



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

GUSTAVO BERVIAN DOS SANTOS

**PARÂMETROS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS NO PÓS-PARTO DE
VACAS PRIMÍPARAS MISTIÇAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES
NÍVEIS DE ENERGIA**

NITERÓI
2014

GUSTAVO BERVIAN DOS SANTOS

PARÂMETROS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS NO PÓS-PARTO DE
VACAS PRIMÍPARAS MESTIÇAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS
DE ENERGIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária.
Área de Concentração: Clínica e Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão
Coorientador: Dr. Bruno Campos de Carvalho

NITERÓI
2014

S237p Santos, Gustavo Bervian dos

Parâmetros produtivos e reprodutivos no pós-parto de vacas primíparas mestiças alimentadas com diferentes níveis de energia / Gustavo Bervian dos Santos; orientador Felipe Zandonadi Brandão. – 2014.

90 f.

Dissertação (Mestrado em Clínica e Reprodução Animal) – Universidade Federal Fluminense, 2014.

Orientador: Felipe Zandonadi Brandão

1. Bovino de leite. 2. Reprodução de bovino.
3. Produção de leite. 4. Nutrição animal.
I. Título.

CDD 636.214

PARÂMETROS PRODUTIVOS E REPRODUTIVOS NO PÓS-PARTO DE
VACAS PRIMÍPARAS MESTIÇAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES NÍVEIS
DE ENERGIA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Medicina Veterinária
da Universidade Federal Fluminense,
como requisito parcial para obtenção do
Grau de Mestre em Medicina Veterinária.
Área de Concentração: Clínica e
Reprodução Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Felipe Zandonadi Brandão – Orientador
Faculdade de Veterinária – UFF

Dr. Bruno Campos de Carvalho – Coorientador
Embrapa Gado de Leite

Dra. Fabiana Cristina Varago
Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS

Profa. Dra. Fernanda Cipriano Rocha
Faculdade de Veterinária - UFF

Prof. Dr. Carlos Otávio de Paula Vasconcelos
Faculdade de Veterinária - UFF

NITERÓI
2014

***“Tente não ser um homem de sucesso
mas sim um homem de valor”.***

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Mais que agradecimento a meus pais que nunca mediram esforços para que meus sonhos profissionais se tornassem realidade, que nesse momento de pós graduação estiveram sempre torcendo por mim, tendo a compreensão deste tempo longe de casa. Vocês estão no meu coração;

À Universidade Federal Fluminense pela oportunidade de realizar o curso de mestrado;

Ao meu orientador Prof^o Felipe Zandonadi Brandão pela oportunidade dada, confiança, amizade, apoio, aprendizado dados nesses anos;

Ao meu coorientador Pesquisador Dr^o Bruno Campo de Carvalho pelos ensinamentos, confiança, oportunidade, atenção, paciência, conselhos, por ter acreditado em mim, pelos momentos bons e ruins vividos durante essa etapa. Um exemplo de profissional a ser seguido;

À EMBRAPA Gado de Leite pela oportunidade de realizar todo o experimento;

À CAPES pela bolsa concedida durante a pós-graduação;

À FAPEMIG pela concessão do auxílio financeiro para a realização da pesquisa (CVZ-APQ 02399-10);

Aos funcionários da Embrapa Gado de Leite que, por mais de três meses me ajudaram a conduzir o experimento, Armando, Regina, Mengo, Celinho, Jefinho, Gilmarzinho, Geovane, Wilson, Lado, Tião, em especial ao pessoal da Genizinha (local do experimento), Amarildo, Gilmar, Miguel, Coutinho, Geraldinho;

Às pesquisadoras Dr^a Mariana Magalhães Campos e Dr^a Fernanda Samarini Machado que ajudaram na elaboração do manejo nutricional e da dieta do experimento;

À minha amiga e colega Dr^a. Fabiana Varago por acreditar em mim, incentivar-me a realizar o mestrado, por me apresentar a meus orientadores. Sem você, hoje não estaria aqui;

À Ativa Embriões por fornecer a infraestrutura para a produção dos embriões. Em especial ao meu amigo João Gabriel, responsável por toda a etapa da PIV no laboratório, por disponibilizar todo seu tempo quando o experimento era realizado.

Ao meu colega e "irmão" Dr. Giancarlo Magalhães pelo apoio, incentivo e aprendizado fornecidos;

Aos colegas pós graduandos da EMBRAPA, Bárbara e Tainá Silvestre que de alguma forma me ajudaram;

À médica veterinária Dr^a. Bruna Alves pela amizade concedida nesse período, pela convivência nas atividades de campo da fazenda Experimental da Embrapa em Coronel Pacheco;

À minha colega de pós-graduação Ana Maia, que durante esse pouco tempo de convivência se tornou uma grande amiga;

Aos colegas do mestrado Mario, Mônica, Cris, Mariana, Ana Maia, Luiz Fernando; amigos que convivemos juntos durante o período da realização dos créditos;

A todos os colegas e professores do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária pelo convívio e aprendizado;

Aos estagiários Ricardo, Luciana, Rosângela, Pedro, Amanda, Marcos Wilson, Debora e Pâmela pessoas que muito me ajudaram, acompanhando o experimento do início ao fim, que sem vocês seria tudo muito mais difícil;

Ao meu amigo e companheiro Lucas Messias, inclusive sua família, que me ajudaram muito, me acolhendo em sua casa durante o período em que fiquei em Niterói realizando os créditos;

Aos “meus pais” “embrapeanos” Geraldinho e Aparecida e sua família pela amizade, carinho, acolhimento como “filho”, meu muito obrigado por todos os momentos felizes que passamos juntos;

Aos amigos de Coronel Pacheco por todo esse tempo de amizade;

A todas as pessoas aqui não citadas, mas que contribuíram de alguma forma pelo meu crescimento pessoal e profissional, não só no período do mestrado mas em toda minha vida;

Enfim, agradeço a Deus por estar sempre me iluminando, nos momentos bons e difíceis, por me proporcionar mais esta conquista.

RESUMO

Objetivou-se avaliar os parâmetros produtivos e reprodutivos de vacas primíparas leiteiras do cruzamento 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (HG) alimentadas com alto ou baixo nível de energia na dieta. Foram avaliadas 28 vacas de primeira cria, oito vacas 3/4 e sete 7/8 HG alimentadas com alto nível de energia e, sete vacas 3/4 e seis 7/8 HG alimentadas com baixo nível de energia na dieta. O peso e o escore da condição corporal (ECC) foram avaliados no dia do parto e a cada semana, até os 56 dias de lactação. O consumo de matéria seca (CMS) individual foi calculado semanalmente, bem como a produção e composição do leite. Todas as vacas foram submetidas a aspirações foliculares aos 14, 28, 42 e 56 dias pós-parto. Os oócitos recuperados foram classificados conforme sua qualidade e submetidos à fertilização *in vitro*. Vacas 3/4 e 7/8 HG demonstraram peso médio ao longo dos 56 dias de pós-parto de $456,72 \pm 3,04$ e $426,26 \pm 3,29$ kg respectivamente e ECC de $3,14 \pm 0,02$ (3/4 HG) e $2,94 \pm 0,02$ (7/8 HG). O CMS foi maior nas vacas 3/4, alimentadas com alta energia do que em vacas 7/8 alimentadas com baixa energia ($12,03 \pm 0,25$ e $12,85 \pm 0,30$ kg, respectivamente). O consumo de FDN apresentou a mesma distribuição que o CMS nas vacas 3/4 alimentadas com alta energia e 7/8 alimentadas com baixa energia ($5,77 \pm 0,1$ e $6,00 \pm 0,15$ kg, respectivamente). Vacas alimentadas com baixa energia produziram mais leite que as alimentadas com alta energia ($21,25 \pm 0,33$ e $19,56 \pm 0,37$ litros, respectivamente), porém o leite corrigido para energia não diferiu entre os tratamentos e os cruzamentos. Vacas alimentadas com alta energia produziram maiores porcentagens de gordura e proteína no leite ($4,21 \pm 0,11$ e $3,10 \pm 0,03\%$, respectivamente) que aquelas alimentadas com baixa energia ($3,82 \pm 0,09\%$ e $2,85 \pm 0,03\%$). A produção de oócitos totais e viáveis (Grau I, II e III) diferiu entre cruzamentos. Vacas 3/4 produziram mais oócitos totais ($8,43 \pm 0,94$) do que vacas do cruzamento 7/8 ($3,52 \pm 0,39$). A produção de oócitos viáveis não diferiu entre as vacas dos cruzamentos 3/4 e 7/8 alimentadas com alta energia. Vacas do cruzamento 3/4 alimentadas com baixa energia tiveram maior produção de oócitos grau I (84,58%). Entretanto, a taxa de clivagem foi maior nas vacas 7/8. As alimentadas com alta energia demonstraram maior produção de blastocisto (97,01%) do que as alimentadas com baixa energia (90,16%). A taxa de produção de blastocisto total não diferiu entre os cruzamentos e a dieta. Vacas 3/4, independente da dieta fornecida, e as 7/8 alimentadas com baixa energia produziram maiores taxas de blastocistos oriundos dos oócitos clivados. Com relação ao período pós-parto avaliado, não houve diferença no total de oócitos recuperados e viáveis entre os cruzamentos e dietas. Porém, observou-se que a taxa de clivagem diminuiu aos 56 dias acompanhado pela maior taxa de oócitos de qualidade II e III. Considerando os diferentes períodos pós-parto, a maior taxa de clivagem foi obtida aos 14 dias (76,09%), diferindo dos demais dias, que tiveram os resultados semelhantes (40,98 – 53,45%). A taxa de blastocisto não diferiu entre os períodos: 14, 28 e 56 dias (~14,44%) do pós-parto, sendo estes superior aos 42 dias (4,10%) do pós-parto. Por outro lado, a taxa de blastocisto levando em consideração os oócitos clivados foi superior no dia 56, quando comparado ao dia 42. Em conclusão, o aumento da energia da dieta para primíparas mestiças 3/4 e 7/8 HG permite a produção de leite com maior teor de sólidos. Vacas 3/4 HG são mais eficientes em produzir oócitos no início da lactação do que vacas 7/8 HG, por taxa de blastocisto não diferiu entre os cruzamentos avaliados e a dieta fornecida.

Palavras-chave: consumo, aspiração folicular, cruzamento, oócito, embrião.

ABSTRACT

The aim was to evaluate the productive and reproductive parameters of crossbred primiparous dairy cows 3/4 and 7/8 Holstein x Gir (HG) fed with high or low level of energy in diet. Twenty-eight primiparous cows were studied, eight 3/4 and seven 7/8 HG fed with high level of energy whereas seven 3/4 and six 7/8 HG were fed low level of energy in diet. Body weight (BW) and body condition score (BCS) were evaluated at the parturition and each week, until 56 days of lactation. Individual dry matter intake (DMI) was weekly calculated, as well as milk production and composition. All cows were subjected to follicular aspirations at 14, 28, 42 and 56 days after parturition. Oocytes recovered were classified according to their quality and subjected to *in vitro* fertilization. 3/4 and 7/8 HG cows demonstrated average BW through the 56 days after parturition of 456.72 ± 3.04 and 426.26 ± 3.29 kg respectively and BCS of 3.14 ± 0.02 (3/4 HG) and 2.94 ± 0.02 (7/8 HG). The DMI was higher in 3/4 cows fed with high level than in 7/8 cows fed with low level of energy (12.03 ± 0.25 and 12.85 ± 0.30 kg, respectively). The FDN intake presented the same distribution as DMI in 3/4 cows fed with high level and 7/8 fed with low level of energy (5.77 ± 0.1 and 6.00 ± 0.15 kg, respectively). Cows fed with low level of energy produced more milk than those fed with high level (21.25 ± 0.33 and 19.56 ± 0.37 liters, respectively), however the milk corrected to energy did not differ between treatments and degree of crossbreeding. Cows fed with high level of energy produced higher percentages of fat and protein in milk (4.21 ± 0.11 and $3.10 \pm 0.03\%$, respectively) than those fed low level ($3.82 \pm 0.09\%$ and $2.85 \pm 0.03\%$). The production of total and viable (Grade I, II and III) oocytes differed between degree of crossbreeding. 3/4 cows produced more total oocytes (8.43 ± 0.94) than those 7/8 HG (3.52 ± 0.39). The production of viable oocytes did not differ between 3/4 and 7/8 cows fed with high level of energy. 3/4 cows fed with low level had higher production of Grade I oocytes (84.58%). However, the cleavage rate was higher in 7/8 cows. Those fed with high level demonstrated higher blastocyst production (97.01%) than those fed low level (90.16%). Total blastocyst production rate did not differ between degree of crossbreeding and the diet. 3/4 cows, regardless to the diet, and 7/8 cows fed with low level of energy produced higher blastocyst rates from the cleaved oocytes. Concerning the period of postpartum, there was no difference in the total or viable oocytes recovered between degree of crossbreeding and the diet. However, the cleavage rate reduced at 56 days followed by a higher Grade II and III oocyte rate. Considering the different periods of postpartum, the highest cleavage rate was obtained at 14 days (76.09%), differing to the other days, which had similar results (40.98 – 53.45%). The blastocyst rate did not differ between the periods: 14, 28 and 56 days (-14.44%), being these superior to 42 days after parturition (4.10%). Conversely, the blastocyst rate from cleaved oocytes was superior at day 56 when compared to day 42 after parturition. In conclusion, the increase of energy in diet for 3/4 and 7/8 HG crossbred primiparous allows the production of milk with higher solids. 3/4 HG cows are more efficient to produce oocytes in the beginning of lactation than 7/8 HG cows, but the blastocyst rate did not differ between degree of crossbreeding and offered diet.

Key-words: consumption, follicular aspiration, crossbreeding, oocyte, embryo.

LISTA DE ABREVIATURAS

AGNE	Ácidos Graxos Não Esterificados
BEN	Balanco Energético Negativo
BHB	Beta hidroxibutirato
BSA	Albumina Sérica Bovina
Ca	Cálcio
CEJHB	Campo Experimental José Henrique Brushi
CFDN	Consumo De Fibra em Detergente Neutro
CFDNPV	Consumo De Fibra em Detergente Neutro Relação ao Peso Vivo
Cm	Centímetros
CMS	Consumo de Matéria Seca
CMSPV	Consumo de Matéria Seca em Relação ao Peso Vivo
COCs	Complexo Cúmulus Oócito
CO ₂	Gás Carbônico
°C	Graus Celsius
CL	Corpo Lúteo
DP	Desvio Padrão
ECC	Escore de Condição Corporal
EL	Energia Líquida
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EST	Extrato Seco Desengordurado
FD	Folículo Dominante
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FIV	Fecundação <i>in Vitro</i>
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GH	Hormônio de Crescimento
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
G3	Grupo 3
G4	Grupo 4
h	Horas

HG	Holandês x Gir
HZ	Holandês x Zebu
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante a Insulina-1
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
LAA	Laboratório de Análise de Alimentos
LCE	Leite Corrigido para Energia
LH	Hormônio Luteinizante
LQL	Laboratório de Qualidade do Leite
Kg	Quilograma
KHz	Quilohertz
Mcal	Megacalorias
MIV	Maturação <i>in Vitro</i>
mg	Miligramas
mmHg	Milímetros de Mercúrio
mhz	Megahertz
ml	Mililitros
mm	Milímetros
MN	Matéria Natural
MS	Matéria Seca
OPU	Ovum Pick Up
P	Fósforo
PB	Proteína Bruta
PBS	Solução Salina Fosfatada Tamponada
PGF2 α	Prostaglandina
P4	Progesterona
SFB	Soro Fetal Bovino
vs	Versus
X ²	Qui-quadrado
US	Ultrassom
μ L	Microlitro
μ g/mL	Micrograma por Mililitro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição dos animais nos grupos experimentais.....	39
Tabela 2: Composição da dieta total (volumoso + concentrado) fornecidas aos animais do experimento.....	41
Tabela 3. Classificação dos oócitos quanto ao complexo cumulos-oócitos (COC), Camadas de células dos cúmulus e seu citoplasma.....	43
Tabela 4: Peso corporal, escore da condição corporal (ECC) nos primeiros 56 dias do pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (média ± erro padrão)	47
Tabela 5 Consumo diário de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca por peso vivo (CMSPV), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) e consumo de fibra em detergente neutro por peso vivo (CFDNPV) nos primeiros 56 dias do pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (média ± erro padrão).....	50
Tabela 6: Produção de leite, porcentagens de gordura, proteína, extrato seco total, leite corrigido para energia (média ± erro padrão) de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir no início da lactação submetidas à duas dietas (alta e baixa energia)	53
Tabela 7: Produção média de oócitos totais e viáveis recuperados no início do pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir ingerindo dieta de alta ou baixa energia.....	56
Tabela 8: Taxa de oócitos viáveis e taxa de qualidade de oócitos recuperados nos primeiros 56 dias de pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir alimentadas com dieta de alta ou baixa energia.....	59
Tabela 9: Taxa de clivagem e produção de blastocistos nos primeiros 56 dias de pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir alimentadas com dietas de alta ou baixa energia.....	61
Tabela 10: Total de oócitos recuperados e oócitos viáveis de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (média ± erro padrão) submetidas à quatro períodos de OPU (14, 28, 42, 56) dias do pós-parto.....	65
Tabela 11: Taxa de oócitos viáveis e taxa de qualidade de oócitos recuperados no pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir.....	65
Tabela 12: Taxa de clivagem e produção de blastocistos oriundos dos primeiros 56 dias de pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura1: Vacas alimentadas em cochos individuais.....	37
Figura 2: Dispositivo magnético anexado no pescoço da vaca.....	38
Figura 3: Peso corporal das vacas 3/4 e 7/8 Holandês x Gir durante as primeiras 8 semanas de lactação.....	48

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO.....	17
2.1.1 Consumo de matéria seca	18
2.1.2 Escore de condição corporal e peso ao parto	21
2.1.3 Produção e composição de leite	22
2.1.4 Efeito homeorético	25
2.2 FOLICULOGÊNESE.....	26
2.3 PUERPÉRIO E RETORNO DA ATIVIDADE OVARIANA	28
2.4 CICLOS CURTOS	31
2.5 QUALIDADE DO OÓCITO	31
2.6 PRODUÇÃO DE EMBRIÕES	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1 LOCALIZAÇÃO, CONDIÇÕES CLIMÁTICAS E PERÍODO EXPERIMENTAL....	36
3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
3.3 ANIMAIS E DISTRIBUIÇÃO ENTRE TRATAMENTOS.....	39
3.4 MANEJO PRÉ-PARTO	39
3.5 MANEJO NO DIA DO PARTO.....	40
3.6 MANEJO PÓS-PARTO	40
3.6.1 Manejo nutricional	40
3.6.2 Manejo de ordenha	41
3.6.3 Manejo reprodutivo	42
3.6.4 Produção <i>in vitro</i> de embriões	44
3.7 VARIÁVEIS AVALIADAS.....	45
3.7.1 Variáveis do consumo de matéria seca e biométricas	45
3.7.2 Variáveis produtivas	45
3.7.3 Variáveis reprodutivas	46
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	46
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 AVALIAÇÃO DO PESO E ECC.....	47
4.2 AVALIAÇÃO DO CMS, CMSPV, CFDN E CFDNPV	49
4.3 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO LEITEIRA, PORCENTAGEM DE GORDURA, PROTEÍNA, EXTRATO SECO DESENGORDURADO NO LEITE E A PRODUÇÃO DE LEITE CORRIGIDO PARA ENERGIA (LCE)	52

4.4 AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE E QUALIDADE OOCITÁRIA.....	55
4.4 AVALIAÇÃO DA CLIVAGEM E PRODUÇÃO DE BLASTOCISTO.....	60
4.5 AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE E QUALIDADE OOCITÁRIA EM RELAÇÃO AOS DIAS PÓS-PARTO.....	64
4.6 AVALIAÇÃO DA TAXA DE CLIVAGEM E PRODUÇÃO DE BLASTOCISTO EM RELAÇÃO AO DIA DO PÓS-PARTO.	66
5. CONCLUSÕES	69
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
7. ANEXOS.....	85

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura de leite brasileira está em expansão, havendo um crescimento constante tanto na qualidade de produção e quantidade de vacas por fazenda. A produção média nacional é de 1.340kg litros/leite/vaca/ano (EMBRAPA, 2010) e provém, em sua grande maioria, de animais oriundos do cruzamento entre raças européias, principalmente a Holandesa, e raças zebuínas. Conforme projeção do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o Brasil dever ter um aumento de 5% na produção de leite no ano de 2014, podendo chegar a 36,5 bilhões de litros. A produção de leite a partir de vacas mestiças representa 70% do leite produzido no Brasil (FREITAS e MIRANDA, 2009).

Em Minas Gerais, estado líder na produção de leite nacional, 44% do rebanho é constituído de vacas mestiças (Holandês x Zebu), 26% são animais com sangue predominantemente Holandês, 8% são animais zebuínos, restando 22% de animais sem grau de sangue definido (FAEMG, 2006).

No pós-parto imediato, as vacas de leite passam por mudanças em seu metabolismo, caracterizadas por aumento nas exigências nutricionais para manter a produção de leite, mas com reduzido consumo de matéria seca, o que faz com que as vacas experimentem um período de balanço energético negativo (BEN), com variação individual em sua intensidade e duração.

O metabolismo animal afeta a reprodução, especialmente o BEN, que prejudica a foliculogênese (SANTOS, 2010). Além do desenvolvimento folicular, a qualidade oocitária também é prejudicada. Parte desses efeitos pode ser explicada por variações nas concentrações plasmáticas e intra-foliculares de hormônios e metabólitos, essenciais para o desenvolvimento e qualidade dos oócitos (LEROY et al., 2005).

A produção e reprodução no período de transição e durante o início da lactação são estudadas com mais frequência em animais de alta produção

(BUTLER, 2004; LEROY, 2006; SANTOS, 2010), o que não acontece em animais mestiços de média produção leiteira. Considerando a importância dos animais mestiços para a produção de leite nacional, tornam-se necessários mais estudos que avaliem os efeitos da nutrição e da produção de leite no início da lactação sobre características reprodutivas.

O objetivo do presente estudo foi avaliar diferenças de primíparas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir alimentadas com diferentes níveis de energia na dieta quanto ao peso e escore da condição corporal, bem como a ingestão de matéria seca, produção e composição do leite, quantidade e qualidade de óocitos aspirados e o desenvolvimento embrionário nos primeiros 56 dias do pós-parto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO

No final da gestação e no início da lactação, diversas alterações são observadas no metabolismo das vacas leiteiras. Este período é denominado de período de transição, sendo definido como a fase entre as três semanas que antecedem o parto e as três primeiras semanas de lactação (DRACKLEY, 1999).

A vaca sai do período seco e inicia a lactação com um aumento repentino na demanda de energia para a produção de leite (BAUMAN e CURRIE, 1980). Nesta fase, a ingestão de matéria seca não supre a alta demanda de energia destinada para a produção de leite. Conseqüentemente, a maioria das vacas nesse período apresenta um balanço energético negativo, que pode ser mais acentuado ou não, de acordo com o indivíduo, a raça ou o cruzamento.

A principal característica do período de transição de vacas leiteiras é o aumento elevado na demanda de nutrientes como energia, glicose, aminoácidos e cálcio, utilizados pela glândula mamária para produção de leite (OVERTON e WALDRON, 2004). Nesse período, a energia ingerida é priorizada para a manutenção e produção de leite, em detrimento das funções reprodutivas (MONTIEL e AHUJA, 2005). Entretanto, Drackley (1999) afirma que esse período corresponde ao limite biológico dos processos metabólicos na vaca leiteira, caracterizado pelas dramáticas alterações metabólicas e fisiológicas pelas quais ela atravessa, e que ocorrem paralelamente à involução uterina e ao reinício da atividade ovariana.

O período de transição continua sendo uma problemática dentro dos rebanhos leiteiros, resultando em importantes perdas econômicas. O desequilíbrio nutricional que ocorre nesse período afeta diretamente o desempenho produtivo e reprodutivo (DRACKLEY, 1999; HAYIRLI et al., 2002).

O período de transição, contudo, é de elevada e fundamental importância para a reprodução da vaca (PETER et al., 2009). González (2002) resalta que os dois primeiros meses pós-parto são os mais críticos para vacas leiteiras, principalmente as de alta produção. O consumo de alimento não se faz suficiente para a demanda de nutrientes necessários para o metabolismo, principalmente energético, destinados à síntese do leite. Assim, as vacas tendem a perder peso e escore de condição corporal, em um período crítico para a reprodução, quando ocorre a involução uterina e o retorno à atividade ovariana. Esse período de balanço energético negativo pode se estender pelos primeiros 42 dias pós-parto (HÜTTMANN et al., 2009).

Walsh et al. (2011), em uma revisão sobre causas de infertilidades em vacas de alta produção, citam que o primeiro passo a ser tomado é a minimização do balanço energético negativo. O balanço energético negativo causa redução na fertilidade (ROCHE et al., 2009), interfere na redução de sinais de estro e baixa resposta à sincronização do estro, o que pode ser devido ao crescimento inconsistente e desenvolvimento prejudicado dos folículos (LUCY et al., 1992). De fato, para muitos pesquisadores o BEN é a razão do atraso da retomada da atividade ovariana luteal cíclica no pós parto (COLLARD et al., 2000; LUCY, 2001). Fatores reprodutivos como: antecipação no retorno da atividade ovariana, maior taxa de concepção à primeira inseminação e menor intervalo entre partos estão associados ao aumento da ingestão de matéria seca no início da lactação (PATTON et al., 2007).

2.1.1 Consumo de matéria seca

A ingestão de alimento é resultante de vários mecanismos inter-relacionados (VAN SOEST, 1994). Para Mertens (1992), o consumo voluntário do animal é regulado por três mecanismos: o fisiológico, em que a regulação é fornecida pelo balanço nutricional; o psicogênico, que envolve a resposta do animal a fatores inibidores ou estimuladores, relacionados ao alimento ou ao

ambiente; e o físico, relacionado à capacidade de distensão do rúmen, que pode influenciar a taxa de passagem e a taxa de digestão dos alimentos.

Segundo Reis et al. (2009), as variações na resposta do desenvolvimento animal podem ser interpretados como reflexo da qualidade da forragem, que é determinada por dois fatores principais, o consumo de MS e o seu valor nutritivo. A ingestão de matéria seca é um dos fatores determinantes do desempenho animal, sendo o ponto inicial para o ingresso de nutrientes, principalmente de energia e proteína, necessários para o atendimento das exigências de manutenção e produção (NOLLER et al., 1997).

De acordo com Van Soest (1994), animais que recebem dietas de alta densidade calórica, como as ricas em concentrados, podem ter o consumo determinado pela demanda energética, enquanto aqueles que recebem dietas de baixa qualidade e densidade energética têm o consumo determinado pela capacidade física do trato gastrintestinal. Uma vez que a fibra em detergente neutro (FDN) do alimento apresenta fermentação e passagem pelo rúmen-retículo mais lentas que os demais constituintes da dieta, exercendo efeito de enchimento, Mertens (1992) propôs que este fosse utilizado como preditor da ingestão voluntária de matéria seca (MS), já que permite, numa mesma escala, relacionar os mecanismos físico e fisiológico de regulação do consumo. Dessa forma, a limitação do consumo pela capacidade física ocorre em dietas com valores de FDN acima de 1,2% do peso vivo (PV) (MERTENS, 1994) e com digestibilidade aparente total da MS inferior a 66% (NRC, 2001).

A ingestão de matéria seca é um dos fatores determinantes do desempenho animal, sendo o ponto inicial para o ingresso de nutrientes, principalmente de energia e proteína, necessários para o atendimento das exigências de manutenção e produção (NOLLER et al., 1997). Segundo Vasquez (2002), a baixa produção de vacas sob regime de pastejo deve-se ao consumo deficiente de matéria seca (MS) digestível, pois a baixa digestibilidade dessas forrageiras determina que o consumo de matéria seca de vacas em pastejo não ultrapasse os 2,0% de seu peso vivo. Aparentemente, o limite de produção de leite de vacas em pastagens tropicais não ultrapassa 4.500kg/vaca/lactação. Esse limite é determinado pelo alto conteúdo de fibra e baixa digestibilidade da forragem (ALVIM et al., 1999).

A suplementação com alimento concentrado não somente aumenta o consumo de matéria seca do alimento volumoso, mas também aumenta o consumo de FDN do alimento volumoso em relação ao peso vivo (SOUSA et al., 2008). Mesmo que fracionada, a suplementação concentrada pode representar elevada ingestão de carboidrato/proteína rapidamente degradáveis no rúmen, implicando em eventuais distúrbios digestivos/metabólicos, caso haja acúmulo de amônia e ácidos, pela insuficiente utilização/remoção do rúmen (PEREIRA e ARMENTANO, 2000). Além disso, o fornecimento de quantidades elevadas de concentrados ricos em carboidratos não estruturais pode provocar queda no teor de gordura do leite, depressão na degradabilidade da fibra, acidose e redução do consumo de matéria seca (MS). A inclusão de lipídeos insolúveis na dieta pode evitar estes distúrbios (VAN SOEST, 1994).

Além dos fatores nutricionais, inerentes à dieta, fatores metabólicos contribuem para aumentos significativos de consumo no início da lactação. O CMS aumenta rapidamente no pós parto, fazendo com que o trato gastrointestinal também aumente de tamanho, cerca de 4kg de aumento de sua capacidade para cada 1kg de aumento no consumo (NRC, 2001). Há um aumento gradual no consumo de MS no início de lactação, chegando no limite máximo aos 70 dias de pós parto (HÜTTMANN et al., 2009). O NRC (2001) ainda reporta que o ponto máximo de consumo de MS de vacas Holandesas, em clima temperado, ocorre em torno de 14 semanas de lactação, enquanto que vacas mestiças F1 Holandês x Zebu alcançam o consumo máximo em torno da sétima semana de lactação (SANTOS, 2011).

A inadequada ingestão de MS/energia está associada a efeitos inibitórios do hipotálamo e hipófise, gerando redução da síntese e liberação de LH. Em consequência, há menor crescimento folicular (DISKIN et al., 2003). Por outro lado, há estudos que mostram que o excesso de ingestão de MS aumenta o crescimento final do folículo (ARMSTRONG et al., 2001; MOLLO et al., 2007).

2.1.2 Escore de condição corporal e peso ao parto

A vaca, dentre suas atividades metabólicas, tem na capacidade de mobilizar reservas corpóreas no período de pós-parto, quando a mesma se encontra em balanço energético negativo, uma das mais importantes atividades por ela desempenhada. A maioria das vacas leiteiras mobiliza reservas corporais de gordura no pré-parto e início da lactação, que são recuperadas com o decorrer da lactação e, especialmente, ao longo da gestação (FRINGENS et al., 2004). O ECC de vacas leiteiras é uma ferramenta importante utilizada para avaliar níveis de reserva corporal de gordura, sendo a melhor prática de avaliação que expressa o status nutricional dos animais (SATURNINO e AMARAL, 2004).

Estudos mostraram que o ECC ao parto (FERREIRA et al., 1993; Ferreira et al., 2005) e a perda de condição corporal no início da lactação foram relacionadas com a fertilidade (GARNSWORTHY, 1988; GEARHART et al., 1990; MARKUSFELD et al., 1997; SANTOS, 2005) e a produção de leite (MARKUSFELD et al., 1997; PEDRON et al., 1993).

Eventos fisiológicos em vacas leiteiras como produção de leite e eficiência reprodutiva são amplamente relacionados ao ECC. Através de seu monitoramento, é possível estimar o BEN, o principal evento da fase de transição de uma vaca de alta produção. Entre os diferentes métodos de avaliação do ECC, o mais fácil e mais amplamente utilizado é o desenvolvido por EDMONSON et al. (1989), exame internacionalmente aceito para prever o estado nutricional de vacas principalmente aquelas de alta produção (BERRY et al., 2007). Este método é baseado em avaliações visuais e táteis das reservas corporais em pontos específicos do corpo da vaca, em uma escala de 1 a 5, com subunidades de 0,25 pontos.

Animais com maior escore ao parto mobilizam maiores reservas corporais (FREITAS JÚNIOR et al., 2008), o que acontece de forma mais acentuada em animais de alta produção de leite (GALLO, 1996), incapazes de consumir quantidades adequadas de energia durante o início da lactação, para compensar a produção de leite (HOLCOMB, 2001).

Vacas com escore abaixo de 3,0 ao parto apresentam reduzido desempenho reprodutivo, necessitando maior tempo para o reinício do retorno da atividade ovariana no pós parto (BUTLER, 2008). Por outro lado, Ângulo (1997) observou que vacas mestiças (Holandês x Zebu) com escore alto têm sua atividade luteal cíclica antecipada quando comparada àquela de vacas de escore baixo. Em primíparas, outro fator que afeta o retorno à atividade ovariana no pós-parto é o peso ao parto. Primíparas com menor peso ao parto apresentam maior período de serviço em relação àquelas com maior peso ao parto. (CARVALHO et al., 2010).

Estudos mostram ainda que o ECC tem efeitos na qualidade de oócitos de primíparas. O baixo ECC não interfere na taxa de recuperação de ooócitos, mas afeta o seu desenvolvimento *in vitro*, representado por menores taxas de clivagem e blastocistos (MEE et al. 2000). Baixos escores corporais influenciam as concentrações de hormônios importantes, como o fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1 (IGF-1), a insulina e a leptina, hormônios que afetam o desenvolvimento oocitário (ADAMIÁK et al., 2005).

Quando a nutrição é balanceada, os animais recuperam as reservas energéticas corporais com maior facilidade (MORRISON et al., 1999). Um adequado manejo nutricional, com volumosos de boa qualidade e suplementação com concentrado durante o período pré-parto é necessário para garantir adequados escores da condição corporal ao parto (CARVALHO et al., 2009).

2.1.3 Produção e composição de leite

A produção e a composição do leite de vacas mestiças Holandês x Zebu é afetada por diferentes fatores como o nível de manejo da propriedade, o grau de sangue do cruzamento utilizado, o escore da condição corporal ao parto, o balanço energético em que o animal se encontra e a dieta oferecida ao animal, entre outros. Em trabalho que avaliou o desempenho de vacas mestiças em um nível baixo ou alto de manejo, Madalena et al. (1990) relataram produção de leite

de 2953 kg, em 305 dias, na primeira lactação de vacas F1 submetidas a nível alto de manejo. Por outro lado, a produção foi de 2636 kg de leite, em 375 dias de lactação, nas vacas submetidas a nível baixo de manejo. A produção de sólidos do leite também foi fortemente influenciada pelo nível de manejo. As produções de gordura e proteína foram de 132,4 kg (3,40%) e 99,8 kg (3,36%) nas vacas submetidas a nível alto de manejo e de 113,6 kg (4,30%) e 83,9 kg (3,16%), respectivamente, naquelas submetidas a nível baixo de manejo.

As vacas de origem zebuína, comumente utilizadas para os cruzamentos com a raça Holandesa, proporcionam aumento nos teores de gordura e proteína à medida que se reduz a fração de genes da raça Holandês, provavelmente em função da redução na produção de leite. O efeito da heterose para esses cruzamentos foi considerado significativo para o percentual de gordura no leite. Apenas em sistemas de confinamento, em que os parâmetros de sólidos no leite são mais dependentes das características ambientais de elevada variabilidade, observa-se maior produção de sólidos em vacas com maior fração genética de Holandês. Ainda, os teores de sólidos no leite podem variar bastante de acordo com a raça utilizada nos cruzamentos. Vacas das raças Jersey, Pardo Suíço e a linhagem Holandês-Frisian melhoram o teor de gordura e proteína no leite quando comparadas com as Holandesas, que produzem maior volume de leite por dia (MADALENA, 2008).

O ECC também afeta a produção de gordura no leite. Segundo Pedron et al. (1993), a maior porcentagem de gordura no leite de vacas com alto ECC ao parto foi atribuída à maior mobilização de gordura corporal na fase inicial da lactação, que proporciona nível elevado de ácidos graxos não esterificados na circulação. Esses ácidos graxos podem ser utilizados diretamente pela glândula mamária, juntamente com outros nutrientes provenientes da dieta para síntese de gordura do leite.

O balanço energético da vaca é outro fator muito importante que afeta a composição do leite, e, principalmente, a relação gordura:proteína no leite (GRIEVE et al. 1986; HEUER et al. 2001; FRIGGENS, et al. 2007; BUTTCHEREIT et al. 2010.). Geralmente, durante os primeiros 60 dias de lactação, as vacas apresentam algum grau de balanço energético negativo. Neste período, observa-se redução nos teores de gordura e proteína do leite. A

porcentagem de gordura no leite sempre é superior à porcentagem de proteína, caracterizando uma relação gordura:proteína no leite superior a 1,0 (um) (FRIGGENS, et al. 2007). Buttchereit et al. (2010) demonstraram uma alta relação gordura:proteína no leite, de aproximadamente 1,4, nos primeiros dias de lactação. Esta relação apresenta constante queda até terço médio de lactação (100 dias) quando essa relação chega a 1,05. Dessa forma, apesar das porcentagens de gordura e proteína do leite reduzirem durante o período de balanço energético negativo, a sua relação pode ser utilizada como um indicador do balanço energético do animal (FRIGGENS et al., 2007; BUCHEREIT et al., 2010; LOVENDAHL et al. 2010).

O efeito da nutrição sobre a produção de sólidos do leite tem sido mais extensamente estudada. Fatores como fibra, tamanho da partícula, relação volumoso:concentrado, nutrientes protegidos no rúmen e o teor de carboidratos não fibrosos da dieta alteram a produção e a porcentagem de sólidos no leite. González et al. (2004) afirmam que o teor da fibra na dieta e a relação entre volumoso e concentrado são os fatores que produzem maior interferência no percentual de gordura no leite. O tamanho e a forma da partícula ingerida afeta o consumo, a taxa de degradação e o tempo de retenção da ingesta no rúmen (VAN SOEST, 1994).

Segundo o NRC (2001), a porcentagem de proteína no leite não é afetada significativamente pelo teor de PB da dieta e é fracamente correlacionada com a quantidade de proteína no leite ($r=0,14$). Para que haja alguma alteração da proteína no leite seria necessário maior suprimento de carboidrato não fibroso (CNF), que resultaria em aumento da proteína microbiana produzida, e da quantidade de aminoácidos que chegam à glândula mamária para a síntese de proteína. Um alto consumo de CNF determina maior quantidade de proprionato produzido no rúmen, o que pode reduzir o catabolismo de aminoácidos livres para a formação de proteína.

O aumento do teor de gordura no leite e mudanças no perfil proteico podem ser alcançadas com o fornecimento de nutrientes protegidos da degradação ruminal, como no caso de aminoácidos e ácidos graxos (SANCANARI et al. 2001). Essa proteção possibilita o aumento da concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados, permitindo que ácidos graxos

sejam preservados e extraídos pela glândula mamária e incorporados à gordura do leite (BREMNER et al. 1997). Ou seja, existe uma variedade de aspectos nutricionais que podem causar alterações no teor de gordura do leite.

2.1.4 Efeito homeorético

Durante o início da lactação, com o aumento da produção de leite, ocorre um período de déficit de energia. Para sair do estado gestacional e iniciar a lactação, o organismo da vaca passa por conjunto de adaptações metabólicas coordenadas para atender o novo estado fisiológico. Entretanto, tal fenômeno leva o organismo exercer respostas para atender a maior demanda energética, que envolve o tecido adiposo (aumento da lipólise), o fígado (aumentando a gliconeogênese e glicogenólise), o músculo (mobilização de proteínas), e osso (mobilização mineral) (DRACKLEY, 1999).

No tecido adiposo, lipólise e lipogênese são reguladas para aumentar as reservas lipídicas durante a gravidez (lipogênese), e, posteriormente, essas reservas são mobilizadas após o parto e o início da lactação (lipólise) (SMITH e MCNAMARA, 1990; FRIGGENS, 2003; SUMNER e MCNAMARA, 2007). Estas modificações não ocorrem em função de uma mudança no ambiente nutricional, mas sim de uma função fisiológica (lactação). A taxa de lipólise é maior que a de lipogênese, disponibilizando ácidos graxos não esterificados (AGNE) que serão utilizados pela glândula mamária, fígado e outros órgãos. Intensa mobilização lipídica leva a aumentada captação de AGNE pelo fígado (ALVES et al., 2009). Nas duas primeiras semanas após o parto também se observa aumento da mobilização das reservas corporais de proteína, principalmente do músculo esquelético, disponibilizando aminoácidos que serão utilizados na gliconeogênese hepática (BELL, 1995).

2.2 FOLICULOGÊNESE

A foliculogênese nos bovinos é um processo contínuo de crescimento e atresia dos folículos ovarianos que se inicia na vida fetal, passa pela puberdade e continua na vida reprodutiva até a senilidade (NILSSON et al., 2001).

A fêmea bovina apresenta, desde seu nascimento, aproximadamente 100.000 folículos primordiais nos ovários. Os folículos que constituem este pool de reserva podem permanecer em repouso ou iniciar um processo irreversível de desenvolvimento o qual poderá ter dois destinos, sendo a ovulação ou, na maior parte das vezes, a atresia (FINDLAY, 1994; ERICKSON e SHIMASAKI, 2001).

Segundo Campbell (1995), o período necessário para o folículo primordial alcançar seu tamanho pré ovulatório é cerca de 90 dias. Porém, ainda não são totalmente conhecidos os mecanismos que controlam o início e o número de folículos primordiais que começam a crescer (WEBB et al., 2004). Embora o crescimento folicular seja controlado principalmente por meio das gonadotrofinas e por fatores de crescimento produzidos localmente, vários fatores, sejam eles ambientais ou nutricionais, podem influenciar o desenvolvimento folicular e a qualidade do oócito e, conseqüentemente, a fertilidade (GARNSWORTHY e WEBB, 1999; WEBB et al., 2003).

Com o surgimento da ultrassonografia nos anos 80, o processo de contínuo crescimento e regressão folicular fica conhecido por dinâmica folicular e já foi bem estudado por Ginther et al. (1989), Driancourt (1991) e Fortune (1993).

O crescimento folicular é um fenômeno cíclico e depende da fase do ciclo estral (PIERSON e GINTHER, 1988). O crescimento dos folículos no ovário culmina na seleção de um único folículo dominante que atinge a capacidade para a maturação final o qual ocorre na fase de proestro e a ovulação no metaestro. Este crescimento ocorre geralmente uma ou duas vezes, durante a fase progesteronica, e no final do ciclo do estro, bem como durante a outros estados reprodutivos (MIHM et al., 2002).

De acordo com Figueiredo et al.(1996), Gambini et al. (1998) e Bó et al. (2000) ocorrem variações no número de ondas foliculares na mesma espécie ou até no mesmo animal, podendo haver duas ou três ondas, ou até mesmo, mas com menor frequência, quatro ondas foliculares.

Durante o crescimento folicular inicial, os folículos iniciam um período de crescimento organizado, determinado pelo FSH. Nessa fase, denominada recrutamento, os folículos sintetizam hormônios (inibina e estradiol) que reduzem a secreção de FSH pela hipófise (GIBBONS et al., 1997). Dos vários folículos recrutados, geralmente apenas um continuará o seu crescimento (LUCY et al., 1992). Essa fase em que há redução do número de folículos em crescimento é chamada seleção ou divergência

Após a divergência, o FD continua seu crescimento sob influência e ação do LH, até que haja tamanho suficiente para chegar a ovulação, na fase chamada de dominância folicular. Porém, quando há elevada concentração plasmática de progesterona, o folículo pré ovulatório entra em atresia por haver inibição da frequência de LH (GINTHER, et al., 2003).

Após a atresia, uma nova onda folicular inicia-se, chegando novamente um folículo recrutado à dominância e à fase pré ovulatória (WEBB, et al., 1999). Este FD só irá ovular se houver luteólise e conseqüentemente, redução dos níveis plasmáticos de progesterona, o que possibilitará o aumento da frequênciasde pulsos de LH (FORTUNE et al., 2004).

A fisiologia reprodutiva de vacas zebuínas é diferente de vacas taurinas. As diferenças relatadas estão em características como área de tecido luteal, baixa capacidade de secretar LH, diâmetro do folículo dominante, duração do estro e diâmetro folicular no momento da divergência e ovulação (FIGUEIREDO et al., 1997; PINHEIRO et al., 1998; PATHIRAJA et al., 1986).

Os padrões de crescimento folicular nas diferentes raças européias (*Bos taurus taurus*) e zebuínas (*Bos taurus indicus*) e também indivíduos provenientes de seus cruzamentos são relatados, com predominância de duas (FIGUEIREDO et al., 1995) e três ondas foliculares (GINTHER et al., 1989; BÓ et al., 1993, BORGES et al, 2001).

2.3 PUERPÉRIO E RETORNO DA ATIVIDADE OVARIANA

Durante o puerpério, o correto funcionamento do eixo hipotalâmico - hipofisário–ovariano-uterino permite que a retomada na secreção dos hormônios gonadotróficos e gonadal, e conseqüentemente, no retorno da ciclicidade da vaca levando à primeira ovulação pós-parto seja regular e dentro da normalidade (SHORT et al., 1990).

A fisiologia do eixo hipotálamo- hipófise-ovário no pós parto é influenciada pelo estado nutricional, principalmente pelo estado energético em que se apresenta o animal. Esse mecanismo envolve vários metabólitos e hormônios, tais como GH, IGF-I, insulina, leptina, AGNE, GnRH, FSH, LH, progesterona e estrógeno (MEIKLE et al., 2004). Vacas em balanço energético negativo deixam de destinar os nutrientes para a reprodução, o que limita o número de folículos, bem como o crescimento e o tamanho máximo do folículo dominante, com atraso na primeira ovulação e redução dos sinais de estro (LEROY et al., 2008).

A maioria das vacas não ovulam na primeira onda folicular pós-parto. Em vacas da raça Holandês, a ovulação acontece em média aos 33 dias pós-parto. Entretanto dentre esse período ocorre uma média de 4,2 ondas foliculares antes da primeira ovulação, atribuindo ao BEN e aos pulsos de LH (BEAM e BUTLER, 1998).

Após o parto, ocorre um aumento gradativo do pico de FSH na primeira semana devido à redução das concentrações de estradiol, após a expulsão da placenta. A retomada da pulsatilidade do FSH ocorre após cerca de 5 a 7 dias. Para o LH esse período é maior, de cerca de 25 a 30 dias. Desta forma, ocorre o recrutamento e crescimento de uma onda folicular nos primeiros quatro a 12 dias pós parto (WILTBANK et al., 2006). Porém, o destino do primeiro folículo dominante não será necessariamente a ovulação, caso a reposição nos estoques de LH ainda não tenha ocorrido (NETT, 1987).

Entretanto, a duração do anestro pós-parto depende da condição corporal e do nível de BEN no qual o animal se encontra, pois vacas em balanço energético negativo apresentam concentrações séricas de insulina e IGF-1 mais baixas, que, influenciam na secreção de GnRH e LH, metabólitos e hormônios que podem atuar sobre o ovário para influenciar a sua sensibilidade ao LH (LUCY, 2000).

A retomada dos ciclos ovulatórios está associada a uma elevação de IGF-1 plasmático, que está ligado ao estado nutricional, concentração de insulina e BEN, que vai determinar os pulsos de LH e a função ovariana (SANTOS, 2005). No pós-parto, a taxa de concepção aumenta com o decorrer dos ciclos, sendo provável que haja uma relação com a melhora do perfil de progesterona (LUCY 2001).

Britt (1992) sugeriu que a menor taxa de concepção em vacas de leite de alta produção, pode ser explicada pela menor qualidade dos folículos, pela menor qualidade do oócito e pela quantidade de progesterona secretada pelo corpo lúteo. Esses efeitos afetam o folículo e o oócito durante todo o período de foliculogênese, que dura cerca de 60 dias, desde a ativação do oócito até a ovulação. Durante esse período, se os folículos são expostos a condições adversas como BEN, estresse térmico ou doença metabólica os efeitos adversos persistem pelos 40 a 60 dias seguintes, uma vez que os efeitos atingiriam até os folículos em estágios iniciais de desenvolvimento. A consequência é uma redução nos índices reprodutivos, devido ao atraso da primeira ovulação, falha na concepção, tanto pelas concentrações inadequadas de progesterona, como pelo efeito negativo causado no oócito liberado após a ovulação (BRITT, 1992).

A baixa ingestão de energia inibe o comportamento estral, pois reduz a responsividade do sistema nervoso central ao estradiol, devido a uma redução do número de receptores no hipotálamo (MILLEMANN et al., 1999). Essa privação de energia ocasiona uma redução da frequência e pulsos de LH, o que compromete a maturação do folículo e a ovulação. Segundo Kendrick et al (1999), vacas com melhor balanço energético possuem maiores concentrações intra-foliculares de IGF-1 e maiores concentrações plasmáticas de progesterona, e portanto são animais capazes de produzir oócitos de boa qualidade. No

entanto, a restrição energética afeta o crescimento folicular. Folículos dominantes não atingem a maturação final, devido à ausência de um padrão adequado de secreção de LH, o que pode determinar sua atresia (YAVAS e WALTON, 2000).

Vários fatores e sinais, tanto extra-ovarianos como reguladores intra-foliculares autócrinos e parácrinos regulam o crescimento folicular para que os folículos passem a atingir a dominância e assim ovular (WEBB et al., 2008). O controle das fases finais da foliculogênese está relacionado principalmente com as gonadotrofinas (FSH e LH) e a expressão de fatores de crescimento que modulam a ação das gonadotrofinas durante essa fase de desenvolvimento folicular (WEBB et al., 1999).

No início da lactação, estratégias de alimentação, saúde e nutrição que permitam o aumento da ingestão de matéria seca são necessárias para um melhor desempenho reprodutivo, uma vez que refletirão em eventos fisiológicos como involução uterina, reposição dos estoques hipofisários de LH e iniciação do crescimento folicular em ondas (BUTLER, 2008).

Chagas et al. (2007) relataram que a associação negativa entre o ECC no parto e o dia para primeiro cio reflete com atraso no retorno da atividade ovariana, pulsos de LH infreqüentes, respostas foliculares baixas para gonadotrofinas, e reduzida capacidade funcional do folículo.

O anestro pós parto em vacas leiteiras está associado a uma inadequada frequência de pulsos de LH, que é caracterizado por uma depleção nos seus níveis circulantes, que parece ser mais extremo em primíparas, de modo a aumentar o intervalo a primeira ovulação (DRACKLEY, 1999).

Segundo Santos (2005), as alterações no metabolismo durante o período de BEN podem influenciar folículos pré-antrais destinados a ovular mais tarde, gerando um impacto sobre a qualidade e viabilidade do oócito e do CL resultante daquela ovulação. O surgimento de ondas foliculares ocorre rapidamente depois do parto (BÓ et al., 2003), estas ondas são caracterizadas por um rápido aumento dos níveis séricos de FSH, seguido pelo aparecimento da primeira onda de crescimento folicular, entre 2 a 7 dias pós-parto (WILT BANK, 2002).

2.4 CICLOS CURTOS

Em vacas leiteiras também está relacionado um problema chamado “ciclos curtos”, caracterizado pela regressão prematura do corpo lúteo proveniente da primeira ovulação pós-parto, causando alteração do ciclo, ocorrendo devido a liberação prematura de $\text{PGF2}\alpha$ pelo endométrio (COPELIN et al., 1989).

A primeira ovulação pós-parto geralmente ocorre sem as manifestações clínicas típicas de cio, sendo denominado cio silencioso e é seguida por um ciclo curto de 8 a 12 dias, acompanhado de um corpo lúteo de menor tamanho e concentrações sub-luteais de progesterona (PERRY et al., 1991), pois pode haver lise precoce do corpo lúteo acarretando em menores concentrações séricas de progesterona (MCDUGALL, 1995) e de apenas uma onda folicular (MURPHY et al., 1990, FERREIRA et al., 2007).

De acordo com GUILBAULT et al. (1987), o útero no período do pós-parto produz maiores quantidades de $\text{PGF2}\alpha$, e quando ocorre a primeira ovulação, não havendo uma previa exposição à progesterona, esta maior concentração de $\text{PGF2}\alpha$ pode promover a lise do corpo lúteo tão logo se torne responsivo, o que resultaria em fase lútea curta (RIVEIRA et al., 1998).

As altas concentrações plasmáticas de progesterona aumentam progressivamente nos três primeiros ciclos estrais da vaca no período do pós-parto. Entretanto, esse aumento gradativo pode ser diminuído em virtude do BEN que o animal se apresenta no início da lactação (SPICER et al., 1990).

2.5 QUALIDADE DO OÓCITO

Os fatores de crescimento, tais como o IGFs, são responsáveis pelo desenvolvimento inicial dos folículos (ARMSTRONG et al., 2003), aumentando a proliferação de células da granulosa, a esteroidogênese e o crescimento do

oócito, (SILVA et al., 2009), enquanto que as gonadotrofinas (FSH e LH) são importantes no crescimento final (WEBB et al., 2004).

Durante o período de maturação final, o oócito passa por alterações e reinicia a divisão meiótica, induzida por fatores sintetizados pelas células da granulosa e da teca (CECONI, 2004).

Acredita-se desta forma que a qualidade do oócito, que ali se desenvolve pode ser influenciada por fatores capazes de modificar o ambiente folicular, tal como a nutrição. Os dados da literatura fazem acreditar que a nutrição pode afetar a foliculogênese, vindo a crer que desta mesma forma também possa haver alteração na capacidade e qualidade do oócito (LEROY et al., 2005, 2006 2008).

Dietas fornecidas com altos níveis de energia podem afetar o desenvolvimento embrionário inicial, pois é comum estar relacionado com alteração no crescimento folicular e na divisão meiótica do embrião (LEROY et al., 2008).

Segundo Armstrong et al., (2001), baixas taxas de desenvolvimento pós fecundação são mencionados em ruminantes com dietas de alto plano nutricional, associadas a uma menor qualidade do oócito. Porém, não se sabe quais alterações observadas no fluido folicular que possam causar modificações no citoplasma do oócito e comprometer sua viabilidade.

Levando em consideração que a foliculogênese leva em torno de 60 a 80 dias e os folículos que iniciam o seu desenvolvimento durante o BEN, os mesmos são afetados e liberam oócitos de baixa qualidade (BRITT, 1991), provavelmente pelos fatores de crescimentos e hormônios extra ovarianos estarem envolvidos nos mecanismos, e estarem sendo afetados pela dieta, interferindo na qualidade do oócito ovulado (WEBB et al., 2004).

Novilhas com alto nível de energia na dieta podem apresentar uma melhora no número de folículos. Por outro lado, em vários estudos é demonstrado que dietas altamente energéticas diminuem a resposta aos protocolos de superovulação, diminuem a produção embrionária e alteram a taxa de clivagem e de blastocisto quando comparada à novilhas com baixa incrementação de energia na dieta (NOLON et al., 1998) relacionado com a produção de ovócitos com qualidade comprometida (YAAKUB et al., 1999).

Kendrik et al. (1999) afirma que o BEN também é um fator que afeta a qualidade de oócitos, pois em seu estudo vacas que receberam menor teor de energia e que estavam em maior BEN produziram baixo número de oócitos de boa qualidade.

2.6 PRODUÇÃO DE EMBRIÕES

A partir dos anos 90, com o domínio da técnica de interpretação de imagens ultrassonográficas na espécie bovina (KASTELIC et al., 1990) e posterior entendimento do sincronismo das ondas foliculares na espécie (GINTHER et al., 1989), houve um enorme avanço no conhecimento da fisiologia reprodutiva, o que facilitou o emprego de biotecnologias da reprodução como: inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferência de embrião (TE) e aspiração folicular guiada por ultrassom, seguida da produção *in vitro* de embriões (PIVE). No Brasil, país que mais se produz embriões no mundo, a PIVE produziu cerca de 318 mil embriões em 2011, o equivalente a 86% da produção mundial de embriões *in vitro* (International Embryo Transfer Society - IETS, 2013).

A PIVE ainda é bastante ineficiente em vacas leiteiras de alta produção, sendo influenciada por diversos fatores (BOLS, et al., 2004; PONTES et al., 2010), porém tendo maior sucesso em vacas leiteiras zebuínas (PONTES et al., 2010).

Existe influência do grau genético da doadora sobre as taxas de recuperação de oócitos. Animais *Bos Indicus* (Gir) apresentam diferenças na fisiologia ovariana, quando comparados aos *Bos taurus* (Holandês), como maior número de ondas de crescimento folicular (FIGUEIREDO et al., 1997; VIANA et al., 2000), menor persistência e diâmetro do folículo dominante no momento da divergência (SARTORELLI et al., 2005; VIANA et al., 2010) e maior número de folículos por onda de crescimento (VIANA et al., 2000).

Em um estudo comparativo entre raças, Pontes et al. (2010) relataram diferenças entre animais das raças Gir, Holandês e seus cruzamentos. Os

autores relataram uma maior recuperação e maior taxa de oócitos viáveis para aqueles doadoras 1/2 HG (31,4 oócitos recuperado sendo 24,3 considerados viáveis), em relação às doadoras da raça Gir (17,1 oócitos recuperado sendo 12,1 considerados viáveis) e da raça Holandês (11,4 oócitos recuperados, sendo 8,0 considerados viáveis).

Sales, (2011), em nove aspirações a cada 14 dias em vacas da raça Gir recuperou em média 22,8 oócitos. A taxa de recuperação foi 88,8% e média de oócitos viáveis, 19,3. Vacas da raça Holandês apresentaram menor desempenho, com 14,8 oócitos recuperados, 60,4% de taxa de recuperação e 10,8 oócitos viáveis. Ainda, Sales (2011), ao avaliar a influência da dieta (alta e baixa energia) em vacas de leite não lactantes, não observou diferenças na taxa de recuperação de oócitos, n número de oócitos viáveis, nem na qualidade oocitária.

O sucesso da produção *in vitro* de embriões está diretamente relacionado ao número e qualidade de COCs que são destinados ao cultivo (VIANA e BOLS, 2005). Fatores que influenciam a quantidade e a qualidade dos oócitos obtidos por sessão de aspiração, conseqüentemente a competência para a produção embrionária é a fase do ciclo estral (VASSANA et al., 2003).

O sucesso da técnica de OPU e PIVE está relacionada à competência dos oócitos para a produção de embriões *in vitro*. Segundo SIRARD (2006), a competência oocitária pode ser caracterizada por alguns eventos-chave, como por exemplo; o reinício da meiose, a ativação da clivagem após a fertilização, o desenvolvimento ao estágio de blastocisto, entre outros. Porém o mais empregado para determinar esta característica é o desenvolvimento a blastocisto, uma vez que os oócitos incompetentes são bloqueados na transcrição materno- zigótico, que ocorre no estágio de oito células (SIRARD et al., 2006).

Uma questão a ser destacada na produção de embriões é o tamanho dos folículos aspirados. O tamanho dos folículos tem efeito sobre a capacidade dos oócitos para prosseguir com o desenvolvimento *in vitro* até blastocisto. Mais especificamente, os autores relataram que folículos no intervalo de 2 a 7 mm produzem oócitos que são mais competentes, o que resulta em maiores taxas de clivagem e um maior número de blastocistos (MACHATKOVA et al., 1996).

A capacidade de desenvolvimento de oócitos entre os dias 80 a 120 do pós parto é baixa (KRUIP et al., 1996). O estágio de lactação também apresenta efeitos sobre a população folicular (MURPHY et al., 1990). Os autores observaram que o recrutamento e o crescimento dos folículos aumentaram com o decorrer dos dias pós- parto. Gwazdauskas et al. (2000) observaram um aumento gradual na qualidade dos oócitos com o decorrer do pós parto. Os autores ressaltam ainda um aumento de 2% na qualidade do ócitos aos 30 dias, 10% ao 48 dias e diminuindo para 4,1% o aumento aos 117 dias de pós parto.

Outro parâmetro de avaliação da competência dos oócitos, é o diâmetro do mesmo. Oócitos a partir de 3mm de diâmetro já tem a capacidade de realizar a ativação nuclear. Sendo assim, o oócito gradualmente adquire a capacidade se sofrer a maturação, meiose e manter o desenvolvimento embrionário (HYTTEL et al., 1997; RIZOS et al., 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos experimentais com animais foram conduzidos de acordo com as normas aprovadas pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa Gado de Leite (Anexo1).

3.1 LOCALIZAÇÃO, CONDIÇÕES CLIMÁTICAS E PERÍODO EXPERIMENTAL

O experimento foi realizado no Campo Experimental José Henrique Bruschi (CEJHB), da Embrapa Gado de Leite, localizado no município de Coronel Pacheco, Minas Gerais, Brasil (latitude: 21° 35' 16" S; longitude: 43° 15' 56" W; altitude: 484m), no período de setembro à dezembro de 2012.

Durante o período experimental a temperatura média foi de 24,17°C e a umidade relativa do ar apresentou média de 76,28%. Esses dados foram obtidos da estação meteorológica de Coronel Pacheco – MG, do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), localizada no Campo Experimental José Henrique Bruschi (<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>).

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi dividido em duas fases. Fase pré-experimental e fase de tratamento. Na fase pré-experimental, as novilhas foram submetidas a um período de 28 dias de adaptação ao sistema free stall e alimentação em cochos individuais (Figura 1). O acesso ao cocho era controlado por dispositivo eletrônico, no qual era liberada a entrada do animal por outro dispositivo magnético anexado ao seu pescoço (Figura 2). Ainda na fase pré-experimental foi respeitado a mesma dieta que as demais vacas do rebanho consumiam. A dieta nesta fase era constituída de silagem de milho à vontade acrescido de 2 kg

de concentrado à base de farelo de soja e milho moído para cada vaca até o dia do parto.



Figura1: Vacas alimentadas em cochos individuais.

Na fase de tratamento, as vacas receberam as dietas experimentais a partir do parto até os 56 dias de pós-parto. As vacas foram distribuídas ao caso em arranjo fatorial 2x2 (nível de energia e grau de sangue). Foi utilizado vacas de primeira cria do cruzamento 3/4 e 7/8 Holandês x Gir. Duas dietas foram fornecidas, sendo uma formulada com alta energia e outra com baixa energia (Tabela 1).



Figura 2: Dispositivo magnético anexado no pescoço da vaca.

As dietas foram formuladas com auxílio do software Super Crac®, de acordo com as exigências nutricionais para vacas holandesas em crescimento lactantes produzindo 16 litros de leite/dia, estimadas pelo NRC (2001). Os ingredientes utilizados na formulação das dietas foram: silagem de milho (fonte de volumoso), farelo de soja, milho moído, suplemento mineral e uréia pecuária.

A única diferença entre as dietas foi a quantidade de energia fornecida, mantendo os níveis de ingestão dos macro e micronutrientes diários, bem como de proteína bruta, similar entre as duas dietas. Era fornecida duas refeições diárias para todos os animais. A água era fornecida à vontade dentro do próprio *free stall*.

3.3 ANIMAIS E DISTRIBUIÇÃO ENTRE TRATAMENTOS

Foram utilizadas no experimento 28 fêmeas primíparas mestiças leiteiras com idade média de $35,60 \pm 5,71$ meses, sendo 15 animais de grau de sangue 3/4 e 13 de grau de sangue 7/8 Holandês x Gir (HG), com escore de condição corporal (ECC) 3,5 (escala de 1 à 5) e peso médio de 497,78kg. Novilhas 3/4 HG apresentaram, aos 28 dias pré-parto, 497,20 kg de peso vivo e 3,6 de ECC, e novilhas 7/8 HG apresentaram 498,46 kg de peso vivo e 3,4 de ECC. Os animais foram homoganeamente agrupados em duas dietas, sendo uma de alta e outra de baixa energia, conforme seu grau de sangue, iniciando no dia do parto até os 56 dias pós-parto (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos animais nos grupos experimentais.

Grupo genético	Nível de inclusão de energia	
	Alta energia (1,93 Mcal/kg)	Baixa energia (1,69 Mcal/kg)
3/4 Holandês x Gir	G ₁ (n=8)	G ₂ (n=7)
7/8 Holandês x Gir	G ₃ (n=7)	G ₄ (n=6)

As dietas fornecidas eram constituídas pelos mesmos ingredientes, tendo silagem de milho como volumoso e um concentrado à base de milho moído e farelo de soja. A dieta de alta energia foi balanceada para fornecer 1,93 Mcal/kg de MS de energia líquida de lactação e 0,168 kg de PB/kg de MS, enquanto a dieta de baixa energia foi balanceada para fornecer 1,69 Mcal/kg de MS de energia líquida de lactação e 0,170 kg de PB/kg de MS.

3.4 MANEJO PRÉ-PARTO

Todas as vacas foram pesadas semanalmente, por dois dias consecutivos, sendo considerada a média das duas pesagens. Semanalmente,

também foi avaliado o ECC de cada animal. Os dados para esses parâmetros foram anotados em fichas conforme anexos 5 e 6.

As vacas foram estabuladas, 28 dias pré-parto, em um *free-stall* contendo cochos individuais com controle de acesso individual (Calan Gate[®], Calan Inc. New Hampshire, EUA), para adaptação às instalações. A 10 dias da previsão do parto, as vacas foram alocadas em um piquete maternidade, formado com capim *Cynodon dactylon*, dotado de bebedouro, cocho para volumoso e sal mineral.

Todos os animais do experimento receberam a mesma dieta das demais vacas do rebanho durante o pré-parto, contendo silagem de milho e 2,0 kg concentrado (21% PB, 2,02 Mcal/kg de MS, 0,98% de Ca, e 0,5% de P) à base de milho, farelo de soja, uréia, sal comum, e núcleo mineral. Foi respeitada uma sobra diária de no mínimo 5% da ração balanceada oferecida no cocho. Além da fonte mineral fornecida na dieta, ainda foi fornecido sal mineral *ad libitum* em cochos localizados dentro do *free stall*.

3.5 MANEJO NO DIA DO PARTO

No dia do parto, as vacas foram pesadas e avaliadas quanto ao ECC. Logo após, foram novamente encaminhadas para o *free stall* onde voltaram a receber alimentação em cochos individuais.

3.6 MANEJO PÓS-PARTO

3.6.1 Manejo nutricional

Após o parto, as vacas passaram a receber duas dietas, de alta ou baixa energia, de forma individual de acordo com o grupo a que pertenciam (Tabela 2). Foi fornecida dieta completa utilizando veículo misturador motorizado

(American Calan[®], New Hampshire, EUA). Amostras das dietas foram coletadas semanalmente e encaminhadas para análise bromatológica no Laboratório de Análises de Alimentos (LAA) da Embrapa Gado de Leite, onde foi determinado o teor de matéria seca da dieta.

Tabela 2: Composição da ração total fornecidas aos animais do experimento.

Composição da Dieta (MS)	Alta energia	Baixa energia
Silagem de Milho (%)	60,14	80,31
Farelo de Soja (%)	11,61	11,78
Milho Moído (%)	25,08	4,68
Núcleo Mineral (%)	2,10	2,14
Ureia (%)	1,07	1,09
Matéria Seca (%MS)	33,16%	27,43%
Proteína (PB)	0,168kg/ MS	0,170kg/MS
Fibra Detergente Neutro (FDN)	44%	55%
Cálcio (Ca)	7,2g/kg	7,4g/kg
Fósforo (P)	3,8g/kg	3,6g/kg
Energia líquida (EL)	1,93Mcal/kg	1,69Mcal/kg

3.6.2 Manejo de ordenha

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia, às 06:00 e às 15:00h, em sala de ordenha mecanizada com fosso tipo duplo-oito, circuito fechado com linha média central e medidor de leite digital. Foi realizado controle leiteiro diário, sendo considerada a média da produção semanal. A produção de leite foi corrigida (PLC) para 3,5% de gordura a qual foi calculada utilizando a fórmula de Sklan et al. (1992): $PLCG\ 3,5\% = [(0,432 + 0,163 \times \%gordura\ no\ leite) \times produção\ de\ leite]$.

Semanalmente foram coletadas amostras para determinação da composição do leite (proteína, gordura, lactose, extrato seco, extrato seco desengordurado), proporcionalmente entre a produção de leite da manhã e da tarde. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos contendo Bronopol[®] como conservante e armazenadas em geladeira à 5°C por no máximo 24h até o envio ao Laboratório de Qualidade de Leite Prof. José de Alencar (LQL) da Embrapa Gado de Leite. A análise baseou-se no princípio analítico da absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos diferentes componentes do leite. Para tanto, utilizou-se o equipamento eletrônico Bentley Combi System 2300[®] (BENTLEY INSTRUMENTS INC., 2007) de acordo com a International Dairy Federation (IDF, 2000)

3.6.3 Manejo reprodutivo

Foram realizadas aspirações foliculares em todas as vacas a cada 14 dias (14, 28, 42 e 56 dias pós-parto, em média), após prévia sincronização da emergência da onda folicular. Três dias antes da OPU, procedeu-se aspiração folicular guiada por ultrassom (DP 2200 Vet[®], Mindray, China), com auxílio de bomba de vácuo (WTA, Cravinhos, SP, Brasil), de todos os folículos maiores que 6 mm de diâmetro presentes nos ovários. Utilizou-se agulha descartável própria para aspiração folicular de 20 gauge de diâmetro (Agulha para aspiração, WTA, Cravinhos, SP, Brasil), acoplada a linha de aspiração de teflon de 1,7mm de diâmetro e 80cm de comprimento inseridos a guia de aspiração folicular. O sistema de aspiração foi submetido a pressão negativa entre 50 e 60 mmHg produzido por uma bomba de vácuo com sistema embutido de aquecimento para tubos tipo Falcon de 50ml. Esta aspiração teve por objetivo sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular.

A aspiração folicular para a recuperação dos oócitos utilizou o mesmo equipamento, material e regulação. Após contenção dos animais, realizou-se a remoção das fezes da ampola retal, higienização da região perianal com água e sabão, secagem com papel toalha e antissepsia com álcool 70%. Em seguida,

procedeu-se a anestesia epidural, realizada com 3 a 5ml de lidocaína a 2% sem vasoconstritor (Lidovet[®], Bravet). Com auxílio de guia de punção acoplada a aparelho de ultrassom, foram aspirados todos os folículos presentes nos ovários com mais de 2 mm de diâmetro. Os oócitos foram recolhidos em tubo cônico tipo Falcon de 50ml (TTP[®], Alemanha) contendo solução de meio PBS suplementado com 0,05% de soro fetal bovino e 20UI/mL de heparina, onde permaneceram por no máximo 15 minutos em temperatura de 37°C. No laboratório, procedeu-se a filtragem do aspirado em filtro de 40µm, seguido de lavagem com PBS para retirada de sangue. O conteúdo aspirado foi vertido em placa descartável de 100 mm de diâmetro e os oócitos recuperados sob estereomicroscópio (Wild Heerbrugg[®], Suíça).

Os oócitos recuperados foram avaliados quanto a sua qualidade morfológica e classificados em viáveis e não viáveis (Tabela 3). Após a classificação, os oócitos viáveis foram acondicionados em microtubos de 1,5ml com solução de transporte TCM 199 (GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA), acrescido de 10% de soro fetal bovino e mantidos a 36°C. Os oócitos foram enviados a um laboratório comercial de produção de embriões *in vitro* (Ativa Embriões, Juiz de fora, Brasil, Grupo Vitrogen) localizado a 32 km de distância.

Tabela 3. Classificação dos oócitos quanto ao complexo cumulos-oócitos (COC), camadas de células do cumulus e seu citoplasma.

	Viáveis			Não viáveis
	GI	GII	GIII	Desnudo
COC	compacto	compacto	compacto	retração do citoplasma
Camada de células do cúmulo	> 3	>3	entre 1 e 3	sem camadas
Citoplasma	homogêneo	pouco homogêneo	heterogêneo	heterogêneo

Adaptado de Viana et al. (2004).

3.6.4 Produção *in vitro* de embriões

3.6.4.1 Maturação *in vitro* dos complexos cumulus-oócito (COC's)

A maturação *in vitro* dos COCs foi realizada em meio TCM 199 (GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA) acrescido de 10% de soro fetal bovino, FSH, LH e estrógeno, piruvato e antibiótico em gotas de 70µL, em estufa incubadora a 38,8 °C, com 5% de CO₂ em ar atmosférico e 95% de umidade, por 24 horas. Os oócitos de cada doadora foram colocados em gotas separadas, com no máximo 30 COCs por gota.

3.6.4.2 Fecundação *in vitro* dos oócitos

Os COCs maturados foram fecundados utilizando sêmen de touros provados obtidos das centrais especializadas na comercialização de sêmen. Para preparação dos espermatozóides foi utilizado o método do gradiente de Percoll (*Invitrogen*), realizado com os gradientes de 45% e 90%. A fecundação foi realizada na gota de 60µL de meio FIV (*Vitrogen*) contendo heparina e com 2×10^6 espermatozóides/mL, sob óleo mineral, por um período de aproximadamente 18-22 horas, nas mesmas condições atmosféricas da maturação.

3.6.4.3 Cultivo *in vitro* dos embriões

Para o cultivo dos presumíveis zigotos, foi utilizado CR4aa (*Vitrogen*)

contendo soro fetal bovino e BSA. Os embriões foram co-cultivados com células da granulosa nas mesmas condições da fecundação, no entanto em gotas de 50µL, sob óleo mineral, mantendo a quantidade de COCs colocados inicialmente na MIV. Após 72 horas do início do cultivo, foi realizado o primeiro *feeding*, que consiste na troca de 50% do meio e a taxa de clivagem avaliada. No sexto dia foi realizado novamente o *feeding*. No sétimo dia após a fecundação a taxa de blastocisto foi avaliada.

3.7 VARIÁVEIS AVALIADAS

3.7.1 Variáveis do consumo de matéria seca e biométricas

Foram avaliados o peso e ECC de todas as vacas no dia do parto e semanalmente, sempre no mesmo dia da semana. As pesagens foram realizadas em tronco contendo balança eletrônica. Para a avaliação do ECC foi realizado inspeção visual e por palpação das regiões do ísquio, íleo, costelas e lombar das vacas, atribuindo notas de 2,5 – 3,75, numa escala de (1-5), de acordo com Edmonson (1989).

A avaliação do CMS foi estabelecida pelas pesagens da MS do oferecido e sobras individuais diariamente. Pelos resultados obtidos foi calculada a média semanal do CMS por vaca.

3.7.2 Variáveis produtivas

Foram avaliadas a produção diária de leite de todas as vacas. A composição do leite foi avaliada semanalmente. As variáveis foram avaliadas entre os cruzamentos das vacas, tratamento recebido e suas interações. A partir da produção e análise das amostras as seguintes variáveis foram avaliadas:

- Produção de leite média diária nas primeiras oito semanas de lactação, quando considerou-se a média diária obtida na semana;
- Produção de leite corrigido para energia (LCE), obtida a partir da fórmula de Sklan et al. (1992): $PLCG\ 3,5\% = [(0,432 + 0,163 \times \%gordura\ no\ leite) \times produção\ de\ leite]$.
- Porcentagem de gordura e proteína produzida no leite;
- Porcentagem de estrato seco desengordurado do leite.

3.7.3 Variáveis reprodutivas

De acordo com a metodologia descrita as seguintes variáveis foram avaliadas:

- Número de oócitos totais recuperados;
- Taxa de oócitos viáveis recuperados;
- Produção de oócitos de qualidade Grau I, II e III;
- Taxa de clivagem;
- Taxa de blastocisto;
- Taxa de blastocistos por oócitos clivados;

3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS, V. 9.2. As variáveis contínuas foram verificadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilki e submetidas à análise de variância utilizando modelos lineares generalizados (GLM). Para as variáveis biométricas, consumo de matéria seca e as variáveis produtivas, foram considerados os efeitos fixos de dieta, cruzamento, semana pós-parto e suas interações duplas e tripla. Para a produção de oócitos totais e viáveis, foram considerados os efeitos fixos de dieta,

cruzamento e sessão de aspiração folicular, bem como suas interações. As médias foram comparadas pelo teste F ou t de Student ($P < 0,05$). As variáveis discretas (taxa de oócitos viáveis, porcentagem de oócitos graus I, II e III, taxa de clivagem, taxa de blastocisto e taxa de blastocisto por oócito clivado) foram analisadas pelo teste de qui-quadrado ($P < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DO PESO E ECC

O peso e o ECC ao parto não diferiram ($P > 0,05$) entre os cruzamentos. O peso ao parto médio foi $452,00 \pm 37,88$ kg e o ECC, $3,18 \pm 0,27$. Os resultados do peso corporal e ECC, em relação às dietas de alta e baixa energia e aos cruzamentos 3/4 e 7/8 HG, nos primeiros 56 dias do pós-parto estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Peso corporal, escore da condição corporal (ECC) nos primeiros 56 dias do pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (média \pm erro padrão).

Variável	Energia da Dieta	Cruzamento		Total
		3/4 HG	7/8 HG	
Peso (Kg)	Alta	$455,70 \pm 4,76$	$419,55 \pm 4,61$	$438,41 \pm 3,71$
	Baixa	$457,86 \pm 3,62$	$434,28 \pm 4,44$	$446,91 \pm 3,06$
	Total	$456,72 \pm 3,04^X$	$426,26 \pm 3,29^Y$	$442,34 \pm 2,45$
ECC	Alta	$3,18 \pm 0,03^a$	$2,91 \pm 0,03^c$	$3,05 \pm 0,02$
	Baixa	$3,08 \pm 0,02^b$	$2,98 \pm 0,03^c$	$3,04 \pm 0,02$
	Total	$3,14 \pm 0,02^X$	$2,94 \pm 0,02^Y$	$3,04 \pm 0,01$

^{a, b} Médias, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de t de Student ($P < 0,05$).

^{x, y} Médias, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de F ($P < 0,05$), na comparação entre cruzamentos.

^{A, B} Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste F ($P < 0,05$), na comparação entre dietas.

Observou-se efeito de grau de sangue sobre o peso e o ECC ($P < 0,05$). Vacas 3/4 foram mais pesadas ($456,72 \pm 3,04$ kg) e apresentaram maior ECC ($3,14 \pm 0,02$) do que os animais 7/8 HG ($426,32 \pm 3,29$ kg e $2,94 \pm 0,02$, respectivamente - Tabela 4). Entretanto, vacas 3/4 alimentadas com dieta de alta energia apresentaram maior ECC ($P < 0,05$) do que aquelas alimentadas com dieta de baixa energia.

Na figura 3 é representada a evolução do peso dos animais ao longo das primeiras oito semanas pós-parto.

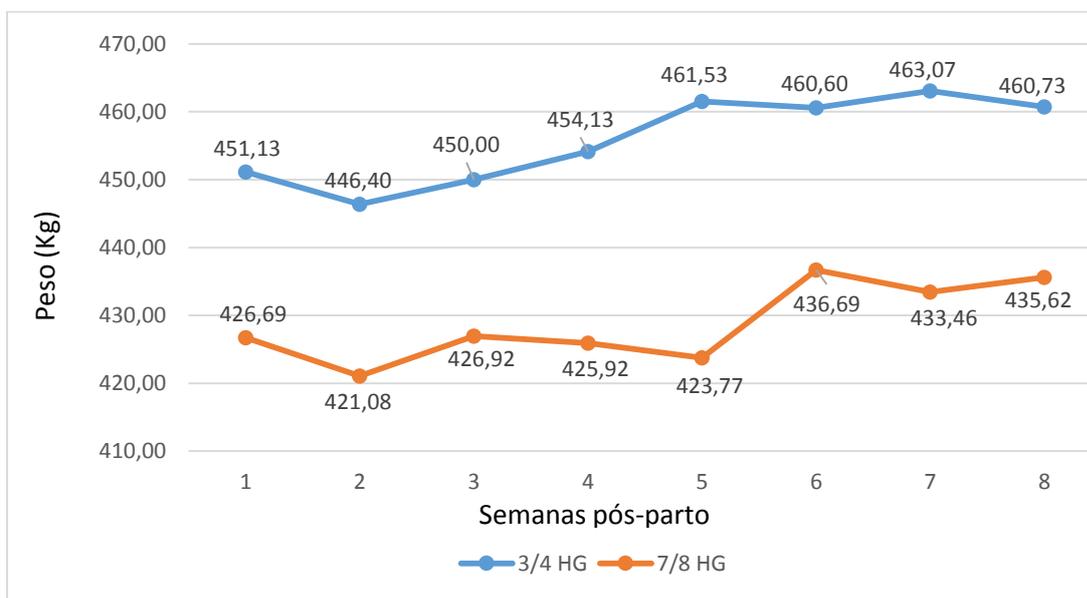


Figura 3: Peso corporal das vacas 3/4 e 7/8 Holandês x Gir durante as primeiras 8 semanas de lactação.

Vacas 7/8 HG mobilizaram maior quantidade de reservas corporais do parto aos 56 dias de lactação que vacas do cruzamento 3/4 HG, comprovado pelo menor escore da condição corporal (Tabela 4). Dentre os resultados do ECC, vacas 3/4 alimentadas com alta energia na dieta perderam menos ECC que as do mesmo cruzamento, porém alimentadas com baixa energia. O mesmo foi observado para o peso corporal, sendo que vacas 7/8 HG foram mais leves que as 3/4 HG. Outros autores (LAGO et al., 2001; RENNÓ et al., 2006) verificaram que animais da raça Holandesa apresentaram mobilização de reservas corporais no pós-parto em torno de 0,80 unidades de ECC, indicando maior habilidade desses animais em mobilizar reservas corporais para produção

de leite em comparação aos mestiços Holandês x Zebu. Isso pode justificar a maior perda de peso nos animais com maior grau de sangue da raça Holandesa neste estudo.

Vacas de raças especializadas na produção leiteira apresentam uma deposição de gordura diferente daquelas raças destinadas ao corte. Vacas leiteiras apresentam maior deposição de gordura visceral, enquanto em vacas de corte a maior deposição é de gordura subcutânea. Essa diferença também é observada entre raças zebuínas e taurinas, em que os zebuínos apresentam maior deposição de gordura subcutânea. Além disso, há diferenças na velocidade de mobilização entre os locais de deposição. A gordura visceral pode ser mobilizada mais rapidamente que a subcutânea (THOMPSON et al., 1983; FERREL e JENKINS, 1984, 1985, 1998; SOLIS et al., 1988). Essas diferenças também ajudam a explicar a maior mobilização observada nas vacas de maior fração genética da raça Holandesa, no caso as 7/8 HG.

Há importantes efeitos da heterose sobre ganho de peso em novilhas e vacas Holandês x Zebu, com redução do peso corporal quando a fração genética da raça Holandesa se afasta de 1/2 (MADUREIRA et al., 2002; MADALENA et al., 2003, MARTINS et al., 2004). Martins et al. (2004) demonstraram, ao avaliar 18.089 pesos mensais de 412 fêmeas Holandês x Gir, que animais do cruzamento 3/4 HG apresentam um peso médio durante a vida útil maior que animais 7/8 HG. Também, vacas 3/4 HG alcançaram o peso máximo mais tardiamente, sendo, de fato, mais pesadas.

4.2 AVALIAÇÃO DO CMS, CMSPV, CFDN E CFDNPV

Os resultados do consumo de MS, consumo de matéria seca em relação ao peso vivo do animal (CMSPV), consumo de FDN (CFDN) e consumos de FDN em relação ao peso vivo do animal (CFDNPV), em relação às dietas de alta e baixa energia e aos cruzamentos 3/4 e 7/8 HG, nos primeiros 56 dias do pós-parto estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Consumo diário de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca por peso vivo (CMSPV), consumo de fibra em detergente neutro (CFDN) e consumo de fibra em detergente neutro por peso vivo (CFDNPV) nos primeiros 56 dias do pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (média \pm erro padrão).

Variável	Energia da Dieta	Cruzamento		Total
		3/4 HG	7/8 HG	
CMS	Alta	12,03 \pm 0,25 ^{a,b}	10,66 \pm 0,27 ^c	11,37 \pm 0,19 ^B
	Baixa	11,69 \pm 0,35 ^b	12,85 \pm 0,30 ^a	12,23 \pm 0,24 ^A
	Total	12,00 \pm 0,20	11,73 \pm 0,18	11,88 \pm 0,14
CMSPV	Alta	2,74 \pm 0,05 ^{ab}	2,63 \pm 0,05 ^{bc}	2,70 \pm 0,04
	Baixa	2,53 \pm 0,07 ^c	2,87 \pm 0,05 ^a	2,69 \pm 0,05
	Total	2,64 \pm 0,04	2,75 \pm 0,04	2,69 \pm 0,03
CFDN	Alta	5,77 \pm 0,11 ^{ab}	5,39 \pm 0,13 ^c	5,60 \pm 0,09
	Baixa	5,62 \pm 0,19 ^b	6,00 \pm 0,15 ^a	5,80 \pm 0,12
	Total	5,7 \pm 0,17	5,67 \pm 0,10	5,69 \pm 0,74
CFDNPV	Alta	1,28 \pm 0,24 ^b	1,28 \pm 0,25 ^b	1,28 \pm 0,02
	Baixa	1,22 \pm 0,40 ^b	1,38 \pm 0,03 ^a	1,30 \pm 0,03
	Total	1,25 \pm 0,02	1,33 \pm 0,02	1,29 \pm 0,02

Houve interação ($P < 0,05$) do CMS entre cruzamentos e dietas (Tabela 5). Primíparas do cruzamento 7/8 HG alimentadas com dieta de alta energia apresentaram menor consumo. Entretanto, para as vacas alimentadas com dieta de baixa energia, observou-se um maior ($P < 0,05$) consumo das vacas 7/8 HG em relação às vacas 3/4 HG. Ou seja, para a dieta de alta energia, observou-se um maior consumo nas vacas 3/4, enquanto que na dieta de baixa energia, o maior consumo foi das 7/8 HG.

Quanto ao CMSPV, houve interação ($P < 0,05$). Para as vacas alimentadas com dieta de baixa energia, aquelas 7/8 HG apresentaram maior consumo (como porcentagem do peso vivo) em relação àquelas 3/4 HG (Tabela 5). De forma semelhante, também houve interação ($P < 0,05$) entre cruzamento e dieta para o CFDN (Tabela 5). Para as primíparas 3/4 HG, não houve efeito da dieta sobre o consumo de FDN. Ao contrário, primíparas 7/8 HG alimentadas com alta energia tiveram consumo maior do que aquelas 7/8 HG alimentadas com dieta de baixa energia, que apresentaram o menor consumo. Ainda, para a dieta de baixa energia, observou-se um maior ($P < 0,05$) consumo das vacas 7/8 HG em relação

às vacas 3/4 HG, enquanto que para a dieta de alta energia, observou-se um maior consumo nas vacas 3/4 HG.

Quanto ao CFDPNV aquelas vacas 7/8 HG alimentadas com baixa energia apresentaram um maior consumo ($1,38 \pm 0,03$) ($P < 0,05$) em relação as demais. Esse consumo é ligeiramente maior do que o relatado por Detemann et al., (2003), de FDN de 1,32% do PV. Uma hipótese a ser levantada é a questão de que no presente experimento as fêmeas em estudo são primíparas em início de lactação. Além da exigência de produção de leite, estes animais também apresentam exigência nutricional para crescimento. Dessa forma, as primíparas 7/8 HG que receberam dieta com baixa energia, podem ter compensado sua maior exigência nutricional com maior consumo em relação às demais vacas, principalmente quando se considera o menor peso das primíparas 7/8 ($426,32 \pm 3,29$ kg), em relação às 3/4 ($456,72 \pm 3,04$ kg – Tabela 4).

Diversos fatores regulam o consumo de matéria seca em vacas em lactação, como a relação volumoso:concentrado, a porcentagem de FDN, o tamanho das partículas do alimento, entre outros (OLIVEIRA et al., 2011). De acordo com a relação volumoso:concentrado das dietas experimentais, a dieta de baixa energia permitiria um maior consumo de matéria seca, ao contrário do que foi observado (Tabela 4). Vacas alimentadas com alta energia na dieta consumiram uma proporção de 60% de volumoso e 40% de concentrado, apresentando 44% de FDN na dieta. Entretanto, aquelas alimentadas com baixa energia na dieta consumiram uma proporção maior de volumoso em relação do concentrado (80:20), sendo que a dieta apresentava 55% de FDN. Por outro lado a predominância de mecanismos físicos de regulação do consumo é estabelecida com a elevação dos níveis de volumosos na dieta. Neste aspecto, possíveis interações com a fração indigestível da FDN podem ditar a plasticidade do limite físico de consumo, que estima o consumo voluntário de matéria seca (DETMANN et al., 2003)

No presente experimento, observou-se um maior consumo das vacas alimentadas com dieta de baixa energia, apesar da maior porcentagem de FDN da dieta. Entretanto, a ingestão de energia também pode regular esse consumo (VAN SOEST, 1994), de forma que vacas podem compensar, até certo ponto, a baixa energia da dieta, aumentando o consumo de matéria seca, como

observado no presente experimento. Este comportamento de consumo também demonstra a possibilidade do teor de FDN indicar, com boa precisão, o nível energético de um alimento/dieta em modelos estáticos de predição de consumo (MERTENS, 1994).

O aumento do conteúdo energético e/ou digestibilidade também é um reflexo de um efeito substitutivo na composição centesimal dietética. Ou seja, envolve não só redução dos componentes de mais lenta digestão, mas também a inclusão de componentes de maior potencial de digestão, normalmente carboidratos não-fibrosos. Oba e Allen (1999) obtiveram com êxito o isolamento dos efeitos de digestibilidade da FDN e concluíram que estes afetaram positivamente o consumo de MS de vacas em lactação. Ainda podemos supor que no experimento as vacas tiveram forte correlação entre a FDN e a fase de regulação física do consumo que se dá principalmente em virtude do alto volume ocupado pela fração da parede celular das forragens (MERTENS, 1994). Segundo Allen (1996) ocorre distensão no compartimento rúmen-reticular provocado pelo enchimento estimulando receptores na camada muscular localizados, principalmente, em nível de retículo e saco cranial, em que mecanoreceptores são excitados por estímulos mecânicos e químicos e tensoreceptores respondem à distensão em si (ALLEN, 2000), estimulando o final de alimentação.

4.3 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO LEITEIRA, PORCENTAGEM DE GORDURA, PROTEÍNA, EXTRATO SECO DESENGORDURADO NO LEITE E A PRODUÇÃO DE LEITE CORRIGIDO PARA ENERGIA (LCE)

Vacas alimentadas com dieta de baixa energia produziram mais leite ($P < 0,05$) do que aquelas alimentadas com dieta de alta energia ($21,25 \pm 0,33$ e $19,56 \pm 0,37$ litros, respectivamente - Tabela 5).

Entretanto, as vacas alimentadas com dieta de alta energia produziram leite com maior teor de proteína, gordura e extrato seco total (Tabela 5). Com relação ao cruzamento, vacas 3/4 HG produziram leite com maior ($P < 0,05$) porcentagem de proteína e extrato seco total do que vacas 7/8.

Calculou-se a produção de leite corrigido para energia (SKLAN et al., 1992). Essa variável corrige a produção de leite e sólidos para 3,2% de proteína e 3,5% de gordura e é mais indicada para a comparação das dietas e dos cruzamentos. Não se observou diferença ($P>0,05$) entre dieta e cruzamento para essa variável (Tabela 6).

Tabela 6: Produção de leite, porcentagens de gordura, proteína, extrato seco total, leite corrigido para energia (média \pm erro padrão) de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir no início da lactação submetidas à duas dietas (alta e baixa energia).

Variável	Energia da Dieta	Cruzamento		Total
		3/4 HG	7/8 HG	
Leite (litros)	Alta	19,33 \pm 0,59	19,82 \pm 0,42	19,56 \pm 0,37 ^B
	Baixa	21,86 \pm 0,50	20,55 \pm 0,39	21,25 \pm 0,33 ^A
	<i>Total</i>	20,51 \pm 0,41	20,15 \pm 0,29	20,34 \pm 0,25
Gordura (%)	Alta	4,33 \pm 0,16	4,08 \pm 0,15	4,21 \pm 0,11 ^A
	Baixa	3,87 \pm 0,13	3,76 \pm 0,12	3,82 \pm 0,09 ^B
	<i>Total</i>	4,11 \pm 0,10	3,94 \pm 0,10	4,03 \pm 0,07
Proteína (%)	Alta	3,21 \pm 0,05	2,98 \pm 0,03	3,10 \pm 0,03 ^A
	Baixa	2,93 \pm 0,03	2,75 \pm 0,05	2,85 \pm 0,03 ^B
	<i>Total</i>	3,08 \pm 0,03 ^X	2,88 \pm 0,03 ^Y	2,99 \pm 0,24
Extrato seco total (EST - %)	Alta	13,05 \pm 0,18	12,57 \pm 0,14	12,82 \pm 0,12 ^A
	Baixa	12,22 \pm 0,14	11,85 \pm 0,16	12,05 \pm 0,11 ^B
	<i>Total</i>	12,66 \pm 0,12 ^X	12,25 \pm 0,11 ^Y	12,47 \pm 0,08
Leite corrigido para energia (LCE - litros)	Alta	19,51 \pm 0,53	19,33 \pm 0,50	19,42 \pm 0,36
	Baixa	20,88 \pm 0,66	18,92 \pm 0,44	20,00 \pm 0,42
	<i>Total</i>	20,15 \pm 0,42	19,15 \pm 0,34	19,69 \pm 0,28

^{x, y} Médias, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de F ($P<0,05$), na comparação entre cruzamentos.

^{A, B} Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste F ($P<0,05$), na comparação entre dietas.

Com relação à produção de leite, a menor produção observada para as vacas alimentadas com dieta de alta energia reflete apenas o volume de leite produzido, que foi acompanhado, contudo, por uma menor produção de sólidos.

Maiores porcentagens de proteína produzida pelas vacas 3/4 HG em relação à 7/8 HG estão de acordo com as características do cruzamento, como comprovado por Madalena et al. (1990). Estes observaram maior produção de proteína e gordura em vacas 3/4 HG do que nas 7/8 HG, durante a primeira lactação.

Essa baixa porcentagem de proteína no leite pode ser explicada pela nutrição, ou mais especificamente pelo balanço energético negativo que as vacas 7/8 HG que experimentaram no início da lactação, como verificado pela diferença entre o peso e o ECC ao parto e durante os primeiros 56 dias de lactação. Em trabalho que avaliou o desempenho de vacas mestiças em um nível baixo ou alto de manejo, Madalena et al. (1990) relataram produção de leite de 2953 kg, em 305 dias, na primeira lactação de vacas F1, submetidas a nível alto de manejo. Por outro lado, a produção foi de 2636 kg de leite, em 375 dias de lactação, nas vacas submetidas a nível de manejo baixo. As produções de gordura e proteína foram de 132,4 kg (3,40%) e 99,8 kg (3,36%) nas vacas submetidas a nível alto de manejo. Por outro lado, nas submetidas a nível de manejo baixo, foram de 113,6 kg (4,30%) e 83,9 kg (3,16%), respectivamente. Esses resultados demonstram o efeito do manejo, especialmente nutricional, sobre a produção de sólidos do leite.

Ainda, a diferença na porcentagem de proteína produzida no leite entre as vacas alimentadas com alta e baixa energia na dieta pode ser explicada pela disponibilidade ruminal de propionato, originado da fermentação de carboidratos não fibrosos (BARGO et al., 2002; DELAHOY et al., 2003).

Um déficit de energia leva a um aumento da lipólise, e absorção de ácidos graxos mobilizados das reservas corporais, o qual resulta em um aumento da síntese de gordura na glândula mamária (NRC, 2001). O fluxo de aminoácidos para a glândula mamária é comprometida reduzindo o teor de proteína no leite (GÜRTLER e SCHWEIGERT, 2005). Por outro lado, de acordo com o Nrc (2001), o teor de proteína da dieta não afeta a produção de proteína no leite, mas sim o teor de carboidratos não fibrosos da dieta, que originará uma maior produção de propionato ruminal.

Ambos os processos resultam em uma maior relação gordura:proteína. Uma relação gordura:proteína > 1,5 indica anormalmente alta lipólise e provou

ser um bom indicativo de cetose, deslocamento de abomaso, cistos ovarianos, mastite, e laminites (GEISHAUSER et al., 1998; HEUER et al., 1999). Portanto a relação gordura:proteína reflete o status do balanço energético de uma vaca (BUTTCHEREIT et al. 2010).

Com relação à gordura, a maior porcentagem de gordura no leite de vacas alimentadas com dieta de alta energia pode ser associada à maior mobilização de reservas corporais, evidenciada por um menor peso nos primeiros 56 dias de lactação (Tabela 4). As reservas corporais mobilizadas são, primariamente gordura, na forma de ácidos graxos não esterificados. Esses ácidos graxos podem ser captados diretamente pela glândula mamária e incorporados como gordura do leite (BELL, 1995).

Por fim, a produção de leite corrigida para energia é a variável mais importante a ser avaliada, pois corrige o leite para uma mesma porcentagem de gordura e proteína. A interação observada deve ser analisada em relação às variáveis de peso, ECC e CMS durante os primeiros 56 dias de lactação e reflete o balanço energético das vacas. Entretanto não se observou diferença na produção de leite corrigido para energia entre os cruzamento nem para as dietas fornecidas.

4.4 AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE E QUALIDADE OOCITÁRIA

Com relação ao número de oócitos totais recuperados, as vacas 3/4 HG alimentadas com baixa energia na dieta tiveram uma maior ($P < 0,05$) produção de oócitos totais e viáveis (Tabela 7).

Vacas do cruzamento 3/4 HG alimentadas com baixa e alta energia na dieta produziram mais oócitos totais (10,18 e 6,91 respectivamente), mais oócitos viáveis (8,11 e 5,06, respectivamente). Vacas 7/8 HG alimentadas com baixa e alta energia produziram uma média de 4,04 e 3,07 respectivamente de oócitos totais, e também uma média de 2,50 e 2,39 respectivamente de oócitos viáveis (Tabela 7).

Tabela 7: Produção média de oócitos totais e viáveis recuperados no início do pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 HG ingerindo dieta de alta ou baixa energia.

Variável	Energia da Dieta	Cruzamento		Total
		3/4 HG	7/8 HG	
Oócitos totais (n= 680)	Alta	6,91 ± 1,00	3,07 ± 0,49	5,12 ± 0,63
	Baixa	10,18 ± 1,61	4,04 ± 0,60	7,35 ± 1,00
	<i>Total</i>	8,43 ± 0,94 ^x	3,52 ± 0,39 ^y	6,24 ± 0,59
Oócitos viáveis (n= 512)	Alta	5,06 ± 0,80	2,39 ± 0,45	3,82 ± 0,50
	Baixa	8,11 ± 1,38	2,50 ± 0,39	5,52 ± 0,85
	<i>Total</i>	6,48 ± 0,79 ^x	2,44 ± 0,30 ^y	4,67 ± 0,49

^{x, y} Médias, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de F (P<0,05), na comparação entre cruzamentos.

Gwazdauskas et al. (2000) coletaram oócitos durante o período de lactação, duas vezes por semana, por aspiração folicular, e demonstraram que o estágio de lactação e o nível de energia da dieta influenciaram a qualidade dos oócitos. Animais que receberam dieta com menor nível energético produziram oócitos com menor capacidade de fertilização. Neste experimento, o pico de produção de leite ocorreu aos 42 dias pós parto e o nadir do BEN, ao 44 dias de lactação. Entretanto, no presente experimento não foi observado efeito da energia da dieta sobre a produção de oócitos totais e viáveis (Tabela 6).

A diferença encontrada na produção de oócitos entre os cruzamentos avaliados pode ser explicada pela fração genética das raças Holandesa e Gir entre os animais. É notadamente reconhecida a diferença na produção de oócitos entre animais zebuínos e taurinos. Silva (2009), em um estudo comparativo da recuperação de oócitos e da população de folículos pré-antrais entre fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus*, concluiu, pelo método de OPU, que fêmeas *Bos indicus* produzem maior número de oócitos em relação a fêmeas *Bos taurus*, e que uma provável explicação para esta diferença seria a maior população folicular nas fêmeas *Bos indicus*. Oliveira (2013) comparou a produção de oócitos de vacas Gir e Holandesa e verificou que o grupo Gir

apresentou maior produção de oócitos, que também apresentaram melhor qualidade que os da raça Holandesa. Assim, o maior número de oócitos recuperados no grupo 3/4 pode ser parcialmente explicado pela maior fração genética zebuína nestes animais e pelos maiores efeitos da heterose.

Pontes et al. (2010) compararam a produção e viabilidade de oócitos provenientes de animais das raças Gir, Holandesa e F1, nos quais observaram maior produção e viabilidade dos oócitos de Vacas Gir (17,01 e 12,1 respectivamente), que apresentaram taxa de oócitos viáveis de 70,70%, enquanto que vacas da raça Holandesa produziram 11,4 oócitos totais e 8,0 oócitos viáveis, com 70,20% de viabilidade. Ao comparar o cruzamento entre essas duas raças, Pontes et al. (2010) também observaram que há aumento na produção e viabilidade dos oócitos. Vacas 1/2 HG apresentaram produção de 31,4 oócitos totais, sendo 24,3 oócitos consideráveis viáveis (82,35% de viabilidade). Por outro lado, fêmeas 3/4 HG apresentaram menor produção de oócitos e viabilidade (20,4 oócitos totais, 16,8 oócitos viáveis e 77,39% de viabilidade). Sendo assim estes autores também demonstram que o aumento da fração genética Holandesa determina uma redução na produção de oócitos.

Sales (2011) comparou a produção de oócitos e a taxa de oócitos viáveis de vacas não lactantes alimentadas com alta energia na dieta ou somente dieta de manutenção e não observou diferença entre os tratamentos. Trabalhando com vacas Gir e Holandês, observou que as Gir apresentaram maior produção de oócitos e viabilidade (19,3 e 84,9% respectivamente), enquanto vacas da raça Holandês apresentaram uma 10,8 e 74,1%.

Martins et al. (2006), avaliando a influência da alta ou baixa ingestão alimentar na produção *in vitro* de embriões em vacas azebuadas, observaram um maior número de folículos >3 mm de diâmetro, presentes nos ovários das vacas com alta ingestão no momento das aspirações foliculares. Entretanto, o número de oócitos aspirados e embriões produzidos *in vitro* não diferiu entre os grupos, como observado no presente experimento.

Com relação à porcentagem de oócitos viáveis, observou-se, para as vacas alimentadas com dieta de baixa energia, que animais do cruzamento 3/4 produziram uma maior ($P < 0,05$) porcentagem de oócitos viáveis em relação às 7/8, respectivamente, 76,87% e 69,94%. Para as vacas 7/8, observou-se efeito

da dieta; as vacas alimentadas com dieta de alta energia apresentaram uma maior porcentagem de oócitos viáveis do que aquelas alimentadas com dieta de baixa energia (77,90% e 62,89%, respectivamente).

As vacas do cruzamento 3/4 HG produziram um percentual maior de oócitos grau I que as vacas 7/8 HG. Por outro lado quando foi considerado apenas a dieta, as vacas alimentadas com baixa energia produziram maior quantidade de oócitos de grau I (Tabela 8). As vacas 3/4 HG alimentadas com baixa energia, produziram maior quantidade de oócitos de Grau I (84,58%) que as demais. Vacas do cruzamento 3/4 HG alimentadas com baixa energia na dieta produziram menor taxa de oócitos considerados de grau II que as demais vacas (Tabela 8).

A maior porcentagem de oócitos viáveis das vacas 3/4 HG está de acordo com os resultados anteriores, em que esses animais apresentaram maior produção de oócitos totais e viáveis (Tabela 6). Por outro lado, a menor porcentagem de oócitos viáveis observada para as vacas 7/8 HG alimentadas com dieta de baixa energia sugere que esses animais tenham experimentado um período de balanço energético negativo mais acentuado durante o início da lactação. Indicativo disso foi o maior consumo de matéria seca nesse grupo, que pode ser reflexo da tentativa do animal equilibrar o balanço energético pelo aumento do consumo (Tabela 5).

Tabela 8: Taxa de oócitos viáveis e taxa de qualidade de oócitos recuperados nos primeiros 56 dias de pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 HG alimentadas com dieta de alta ou baixa energia.

Variável	Energia da Dieta	Cruzamento		Total
		3/4 HG	7/8 HG	
Oócitos Viáveis (%)	Alta	73,30 ^a (162/221)	77,90 ^a (67/86)	74,59 (229/307)
	Baixa	79,65 ^a (227/285)	62,89 ^b (61/97)	75,39 (288/382)
	<i>Total</i>	76,87 ^X (389/506)	69,94 ^Y (128/183)	75,03 (517/689)
Oócitos Grau I (%)	Alta	69,75 ^b (113/162)	67,16 ^b (45/67)	68,99 ^B (158/229)
	Baixa	84,58 ^a (192/227)	70,49 ^b (43/61)	81,60 ^A (235/288)
	<i>Total</i>	78,40 ^X (305/389)	68,75 ^Y (88/128)	76,01 (393/517)
Oócitos Grau II (%)	Alta	26,54 ^a (43/162)	28,36 ^a (19/67)	27,07 ^A (62/229)
	Baixa	13,22 ^b (30/227)	26,23 ^a (16/61)	15,97 ^B (46/288)
	<i>Total</i>	18,77 ^Y (73/389)	27,34 ^X (35/128)	20,89 (108/517)
Oócitos Grau III (%)	Alta	4,32 (7/162)	4,48 (3/67)	4,37 (10/229)
	Baixa	2,20 (5/227)	3,28 (2/61)	2,43 (7/288)
	<i>Total</i>	3,08 (12/389)	3,90 (5/128)	3,29 (17/517)

a, b Taxas seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de X^2 ($P < 0,05$).

x, y Taxas seguidas de letras distintas diferem pelo teste de X^2 ($P < 0,05$), na comparação entre cruzamentos.

A, B Taxas seguidas de letras distintas diferem pelo teste de X^2 ($P < 0,05$), na comparação entre dietas.

A distribuição de oócitos por qualidade em graus I, II e III seguiu o mesmo padrão observado para a porcentagem de oócitos viáveis. As vacas 3/4 alimentadas com dieta de baixa energia além de apresentarem a maior proporção de oócitos viáveis também apresentaram a maior proporção de oócitos grau I e uma menor proporção de oócitos graus II e III (Tabela 8).

Vacas 3/4 HG alimentadas com baixa energia na dieta apresentaram maior taxa de oócitos grau I (84,58%), do que as vacas 3/4 HG alimentadas com alta energia (69,75%) e as vacas 7/8 HG alimentadas com alta e baixa energia (67,16% e 70,49%, respectivamente). De forma semelhante, as vacas 3/4 HG

alimentadas com baixa energia apresentaram a menor taxa de oócitos grau II (Tabela 8).

Animais 3/4 HZ são mais tolerantes ao calor que os animais 7/8 HZ (AZEVEDO et al. 2005). Diferenças na produção e qualidade de oócitos entre os cruzamentos também podem estar associadas a efeitos do estresse térmico, uma vez que o experimento foi conduzido nos meses de outubro, novembro e dezembro.

Vacas criadas em regiões de elevada temperatura tem a competência de seus oócitos diminuída, (AL-KATANANI et al., 2002), tendo assim sua fertilidade diminuída. Ainda os autores acreditam que o estresse térmico pode danificar o oócito durante o período que precede a formação de folículos antrais.

A alta ingestão de energia pode afetar a fertilidade bovina (SARTORI et al., 2007; SANTOS et al., 2008) por aumentar o metabolismo dos hormônios esteróides. Outro efeito é o aumento nas concentrações circulantes de insulina e IGF-I, que podem comprometer a qualidade oocitária e embrionária.

Entretanto, durante a lactação, os efeitos observados são inversos, uma vez que as concentrações plasmáticas de glicose, insulina e IGF-1 geralmente estão baixas. Dessa forma, a princípio, quanto maior o BEN, menores são essas concentrações. O balanço energético negativo no pós-parto, afeta uma variedade de hormônios circulantes e de fatores de crescimento como GH, IGF-I, insulina, leptina, cortisol e tiroxina (WEBB et al., 2004, BUTLER, 2000).

4.4 AVALIAÇÃO DA CLIVAGEM E PRODUÇÃO DE BLASTOCISTO

A taxa de clivagem foi maior ($P < 0,05$) para as vacas 7/8 HG, independentemente da dieta fornecida (97,01% e 90,16%, respectivamente, para as dietas de alta e baixa energia). Por outro lado, as vacas 3/4 alimentadas com dieta de baixa energia apresentaram menor taxa de clivagem (32,60%), inclusive em relação às vacas desse cruzamento alimentadas com dieta de alta energia (54,93%). Os resultados desses parâmetros encontram-se descritos na tabela

Tabela 9: Taxa de clivagem e produção de blastocistos nos primeiros 56 dias de pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 HG alimentadas com dietas de alta ou baixa energia.

Variável	Energia da Dieta	Cruzamento		Total
		3/4 HG	7/8 HG	
Taxa de Clivagem	Alta	54,93 ^b (89/162)	97,01 ^a (65/67)	67,25 ^A (154/229)
	Baixa	32,60 ^c (74/227)	90,16 ^a (55/61)	44,79 ^B (129/288)
	<i>Total</i>	41,90 ^Y (163/389)	93,75 ^X (120/128)	54,73 (283/517)
Taxa de Blastocisto	Alta	14,81 (24/162)	7,50 (5/67)	12,66 (29/229)
	Baixa	9,70 (22/227)	18,03 (11/61)	11,46 (33/288)
	<i>Total</i>	11,82 (46/389)	12,50 (16/128)	11,99 (62/517)
Taxa de Blastocisto/ oócito clivado	Alta	26,97 ^a (24/89)	7,70 ^b (5/65)	18,83 (29/154)
	Baixa	28,57 ^a (22/74)	20,00 ^a (11/55)	25,58 (33/129)
	<i>Total</i>	28,22 ^X (46/163)	13,33 ^Y (16/120)	21,91 (62/283)

a, b Taxas, na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de X² (P<0,05).

x, y Taxas seguidas de letras distintas diferem pelo teste de X² (P<0,05), na comparação entre cruzamentos.

A, B Taxas seguidas de letras distintas diferem pelo teste de X² (P<0,05), na comparação entre dietas.

Quanto à taxa de formação de blastocisto, não se observou efeito de cruzamento ou energia da dieta (P>0,05 - Tabela 9). Por outro lado, com relação à taxa de blastocistos originados dos oócitos clivados, observou-se efeito de cruzamento, com as vacas 3/4 HG produzindo mais blastocistos por oócito clivado. Também, observou-se que as vacas 7/8 HG alimentadas com dieta de alta energia produziram menos (P<0,05) embriões que os demais grupos.

A menor taxa de clivagem observada para as vacas 3/4 HG não era esperada, uma vez que este cruzamento apresentou, além de um maior número de oócitos viáveis, uma maior viabilidade e uma maior porcentagem de oócitos grau I (Tabelas 7 e 8). Ainda, as vacas 3/4 HG foram mais pesadas e

apresentaram maior ECC do que as vacas 7/8 HG. Apesar da menor taxa de clivagem, não observou-se diferença na produção de blastocistos (Tabela 9). Uma possível explicação para esse fato pode ser a polispermia. Durante as etapas de produção *in vitro*, foram utilizadas as mesmas condições, com o cultivo dos oócitos em gotas separadas para cada doadora. Como foi utilizada uma mesma dose fecundante, é possível que o menor número de oócitos viáveis cultivados de vacas 7/8 HG (Tabela 7) fosse mais sujeito a polispermia. Segundo Camargo et al. (2002), alta concentração de espermatozoides afeta a taxa de polispermia, sem afetar a fecundação.

A elevada taxa de clivagem das vacas 7/8 HG seguida de uma reduzida produção de blastocistos também chama a atenção e pode indicar uma falta de sincronia entre a maturação nuclear e citoplasmática dos oócitos. Uma possível explicação para este efeito pode ser o estresse térmico. Considerando-se o período de realização do experimento (outubro – dezembro), as elevadas temperatura e umidade deste período podem ter causado estresse térmico nos animais experimentais. Segundo Pires et al. (1998), nas condições climáticas do sudeste do Brasil, os bovinos estão frequentemente sujeitos ao estresse calórico. De acordo com Azevedo et al. (2005) animais de diferentes cruzamentos *Bos taurus* x *Bos Indicus*, demonstram diferenças na frequência respiratória expostas a altas temperaturas durante o verão. Vacas do cruzamento 7/8 HG apresentam maior taxa de frequência respiratória nos meses mais quentes do ano quando comparados com vacas do cruzamento 3/4 HG (62,74 e 54,32 respectivamente), demonstrando maior sensibilidade do grupo genético 7/8HG a altas temperaturas comparado a 3/4HG. Segundo Torres Junior, et al. (2009) o efeito do estresse térmico na viabilidade oocitária somente é verificado na taxa de blastocisto. Camargo et al. (2007) verificaram que oócitos de vacas da raça Holandês apresentam maior expressão de genes ligados ao estresse térmico do que vacas da raça Gir.

Animais 7/8 também apresentam maior espessura da pelagem, maior comprimento da pelagem do que vacas 3/4 HG (PIRES, et al., 2010). Desta forma, esse grupo genético é potencialmente mais sensível aos efeitos do estresse por calor que as 3/4 HG. Além disso, com base na temperatura retal, Azevedo, et al. (2005) estimaram valores críticos superiores para o ITU para 77

para vacas 3/4 e de 75 para vacas 7/8, o que demonstra a maior susceptibilidade deste cruzamento ao estresse por calor.

Os efeitos do estresse térmico podem se manifestar diretamente no oócito. O estresse térmico provoca uma antecipação na maturação dos oócitos, o que afeta o desenvolvimento do embrião até blastocisto (EDWARDS, et al., 2005). Isso pode ser observado quando ocorre aumento da temperatura corporal da doadora, (PUTNEY et al., 1989). A maturação citoplasmática não é garantida pela maturação nuclear, já que as condições de cultivo podem influenciar diretamente a maturação *in vitro* (MIV) dos oócitos de forma diferente. Atualmente, evidências disponíveis indicam que as condições de cultivo adequadas suportam a maturação nuclear, mas frequentemente não conseguem sustentar a maturação citoplasmática (COMBELLES et al., 2002). Entretanto a etapa de MIV tem o potencial de resgatar uma grande quantidade de oócitos imaturos ainda no ovário e cultivá-los *in vitro* até a maturação (GILCHRIST et al., 2008). Ainda, efeitos nutricionais podem afetar a competência de desenvolvimento desses oócitos, reduzindo a produção de embriões (GWASDAUZKAS et al., 2000). De fato, essa diferença entre a taxa de clivagem e a produção de blastocistos demonstra a menor qualidade dos oócitos das vacas 7/8 HG, como observado pela menor produção de oócitos viáveis e por sua menor viabilidade (Tabelas 7 e 8).

Segundo Galli et al. (2001) a taxa de blastocistos produzidos *in vitro* de vacas da raça Holandesa é cerca de 20%, ao contrário de animais *Bos indicus*, nos quais o número de oócitos recuperados também é maior (em torno de 40% - PONTES et al., 2009).

A produção de embriões observada foi abaixo de outros relatos da literatura para vacas mestiças, como o de Pontes et al. (2010). Como tentativa para melhorar a produção embrionária e padronizar as condições experimentais, adotou-se a sincronização da emergência da onda folicular no experimento. O melhor momento para uma boa recuperação de oócitos e produção de blastocisto é a aspiração dos folículos nos dias 2, 3 ou 5 da onda folicular (HENDRIKSEN et al., 2004, MACHATKOVÁ et al., 2004). Foi utilizada para a sincronização da onda folicular a técnica citada por Bergfelt et al. (1994), e foram aspirados o folículo dominante, além de todos os folículos com mais de 6mm de

diâmetro, 3 dias antes das coletas. O objetivo foi recuperar oócitos de folículos de menor tamanho que apresentam melhores taxas de produção embrionária (SENEDA et al. 2001). Além disso, a aspiração desses folículos sincroniza a emergência da onda folicular (GINTHER 2000), o que evita a aspiração de folículos na fase de atresia, que apresentam competência de desenvolvimento reduzida (HENDRIKSEN et al., 2004).

Ferreira (2011) obteve 10% a mais de blastocistos recuperados de oócitos aos três dias após a aspiração dos folículos >6mm comparados com o grupo controle (dias aleatórios do ciclo estral) (25,55 – 15,34% respectivamente) e uma taxa de produção de blastocistos/oócitos viáveis de 37,96% para o grupo no qual foi realizada a ablação dos folículos >6mm e 23,93% para o grupo aspirado em dias aleatório do ciclo estral.

Como discutido anteriormente para a qualidade dos oócitos recuperados, a menor produção de embriões apresentada pelas doadoras com maior fração genética da raça Holandesa pode ser explicada por sua maior sensibilidade ao calor (AZEVEDO et al., 2005). Além disso, por se tratarem de vacas em lactação, a alta produção de leite e sistema nutricional insuficiente para repor as exigências nutricionais dos animais afetam adversamente a produção de embriões (PRYCE et al., 2004).

4.5 AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE E QUALIDADE OOCITÁRIA EM RELAÇÃO AOS DIAS PÓS-PARTO

O total de oócitos recuperados, bem como o número de oócitos viáveis das vacas mestiças 3/4 e 7/8 HG, nas diferentes dietas, durante o período experimental estão apresentados na Tabela 10. Não foram observadas diferenças ($P>0,05$) nos diferentes momentos avaliados quanto ao total de oócitos recuperados e de oócitos viáveis.

Tabela 10: Total de oócitos recuperados e oócitos viáveis de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir (média \pm erro padrão) submetidas à quatro períodos de OPU (14, 28, 42, 56) dias do pós-parto.

	Dias pós-parto			
	14	28	42	56
Total de oócitos	6,32 \pm 0,98	5,67 \pm 1,04	6,00 \pm 1,00	6,96 \pm 1,66
Oócitos viáveis	4,89 \pm 0,87	4,30 \pm 0,85	4,48 \pm 0,88	5,00 \pm 1,32

(P>0,05)

Em relação produção de oócitos viáveis não foi observada diferença nos dias pós-parto avaliados. Porém quanto aos oócitos de qualidade Grau I, aos 56 dias pós-parto tivemos a menor produção, o que é acompanhado pela maior taxa de oócitos de qualidade II e III (Tabela 8).

Tabela 11: Taxa de oócitos viáveis e taxa de qualidade de oócitos recuperados no pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir.

Variável (%)	Dias pós-parto			
	14	28	42	56
Taxa de oócitos viáveis	77,97 (138/177)	75,82 (116/153)	75,31 (122/162)	72,34 (136/188)
Oócitos Grau I	89,86 ^a (124/138)	71,55 ^b (83/116)	83,61 ^a (102/122)	58,82 ^c (80/136)
Oócitos Grau II	9,42 ^c (13/138)	28,45 ^b (33/116)	14,75 ^c (18/122)	30,88 ^a (42/136)
Oócitos Grau III	0,72 ^b (1/138)	0,00 ^b (0/116)	1,64 ^b (2/122)	10,29 ^a (14/136)

^{a, b} Taxas, na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de X² (P<0,05).

Durante o início da lactação, os oócitos sofrem um efeito agudo da nutrição ou do balanço energético negativo. De acordo com Diskin (2003), esses efeitos decorrem de alterações nas concentrações circulantes de hormônios e metabólitos, como insulina, IGF-I, glicose, NEFA. Com o decorrer da lactação, esses efeitos passam a ser crônicos e as alterações no oócito podem ser mais extensas, ou seja, ocorreram durante um maior período de desenvolvimento do oócito, como postulado por (BRITT, 1992). Leroy et al. (2004) verificaram que a constituição do fluido folicular de vacas está diretamente associado à mudanças bioquímicas séricas durante o BEN. Com isso o aumento de BHB e NEFA

durante o BEN pode interferir negativamente na qualidade do oócito, induzindo apoptose e necrose da células da granulosa (LEROY et al., 2005). Portanto altas concentrações de BHB e NEFA no BEN de fato exerce efeito negativo na fertilidade de vacas no período de pós-parto inicial (LEROY et al., 2008) Isso pode ter ocorrido no presente experimento, como demonstrado por alterações morfológicas na qualidade dos oócitos, como observado aos 56 dias de lactação (Tabela 11). Entretanto, seriam necessárias outras avaliações do oócito, como a apoptose de células da granulosa ou do próprio oócito ou análises de expressão gênica, que poderiam indicar a extensão de possíveis alterações ocorridas no oócito. infelizmente, no presente experimento, tais avaliações não foram possíveis de serem realizadas.

4.6 AVALIAÇÃO DA TAXA DE CLIVAGEM E PRODUÇÃO DE BLASTOCISTO EM RELAÇÃO AO DIA DO PÓS-PARTO.

A melhor taxa de clivagem quando comparado com os dias do pós-parto foi aos 14 dias, diferindo ($P < 0,05$) dos demais dias que tiveram os resultados semelhantes, ou seja, a taxa de clivagem diminui com o avançar do pós-parto. Entretanto, a taxa de blastocisto não diferiu ($P > 0,05$) entre os dias 14, 28 e 56 dias do pós-parto, sendo superior aos 42 dias do pós-parto. Por outro lado a taxa de blastocisto levando em consideração os oócitos clivados foi superior no dia 56, quando comparado ao dia 42.

Tabela 12: Taxa de clivagem e produção de blastocistos oriundos dos primeiros 56 dias de pós-parto de vacas mestiças 3/4 e 7/8 Holandês x Gir

Variável (%)	Dias pós-parto			
	14	28	42	56
Taxa de Clivagem	76,09 ^a (105/138)	53,45 ^b (62/116)	40,98 ^b (50/122)	48,53 ^b (66/136)
Taxa de Blastocisto	17,39 ^a (24/138)	11,21 ^a (13/116)	4,10 ^b (5/122)	14,71 ^a (20/136)
Taxa de Blastocisto/ oócito clivado	22,86 ^{a,b} (24/105)	20,97 ^{a,b} (13/62)	10,00 ^b (5/50)	30,30 ^a (20/66)

^{a, b} Taxas, na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem pelo teste de X^2 ($P < 0,05$).

O primeiro e o segundo folículos ovulatórios pós-parto começam seu desenvolvimento no período seco, quando as condições metabólicas são favoráveis. Ao contrário, o terceiro, o quarto e o quinto folículos ovulatórios se desenvolvem durante o início da lactação, quando o BEN é mais intenso e, conseqüentemente, podem estar sofrendo alterações metabólicas adversas do pós-parto produzindo oócitos de baixa qualidade (BRITT, 2001). Resultados do presente estudo levam a crer que há uma interferência na qualidade dos oócitos produzidos por folículos que começaram seu crescimento no período seco das vacas, já que aos 14 dias a taxa de clivagem dos oócitos foi maior, diminuindo aos 28 e 42 dias, havendo uma recuperação aos 56 dias do pós parto.

Gwazdauskas et al. (2000) observaram que o pico de produção de leite ocorreu ao 42 dias pós parto e o nadir do BEN, ao 44 dias de lactação, o que coincidiu com uma menor competência oocitária e menor produção de embriões. De forma semelhante, no presente experimento foi observada a menor produção de embriões aos 42 dias de lactação, com um aumento na produção aos 56 dias de lactação (Tabela 11), apesar da redução da qualidade oocitária (Tabela 10).

Segundo Kendrick et al. (1999), vacas da raça Holandesa suplementadas com dieta de alta energia produzem maior quantidade de oócitos. Em seu estudo Rossi (2013), não observou aumento na quantidade de oócitos totais e viáveis

aos 30, 45 e 60 dias pós-parto em vacas da raça Holandesa suplementadas com ácidos graxos poliinsaturados (AGPs) em relação ao grupo não suplementado. Kendrick et al. (1999) avaliando vacas leiteiras alimentadas com dieta rica em energia no período pós-parto relataram aumento no número de oócitos de 1,1 no 30 dias pós parto para 2,1 aos 100 dias pós-parto. Em outro experimento, o aumento energético na dieta foi associado ao aumento no recrutamento de pequenos folículos durante a primeira onda folicular do ciclo estral de novilhas holandesas (GUTIERREZ et al. 1997). Entretanto, no presente experimento, como foram avaliados os primeiros 56 dias pós-parto, não foi possível observar variações na produção de oócitos entre as diferentes dietas.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos no experimento, nos primeiros 56 dias de pós-parto relacionados as vacas primíparas 3/4 e 7/8 Holandês x Gir alimentadas com alta ou baixa energia, podemos afirmar que:

Vacas primíparas 3/4 HG são mais pesadas e apresentam maior ECC.

Vacas primíparas alimentadas com baixa energia apresentam consumo de matéria seca.

Vacas primíparas alimentadas com baixa energia produzem maiores quantidades de leite.

O aumento da energia na dieta permite a produção de leite com maior teor de gordura e proteína.

Vacas 3/4 HG produzem maior quantidade de oócitos, assim como mais oócitos considerados viáveis.

Vacas 7/8 HG alimentadas com alta energia permite produzir semelhantes quantidades de oócitos viáveis que as 3/4 HG.

Vacas 3/4 produzem mais oócitos de Grau I que as 7/8 HG.

Ambos os cruzamentos produzem taxa de blastocisto semelhantes.

Vacas 3/4 alimentadas com alta e baixa energia, e vacas 7/8 alimentadas com alta energia permitem produção igual de blastocisto em relação aos oócitos clivados.

Os dias 14 e 42 do pós- parto permitem uma melhor produção de oócitos de Grau I.

As melhores taxa de blastocisto são nos dias 14, 28 e 56 dias do pós parto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMIAK, S. J. et al. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hiperinsulinemia in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 73, p. 918-926, 2005.

ALLEN, M.S. Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 74, n.9, p. 3063-3075, 1996.

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n.7, p. 1598-1624, 2000.

AL-KATANANI Y. M., PAULA-LOPES F. F., E HANSEN P. J. Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in holstein cows. **Journal of Dairy Science**. v. 85, p. 390–396, 2002.

ALVES N. G., PERREIRA M. N., COELHO R. M. Nutrição e reprodução em vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 6, p. 118-124, 2009.

ALVIM, M. J. et al. Estratégia de fornecimento de concentrado para vacas da raça holandesa em pastagens de coast-cross. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, p.1711- 1720, 1999.

ANGULO, L. A. M. **Efeito da condição corporal ao parto e da produção de leite sobre o comportamento reprodutivo e variação de peso corporal no pós-parto de vacas mestiças leiteiras**. Viçosa, MG:UFV, 1997. 57p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, 1997.

ARMSTRONG, et al. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production *in vitro*: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology Reproduction**. v. 64, p. 1624-1632, 2001.

ARMSTRONG, D. G.; GONG, J. G.; WEBB, R. Interactions between nutrition and ovarian activity in cattle, physiological, cellular and molecular mechanisms. **Reproduction Domestic Ruminants**. v. 61, p. 371-378, 2003.

AZEVEDO, M. et al. Estimativa de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras 1/2, 3/4 e 7/8 Holandês-Zebu em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n.6, p. 2000-2008, 2005.

BARGO, F. et al. Milk responses to concentrate supplementation of high producing dairy cows grazing at two pasture allowances. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 1777-1792, 2002.

BAUMAN, D. E. e CURRIE, W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science**, v. 62, p. 1514-1528, 1980.

BEAM, S. W. e BUTLER, W. R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation post-partum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. **Biology Reproduction**. v. 56, p. 133–142, 1997.

BEAM, S. W. e BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 121-131, 1998.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 2804-2819, 1995.

BERGFELT, D. R., LIGHTFOOT, K. C. e ADAMS, G. P. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. **Theriogenology**, v. 42, n.6, p. 895-907, 1994.

BERRY, D. P., ROCHE, J. R., COFFEY, M. P. Body condition score and fertility – more than just a feeling. **Fertility in Dairy Cows – Bridging the gaps** Liverpool Hope University, Liverpool, UK, p. 107–118, 2007.

BÓ, G. A. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular Waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v. 40, n.2, p. 225-239, 1993.

BÓ, G. A. et al. Local versus systemic effects of exogenous stradiol on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen e ar implants. **Animal Reproduction Science** v. 59, p. 141-157, 2000.

BÓ, G. A., CUTAIA L, VENERANDA G. Factibilidad del empleo de la inseminación artificial a tiempo fijo para la producción de carne. **In: Memorias IV Seminario Internacional Reproducción de Grandes Especies. Septiembre** p. 25-27, Bogotá Colombia; 2003.

BOLS, P. E. J. et al. A comparison of a mechanical sector and a linear array transducer for ultrasound-guided transvaginal oocyte retrieval (OPU) in the cow. **Theriogenology**, v. 62, p. 906-914, 2004.

BORGES, Á. M. et al. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n.5, p. 595-604, 2001.

BREMMER, D.R.; OVRTON, T.R.; CLARK, J.H. Production and composition of milk from jersey cows administered bovine somatotropin and fed ruminally protected amino acids. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1374-1380, 1997.

BRITT, J. H. Influence of nutrition and weight loss on reproduction and early embryonic death in cattle. In: World Buiatrics Congress, 17, St. Paul, MN. Proceedings ... St. Paul, MN: WCB, p. 143-149, 1991.

BRITT, J. H. Influence of nutrition and weight loss on reproduction and early embryonic death in cattle. In: **Proceedings of XVII World Buiatric Congress**, p. 143–149, 1992.

Britt K L, et al. The ovarian phenotype of the aromatase knockout (ArKO) mouse **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 79, p. 181–185, 2001.

BUCKLEY, F. et al. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, and reproduction in spring-calved Holstein-Friesians. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2308–2319, 2003.

BUTLER W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**. v. 60, p.449-457, 2000.

BUTLER, W. R. Efeito do balanço energético negativo na fertilidade de vacas leiteiras. In: **Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos**. *Anais...* Uberlândia: 18 a 24 de março de 2004. p. 39-50, 2004.

BUTLER, W. R. Produção de leite, balanço energético negativo e fertilidade em vacas leiteiras. In: **XII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos**. *Anais..*Uberlândia: Conapex Jr., p. 26-36, 2008.

BUTTCHEREIT, N. et al. Evaluation of five lactation curve models fitted for fat:protein ratio of milk and daily energy balance. **Journal of Dairy Science**, v. 93 p. 1702–1712, 2010.

CAMARGO, L. S. A. Efeito de concentração espermática e período de incubação oócito-espermatozóides na fecundação *in vitro* em bovinos da raça Gir. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37 no. 5, p. 709 – 715, 2002.

CAMARGO, L. S. A. et al. Developmental competence and expression of the Hsp 70.1 gene in oocytes obtained from *Bos indicus* and *Bos taurus* dairy cows in a tropical environment. **Theriogenology**, v. 68, p. 626-632, 2007.

CAMPBELL, B. R., SCARAMUZZI, R. J., WEBB, R. Control of animal follicle development and selection in sheep and cattle. Reproduction in Domestic Ruminants III. **Journal Reproduction Fertility**. v. 49, p. 335 – 350, 1995.

CARVALHO B. C. et al. Avaliação de diferentes manejos pré-parto sobre o peso e o escore da condição corporal de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 62-67, 2009.

CARVALHO, B. C. et al. Manejo reprodutivo de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu. **Informe Agropecuário**, v. 31, p. 90-100, 2010.

CECCONI, S.; CICARELLI, C.; BARBIERI, M. Granulosa cell-oocyte interactions. *European Journal Obstetricy Gynecology Reproduction Biology*. v. 115, p. 19-22, 2004.

CHAGAS, L. M. et al. new perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 4022-4032, 2007.

COMBELLES, C.M.; RACOWSKY, C.; ALBERTINI, D.F. Assessment of nuclear and cytoplasmic maturation in *in-vitro* matured human oocytes. **Human Reproduction**, v. 17, p. 1006-1016, 2002.

COPELIN, J. P. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin F2 on lifespan on progesterone secretion of lived corpora lutea. **Journal Reproduction Fertility**, v. 87, p. 199-207, 1989.

COLLARD B. L. et al. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2683–2690, 2000.

DELAHOY, J. E. et al. Supplemental carbohydrate sources for lactating Dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 906, 2003.

DETMANN, E. et al. Consumo de fibra em detergente neutro por bovinos em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n.6, p. 1763-1777, 2003.

DISKIN, A. G. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 345-370, 2003.

DRACKLEY J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82 p. 2259–2273, 1999.

DRIANCOURT, M. A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 55-71, 1991.

EDMONSON A. J. A Body condition scoring chart for holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 68-78, 1989.

EDWARDS, J. L. et al. Exposure to a physiologically relevant elevated temperature hastens in vitro maturation in bovine oocytes. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 4326–4333, 2005.

EMBRAPA: Produção de leite, vacas ordenhadas e produtividade animal no Brasil – 1980/ 2010 disponível em: <http://www.cnpqi.embrapa.br/nova/informações/estatísticas /producao/tabela0230.php>. Acessado em: 14/12/2013.

ERICKSON, G. F. e SHIMASAKI, S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. **Fertility and Sterility**, v. 76, n.5, p. 943-949, 2001.

FAEMG. **Diagnóstico da pecuária leiteira do estado de Minas Gerais em 2006**. Belo Horizonte, 2006. 158p.

FERREIRA, A. M. et al. Perda de peso corporal e cessação da atividade luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 28, n.3, p. 411-418, 1993.

FERREIRA A. M. et al. Efeito da condição corporal pré-parto no anestro lactacional de vacas Gir leiteiro. Anais, **X Congresso Brasileiro de Zebuínos**, v. 1, p. 205, 2005.

FERREIRA, M. B. D. Descrição de ciclo estral curto no puerpério de multíparas *Bos taurus indicus* da raça Gir leiteiro. **FAZU em Revista**, Uberaba, n. 4, p. 68-72, 2007.

FERREIRA M. B. D. **Obtenção de oócitos e produção in vitro de embriões em doadoras lactantes da raça Gir (*Bos taurus indicus*)** Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2011.

FERREL, C. L. e JENKINS, T. G. Relationships among various body components of mature cows. **Journal Animal Science**, v. 58, p. 222-243, 1984.

FERREL, C. L. e JENKINS, T. G. Cow type and the nutritional environment: nutritional aspects. **Journal Animal Science**, v. 61, p. 725-74, 1985.

FERREL, C. L. E JENKINS, T. G. Body composition and energy utilisation by steers of diverse genotypes fed a high-concentrate diet during the finishing period: I. Angus, Belgian Blue, Hereford and Piedmontese steers. **Journal Animal Science**, v. 76, p. 637-646, 1998.

FIGUEIREDO, R. A. et al. Prevalência de duas ondas de crescimento folicular ovariano em vacas da raça Nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, p. 200-211, 1995.

FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos taurus indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p.1489-1505, 1996.

FIGUEIREDO, R. A. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.

FINDLAY, J. K. Peripheral and local regulators of folliculogenesis. **Reproduction Fertility Development**, v. 6, p. 127-139, 1994.

FORTUNE, J. E. Follicular dynamics during the bovine estrus cycle: a limiting factor in improvement of fertility? **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 111-125, 1993.

FORTUNE, J. E., RIVERA, G. M., YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 109-126, 2004.

FREITAS, A. F. e MIRANDA, J. E. C. Raças e tipos de cruzamentos para produção de leite. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. (**Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 98**), 12 p 2009.

FREITAS JÚNIOR J. E. et al. Efeito da condição corporal ao parto sobre o desempenho produtivo de vacas mestiças Holandês x Zebu **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n.1, p. 116-121, 2008.

FRIGGENS N. C. Body lipid reserves and the reproductive cycle: towards a better understanding, **Livestock Production Science**. v. 83, p. 209–226, 2003.

FRIGGENS N. C. et al. Priming the dairy cow for lactation: A review of dry cow feeding strategies **Animal Research**, v. 53, p. 453–473, 2004.

FRIGGENS, N. C., RIDDER, C. e LOVENDAHL, P. On the Use of Milk Composition Measures to Predict the Energy Balance of Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5453–5467, 2007.

GALLI, C. et al Embryo production by ovum pick-up from live donors. **Theriogenology**, v. 55, p. 1341–1357, 2001.

GALLO, L. et al. Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n.6, p. 1009-1015, 1996.

GAMBINI, A. L. G. et al. Desenvolvimento folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça Gir. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, p. 201-210, 1998.

GARNSWORTHY, P. C. The effect of energy reserves at calving on performance of dairy cows. *Nutrition and Lactation in the Dairy Cow*. **Butterworths**, London, United Kingdom. Pages 157–170, 1988.

GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. The influence of nutrition on fertility in dairy cows. Pages 39–58 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P. C. Garnsworthy and J. Wiseman, ed. **Nottingham University Press**, Nottingham, U.K, 1999.

GEISHAUSER, T. D. et al. An evaluation of protein/fat ratio in first DHI test milk for prediction of subsequent displaced abomasum in dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**. v. 62 p. 144–147, 1998.

GWAZDAUSKAS, F. C., et al. Impact of Follicular Aspiration on Folliculogenesis as influenced by dietary energy and stage of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1625–1634, 2000.

GEARHART, M. A., C. R. et al. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 3132–3140, 1990.

GIBBONS, J. R.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Functional interrelationships between follicles greater than 4mm and follicle-stimulating hormone surge in heifers. **Biological Reproduction**, v. 57, p. 1066-1073, 1997.

- GILCHRIST, R.B.; LANE, M.; THOMPSON, J.G. Oocyte-secreted factors: regulators of *cumulus* cell function and oocyte quality. **Human Reproduction Update**, v. 14, p. 159-177, 2008.
- GINTHER, O. J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. **Journal Reproduction Fertility**, v. 87, p. 223-230, 1989.
- GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal Reproduction Science**, v. 61, p. 60-61, 2000.
- GINTHER, O. J. et al. Mechanism of follicle deviation in monovular species. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 239- 257, 2003.
- GÜRTLER, H. e SCHWEIGERT F. J. **Physiologie der Laktation**. Pages 552–573 in *Physiologie der Haustiere*. Vol 2. W. von Engelhardt and G. Breves, ed. Enke Verlag, Stuttgart, Germany, 2005.
- GRIEVE, D. G. et al. Relationship between milk composition and some nutritional parameters in early lactation. **Livest. Production Science**. v. 14, p. 239–254, 1986.
- GONZALEZ H. L. et al. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p.1531-1543, 2004.
- GUILBAULT, L. A. et al. Superovulation by continuous aortic Infusion of follicle stimulating hormone (FSH-P) in cattle. **Theriogenology** v. 27, p. 233, 1987.
- GUTIERREZ, C. G., 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.
- HAYIRLI et al. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 3430–3443, 2002.
- HENDRIKSEN, P. J. M. et al. Effect of different stages of follicular wave on *in vitro* developmental competence of bovine oocytes. **Theriogenology**, v. 61, p. 909-920, 2004.
- HEUER, C., SCHUKKEN Y. H. e DOBBELAAR, P. Postpartum BCS and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.295–304, 1999.
- HEUER, C, et al. Prediction of Energy Balance in High Yielding Dairy Cows with Test-Day Information, **Journal of Dairy Science** v. 84, p. 471–481, 2001.
- HOLCOMB et al. Effects of prepartum dry matter intake and forage percentage on postpartum performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 84 p. 2051–2058, 2001.

HYTTEL, P. et al. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. **Theriogenology** v. 47 p. 23–32, 1997.

HÜTTMANN, H., E. et al. Analysis of feed intake and energy balance of high yielding first lactating Holsteins with fixed and random regression models. **Animal**, v. 3 p. 181–188, 2009.

International Embryo Transfer Society – (IETS), 2013. Embryo Transfer Newsletter. Disponível em: <http://www.iets@org>. Acessado em 21 de Julho de 2014.

INMET. <http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas>. Acessado em 02/02/2013.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Determination of milfat, protein and lactose content** – Guidance on the operation of mid-infrared instruments. Brussels: IDF, 2000. 15p. IDF Standard 141C.

KASTELIC, L. P.; PIERSON R. A.; O. J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. **Theriogenology**, v. 34, p. 487–498, 1990

KENDRICK K. W. et al. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating holstein cows using transvaginal follicular aspiration **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 1731–1741, 1999.

KRUIP, T. A. M. et al. Influence of food intake ante partum on the quality of oocytes postpartum in dairy cows. *Reproduction Animal Breed. Adv. Strategy*. p. 327–331, 1996.

LAGO, E. P. et al. Efeito da condição corporal ao parto sobre alguns parâmetros do metabolismo energético, produção de leite e incidência de doenças no pós-parto de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.5 p.1544-1549, 2001.

LEROY J. L. M. R. Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different-sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 80, p. 201–211, 2004.

LEROY, J. L. M. R. et al. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine 117 oocytes in vitro. **Reproduction**, v. 130, p. 485-495, 2005.

LEROY, J. L. M. R. et al. Typical metabolic changes in high producing dairy cows early postpartum and their consequence on oocyte and embryo quality. **Vlaams Diergeneeskunding Tijdschrift**, v. 75, p. 95-105, 2006.

LEROY, J. L. M. R. et al. Reduced fertility in high-yielding dairy cows: Are the oocyte and embryo in danger? Part II. Mechanisms linking nutrition and reduced oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, p. 623-632, 2008.

LOVENDAHL P. et al. Limits to prediction of energy balance from milk composition measures at individual cow level. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 1998–2006, 2010.

LUCY M. C., et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science** v. 70, p. 3615 –3626, 1992.

LUCY, M. C. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1635-1647, 2000.

LUCY M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1277–1293, 2001.

MACHATKOVA, M. et al. Developmental competence of bovine embryos derived from oocytes collected at various stages of the estrous cycle. **Theriogenology** v. 45 p. 801–810, 1996.

MACHATKOVÁ, M. et al. Developmental competence of bovine oocytes: effects of follicle size and phase follicular wave on embryo production. **Theriogenology**, v. 61, p. 329-335, 2004.

MADALENA, F. E.; et al. Dairy production and reproduction in Holstein-Friesian and Guzera crosses. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1872- 1886, 1990.

MADALENA, F. E.; TEODORO, R. L.; MADUREIRA, A. P. Relationships of weight and height with age in hybrid Holstein-Friesian/Guzerá females. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 3, p. 271-278, 2003.

MADALENA F. E., Estratégias de uso de recursos genéticos visando melhorar a qualidade de leite e derivados. In **SBMA (ed) VII Simpósio de Produção Animal, São Carlos, 2008**.

MADUREIRA, A. P.; MADALENA, F. E.; TEODORO, R. L. Desempenho comparativo de seis grupos de cruzamentos Holandês/Guzerá. Peso e altura de vacas e novilhas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 658- 667, 2002.

MARTINS, G, et al. Estimativas de parâmetros de cruzamentos para peso de fêmeas Holandês/Gir. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 6, p. 1703-1710, 2004.

MARTINS, A. C. et al. Influência da alta ou baixa ingestão alimentar na produção *in vitro* de embriões bovinos. **Acta Science Veterinary**. v. 34, p. 290, 2006.

MCDUGALL S. et al. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture- fed dairy cows after calving. **Research in Veterinary Science**, v. 58 p. 212-216, 1995.

MARKUSFELD, O., N. GALON, e E. EZRA. Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. **Veterinary Records**, v. 141, 67–72, 1997.

MEE, J. F.; SNIJDERS, S. E. M.; DILLON, P. Effect of genetic merit for milk production: Dairy cow breed and pre-calving feeding on reproductive physiology and performance. Fermoy, **Irlanda: Teagasc**, 2000.

MEIKLE, A. et al. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. **Reproduction**. v. 37, p.127-727, 2004.

MERTENS, D.R. Análise de fibra e sua utilização na avaliação e formulação de rações. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE RUMINANTES. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 29, 1992, Lavras. Anais... Lavras: SBZ, 1992, p.188

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY JR., G.C. (Ed.) Forage quality, evaluation and utilization. **Winsconsin: American Society of Agronomy**, p. 450-493, 1994.

MIHM, M. et al. Follicle wave growth in cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 37, p. 191-200, 2002.

MOLLO, M. R., et al. Produção de embriões em novilhas nelore superovuladas submetidas à baixa ou alta ingestão alimentar. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1241, 2007.

MONTIEL, F., AHUJA C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. **Animal Reproduction Science**, v. 85 p. 1–26, 2005.

MORRISON, D .G., SPITZER, J.C., PERKINS, J.L. Influence of prepartum body condition score change on reproduction in multiparous beef cows calving in moderate body condition. **Journal of Animal Science**. v. 77, p. 1048–1054, 1999.

MURPHY, M. G., BOLAND, M. P., ROCHE, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckled cows. **Journal Reproduction Fertility**, v. 90, p. 523-533, 1990.

NETT T. M. Function of the hypothalamic-hypophyseal axis during the postpartum period in ewes and cows. **Journal Reproduction Fertility (Suppl.)**, v. 34, p. 201-213, 1987.

NILSSON, E.; PARROT, J. A.; SKINNER, M. K. Basic fibroblast factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 175, p. 123-130, 2001.

NOLAN, R. et al. The influence of short-term nutrient changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. **Theriogenology**, v. 50, p. 1263-1274, 1998.

NOLLER, C. H.; NASCIMENTO, J. R.; QUEIROZ, D.S. Determinando as exigências nutricionais de animais em pastejo. In: **SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGENS**, 13, 1996, Piracicaba. Anais ... Piracicaba: FEALQ, 1997. p.319-351.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, 2001. 408p.

OBA, M. e ALLEN, M. S. Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n.3, p. 589-596, 1999.

OLIVEIRA, A. S.; et al. Meta-análise do impacto da fibra em detergente neutro sobre o consumo, a digestibilidade e o desempenho de vacas leiteiras em lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 7, p. 1587-1595, 2011.

OLIVEIRA S. C.; et al. Produção *in vitro* de embriões bovinos F1 a partir de doadoras de oócitos da raça Gir Leiteiro e Holandes In.: **X Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, 2013**, Uberaba. Anais... Uberaba: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2013.

OVERTON T. R.; WALDRON M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 105–119, 2004.

PATHIRAJA, E. O. Accuracy of rectal palpacion in the diagnosis of corpora lutea in zebu cows **British Veterinary Journal**, v. 142, p. 467-471, 1986.

PATTON, J. et al. Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 649–658, 2007.

PEDRON, O. et al. Effect of body condition score at calving on performance, some blood parameters, and milk fatty acid composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2528–2535, 1993.

PEREIRA, M. N.; ARMENTANO, L.E. Partial replacement of forage with nonforage fiber sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. **Journal of Animal Science**, v. 83, p. 2876-2875, 2000.

PERRY, R. C. et al. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 3762-73, 1991.

PETER, A. T., VOS, P. L. A. M., AMBROSE, D. J. Postpartum anestrus in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 71, p. 1333–1342, 2009.

PIERSON, R. A., GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. **Theriogenology**, v. 29, p. 21-37, 1988.

PINHEIRO, O. L., et al. Estrus behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrusinduced with prostaglandina F_{2α} or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-681, 1998.

- PIRES, M. F. Á., et al. Efeito das estações (verão e inverno) na temperatura retal e frequência respiratória de vacas Holandesas confinadas em free stall. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n.6, p. 747-752, 1998
- PIRES, M. F. A.; AZEVEDO, M.; SATURNINO, H. M. Adaptação de animais mestiços em ambiente tropical. **Informe Agropecuário**, v. 31, p. 30-38, 2010.
- PRYCE, J. E., et al. Fertility in high-producing dairy cow. **Livestock Production Science**, v. 86, p. 125-135, 2004.
- PONTES, J. H. F., et al. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v. 71, n.4, p. 690-697, 2009.
- PONTES J. H. F., et al. Large-scale *in vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. **Theriogenology**, v. 74, p. 1349–1355, 2010.
- PUTNEY, D. J., et al. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 19, p. 37–51, 1989.
- REIS, R. A., et al. Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. *Revista Brasileira de Zootecnia* v.38 p. 147-159, 2009.
- RENNÓ, F. P., et al. Efeito da condição corporal ao parto sobre a produção e composição do leite, curva de lactação e mobilização de reservas corporais em vacas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n.2, p. 220-233, 2006.
- RIZOS, D., et al. Comparisons between nulliparous heifers and cows as oocyte donors for embryo production *in vitro*. **Theriogenology** v. 63 p. 939–949, 2005.
- RIVERA, G. M. et al. Ovarian follicular wave synchronization and induction in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 49, p. 1365- 75, 1998.
- ROCHE, J. R., et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 5769–5801, 2009.
- RUAS J. R. M., et al. Indução do estro no pós-parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57 p. 476-484, 2005.
- SALES. J. N. **Efeito da alta energia nos parâmetros metabólicos endócrinos e reprodutivos de vacas *Bos indicus* e *Bos taurus***. Tese de Doutorado-Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.
- SANCANARI, J. B. D. et al. Efeito da metionina protegida e não protegida da degradação ruminal sobre a produção e composição do leite de vacas Holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p. 286-294, 2001.

SANTOS M. R. **Efeito da quantidade de concentrado da dieta de vacas holandesas não-lactantes na progesterona plasmática, composição do fluido folicular e produção de prostaglandina pelo endométrio.** Tese de Doutorado - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, 2005.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R.L.A.; SARTORI, R. Nutritional management of the donor cow. **Theriogenology**, v. 69, p. 88- 97, 2008.

SANTOS, J. E. P. Uso de gordura em dietas de vacas no pé parto e em lactação **In: Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Anais...** Uberlândia: 18 E 19 de março de 2010. p. 99-119.

SANTOS, S. A. **Curvas de lactação e consumo de vacas F1 Holandês X Zebu em pastejo e confinamento.** Viçosa, MG:UFV, 2011. 192p. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, 2011.

SARTORELLI, E.S. et al. Morphological haracterization of follicledeviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v. 63, p. 2382-94, 2005.

SATURNINO, H. M.; AMARAL, T. B. Perspectivas para uso eficiente da interação nutrição-reprodução em fêmeas bovinas de corte. In: **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 41, Campo Grande - MS. Anais...Campo Grande: SBZ, 2004.

SARTORI, R. et al. Influência da ingestão alimentar na produção de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35 (Supl 3), p. 869-873, 2007.

SENEDA, M. M. et al. Relationship between follicle size and ultrasound-guided transvaginal oocyte recovery. **Animal Reproduction Science**, v. 67, n. 1-2, p. 37-43, 2001.

SILVA, K. C. F. **Estudo comparativo da recuperação de complexo cumulus oócito e da população de folículos pré-antrais entre fêmeas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina PR. 2009.

SHORT, R. E., et al. Physiological mechanisms controlling anestrus and fertility in postpartum beef cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p. 799-816, 1990.

SMITH, T. H. e MCNAMARA, J. P. Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 6. cellularity and hormone-sensitive lipase activity as affected by genetic merit and energy intake. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 772-783, 1990.

SILVA, J. R. V. et al. Involvement of growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF) system in ovarian olliculogenesis. **Theriogenology**. V. 71 p. 1193-1208, 2009.

SIRARD, M. et al. Contribution of the oocyte to embryo quality. **Theriogenology** v. 65 p. 126–136, 2006.

SOLIS, J. C. et al. Maintenance requirements and energetic efficiency of cows of different breed types. **Journal Animal Science**, v. 66, p. 764-773, 1988

SKLAN, D. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, n.70, p. 2463-2472, 1992.

SOUSA, B. M. et al. Estimativa de consumo de matéria seca e de fibra em detergente neutro por vacas leiteiras sob pastejo, suplementadas com diferentes quantidades de alimento concentrado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.890-895, 2008.

SPICER, L. J.; TUCKER, W. B.; ADAMS, G. B. Insulin-like growth factor-1 in dairy cows relationships among energy balance, body condition, ovarian activity, and estrus behavior. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 929-937, 1990.

SUMNER, J. S. e MCNAMARA, J. P. Expression of key genes controlling lipolysis in adipose tissue of Holstein dairy cattle during the dry period and lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 5237-5246, 2007.

THOMPSON, W. R. et al. Influence of body composition 122 on energy requirements of beef cows during winter. **Journal of Dairy Science**, v. 56, p. 1241-1251, 1983.

TORRES-JUNIOR, J. R. S. et al. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 155-166, 2008.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd.ed. Ithaca, NY:Comstock Publishing Associates, 1994. 476p.

VASQUEZ, E. F. A. **Suplementação com carboidratos não estruturais para novilhas mestiças Holandês x Zebu em pastagem de Panicum maximum cv. Mombaça**. 2002, 113F. Tese (Doutorado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

VIANA, J. H. M., et al. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n.12, p. 2501-2509, 2000.

VIANA, J. H., et al. Short intervals between ultrasonographically guided follicle aspiration improve oocyte quality but do not prevent establishment of dominant follicles in the Gir breed (*Bos indicus*) of cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 1-12, 2004.

VIANA, J. H. M. e BOLS, P. E. J. Biologic variables associated with cumulus oocyte complex recovery using follicular aspiration. **Acta Scientiae Veterinariae** (UFRGS. Impresso). v. 33, n.1, p. 1-4, 2005.

VIANA, J. H., et al. Ovarian follicular dynamics, follicle deviation, and oocyte yield in Gyr breed (*Bos indicus*) cows undergoing repeated ovum pick-up. **Theriogenology**, v. 73 p. 966-72, 2010.

WALSH S. W., WILLIAMS E. J., EVANS A. C. O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 123 p. 127–138, 2011.

WEBB, R et al. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **Journal of reproduction and fertility**. v. 54, p. 33-48, 1999.

WEBB, R. et al. Mechanism regulating follicular development and selection of the dominant follicle. **Reproduction in Domestic Ruminants V. Reproduction Supplement** v. 61, p. 71–90, 2003.

WEBB, R. et al. Control of follicular growth: Local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 63–74, 2004.

WEBB, R. et al. Regulação intra-ovariana do desenvolvimento folicular e competência dos oócitos em animais de produção. In: **Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos**. *Anais...* Uberlândia: Conapec Jr., p. 66-75, 2008.

WILTBANK MC, GUMEN A, SARTORI R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 21-52, 2002.

WILTBANK, M. et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, p. 17-29, 2006.

YAAKUB, H., O'CALLAGHAN, D., BOLAND, M. P. Effect of roughage type and concentrate supplementation on follicle numbers and *in vitro* fertilization and development of oocytes recovered from beef heifers. **Animal Reproduction Science**. v. 55, p. 1-12, 1999.

YAVAS Y., WALTON J. S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: A review. **Theriogenology**, v. 54 p. 1-23, 2000.

7. ANEXOS

Anexo 1: PROTOCOLO CEUA-EGL Nº: 03/2012



Protocolo nº: 03/2012

A Comissão de Ética No Uso de Animais da Embrapa Gado de Leite **APROVOU** os procedimentos éticos apresentados neste Protocolo, referente ao projeto/experimento:

“Balanço energético e atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras a pasto.”



.....
Presidente/Secretário da CEUA-EGL

Anexo 3: Ficha do controle das aspirações foliculares

Nº vaca:		Parição:		Data da aspiração (1ª)		
Ovário esquerdo		Ovário direito		Total	Oócitos recup.	
Fl. Peq.		Fl. Peq.			GI	
Fl. Med.		Fl. Med.			GII	
Fl. Grdes		Fl. Grdes			GIII	
Fl.Dominante (FD)		Fl.Dominante (FD)			Deg.	
Dimensão		Dimensão			Total:	
Data US	Horário	Tamanho FD	OBS:		Recuperados:	
Nº vaca:		Parição:		Data da aspiração (2ª)		
Ovário esquerdo		Ovário direito		Total	Oócitos recup.	
Fl. Peq.		Fl. Peq.			GI	
Fl. Med.		Fl. Med.			GII	
Fl. Grdes		Fl. Grdes			GIII	
Fl.Dominante (FD)		Fl.Dominante (FD)			Deg.	
Dimensão		Dimensão			Total:	
Data US	Horário	Tamanho FD	OBS:		Recuperados:	
Nº vaca:		Parição:		Data da aspiração (3ª)		
Ovário esquerdo		Ovário direito		Total	Oócitos recup.	
Fl. Peq.		Fl. Peq.			GI	
Fl. Med.		Fl. Med.			GII	
Fl. Grdes		Fl. Grdes			GIII	
Fl.Dominante (FD)		Fl.Dominante (FD)			Deg.	
Dimensão		Dimensão			Total:	
Data US	Horário	Tamanho FD	OBS:		Recuperados:	
Nº vaca:		Parição:		Data da aspiração (4ª)		
Ovário esquerdo		Ovário direito		Total	Oócitos recup.	
Fl. Peq.		Fl. Peq.			GI	
Fl. Med.		Fl. Med.			GII	
Fl. Grdes		Fl. Grdes			GIII	
Fl.Dominante (FD)		Fl.Dominante (FD)			Deg.	
Dimensão		Dimensão			Total:	
Data US	Horário	Tamanho FD	OBS:		Recuperados:	

Anexo 4: Planilhas de fornecimento da alimentação

Nº Vaca	Colar (Nº)	Trat.	Quad.	Sil. Forn. (KG)	Sobra (KG)	Sil. Forn. (KG)	Sobra (KG)	Sil. Forn. (KG)	Sobra (KG)
9407	10	2	2	2		2		2	
9471	11	1		1		1		1	
408	8	2		2		2		2	
9403	7	2		2		2		2	
9404	5	1		1		1		1	
9553	4	2		2		2		2	
454	3	1		1		1		1	
457	2	2		2		2		2	
9442	1	1		1		1		1	
9539	12	2		3	2		2		2
400	11	2	2			2		2	
474	6	1	1			1		1	
9551	5	2	2			2		2	
9419	4	1	1			1		1	
9445	1	2	2			2		2	
9549	11	1	4	1		1		1	
443	10	2		2		2		2	
425	9	1		1		1		1	
9545	8	1		1		1		1	
9529	3	2		2		2		2	
438	2	2		2		2		2	

Anexo 5: Ficha de acompanhamento semanal do peso corporal

Vaca	Peso Dia:						
426							
457							
420							
456							
9407							
9503							
9456							
9432							
9525							
408							
471							
9553							
9442							
410							
443							
9471							
9551							
454							
474							
400							
425							
9403							
9529							
438							
9404							
9419							
9445							
9539							
9545							
9549							

