

# EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM FONTES DE ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS EM DOADORAS PRIMÍPARAS DA RAÇA NELORE DURANTE O PRÉ E PÓS-PARTO SOBRE NÚMERO DE OÓCITOS OBTIDOS *IN VIVO* E PRODUÇÃO *IN VITRO* DE EMBRIÕES<sup>1</sup>

GUILHERME FAZAN ROSSI<sup>2\*</sup>, FABIO MORATO MONTEIRO<sup>3</sup>, MARINA RAGAGNIN DE LIMA<sup>2</sup>, ROBERTA VANTINI<sup>2</sup>, ENILSON GERALDO RIBEIRO<sup>3</sup>, MARIA EUGÊNIA ZERLOTTI MERCADANTE<sup>3</sup>, JOAQUIM MANSANO GARCIA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 10/06/14. Aceito para publicação em 09/02/15.

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Jaboticabal, SP, Brasil.

<sup>3</sup>Instituto de Zootecnia (IZ), Centro APTA Bovinos de Corte, Sertãozinho, SP, Brasil.

\*Autor correspondente: guilhermemedvet@yahoo.com.br

**RESUMO:** O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos das suplementações ricas em ácidos linoleico (n-6) e linolênico (n-3) protegidos ou não, no pré e pós-parto de fêmeas primíparas da raça Nelore sobre número de folículos, número total de complexos cúmulos oócitos (CCO) aspirados (OPU) e de oócitos susceptíveis ao cultivo (graus I, II e III) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE). As doadoras foram divididas aleatoriamente em 3 grupos: Controle (n=7), Megalac-E® (n=8; 100 g/doadora/dia) e Linhaça (n=7; 1,0 kg/doadora/dia). As dietas foram fornecidas pelo menos 30 dias pré-parto e 75 dias pós-parto. Estes animais foram submetidos à OPU nos dias 30, 45, 60 e 75 do pós-parto. Os oócitos recuperados foram selecionados e os considerados susceptíveis ao cultivo submetidos aos procedimentos da PIVE. Os dados foram analisados em um delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo. Não foi detectado efeito das suplementações no número de folículos, no número de CCO recuperados e susceptíveis ao cultivo e na PIVE. No entanto, houve um aumento na taxa de oócitos susceptíveis ao cultivo recuperado pela OPU nos dias 60 e 75 do pós-parto em comparação aos dias 30 e 45. Além disso, a taxa de embriões produzidos *in vitro* foi maior a partir do dia 45 pós-parto. Em conclusão, a suplementação pré e pós-parto com 100 g/dia de Megalac-E® ou 1,0 kg/dia de torta de linhaça não altera o número de oócitos obtidos *in vivo* e a PIVE de doadoras primíparas da raça Nelore lactantes. No entanto, a PIVE melhora quando os programas são realizados após 45 dias pós-parto.

Palavras-chave: ácidos graxos poliinsaturados, Nelore, oócitos, PIVE, pós-parto.

## EFFECT OF PRE- AND POSTCALVING SUPPLEMENTATION OF PRIMIPAROUS NELLORE DONOR COWS WITH SOURCES OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS ON THE NUMBER OF OOCYTES OBTAINED *IN VIVO* AND *IN VITRO* EMBRYO PRODUCTION

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the effects of feeding primiparous Nelore cows supplements rich in protected or unprotected linoleic (n-6) and linolenic (n-3) acids before and after calving on the number of follicles, total number of cumulus-oocyte complexes (COCs) collected by aspiration (OPU) and oocytes suitable for culture (grades I, II and III), and *in vitro* embryo production (IVEP). The donor cows were randomly divided into three groups: control (n=7), Megalac-E® (n=8; 100 g/donor/day), and flaxseed (n=7; 1.0 kg/donor/day). The diets were offered at least 30 days precalving and 75 days postcalving. The animals were submitted to OPU on postcalving days 30, 45, 60 and 75. Recovered oocytes were selected and those considered suitable for culture were submitted to the IVEP procedures. The data were analyzed using a completely randomized design with repeated measures over time. There was no effect of supplementation on the number of follicles, the number of recovered COCs and those suitable for culture, or IVEP. However, the rate of oocytes suitable for culture recovered by OPU was higher on postcalving

days 60 and 75 when compared to days 30 and 45. Additionally, the rate of embryos produced in vitro increased after postcalving day 45. In conclusion, pre- and postcalving supplementation with 100 g/day Megalac-E® or 1.0 kg/day flaxseed does not alter the number of oocytes obtained in vivo or IVEP rates of lactating primiparous Nelore donor cows. However, IVEP improves when the programs are carried out 45 days after calving.

Keywords: IVEP, Nelore, oocytes, polyunsaturated fatty acids, ostcalving.

## INTRODUÇÃO

Alimentação com dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados (AGPs) melhora o desempenho reprodutivo em bovinos (BILBY *et al.*, 2006; WATHES *et al.*, 2007). Segundo FOULADI-NASHATA *et al.* (2007), a suplementação com dietas ricas em AGPs protegidos à biohidrogenação do rúmen melhora o potencial de desenvolvimento de oócitos até blastocisto assim como a qualidade dos embriões produzidos. Estes efeitos podem ser parcialmente mediados por melhorias na maturação do oócito, o que é essencial para a fertilização bem sucedida e posterior desenvolvimento embrionário (GILCHRIST e THOMPSON, 2007).

As principais famílias de AGPs que influenciam a reprodução dos bovinos são o ácido linolênico (n-3) e ácido linoleico (n-6) (WATHES *et al.*, 2007). O n-3 é encontrado mais frequentemente em óleo de linhaça, peixes de água fria e frutos do mar e o n-6 em óleo de soja, girassol e outras sementes oleaginosas. Estes AGPs podem melhorar a fertilidade em bovinos aumentando o número e tamanho dos folículos antrais ovarianos, tamanho do corpo lúteo (CL) (BILBY *et al.*, 2006), quantidade e qualidade dos oócitos recuperados em programas de aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU; ZERON *et al.*, 2002). Além disso, CERRI *et al.* (2009) observaram aumento na taxa de produção de blastocisto e na qualidade embrionária. Um produto rico em gordura protegida n-3 e, principalmente, n-6 usado na suplementação de fêmeas bovinas é o Megalac-E®, feito a partir de óleo de soja saponificado (sais de cálcio) para proteção dos AGPs à biohidrogenação do rúmen. De acordo com SARTORI e MOLLO (2007), a suplementação rica em n-6 no pré-parto aumenta a síntese de PGF<sub>2α</sub> e atua no crescimento folicular, além de melhorar a involução uterina e restabelecimento da ciclicidade precocemente. No pós-parto, a dieta rica em n-3 reduz a síntese de PGF<sub>2α</sub> uterina, diminuindo as perdas gestacionais iniciais. Assim, a suplementação com estas dietas pode ser considerada importante para melhorar a involução uterina e reduzir o período de anestro pós-parto principalmente em primíparas, já que essa categoria animal apresenta

dificuldade de recuperação após o parto por estar ainda em crescimento (TANAKA *et al.*, 2008).

Apesar das evidências na literatura, não existem dados concretos sobre o impacto da suplementação com AGPs durante o período pré e pós-parto sobre a população folicular e produção de embriões *in vitro* em primíparas da raça Nelore. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos das suplementações ricas em AGPs (n-6 e n-3) protegidos ou não (Megalac-E® e Linhaça), no pré e pós-parto de fêmeas primíparas da raça Nelore sobre o número de folículos, de oócitos totais e susceptíveis ao cultivo e na PIVE.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos de cuidado e manuseio dos animais deste experimento estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA). O trabalho apresenta aprovação pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal (Protocolo nº 008589/13).

### Local do experimento, animais e manejo nutricional

O experimento foi realizado no Instituto de Zootecnia (IZ), Centro APTA Bovinos de Corte, Sertãozinho, SP. As atividades laboratoriais foram realizadas no Departamento de Reprodução Animal da UNESP, Jaboticabal, SP, entre agosto e novembro de 2011. Foram utilizadas 22 fêmeas primíparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) com bezerro ao pé, com peso médio de 478,68 ± 47,04 kg e ECC médio de 5,3 ± 0,5 (numa escala de 0 a 9; WAGNER *et al.*, 1988). Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria decumbens*, com acesso *ad libitum* a água e sal proteinado.

As doadoras foram divididas aleatoriamente em três grupos: Grupo Controle n=7 (dieta base); Grupo Megalac-E® (Química Geral do Nordeste, Rio de Janeiro, Brasil) n=8 (fonte de gordura protegida, 100 g/doadora/dia) e Grupo Linhaça n=7 (torta de linhaça prensada a frio, gordura não protegida, 1,0 kg/doadora/dia). Cada doadora recebeu 1,5 kg de

suplemento de acordo com o grupo experimental (Tabelas 1 e 2). Essas suplementações tiveram início pelo menos 30 dias antes do parto e término aos 75 dias pós-parto.

### Delineamento Experimental

A avaliação do número de folículos e as

aspirações foliculares foram realizadas aos 30, 45, 60 e 75 dias pós-parto utilizando-se US Aloka SSD-500 com transdutor linear transretal e microconvexo conectado na guia de aspiração transvaginal, ambos de 5 MHz. Os oócitos aspirados foram contados (oócitos totais) e classificados em graus de I a V (LEIBFRIED-RUTLEDGE *et al.* 1987).

**Tabela 1. Composição nutricional e análise bromatológica das rações utilizadas na suplementação de ácidos graxos poliinsaturados para doadoras primíparas da raça Nelore**

Ingrediente (%)	Controle	Megalac-E®	Linhaça
Farelo de Milho	92,45	85,59	30,53
Megalac - E	0	6,67	0
Torta de Linhaça	0	0	65,47
Mineral	4	4	4
Uréia	3,55	3,74	0
Teor			
Matéria Seca (%)	88,42	88,88	91,88
Proteína Bruta (%MS)	20,01	16,91	20,23
Extrato etéreo (%MS)	3,92	4,06	13,99

**Tabela 2. Perfil de ácidos graxos das rações utilizadas na suplementação de ácidos graxos poliinsaturados para doadoras primíparas da raça Nelore**

Ácidos (%)	Controle <sup>1</sup>	Megalac-E® <sup>2</sup>	Linhaça <sup>3</sup>
Mirístico (C14:0)	0,05	0,11	0,06
Pentadecanoico (C15:0)	-	-	0,03
Palmítico (C16:0)	13,73	14,5	8,32
Palmitoleico (C16:1)	0,13	0,16	0,11
Heptadecanoico (C17:0)	0,07	0,07	0,06
Heptadecenoico (C17:1)	0,03	0,03	0,03
Esteárico (C18:0)	2,55	2,46	4,16
Oléico (C18:1n9c)	34,89	33,32	21,54
cis-vacênico (C18:1n7)	0,65	0,74	0,81
Linoleico (C18:2n6c)	45,82	46,37	17,1
$\alpha$ linolênico (C18:3n3)	0,91	1,58	47,18
Linoléico conjugado (C18:2c9, t11)	-	0,05	-
Araquídico (C20:0)	0,7	0,31	0,22
Eicosenoico (C20:1n9)	0,25	0,2	0,12
Behênico (C22:0)	0,1	0,1	0,14
Lignocérico (C24:0)	0,12	-	0,12

<sup>1</sup>Ração base. <sup>2</sup>Suplemento com 100g de Megalac-E®/animal/dia. <sup>3</sup>Suplemento com 1kg torta de linhaça/animal/dia.

Os oócitos classificados como grau I, II e III (oócitos viáveis) foram considerados susceptíveis para o cultivo e submetidos à PIVE, com utilização de sêmen convencional de único ejaculado de um touro (i.e. mesma partida de congelamento). A maturação dos oócitos classificados ocorreu por 24 horas em meio base TCM 199 suplementado com 25mM de bicarbonato de sódio, 1,0µg/mL de FSH (Pluset®, Calier), 50UI/mL de hCG (Profasi®, Serono), 1,0µg/mL de estradiol (Sigma E-2758), 0,2mM de piruvato de sódio (Biochemical 44094), 83,4µg/mL de amicacina (Biochimico), 10% de SFB (Crypion®). Para a fecundação, os oócitos foram transferidos para o meio FIV gotas {20 oócitos/gotas; composto por TL-Stock [114mM de Cloreto de Sódio (J. T. Baker), 3mM de Cloreto de Potássio (Merck), 0,5mM de Cloreto de Magnésio hexahidratado ((Merck), 0,3mM de Fosfato de Sódico bibásico anidro (Casa da Química), 25mM de Bicarbonato de Sódio (Mallinckrodt), 2mM de Cloreto de Cálcio di-hidratado (Merck), 12mM de DL-Ácido Lático (60%) e 30µM de Phenol Red (Sal Sódico Cristalino)], 83,4µg/mL de Sulfato Amicacina (Biochimico), 100mM de Piruvato Sódico (Biochemical), PHE [29,4mM de DL-Ácido Lático (60%), 1,0µg/mL de Bissulfito de Sódio, Salina 0,9% e 2mM de D-Penicilamina], 176UI/mg de Heparina e 6mg/mL de BSA} junto com os espermatozoides móveis (25x10<sup>6</sup> espermatozoides vivos/mL) já selecionados pelo gradiente de Percoll (90% e 45%). Após aproximadamente 20h de fecundação, os prováveis zigotos foram removidos do meio de fecundação e transferidos para o meio de cultivo embrionário [SOFaa composto por 0,2mM de piruvato de sódio (Biochemical 44094), 83,4µg/mL de amicacina (Biochimico), 2,5% de SFB (Crypion®) e 6mg/mL de BSA (Sigma A-8806)] onde permaneceram por 6 dias. Esses processos foram mantidos em incubadora com 5% de CO<sub>2</sub> em ar, temperatura de 38,5°C e umidade relativa de 95%.

### Mensurações

Durante as aspirações foliculares foi contado o número de folículos, número de oócitos totais recuperados e número de oócitos susceptíveis ao cultivo. A taxa de oócitos susceptíveis ao cultivo foi calculada pelo número de oócitos cultivados dividido pelo total de oócitos. O número de estruturas clivadas (embriões de duas a quatro células) foi verificado entre 32 a 36 horas pós-fecundação. O número de embriões produzidos (mórula até blastocistos) e a taxa de embriões

produzidos (número de embriões produzidos/quantidade de oócitos cultivados) foram avaliados sete dias a partir da FIV.

### Análise estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo. As análises estatísticas foram feitas no procedimento MIXED (SAS Inst., Inc., Cary, NC) usando o comando REPEATED para modelar a estrutura de covariância residual dentro de animal. Como os dados não seguiram a premissa de normalidade, os mesmos foram transformados em raiz quadrada (x+1) para os números ou Log (x+1) para as taxas.

A estrutura de erro componente simétrico heterogêneo (CSH) foi a melhor para avaliar número de folículos, oócitos recuperados e taxa de oócitos cultivados (número de oócitos cultivados/número de oócitos recuperados), e a estrutura de erro não-estruturada (UN) foi a melhor para os oócitos susceptíveis ao cultivo e número de clivagem. Para a variável produção de embrião foi empregada a estrutura componente simétrico (CS) e para taxa de produção de embrião (nº de embriões produzidos/oócitos cultivados) foi a estrutura auto regressiva de primeira ordem (AR(1)). As estruturas de erro foram escolhidas com base nos menores valores para o Critério de Informação de Akaike (AIC) e o Critério de Informação Bayesiano (BIC). Em todas as análises, foram consideradas diferenças significativas quando P<0,05.

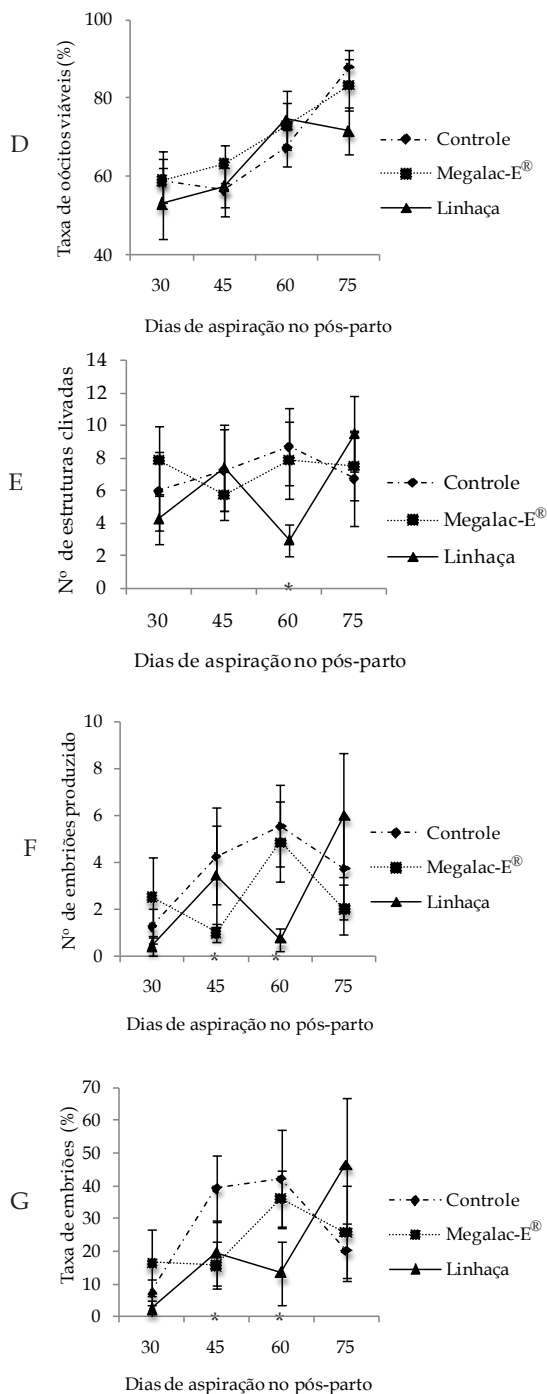
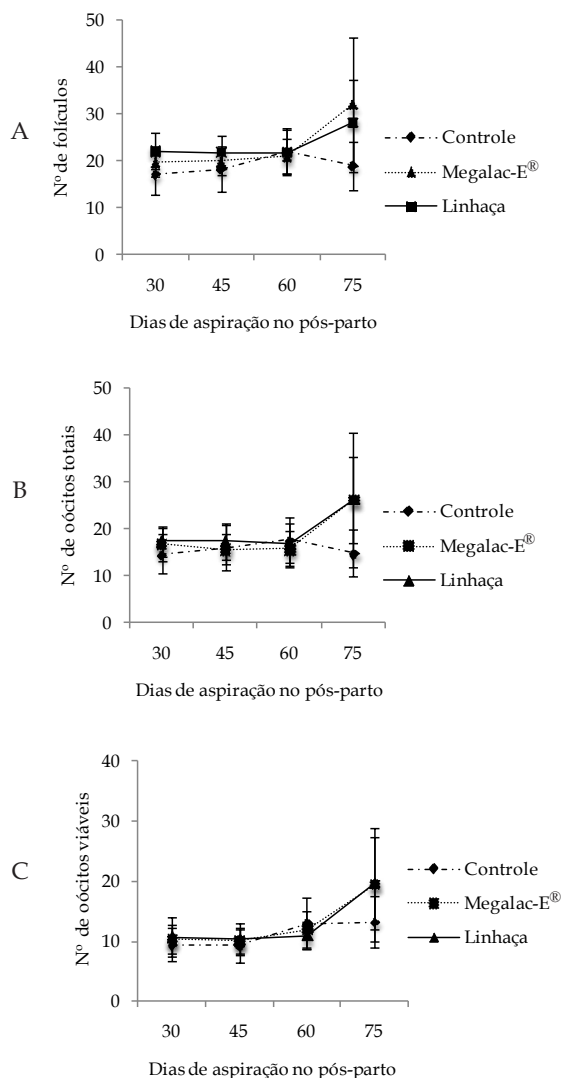
Para a análise foi utilizado o seguinte modelo estatístico:  $Y_{ijkl} = \mu + t_i + A_j(t_i) + B_k + I_{ik} + e_{ijkl}$  em que:  $Y_{ijkl}$  = variáveis dependentes;  $\mu$  = média paramétrica;  $t_i$  = efeito fixo do i-ésimo tratamento (i = 1, 2 e 3);  $A_j$  = efeito fixo do j-ésimo animal (j = 1, ..., 22);  $B_k$  = efeito fixo do k-ésimo período das aspirações (k = 1, 2, 3 e 4);  $I_{ik}$  = efeito da interação entre o i-ésimo tratamento com o k-ésimo período das aspirações;  $e_{ijkl}$  = efeito do erro aleatório associado a cada observação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foi fornecida maior quantidade de linhaça rica em ácido linolênico (n-3) do que Megalac-E® rica em ácido linoleico (n-6), por se tratar de uma fonte de AGPs não protegidos à biohidrogenação do rúmen, este responsável pela degradação de mais de 80% dos AGPs ingeridos na dieta (BERCHIELLI *et al.*, 2011). Já os grupos Controle e Megalac-E® apresentaram quantidade semelhante

de extrato etéreo e n-6, porém, neste segundo grupo os AGPs são protegidos e sua absorção ocorre no intestino delgado (ARM, 2014; Tabela 1 e 2). As suplementações com AGPs são utilizadas para aumentar o nível energético das dietas, além de apresentarem grande importância nos processos reprodutivos das fêmeas bovinas (WATHES *et al.*, 2007).

Não foi observado efeito das suplementações com fontes de gordura protegida (Megalac-E<sup>®</sup>, rica em n-6) e não protegida (Linhaça, rica em n-3) nas variáveis estudadas para doadoras primíparas da raça Nelore (Figura 1). No entanto, ARTUNDUAGA *et al.* (2010), utilizando fêmeas primíparas da raça Holandesa, observaram aumento no número de folículos antrais quando adicionado AGPs protegidos à dieta. NOGUEIRA *et al.* (2012) também correlacionaram AGPs protegidos com aumento no número de folículos aspirados e oócitos recuperados



**Figura 1.** Média do número de folículos (A), de oócitos totais (B), de oócitos cultivados (C), taxa de oócitos cultivados (D), número de estruturas clivadas (E), número da PIVE (F) e taxa de produção de embriões *in vitro* (G) em doadoras primíparas da raça Nelore, por suplementação e dias de aspiração pós-parto. \*Aspirações em que ocorreu contaminação e prejudicou o desenvolvimento embrionário.

em novilhas Nelore. Da mesma forma, ZERON *et al.* (2002) relataram maior número e melhor qualidade de oócitos em ovelhas suplementadas com óleo de peixe protegido (rico em n-3).

Uma das potenciais razões para a ausência de efeito da suplementação com AGPs, no presente estudo, pode ter sido o fornecimento insuficiente desses ácidos graxos (100g de Megalac-E®/doadora/dia e 1,0 kg de torta de linhaça/doadora/dia; GUARDIEIRO *et al.*, 2010), embora esta quantidade de Megalac-E® seja sugerida pelo fabricante e utilizada em experimentos que obtiveram resultados positivos na reprodução (NOGUEIRA *et al.*, 2012).

A taxa de clivagem e produção de blastocistos foi aumentada ao suplementar vacas leiteiras com Megalac-E® (FOULADI-NASHTA *et al.* 2007). Apesar disso, o mesmo efeito não foi observado por GUARDIEIRO *et al.* (2009), em doadoras de corte suplementadas com AGPs. Resultado semelhante foi observado por ROSSI *et al.* (2013) em doadoras da raça Holandesa suplementadas com AGPs protegidos (rico em n-6) e não protegidos (rico em n-3) para PIVE. Da mesma forma, no atual estudo não se pôde relacionar como benéfica a suplementação com os AGPs testados na PIVE de doadoras primíparas da raça Nelore no período pós-parto (Figura 1). Este resultado, possivelmente se deve a categoria animal escolhida para o estudo. Fêmeas bovinas primíparas necessitam de maior

atenção quanto aos requerimentos nutricionais, pois ainda precisam de maior ingestão de energia para atender as necessidades de crescimento, lactação e reprodução (SPITZER *et al.*, 1995)

No trabalho realizado por ALLER *et al.* (2010) foi relatado menor taxa de desenvolvimento embrionário em doadoras de corte aspiradas no pós-parto (30 à 77 dias). Segundo LOPES *et al.* (2006), doadoras da raça Holandesa aspiradas no pós-parto obtiveram melhora na taxa média de produção de blastocistos (32 dias = 5%; 85 dias = 20%) de acordo com os dias pós-parto. Resultado semelhante foi observado nesse estudo para doadoras primíparas da raça Nelore, no qual houve um aumento na taxa de oócitos cultivados recuperados nos dias 60 e 75 do pós-parto em comparação aos dias 30 e 45. Além disso, a taxa de embriões produzidos *in vitro* foi maior a partir do 45º dia pós-parto ( $P < 0,05$ ; Figura 2). Esse fato pode ter ocorrido devido à recuperação do sistema reprodutor das fêmeas bovinas no período pós-parto, pois segundo HAFEZ e HAFEZ (2004), vacas de corte amamentando apresentam intervalo do parto ao primeiro cio de 60 a 100 dias.

Portanto, a aspiração folicular no intervalo do parto ao primeiro cio em doadoras bovinas continua sendo uma boa estratégia para PIVE, não influenciando negativamente na reprodução desses animais e no intervalo entre partos na subsequente monta natural, IA ou IATF (RUIZ-CORTÉS e OLIVEIRA-ANGEL, 1999).

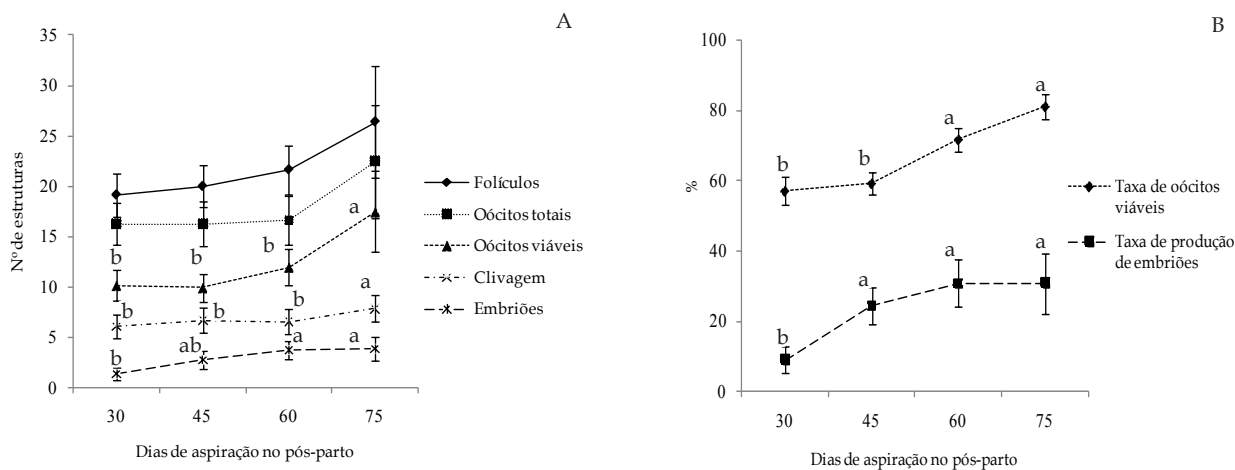


Figura 2. Média do número de folículos, de oócitos totais, de oócitos cultivados, de estruturas clivadas e da PIVE (A), taxa de oócitos cultivados e taxa de produção de embriões (B) por dias de aspiração pós-parto. Médias com letras distintas na mesma linha diferem entre si ( $P < 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

As suplementações com AGPs protegidos (rico em n-6) e não protegidos (rico em n-3) no pré e pós-parto não possibilitaram aumento no número de folículos antrais, na quantidade de oócitos recuperados e na PIVE de fêmeas primíparas da raça Nelore. Entretanto, as aspirações foliculares *in vivo* realizadas com maior número de dias pós-parto aumentaram a taxa de oócitos cultivados ( $\geq 60$  dias pós parto) e a taxa de PIVE ( $\geq 45$  dias pós -parto).

## REFERÊNCIAS

- ALLER, J.F.; MUCCI, N.C.; KAISER, G.G.; RÍOS, G.; CALLEJAS, S.S.; ALBERIO, R.H. Transvaginal follicular aspiration and embryo development in superstimulated early postpartum beef cows and subsequent fertility after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v.119, p.1-8, 2010.
- ARM & HAMMER ANIMAL NUTRITION. **Megalac-E**. Disponível em: <<http://www.ahdairy.com/our-products/megalac.aspx>>. Acesso em 20 jan. 2014.
- ARTUNDUAGA, M.A.T.; COELHO, S.G.; BORGES, A.M.; LANA, A.M.Q.; REIS, R.B.; CAMPOS, B.G.; SATURNINO, H.M.; SÁ FORTES, R.V.; COSTA, H.N. Primeira onda folicular e ovulação de vacas primíparas da raça Holandesa alimentadas com diferentes fontes energéticas durante o período de transição. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, p.116-123, 2010.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2011. 616p.
- BILBY, T.R.; BLOCK, J.; AMARAL, B.C.; SÁ FILHO, O.; SILVESTRE, F.T.; HANSEN, P.J.; STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. **Journal of Dairy Science**, v.89, p. 3891-3903, 2006.
- CERRI, R.L.A.; JUCHEM, S.O.; CHEBEL, R.C.; RUTIGLIANO, H.M.; BRUNO, R.G.S.; GALVÃO, K.N.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E.P. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1520-1531, 2009.
- FOULADI-NASHTA, A.A.; GUTIERREZ, C.G.; GONG, J.G.; GARNSWORTHY, P.C.; WEBB, R. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows. **Biology of Reproduction**, v.77, p.9-17, 2007.
- GILCHRIST, R.B.; THOMPSON, J.G. Oocyte maturation: emerging concepts and technologies to improve developmental potential *in vitro*. **Theriogenology**, v.67, p.6-15, 2007.
- GUARDIEIRO, M.M.; BASTOS, M.R.; MOURÃO, G.B.; CARRIJO, L.H.D.; MELO, E.O.; RUMPF, R.; SARTORI, R. Função ovariana de novilhas Nelore alimentadas com dieta suplementada com gordura protegida ruminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, p.408-414, 2010.
- GUARDIEIRO, M.M.; MACHADO, G.M.; BASTOS, M.R.; MOURÃO, G.B.; CARRIJO, L.H.D.; DODE, M.A.N.; SARTORI, R. Post cryopreservation viability of embryos from Nelore heifers supplemented with rumen-protected fat. **Reproduction Fertility and Development**, v.22, p.205-206, 2009.
- HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7.ed. Barueri: Manole, 2004. 513p.
- LEIBFRIED-RUTLEDGE, M.L.; CRITSER, E.S.; EYESTONE, W.H.; NORTHEY, D.L.; FIRST, N.L. Development potential of bovine oocytes matured *in vitro* or *in vivo*. **Biology of Reproduction**, v.36, p.376-383, 1987.
- LOPES, A.S.; MATINUSEN, T.; GREVE, T.; CALLESEN, H. Effect of days post-partum, breed and ovum pick-up scheme on bovine oocyte recovery and embryo development. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 41, p.196-203, 2006.
- NOGUEIRA, E.; SILVA, A.S.; AMARAL, T.B.; ÍTAVO, L.C.V.; DIAS, A.M.; MINGOTI, G.Z. Follicular dynamics and production of oocytes in young Nelore heifers with energetic supplementation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.2012-2017, 2012.
- ROSSI, G.F. MONTEIRO, F.M.; LIMA, M.R.; DEL COLLADO, M.; VANTINI, R.; GARCIA, J.M. Efeitos da suplementação com fontes de ácidos graxos em doadoras da raça Holandesa durante o pré e pós-parto sobre o retorno a ciclicidade e produção *in vitro* de embriões. **Boletim de Indústria Animal**, v.70, p.140-148, 2013.
- RUIZ-CORTÉS, Z.T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled Zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v.54, p.211-220, 1999.
- SARTORI, R.; MOLLO, M.R. Influência da ingestão alimentar na fisiologia reprodutiva da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.197-204, 2007.
- SPITZER, J.C.; MORRISON, D.G.; WETTEMANN, R.P.; FAULKNER, L.C. Reproductive responses and calf birth and weaning weights as affected by body condition at parturition and postpartum weight

- gain in primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v.73, p.1251-1257, 1995.
- TANAKA, T.; ARAI, M.; OHTANI, S.; UEMURA, S.; KUROIWA, T.; KIM, S.; KAMOMAE, H. Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.108, p.134-143, 2008.
- WAGNER, J.J.; LUSBY, K.S.; OLTJEN, J.W.; RAKESTRAW, J.; WETTEMANN, R.P.; WALTERS, L.E. Carcass composition in mature Hereford cows: estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. **Journal of Animal Science**, v.66, p.603-612, 1988.
- WATHES, D.C.; ABAYASEKARA, D.R.; AITKEN, R.J. Mini review: polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology of Reproduction**, v.77, p.190-201, 2007.
- ZERON, Y.; SKLAN, D.; ARAV, A. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, v.61, p.271-278, 2002.