PB (proteína bruta), comparada com o fornecimento de Megalac[®] ou soja micronizada. Para essas duas fontes, pode ter ocorrido um maior acesso dos microrganismos e enzimas ruminais a gordura em relação aos grãos de linhaça inteiros. Segundo o mesmo autor na linhaça em grãos, a gordura estaria associada a uma matriz protéico-fibrosa presente no grão. Ainda, quando os ácidos graxos estão associados às estruturas celulares dos alimentos há uma incompleta disponibilidade dos mesmos, dificultando a formação de micelas para a digestão (Bauchart, 1993).

Zeron et al. (2001) observaram diferenças nas concentrações de AG nos oócitos, células da granulosa e líquido folicular de vacas holandesas durante o inverno e verão. Durante o verão, foi observada uma alta concentração de ácidos graxos saturados nos oócitos (C16:0), células da granulosa e líquido folicular (C16:0 e C18:0). Em contraste, a concentração dos AGPI (C18:2 e 22:6) foram maiores nos oócitos e células da granulosa durante o inverno. Maior concentração do AG C20:4 n-6 foi obtida no verão para as células da granulosa e líquido folicular. Entretanto, menor concentração deste

AG foi obtida nos oócitos na mesma estação. Os autores ressaltam a importância deste AG C20:4 n-6 por ser o maior precursor das prostaglandinas.

Corroborando com os dados obtidos neste trabalho, Zeron et al. (2001) não observaram a presença do AG C22:6 n-3. Da mesma forma, os autores não observaram a presença o AG C20:5 n-3. Todavia, esse AG apesar da baixa concentração foi observado no presente trabalho.

Conclusões

As concentrações de ácidos graxos no plasma e no líquido folicular não são correladas, para alguns ácidos graxos, independentes do tratamento estudado.

A linhaça em grãos, fonte rica em ácidos graxos da série n-3, não alterou as concentrações dos mesmos no líquido folicular. No entanto, a canola em grãos, adicionada a ração de vacas nelore, resultou em aumento nas concentrações de ácidos graxos da série n-6 e n-3 no líquido folicular.

Literatura citada

- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3864-3881, 1993.
- CAVALIERI, F.L.B.; SANTOS, G.T.; PETIT, H. et al. Taxa de gestação de novilhas alimentadas com duas fontes de gordura (Megalac® ou linhaça em grão) na dieta recebendo embriões congelados de vacas leiteiras alimentadas com LAC-100 ou linhaça em grão. **Acta Scientiae Veterinariae** (Suplemento 1) n. 33 p.216, 2005.
- COPPOCK, C.E.; WILKS, D.L. Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition. **Journal of Animal Science**, v.69, p.3826-3837, 1991.
- EUCLYDES, R.F. **Manual de utilização do programa SAEG** (Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas). Viçosa: UFV, 1983. 53p.
- FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE-STANLEY, M. Isolation and purification of total lipids from tissues. **Journal of Biological and Chemistry**, v. 226, p.497-509, 1957.
- HARFOOT, C.G.; HAZLEWOOD, G.P. Lipid metabolism in the rumen. In: Hobson P N et Stewart CS (eds). **The rumen microbial ecosystem**. Blackie Academic, 1997, p.382-426.
- MEDEIROS, S.R. **Ácido linoléico conjugado: teores nos alimentos e seu uso no aumento da produção de leite com maior teor de proteína e perfil de ácidos graxos modificado**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-

- Universidade de São Paulo, 2002. 117p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-Universidade de São Paulo, 2002.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7th Revised Edition, National Academy Press. Washington, D.C. 1996. 242 p.
- OLIVEIRA, S.G.; SIMAS, J.M.C.; SANTOS, F.A.P. Main aspects related to changes in the profile of fatty acids in ruminant milk fat. **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.1, p. 73-80, 2004.
- PALMQUIST, D.L.; JENKIS, T.C. Fat in lactation rations. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.1-14, 1980.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed whole flaxseed. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n.6, p.1482-1490, 2002.
- PETIT, H.V. Digestion, milk production, milk composition and blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2637-2646, 2003.
- REICHENBACH, H.D.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. et al. Transferência e criopreservação de embrião bovino. **Biotécnicas aplicada a reprodução bovina**. 1.ed. São Paulo: Varela, 2002. 560p.
- SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos. In: SOUZA, N.E.; VISENTAINER, J. V. (Ed). **Colesterol da mesa ao corpo**. 1.ed. São Paulo: Varela, 2006. p.14-42.
- STUBBS, C.D.; SMITH, A.D. The modification of mammalian membrane polyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function. **Biochimistry and Biophysic Acta**, v.779, p.89-137, 1984.
- TAMMINGA, S.; DOREAU, M. Lipids and rumen digestion. In: Jouany, J.P. (Ed) **Rumen microbial metabolism and ruminant digestion**. INRA Editions, Paris, 1991. p.151-163.
- YAO, J.K.; RYAN, R.J.; DYCK, P.J. The porcine ovarian follicle. VI Comparison of fatty acid composition of serum and follicular fluid at different development stages. **Biology of Reproduction**, v.22, p.141-147, 1980.
- ZERON, Y.; OCHERETNY, A.; KEDAR, O. et al. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.121, p.447-454, 2001.
- ZERON, Y.; TOMCZAK, M.; CROWE, J. et al. The effect of liposomes on thermotropic membrane phase transitions of bovine spermatozoa and oocytes: implications for reducing chilling sensivity. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.45, p.143-152, 2002.

CONCLUSÕES GERAIS

A adição de linhaça em grãos (fonte de ômega 3) na alimentação de vacas de corte da raça Nelore influenciou de forma negativa a qualidade dos embriões. Por outro lado a suplementação com canola em grãos (fonte de ômega 6 e ômega 9) não alterou a produção e qualidade dos embriões. Assim sendo, considerando o custo elevado da linhaça e da canola não é justificado o uso destas fontes de energia na alimentação de vacas Nelore objetivando maior número de embriões produzidos.

As estações do ano, inverno e verão, influenciaram a produção e qualidade de embriões na região noroeste do Paraná. Desta forma, pode haver restrição quanto à realização de colheitas de embriões em diferentes estações do ano.

Ao fornecer suplementações ricas em ômega-3 ou ômega-6 e ômega-9 as concentrações dos ácidos graxos no plasma sanguíneo e líquido folicular de vacas nelores são alteradas. No entanto apenas o fornecimento de grãos de canola favoreceu positivamente as concentrações de ácidos graxos da série n-3 e n-6, no líquido folicular. Assim, o perfil de ácidos graxos da dieta pode alterar o perfil no líquido folicular. Fato este, que poderia justificar o uso da canola em grãos para a produção de embriões a serem congelados.