

MARGARIDA MARIA NASCIMENTO FIGUEIREDO DE OLIVEIRA

**URÉIA PARA VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO: DINÂMICA
FOLICULAR E CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de "Doctor Scientiae".

**VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2001**

MARGARIDA MARIA NASCIMENTO FIGUEIREDO DE OLIVEIRA

**URÉIA PARA VACAS LEITEIRAS NO PÓS-PARTO: DINÂMICA
FOLICULAR E CARACTERÍSTICAS REPRODUTIVAS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de "Doctor Scientiae".

APROVADA: 26 de março de 2001.

Prof. Eduardo Paulino da Costa
(Conselheiro)

Prof. José Carlos Pereira
(Conselheiro)

Dr. Ademir de Moraes Ferreira

Prof^ª Rilene Ferreira Diniz Valadares

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres
(Orientador)

À minha mãe Iracema, exemplo de dignidade, presença constante em minha vida,
por tanta saudade;

Ao meu pai Washington, amigo de todas as horas, pela lição de que o importante
é saber sorrir e amar novamente;

Ao meu esposo, Carlos Henrique, mais uma vez ao meu lado, repetindo a lição
do que é ser gente;

Aos meus irmãos, João Bosco, Dodora e Geraldo Magela, que, nos momentos
mais difíceis, mantiveram-se em silêncio, respeitando a minha luta, por
tamanha compreensão.

AGRADECIMENTO

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) e ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade e pelas condições de trabalho para a realização deste Curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do material de consumo.

Ao Professor Ciro Alexandre Alves Torres, pela valiosa orientação, pelo imensurável estímulo, por todo apoio e todos os ensinamentos de dignidade, honestidade, perseverança, esperança, e principalmente por tamanha confiança.

À Professora Maria Ignez Leão, mais uma vez, pela verdadeira amizade, pela oportunidade do crescimento profissional, pelo constante incentivo, e especialmente pelo exemplo de que o importante é sempre continuar.

Ao Professor Sebastião de Campos Valadares Filho, pela contribuição na elaboração do projeto, na condução dos experimentos e por todos os ensinamentos.

Ao Professor José Carlos Pereira, por todo o incentivo profissional, pela imensa amizade e pelo despertar do interesse para o tema do presente trabalho.

À Professora Rilene Ferreira Diniz Valadares, por todo o apoio durante os experimentos e pela valiosa contribuição nas análises estatísticas e laboratoriais.

Ao Dr. Ademir de Moraes Ferreira, por todo o exemplo de profissionalismo, competência e ética, pela colaboração no presente trabalho e pelo incentivo e oportunidades para meu crescimento profissional.

Ao Professor Eduardo Paulino da Costa, por todo o incentivo, pelas sugestões, pela preciosa amizade e pelo exemplo.

Aos funcionários do Centro Tecnológico da Zona da Mata, Dr. José Luís dos Santos Rufino, Dr. Domingos Sávio Queiroz, e da Fazenda Experimental de Leopoldina, especialmente, ao Guilherme Augusto Duque Portugal e Sérgio Dutra Ferreira, sem os quais não seria possível a realização deste estudo.

Às minhas amigas, Celeste e Celeste, do DZO e da EPAMIG, por toda a dedicação, pela presteza nos atendimentos, pela compreensão e solidariedade.

Aos colegas Rodolpho Torres, pai e filho, pelo constante incentivo durante a condução do experimento e pelas valiosas colaborações nas análises estatísticas.

Ao meu grande amigo Fernando Teixeira Almeida, por sua amizade verdadeira, pelo seu carinho, pela enorme torcida e por tamanha confiança e fidelidade aos sentimentos alheios.

A Sr^a Maria José Andrade Torres, pela visita à Fazenda Experimental de Leopoldina e por toda a atenção.

Aos verdadeiros amigos que encontrei em Viçosa, que foram estagiários ou colegas de pós-graduação, Carla Rodrigues, Maurício Costa Cruz, Sávio Carneiro Martins, Renato Miglio Martin, aos meus diletos afilhados Alessandra e Rogério, Aléx Carvalho, Amauri Wenceslau, Gisele Ladeira, Anselmo, Vítor, Lincoln, Elenice, Rodrigo Vidal, Elisa de Souza Faria, Denilson Rodrigues, na certeza de que a minha caminhada não seria a mesma sem vocês.

Às minhas grandes amigas Neide e Hilda, que nos momentos mais difíceis de minha vida, me ouviram, compreenderam e repassaram força, energia e esperança. Obrigada por tudo.

BIOGRAFIA

Margarida Maria Nascimento Figueiredo de Oliveira, filha de Washington Britto Figueiredo e Iracema Nascimento Figueiredo, nasceu em Divinópolis - MG, em 03 de julho de 1966.

Em julho de 1985, iniciou o curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, graduando-se em julho de 1990.

Em agosto de 1990, ingressou no quadro de funcionários da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, como pesquisadora na área de Bovinocultura Leiteira.

Em março de 1995, iniciou o Curso de Mestrado em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, área de Reprodução Animal, obtendo o título em julho de 1997.

Em agosto de 1997, iniciou o programa de Pós-Graduação D.S., em Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa, na área de Reprodução Animal, submetendo-se à defesa de tese em 26 de março de 2001.

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Uréia na alimentação de ruminantes	4
2.2. Proteína e NNP na dieta e alterações na composição iônica dos fluidos orgânicos.....	8
2.3. Proteína e NNP na dieta e alterações específicas no pH e ambiente uterino	10
2.4. Proteína e NNP na dieta e concentrações de amônia nos fluidos orgânicos	12
2.5. Proteína e NNP na dieta e concentrações de N -uréia nos fluidos orgânicos	15
2.6. Proteína e NNP na dieta e concentração plasmática de Progesterona	18
2.7. Proteína, NNP e energia na dieta e aspectos reprodutivos do pós-parto	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenho produtivo e reprodutivo	41
1. Urea for Postpartum Dairy cows: Productive and Reproductive Performance	42
Introdução	43
Material e Métodos	45
Resultados e Discussão	49
Conclusões	63
Referências Bibliográficas	64
2. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: teor plasmático de uréia69	
e pH uterino	69
2. Urea for dairy cows in the postpartum: urea levels in the plasma70	
and uterine pH	70
Introdução	71
Material e Métodos	72
Resultados e Discussão	74
Conclusões	81
Referências Bibliográficas	82
3. RESUMO E CONCLUSÕES	84
APÊNDICES	87
APÊNDICE A	88
APÊNDICE B	92

RESUMO

OLIVEIRA, Margarida Maria Nascimento Figueiredo, D.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 2001. **Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: dinâmica folicular e características reprodutivas.** Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. Conselheiros: José Carlos Pereira e Eduardo Paulino da Costa.

O presente trabalho teve como objetivos avaliar os efeitos de diferentes níveis de uréia na dieta de vacas mestiças leiteiras no pós-parto sobre o consumo de matéria seca; a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; o peso corporal; o teor plasmático de N-uréia (NUP); a dinâmica folicular ovariana; o retorno da atividade ovariana; e o pH intra-uterino no estro e no diestro. Foram realizados dois experimentos na Fazenda Experimental Leopoldina-EPAMIG, nos anos de 1999 e 2000, respectivamente, experimento I e II. No experimento I, foram utilizadas 15 vacas lactantes (Holandês x Gir) distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado e alimentadas individualmente com rações isoprotéicas constituídas de 60% de silagem de milho e 40% de concentrado, contendo 0,0; 0,7; 1,4; e 2,1% de uréia, correspondentes aos teores de proteína bruta na forma de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) de 2,08; 4,01; 5,76 e 8,07% na matéria seca das rações. O aumento dos níveis de NNP nas rações reduziu linearmente o consumo de matéria seca, expresso em

kg/dia e %PV que foram de 16,04; 16,49;11,64; 11,93 kg/dia e 3,29;3,09; 2,47; e 2,35%PV, para as dietas contendo 2,08, 4,01, 5,76 e 8,07% de NNP, respectivamente. As médias de produção de leite corrigidas para 3,5% de gordura foram 21,18; 24,92; 20,63; e 18,83 kg/dia para os teores de NNP 2,08; 4,01; 5,76 e 8,07, respectivamente, e decresceram linearmente com o aumento dos níveis de NNP nas dietas. Os teores de uréia e N-uréia no plasma e no leite não foram influenciados pela adição de quantidades crescentes de NNP nas dietas. As variáveis da dinâmica folicular: número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral, emergência da primeira e segunda onda de crescimento folicular, persistência do folículo ovulatório e diâmetro máximo do folículo ovulatório não foram influenciadas pelos níveis de NNP nas rações. Os níveis crescentes de uréia não influenciaram na primeira ovulação no pós-parto, que ocorreu em média aos 55 dias do pós-parto, no primeiro estro que foi observado aos 81 dias do pós-parto, no número de inseminações/concepção (1,2) e no período de serviço de 94 dias. No experimento II, foram utilizadas 16 vacas mestiças (Holandês-gir) distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, alimentadas com o mesmo tipo de dieta e submetidas às mesmas condições de manejo do experimento I. Verificou-se que a elevação dos teores de uréia reduziu a ingestão de matéria seca e não influenciou na produção diária de leite, dos 70 aos 110 dias de lactação. As médias dos teores plasmáticos de N-uréia (19,59 mg/dL) e do pH uterino no estro e no diestro, respectivamente 6,66 e 6,97, também não foram influenciadas pelos níveis de NNP nas rações experimentais.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Margarida Maria Nascimento Figueiredo, D.S., Universidade Federal de Viçosa, March, 2001. **Urea for postpartum dairy cows: follicular dynamics and reproductive characteristics.** Adviser: Ciro Alexandre Alves Torres. Committee members: José Carlos Pereira and Eduardo Paulino da Costa.

The objective of the experiment was to evaluate the effects of different levels of urea in the diets in postpartum crossbred dairy cows on dry matter intake, milk production for 3.5% of fat, the body weight, the plasma levels of N-urea (NUP), the follicular dynamics, the return of ovarian activity and the uterine pH during the estrus and diestrus. Two experiments were done in the EPAMIG-Leopoldina Experimental Farm, in the years of 1999 and 2000, respectively, experiment I and II. Fifteen milking cows (Holstein-Gir) were used in the experiment I in a completely random design. The animals were fed individually with isoproteic rations formed with 60% of corn silage and 40% of concentrate, with 0.0, 0.7, 1.4 and 2.1% of urea corresponding to crude protein in the non-protein nitrogen (NNP) of 2.08, 4.01, 5.76 and 8.07% in the dry matter of the rations. The dry matter intake decreased with the increase in the levels of NNP in the rations were: 16.04, 16.49, 11.64 and 11.93 kg/day and 3.29, 3.09, 2.47 and 2.35% body weight, for the diets with 2.08, 4.01, 5.76 and 8.07% of NNP,

respectively. The mean of milk production based on 3.5% of fat were 21.18, 24.92, 20.63 and 18.83 kg/day for the NNP levels of 2.08, 4.01, 5.76 and 8.07, respectively, and decreased linearly with the increase in the NNP levels of the diets. The urea levels and the N-urea in the plasma and in the milk, were not affected by the NNP in the diets. The dynamics variables such as: the number of follicular waves per cycle and the emergency of the first and second follicular waves and the persistency of the ovulatory follicle and its diameter were not affected by the levels of NNP in the diets. The first postpartum ovulation and estrus occurred on days 55 and 81, respectively and were not affected by NNP levels in the rations. The number of inseminations/conception (1.2) and the service period of 94 days were not affected by the NNP levels of the rations. In the experiment II, sixteen crossbred cows (Holstein-Gir) were allocated in a completely random design and fed with the same diet and the same management of the experiment I. The increase in the NNP levels in the rations decreased the dry matter and did not affect the daily milk production from the 70 to the 110 days of lactation. The mean plasma levels of N-urea (19.59 mg/dL) and of the uterine pH in the estrus and diestrus were 6.66 and 6.97, and were not affected by the NNP levels in the rations.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, representado por 160 milhões de cabeças. Entretanto, os índices de produtividade ainda são muito baixos, quando comparados aos de outros países.

A alimentação animal é o principal fator que influencia nos custos da exploração leiteira. Considerando-se as características morfofisiológicas de seu sistema digestivo e a presença de microrganismos no rúmen, os ruminantes são os únicos animais capazes de utilizar compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), dentre os quais a uréia, como fonte de nitrogênio (N), para síntese de proteína microbiana, permitindo, assim, a substituição parcial dos concentrados protéicos nas rações para vacas em lactação.

Dentre os principais fatores limitantes ao uso de uréia na alimentação de ruminantes, estão sua baixa aceitabilidade pelos animais (sabor amargo), e o risco de intoxicação, que está relacionado ao modo de fornecimento do produto. A alta solubilidade da uréia em água permite a ingestão de grandes quantidades na forma líquida, comum no meio rural, quando associações de cana-de-açúcar e uréia ou misturas múltiplas, contendo elevadas concentrações do produto, são fornecidas em cochos descobertos.

A ingestão de matéria seca é o principal determinante da performance animal e depende do peso vivo, do nível de produção de leite, do estágio da

lactação, das condições climáticas, do manejo nutricional, da condição corporal e do tipo e da qualidade dos alimentos fornecidos, dentre outros (NRC, 1989).

O início da lactação para vacas de alta produção corresponde a um período no qual primíparas e múltiparas são submetidas a estresse metabólico decorrente do balanço energético negativo (BEN), quando a energia líquida consumida é menor que a requerida para manutenção e lactação, resultando na mobilização de reservas corporais adquiridas durante o final da lactação e no período seco (BEAM e BUTLER, 1997). O BEN está diretamente relacionado com a produção de leite e com a mobilização das reservas corporais, que é máxima durante as duas ou três primeiras semanas de lactação e persiste até 10 a 12 semanas do pós-parto.

Para sustentar o nível ótimo da produção de leite no início da lactação e tentar compensar o menor consumo de matéria seca nesse período, uma estratégia nutricional que tem sido frequentemente utilizada é o aumento da densidade dos nutrientes na dieta. Contudo, essa alternativa pode levar à ingestão de proteína, além das exigências nutricionais, associada ou não a um desequilíbrio na relação proteína degradada no rúmen (PDR) e proteína não-degradada no rúmen (PNDR), o que pode resultar em comprometimento da fertilidade. Além disso, a ingestão de elevadas quantidades de fontes protéicas ou NNP pode ocasionar perdas de N que é dispendioso para o animal e para o produtor de leite (ELROD, 1995).

STAPLES et al. (1993) verificaram que dietas contendo excesso de NNP ou de proteína, independente de sua degradabilidade, fornecidas no início da lactação, provocaram exacerbação do BEN, devido ao custo energético da detoxificação da amônia, resultando em menor eficiência reprodutiva no pós-parto. Para MUTSVANGWA et al. (1997), como o custo de detoxificação da amônia em uréia parece ser suprido pela deaminação de aminoácidos, dietas que proporcionam aumento da absorção portal de amônia podem reduzir a disponibilidade de aminoácidos e a retenção de N nos tecidos periféricos.

O excesso de PDR, PNDR ou de NNP nas dietas das vacas em lactação provocam redução da fertilidade no pós-parto, alteração da fisiologia ovariana e

uterina, monitorados pelos teores de uréia no sangue e no leite. Assim, BUTLER (1998) observou que teor de N-uréia plasmática (NUP) acima de 19 mg/dL foi associado à redução da concentração plasmática de progesterona e alteração do pH e ambiente uterino, constituindo as principais causas da redução da fertilidade de vacas no início da lactação.

JORDAN e SWANSON (1979) reportaram que vacas em lactação, alimentadas com dietas contendo 12,7% de proteína bruta (PB) apresentaram concentrações séricas de progesterona 25% maiores que aquelas com 19,3% de PB na matéria seca da dieta; e no grupo alta proteína ocorreu uma redução da fertilidade pelo aumento do período de serviço, do número de serviços/concepção e, conseqüentemente, aumento no intervalo de partos. BUTLER et al. (1996) constataram que as concentrações plasmáticas de progesterona durante a fase média do diestro foram menores em vacas com NUP maior que 19 mg/dL, decorrentes de dietas com 19% de PB.

Considerando que as recomendações tradicionais para a utilização de uréia em rações de ruminantes são de no máximo 1% de uréia na base da matéria seca total, objetivou-se avaliar os efeitos de níveis crescentes de NNP nas rações de vacas mestiças leiteiras no pós-parto sobre o consumo de matéria seca; a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura; o peso corporal; o teor plasmático de N-uréia; a dinâmica folicular ovariana, o retorno da atividade ovariana; e o pH intra-uterino no estro e no diestro.

Os dois trabalhos, descritos a seguir, foram elaborados segundo normas da Revista Brasileira de Zootecnia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Uréia na alimentação de ruminantes

A uréia sintética é um produto químico obtido a partir da síntese da amônia com o dióxido de carbono, sob condições elevadas de temperatura e pressão. O produto tem a fórmula estrutural NH_2CONH_2 e apresenta na sua composição 46,4% de nitrogênio; 0,55% de biureto; 0,25% de água; e 0,08% de amônia livre e cinzas. É encontrado na maioria das vezes no estado sólido, higroscópico e possui elevada solubilidade em água, álcool e benzina (COELHO DA SILVA e LEÃO, 1979).

Segundo o NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC (1989), o uso de uréia nas dietas de ruminantes é semelhante ao da proteína degradável no rúmen (PDR), embora a uréia não seja fonte de esqueletos de carbono de cadeia ramificada e nem de enxofre, os quais devem ser supridos pela PDR, uma vez que ambos são requeridos para a síntese microbiana de aminoácidos. Esta deve estar em sincronia com a disponibilidade de nitrogênio e carboidratos prontamente fermentáveis no ambiente ruminal (BUTLER, 1998).

O uso de uréia pode representar uma alternativa para atender parte das exigências nutricionais de proteína para ruminantes e reduzir os custos de produção. Entretanto, fatores como sua baixa aceitabilidade pelos animais (sabor

amargo); a segregação quando misturada a farelos (granulometria e peso); o risco de toxicidade e, principalmente, a tradição presente no meio rural de que a uréia, independente da quantidade e do modo de fornecimento, interfere negativamente na reprodução, limitam a sua utilização para um maior número de rebanhos.

Além do fornecimento de amônia à síntese de proteína microbiana, que constitui a principal fonte de nitrogênio (N) para a maioria das bactérias do rúmen, particularmente as digestoras de fibra, a utilização da uréia na dieta de ruminantes pode promover uma ação tamponante local de modo a manter o pH numa faixa mais adequada para a digestão da celulose e, ainda, alterar o hábito alimentar, aumentando a frequência de consumo das refeições, resultando num possível incremento energético das dietas (HUBER, 1984).

A relação entre a quantidade de amônia produzida e a convertida em uréia no fígado reflete diretamente os níveis ingeridos de PDR e a disponibilidade de carboidratos fermentáveis para suportar o crescimento microbiano e a síntese protéica (BUTLER et al., 1995).

O teor de amônia na circulação periférica é mantido em baixos níveis, dada a sua conversão em uréia no fígado, mas existe um gradiente de concentração que permite a absorção da amônia em excesso, em relação à capacidade de utilização pelos microrganismos do rúmen. Para Le Bars (1967), citado por BOIN (1984), a quantidade de uréia circulante é mantida por meio da excreção renal, pela reciclagem para o rúmen via saliva e também pela difusão direta por meio da parede dos órgãos do sistema gastrintestinal, principalmente no rúmen.

Nos ruminantes, parte da uréia sangüínea é reciclada para o rúmen pela saliva ou por difusão via epitélio ruminal. A potencialidade desta reciclagem de uréia é elevada, quando o composto está presente em altas concentrações sangüíneas; há grande atividade da enzima urease; o pH ruminal é baixo; e ocorre diminuição do teor ruminal de amônia (SIDDONSON et al., 1985).

Outra fonte de uréia produzida pelo fígado é proveniente da deaminação e do metabolismo de aminoácidos nesse órgão. Os aminoácidos circulantes são resultantes do catabolismo de proteína dietética não-degradável no rúmen

(PNDR) da proteína microbiana e de estoques corporais. Aminoácidos como glutamina e arginina são importantes no transporte de N, numa forma não-tóxica para o organismo. Esses e outros aminoácidos utilizados na síntese de proteína do leite são deaminados no fígado e produzem substrato energético na forma de esqueletos de carbono e uréia.

A uréia também é um metabólito endógeno que tem sido utilizado como uma eficiente ferramenta para avaliar o equilíbrio de N nos ruminantes. Os teores de uréia nos fluidos orgânicos são o reflexo da quantidade e degradabilidade da proteína ingerida e da disponibilidade ruminal de carboidratos fermentáveis, como também da severidade do balanço energético em jejum, ou da combinação da ingestão de energia e do BEN no pós-parto, quando se esgotam as reservas energéticas do animal e passam a serem mobilizadas as protéicas (ELROD e BUTLER, 1993).

Os teores de uréia presentes no sangue, no leite, na saliva, no fluido endometrial e na urina podem ser avaliados pelo seu conteúdo de nitrogênio, que representa 46,6% da molécula. Já o conteúdo de nitrogênio da uréia (N-uréia), presente na circulação sanguínea, pode ser medido nas frações plasmáticas, como nitrogênio uréico plasmático (NUP) ou sérico (NUS) e, na maioria das vezes, essas siglas se referem de modo genérico aos teores de uréia no sangue. A uréia pode passar livremente do sangue para o leite na glândula mamária, sendo que o tempo de equilíbrio entre os teores é menor que 1h (BUTLER et al., 1995). Assim, o teor de N-uréia no leite (NUL) também pode constituir um método rápido, não invasivo e eficiente para avaliar os teores sanguíneos de N-uréia e o metabolismo protéico de vacas em lactação.

A intoxicação e morte causada pela ingestão de grandes quantidades de uréia em reduzido espaço de tempo estão relacionadas aos teores de amônia no sangue, que excedem a capacidade tamponante, com aumento do pH e da incapacidade de eliminação de gás-carbônico (VAN SOEST, 1994). A amônia é um eletrólito com características de base fraca e, em solução, as formas ionizada (NH_4^+) e não-ionizada (NH_3) estão em equilíbrio, sendo que o teor de cada uma depende do pH e da temperatura (VISEK, 1984). Quando o pH ruminal está

ligeiramente acidificado, em função das dietas consumidas, os teores de hidrogênio livre no meio favorecem a formação da forma ionizada da amônia, reduzindo sua absorção, uma vez que membranas celulares de mamíferos são altamente permeáveis somente à forma não-ionizada. Então, o princípio da intoxicação pela ingestão de grandes quantidades de uréia não seria simplesmente a absorção de amônia, uma vez que o metabólito, além de exigir condições adequadas para apresentar níveis tóxicos na corrente sanguínea, também é eliminado do organismo.

A reversão do processo de intoxicação pode ser realizada por meio da administração oral de ácido acético, que abaixa o pH ruminal e, conseqüentemente, a absorção de amônia e a formação do ácido oxálico. Segundo COELHO DA SILVA e LEÃO (1979), o carbamato de amônia, formado quando as condições do rúmen são alcalinas, libera ácido fórmico que, na presença de nitratos e molibdatos, é oxidado a ácido oxálico, que representa o verdadeiro princípio da intoxicação. Além do pH acima de 7,5, da presença de nitratos e molibdatos ou da introdução de oxigênio livre, a formação do ácido oxálico também depende de um suprimento de cálcio, magnésio e vitamina D.

HOLTER et al. (1968) verificaram que a uréia fornecida até 2,5% em misturas de concentrados não apresentou efeitos no consumo de alimento, na digestibilidade ou na produção de leite. Todavia, WILSON et al. (1975) observaram decréscimo no consumo de matéria seca (MS) de uma ração completa, contendo 2,3% de uréia (425 a 450 g/dia), quando a uréia foi administrada oralmente ou via fistula ruminal. Também HUBER e KUNG (1981) constataram redução no consumo voluntário, quando a uréia representava mais de 1% da matéria seca da dieta, o que foi atribuído à baixa palatabilidade do alimento.

HOWARD et al. (1987) forneceram dietas com 15 ou 20% de proteína bruta para vacas entre 10 e 149 dias pós-parto, e verificaram que o consumo de matéria seca não foi alterado pela porcentagem de proteína dietética, mesmo quando os animais consumiram 190% das exigências nutricionais do nutriente, ao término do período experimental. Não foram observadas diferenças na perda

de peso corporal e os menores escores foram verificados na oitava e na décima semanas de lactação, para os grupos recebendo concentrações de proteína alta e moderada, respectivamente.

Com o objetivo de conhecer os efeitos de dietas contendo 13% e 20% de PB e da estratégia de alimentação, na forma de mistura completa ou não, sobre a performance reprodutiva de vacas no início da lactação, CARROL et al. (1988) utilizaram vacas entre 5 e 100 dias pós-parto, e verificaram que a média diária de ingestão de proteína foi maior (3,4 kg/dia) para os animais recebendo dietas com 20%, que para os que consumiram 13% (2,2 kg/dia), enquanto o consumo diário de matéria seca não foi influenciado pelos teores de proteína das dietas. Os animais apresentaram maiores perdas de peso entre quatro e seis semanas pós-parto, e iniciaram os ganhos a partir da oitava semana de lactação. O escore corporal, de valor 4,0, cerca de 30 dias no pré-parto e de 3,4 ao parto, apresentou rápido declínio entre duas e seis semanas após o parto, com os menores valores observados, tanto em vacas recebendo dietas com alta proteína, quanto na quarta semana de lactação.

2.2. Proteína e NNP na dieta e alterações na composição iônica dos fluidos orgânicos

A composição iônica das secreções dos órgãos genitais pode ser alterada pela quantidade de compostos nitrogenados da dieta, afetando a viabilidade dos espermatozoides, ovócitos ou embriões, por meio de efeitos no metabolismo celular, resultando em redução da fertilidade.

JORDAN et al. (1983) não observaram diferenças no teor de proteína total na secreção uterina de vacas consumindo dietas com 12% ou 23% de PB na matéria seca, e verificaram um aumento de 88% no teor de proteína total na secreção uterina do dia 0 (8,9 mg/dL) em relação à máxima no dia 15 do ciclo estral, o que foi atribuído à variação no volume do fluido uterino durante as diferentes fases do ciclo, bem como a técnica de coleta por aspiração, que não permite a determinação do volume total de secreção. Os teores plasmático e

uterino de cálcio também não diferiram e foram duas vezes mais altos no fluido uterino aspirado na fase luteal (159 ppm) que durante o estro (81,5 ppm). O cálcio e a proteína total foram positivamente relacionados, provavelmente por causa da síntese protéica no útero ou dos mecanismos de transporte via membranas, envolvendo proteínas transportadoras e de ligação.

ELDON et al. (1988) verificaram que os teores séricos de uréia e de cálcio foram baixos imediatamente após o parto, aumentaram até 90 dias pós-parto e declinaram após, tendo sido observada, também, uma correlação positiva entre os teores de uréia e a primeira ovulação pós-parto. Os reduzidos teores de uréia, cálcio e magnésio verificados no início do pós-parto foram atribuídos ao metabolismo do final da gestação, parto e início da lactação.

Em relação ao fósforo, JORDAN et al. (1983) sugeriram que o mecanismo de transporte do elemento no útero não-gestante pode ser influenciado pelos produtos do metabolismo protéico, ao verificarem que vacas alimentadas com 12% de PB apresentaram concentrações uterinas 30% mais elevadas, nos dias 5 e 15 do ciclo estral, quando comparadas a outras ingerindo dietas com 23% de PB. Também foi observada uma correlação positiva entre teor de fósforo, proteínas totais e albumina no fluido uterino, sugerindo uma atuação da albumina como carreador do elemento.

Lamothe et al. (1976), citados por JORDAN et al. (1983), verificaram que os teores de magnésio na secreção uterina tenderam a reduzir quando o fósforo dietético foi aumentado. Nos experimentos de JORDAN et al. (1983), os teores plasmáticos de fósforo, mais altos em animais recebendo dietas com 23% de PB, possivelmente, contribuíram para a redução dos teores uterinos de Mg. Por outro lado, ELDON et al. (1988) verificaram que os teores séricos de magnésio aumentaram rapidamente nos primeiros 20 dias pós-parto, e não encontraram nenhuma correlação entre teores do mineral e parâmetros reprodutivos.

O teor de potássio nas secreções uterinas, em condições fisiológicas, assume valor máximo durante a fase luteal média do ciclo estral. JORDAN et al. (1983) observaram correlação positiva entre potássio na secreção uterina e

progesterona e que o teor uterino de potássio foi mais alto nas vacas alimentadas com dietas contendo 12% de PB, que naquelas com 23% de PB.

CARROL et al. (1988) verificaram que vacas com teor de N-uréia no muco vaginal maior que 100 mg/dL, não ficaram gestantes nos quatro primeiros ciclos estrais pós-parto, embora esse resultado tenha sido atribuído à contaminação por secreções de infecções uterinas, urina ou fezes.

2.3. Proteína e NNP na dieta e alterações específicas no pH e ambiente uterino

JORDAN e SWANSON (1979) forneceram dietas isocalóricas, contendo 12,7, 16,3 e 19,3% de PB para vacas em lactação, e verificaram que o número de dias do parto ao primeiro estro foi menor (27) nos animais que receberam maior teor de proteína, quando comparado aos níveis médio (45) e baixo (36). Entretanto, o número de dias abertos reduziu com o decréscimo da proteína na dieta, enquanto o número de serviços por concepção foi de 2,47; 1,87 e 1,47, nos grupos de alto, médio e baixo nível de proteína, respectivamente. Esses resultados sugerem que a ingestão de maiores quantidades de proteína bruta pode ter provocado um ambiente sub-ótimo nos órgãos reprodutivos, resultando em 13% de redução na taxa de concepção.

Ao comparar efeitos de dietas contendo 13 e 20% de PB e de estratégias nutricionais no fornecimento da alimentação, CARROL et al. (1988) verificaram que as diferenças nos teores de N-uréia plasmática e do fluido vaginal foram mantidas nas amostras do muco vaginal coletado no dia do estro, sendo de 8,2 e 20,9 mg/100mL para os animais que receberam alto e baixo níveis de proteína na dieta, respectivamente. No entanto, amostras que exibiram teores de N-uréia maiores que três desvios-padrão acima da média (12,8 mg/100mL) não foram analisadas estatisticamente, sendo atribuídos esses resultados à contaminação por urina ou por secreções resultantes de infecção do trato reprodutivo, embora os animais tenham sido previamente medicados. Não se observou diferença no teor de N-uréia no muco vaginal em decorrência da estratégia de fornecimento das

dietas (14,5 mg/100 mL), na forma de mistura completa ou volumoso e concentrado separados. Também não foram constatadas diferenças nos teores de amônia ruminal 11,8 e 13,5 mg/100mL, NUP 16,2 e 16,7 mg/dL e N-uréia no muco vaginal 15,3 e 16,4 mg/dL, respectivamente, para vacas que ficaram ou não gestantes no primeiro serviço após o parto.

ELROD et al. (1993), utilizando dietas com PDR e PNDR balanceadas; PDR normal e 25% de excesso das exigências de PNDR, e PNDR normal e 25% de excesso de PDR, verificaram que as duas dietas com alta ingestão de proteína, independente da degradabilidade alteraram o pH uterino no dia 7 do ciclo estral. No grupo que recebeu dieta balanceada, o pH uterino aumentou de 6,83 no dia do estro para 7,13 no diestro, sendo essa uma condição fisiológica da fase luteal, resultante do aumento dos teores de Na, K, P e também da anidrase carbônica. Analogamente, a redução do pH uterino na fase luteal observada nas vacas que receberam excesso de proteína na dieta, 6,85 no tratamento com alta PDR e 6,95 no tratamento com alta PNDR, quando comparadas ao grupo que recebeu dieta balanceada (7,13), pode ser conseqüência das menores teores de Mg, K e P, também observadas durante a fase luteal por JORDAN et al. (1983), em animais consumindo dietas contendo 23% de PB e, ou, da inibição da atividade da anidrase carbônica endometrial, que é sensível a alterações na composição iônica. Os tratamentos não influenciaram o pH uterino durante o estro, que foi 6,83; 6,81 e 6,84, para dietas com proteína balanceada, alta PNDR e alta PDR, respectivamente.

Com o objetivo de otimizar o manejo reprodutivo, eliminando possíveis efeitos de desordens metabólicas do pós-parto, ELROD e BUTLER (1993) utilizaram novilhas virgens, que receberam dietas formuladas para ingestão de 70% das exigências de energia metabolizável, 100% das de PNDR e PDR variando de normal para alta ingestão, na qual as exigências foram excedidas em 50%, e verificaram que, no dia 7 do ciclo estral, o pH uterino foi significativamente menor (6,79) no grupo com alta proteína, quando comparado ao grupo recebendo as exigências normais de proteína (7,09). Uma tendência semelhante foi observada no estro, com pH uterino de 6,75 e 6,87 para o grupo

alto e normal, respectivamente, permitindo concluir que o excesso de PDR atua num mecanismo não definido, reduzindo o pH uterino durante a fase luteal, o qual pode exercer uma função negativa sobre a fertilidade.

2.4. Proteína e NNP na dieta e concentrações de amônia nos fluidos orgânicos

FOLMAN et al. (1981) forneceram dietas contendo 16% de PB, com farelo de soja protegido ou não por formaldeído e com 20% de PB para vacas leiteiras de alta produção, do parto até 122 dias no pós-parto, e observaram que os teores de N-uréia plasmática foram mais altos (15,4 mg/dL) nos animais que receberam maiores quantidades de proteína que nos animais que consumiram dietas com 16% de PB, independente da degradabilidade do farelo de soja. As taxas de concepção foram de 44%, 56% e 69%, e o número de serviços/concepção de 2,25, 1,79 e 1,45, para os animais que receberam 20% de PB, 16% de PB sem tratamento prévio e 16% de PB com tratamento prévio, respectivamente. Os teores de amônia no rúmen foram de 17,3, 10,0 e 8,6mg/100mL, sugerindo uma relação inversa entre o teor ruminal de amônia e o desempenho reprodutivo.

JORDAN et al. (1983) utilizaram dietas isocalóricas com 74% de NDT e contendo 12 ou 23% de proteína bruta na matéria seca e verificaram que os teores de amônia no sangue não diferiram durante o ciclo estral, e foram, em média, 1,7 μ g/mL mais altas em vacas alimentadas com 23% de PB. Esses resultados são justificados pelas observações de Payne e Morris (1969), citados por JORDAN et al. (1983), de que os teores das enzimas hepáticas, que participam do ciclo da uréia (arginina sintetase, ornitina carbamiltransferase e arginase), aumentam quando os animais são alimentados com dietas ricas em proteína. O aumento dos teores sanguíneos de amônia sugere que as enzimas do ciclo da uréia não converteram todo o excesso de amônia ruminal, possivelmente, porque o volume de amônia excedeu à capacidade de detoxificação das células

hepáticas. Altos teores de amônia no sangue podem ter efeitos nocivos à fertilidade, uma vez que o produto é tóxico para células de mamíferos.

Chalupa et al. (1970), citados por BOIN (1984), calcularam que a energia adicional necessária para sintetizar a uréia excedente, pelo ciclo da uréia, a ser excretada em animais alimentados com NNP, em relação aos que consumiram farelo de soja, foi de 0,4 Kcal, representando menos de 1% da energia digestível ingerida. Entretanto, o requerimento energético adicional é fornecido exclusivamente pelo fígado, e animais alimentados com uréia como fonte de nitrogênio possuem menores quantidades de NADH e NADPH no fígado do que animais alimentados com farelo de soja.

A ordem de lactação não influenciou os níveis de amônia no fluido ruminal e nos teores plasmáticos de uréia de vacas leiteiras de alta produção, alimentadas, durante 12 semanas pós-parto, com dietas que proporcionaram um consumo diário de 2,6 a 2,9 kg de PB (baixa ingestão) e 3,3 a 3,7 kg de PB (alta ingestão). O primeiro estro foi observado entre 38 e 43 dias após o parto, a primeira inseminação realizada entre 69 e 75 dias pós-parto, e a ingestão de proteína também não afetou, de modo geral, as taxas de concepção e a redução do peso corporal após o parto (KAIM et al., 1983). Entretanto, vacas com mais de quatro lactações, independente do tratamento, perderam mais peso (14,7%) que as de ordem inferior (7,9%), o que foi atribuído às maiores produções de leite dos animais mais velhos. A taxa de concepção de vacas com quatro ou mais lactações (52%), alimentadas com alta ingestão de proteína, foi menor que vacas de segunda ou terceira lactação (70%), recebendo o mesmo nível de consumo, sugerindo que os fatores ingestão de proteína dietética e idade das vacas, isoladamente, não afetaram a fertilidade. O decréscimo da fertilidade foi atribuído a uma interação entre maiores perdas no metabolismo energético, decorrente da ingestão de altos níveis protéicos, das maiores produções de leite e perdas de peso corporal no período pós-parto, verificadas nos animais mais velhos.

ELROD e BUTLER (1993) observaram que, no dia 7 do ciclo estral, a excreção urinária de NH_4 foi mais elevada nos animais recebendo dietas que

continham 50% além das exigências de PDR. A glutamina, a qual atua como carreador de nitrogênio no sangue, é reconhecida como uma fonte de amônia. Normalmente, a glutamina circula no sangue e, quando presente nos rins, é deaminada via glutaminase renal, resultando em amônia que é excretada na urina. Por ser a glutamina utilizada na síntese protéica, sob a influência anabólica do estradiol, a diferença na excreção urinária no estro e no dia 7 do ciclo estral, provavelmente, ocorreu devido ao anabolismo decorrente da maior ação do estradiol, e não a uma redução do consumo de matéria seca dos animais durante o estro.

Dietas contendo uréia e farelo de soja e teores de 12,3% e 27,4% de proteína bruta na matéria seca foram fornecidas a vacas não-lactantes nos experimentos de GARCIA-BOJALIL et al. (1994). Os animais consumiram as mesmas quantidades de energia líquida, e a ingestão de proteína de alta degradabilidade foi de 70,7%. A média do pH ruminal foi menos ácida (6,67 vs. 6,56) nos animais recebendo dietas com alta proteína, provavelmente, em razão dos maiores teores de amônia (51,3 vs. 11,9 mg/dL) no rúmen, resultando em maiores teores plasmáticos de amônia e de uréia. Assim como os teores ruminais de amônia, os plasmáticos de uréia aumentaram após alimentação.

Nos resultados de CARROL et al. (1988), comparando dietas com 13% e 20% de proteína bruta, e o fornecimento do alimento na forma de mistura completa ou volumoso e concentrado separados, o pH ruminal permaneceu relativamente constante (6,6), e os teores médios de amônia no fluido ruminal foram menores no grupo recebendo dieta com baixa proteína (7,0 mg/ 100mL), quando comparado aos animais que receberam menor conteúdo protéico na dieta (18,1 mg/100mL). A estratégia nutricional também influenciou os teores ruminais de amônia, tendo sido observado um aumento de cerca de 10% nos animais que receberam volumoso e concentrado separados, sugerindo que um provável mecanismo pelo qual o excesso de proteína possa reduzir a fertilidade é por meio da toxicidade da amônia e pela supressão do sistema imunológico em decorrência de elevadas concentrações circulantes do metabólito.

2.5. Proteína e NNP na dieta e concentrações de N-uréia nos fluidos orgânicos

Dietas contendo excesso de compostos nitrogenados, deficiência de carboidratos ruminalmente fermentáveis, ou existência de assincronia entre degradação da proteína e disponibilidade de energia no rúmen provocam aumento dos teores de N-uréia na corrente sanguínea e conseqüentemente elevação da excreção de uréia no leite e na urina.

JORDAN et al. (1983) observaram que os teores de N-uréia no plasma e na secreção uterina foram, respectivamente, 16,8 e 17,2; 4,8 e 6,4 mg/dL, para vacas alimentadas com dietas contendo 12% e 23% de PB. A significativa relação entre a uréia no plasma e na secreção uterina sugere que a uréia realmente difunde para o lúmen uterino, onde pode atuar com um antagonista à fertilidade. Os teores plasmáticos de N-uréia e de proteína total foram negativamente relacionadas aos teores de K na secreção uterina, sugerindo que o mecanismo de transporte do íon pode ser afetado por proteínas ou metabólitos protéicos.

Nos experimentos de HOWARD et al. (1987), os teores de NUP aumentaram mais rápido, e atingiram valores máximos em animais que consumiram dietas contendo 20% de PB. Após cinco semanas do pós-parto, o teor de NUP foi relativamente constante, não exibindo diferenças para animais que consumiram 15% de PB na dieta.

Os teores de NUP foram mais elevados em vacas recebendo 20% de proteína bruta na dieta (24,5mg/dL) que nos animais que receberam 13% do nutriente, tendo sido observado também que o metabólito varia em função do modo de fornecimento da dieta. CARROL et al. (1988) verificaram que o pico das concentrações de NUP foi maior nos animais que receberam dietas contendo alta proteína e volumoso e concentrado separados, quando comparados aos alimentados com mistura completa. Entretanto, os resultados sugeriram pequeno efeito biológico sobre a performance reprodutiva dos animais quando foram comparadas as taxas de concepção de 65% e 57% para os grupos que consumiram dietas com 20% e 13% de PB, respectivamente. Os teores de NUP

nas vacas que ficaram gestantes e não, foram de 16,2 e 16,7 mg/100 mL, respectivamente, e não diferiram.

FERGUSON et al. (1988), trabalhando com um grande número de vacas em lactação, verificaram que as taxas de gestação foram reduzidas quando os teores de NUP foram maiores que 20 mg/dL.

CANFIELD et al. (1990), utilizando dietas isocalóricas, contendo 19% de proteína bruta, formulada para atender as exigências de PNDR e exceder as de PDR, e com 16% para atender ambas as exigências nutricionais da relação na degradabilidade na fonte protéica, não observaram diferença nos dias transcorridos do parto até a primeira ovulação e o primeiro estro no pós-parto. Verificaram que NUP foi menor em vacas que ficaram gestantes (15,7mg/dL) em relação aos animais que não conceberam (18,6 mg/dL).

Já ELROD e BUTLER (1993) observaram que os teores médios de NUP foram mais elevados (14,8 mg/dL) no grupo com alta proteína dietética, representada por 50% além das exigências de PDR, que no grupo com proteína adequada (10,2 mg/dL), que não diferiram entre os dias do ciclo estral, e os teores máximos foram observados entre 8 e 12 h após a alimentação. As menores taxas de gestação das novilhas (42,8%), verificadas no experimento, foram associadas a valores de NUP maiores que 16 mg/dL e as médias dos teores de NUP (12,35 mg/dL) em animais gestantes foram mais baixas que nas novilhas não-gestantes (14,32 mg/dL). A utilização de novilhas virgens como unidades experimentais teve como propósito eliminar possíveis efeitos adversos do período pós-parto.

Os teores de NUP não variaram entre os dias 0 e 7 do ciclo estral e os valores obtidos na coleta simultânea à medição do pH (6 a 8 h após a alimentação) foram de 15,7, 19,2 e 22,8 para os tratamentos balanceada, alta PNDR e alta PDR, respectivamente (ELROD et al., 1993). A análise dos teores de NUP, em amostras coletadas durante um período de 24 h após alimentação e a intervalos de 4 h, mostrou que NUP foi maior em todas as observações de vacas tratadas com alta PDR (pico 4 h após alimentação), comparando-se aos teores observados para animais que receberam dieta balanceada, sendo, também,

significativamente maior de 8 às 24 h. A comparação ao grupo alta PNDR, revelou que os maiores teores de NUP ocorreram 16 h após alimentação. A variação no tempo dos picos dos teores de NUP foi esclarecida pelas diferenças dos locais e do tempo em que a amônia é liberada, sendo que em PDR a liberação a nível ruminal é mais rápida que a absorção de aminoácidos no intestino delgado oriundos da PNDR fornecida na dieta.

Para ROSELER et al. (1993), NUP e NUL são influenciados similarmente por alterações nos conteúdos de PDR e PNDR nas dietas, e negativamente pelo aumento da ingestão de energia líquida para a lactação. Pequenos desbalanceamentos na PDR e PNDR podem ser mascarados pela ingestão total de proteína bruta e energia.

BUTLER et al. (1995) verificaram que o pico dos teores de N-uréia ocorreu entre 4 e 6 h após a alimentação, em virtude do catabolismo da proteína degradável no rúmen, enquanto o metabolismo da PNDR contribuiu para a manutenção dos níveis sanguíneos do metabólito ao longo do dia. O fornecimento de dietas, na forma de mistura completa, permitiu que as flutuações diárias (2-3mg%) dos teores de N-uréia no sangue fossem menores nesses animais, quando comparadas a outros recebendo concentrado e volumoso separadamente ou mantidos a pasto.

Para ELROD (1995) os teores de uréia no plasma e no leite são reflexos da ingestão de proteína, da degradabilidade das fontes protéicas e da energia disponível no rúmen, e apresentam uma correlação negativa com a fertilidade, sendo que níveis acima de 16 mg/dL, correspondendo a um excesso de N de 92 g/dia pela predição do Sistema Cornell, exibiram uma redução de 30% da taxa de concepção ao primeiro serviço de novilhas. A análise dos dados de vacas em lactação mostrou um nível crítico de NUP de 19 mg/dL, equivalente a um excesso de N da ordem 130 g/dia.

BARTON et al. (1996) verificaram que os teores de NUP foram menores nos animais alimentados com 13% de PB (8,6 mg/dL) que naqueles recebendo 20% de PB (21,0 mg/dL) e, ainda, que nesses animais ocorreu um aumento progressivo dos teores até a quarta semana do pós-parto. As taxas de gestação

foram de 43,7% e 40,6%, para os animais recebendo 13% e 20% de PB, respectivamente, sugerindo que o efeito isolado da dieta, ocasionando elevação das concentrações de NUP, não seria o único responsável pela redução da fertilidade de vacas leiteiras no pós-parto. Outros fatores de manejo e, ou, variações individuais também poderiam estar envolvidos.

ROSELER et al. (1993) verificaram que os teores de NUP foram altamente correlacionadas aos de NUL ($r=0,88$) e ao nitrogênio não-protéico do leite ($r=0,76$), sendo NUL um indicador mais sensível dos teores de compostos não-nitrogenados no leite.

BUTLER et al. (1995) observaram que os teores de NUL foram maiores em vacas adultas que na primeira lactação (18,1 vs. 17,7 mg/dL), recebendo o mesmo tipo de dieta, refletindo maior ingestão de matéria seca e produção de leite nos animais mais velhos.

Dietas na forma de mistura completa, formuladas para prover no mínimo 1,62Mcal/kg de energia líquida para a lactação e contendo 17,5 e 19,0 % de PB, foram utilizadas em dois experimentos por BUTLER et al. (1996), para relacionar as concentrações de N-uréia no plasma (NUP) e no leite (NUL) no dia da inseminação artificial. Os teores de NUL e NUP, medidos nas mesmas vacas não diferiram e foram correlacionados e descritos pela equação: $y = 0,76(x) + 6,3$; ($r^2 = 0,69$). Teores maiores que 19mg/dL resultaram num decréscimo de 18% das taxas de gestação.

2.6. Proteína e NNP na dieta e concentração plasmática de Progesterona

Outro possível mecanismo fisiológico, que pode estar envolvido na redução da fertilidade, em animais alimentados com elevados teores de PDR ou NNP nas dietas, é a redução das concentrações plasmáticas de progesterona. Para FINDLAY (1994), o ambiente luminal uterino é dinâmico e exhibe diferenças fisiológicas entre os estádios do ciclo estral que são consequência da ação de hormônios esteróides na regulação das secreções endometriais.

JORDAN e SWANSON (1979) reportaram que vacas em lactação, alimentadas com dietas contendo 12,7% de PB na matéria seca da dieta, apresentaram concentrações séricas de progesterona, 25% mais elevadas que vacas recebendo 19,3% de PB. No grupo alta proteína ocorreu uma redução da fertilidade pelo aumento do número de dias abertos, do número de serviços/concepção e conseqüentemente prolongamento do intervalo de partos.

JORDAN et al. (1983) verificaram que as concentrações plasmáticas de progesterona foram positivamente relacionadas às de magnésio e às de cálcio no fluido uterino. Como as concentrações dos minerais Ca, P e Mg foram maiores, durante a fase luteal, o ciclo natural da progesterona, do estrógeno e a relação estrógeno:progesterona podem ter influenciado no transporte desses minerais no útero. Quando compararam efeito de diferentes porcentagens de PB na matéria seca das dietas, observaram que, no dia 15 do ciclo estral, as concentrações plasmáticas de progesterona foram 19% mais altas nas vacas que receberam 12% de PB, comparando-se àquelas que receberam 23% de PB.

Por outro lado, CARROL et al. (1988) não observaram diferenças nos perfis de progesterona plasmática antes do primeiro serviço após o parto de vacas que ficaram ou não gestantes à inseminação, recebendo dietas com 13% ou 20% de proteína bruta. Entretanto, vacas com infecções uterinas no puerpério, devidamente medicadas e recebendo 20% de proteína na dieta, apresentaram menores concentrações de progesterona no ciclo estral, antes do primeiro serviço, o que foi atribuído a uma interação entre elevados teores de N e distúrbios patológicos no pós-parto.

Já SONDERMAN e LARSON (1989), que também utilizaram vacas em lactação, verificaram uma redução de 30% na concentração plasmática da progesterona nos animais consumindo dietas contendo 20% de proteína bruta na matéria seca. STAPLES et al. (1993) constataram uma redução de 50% na concentração de progesterona de vacas em lactação, alimentadas com dieta contendo 20% de proteína bruta na matéria seca, sendo 72,5% de PDR.

A concentração plasmática de progesterona na metade do diestro foi 30% menor em vacas com NUP maior que 19 mg/dL, decorrentes de dietas com 19%

de PB e foi significativamente maior no quarto dia após inseminação nas vacas que ficaram gestantes (BUTLER et al., 1996).

O desenvolvimento embrionário inicial requer ambiente adequado no oviduto e no útero, o qual é consequência da ação da progesterona. Assim, o aumento da progesterona, no terceiro e no quarto dia após a ovulação, é uma condição essencial para viabilizar o desenvolvimento embrionário inicial e aumentar as taxas de gestação. Shelton et al. (1990), citados por BUTLER et al. (1996), reportaram que o aumento da concentração plasmática de progesterona pós-ovulação foi mais tardio e o declínio da concentração mais acentuado em vacas subfêrteis que em novilhas, sugerindo que uma fase luteal inadequada, dada a redução da responsividade dos hormônios luteotrópicos, pode contribuir para a mortalidade embrionária em animais subfêrteis. Contraditoriamente, a presença de embriões viáveis sinalizou aumento precoce da progesterona, no terceiro dia do ciclo estral, o qual não foi observado em casos de falha da fertilização ou morte embrionária, sugerindo efeito luteotrópico do embrião jovem.

BLAUWIEKEL et al. (1986) e GARCIA-BOJALIL et al. (1994) não observaram efeito na concentração plasmática de progesterona de vacas não-lactentes, recebendo dietas com 25,0 e 27,4% de proteína bruta na matéria seca, respectivamente, e BARTON et al. (1996) comparando dietas com 13% e 20% de proteína bruta, ordem de lactação e as raças Holandesa e Jersey, não verificaram interação significativa entre a concentração plasmática de progesterona, dieta e raça, no dia da inseminação artificial. Vacas de segunda ou mais lactações, que receberam dietas com 13% de proteína bruta, apresentaram concentrações plasmáticas de progesterona mais altas, nos dias 15, 10, e 5, do ciclo estral que antecedeu a inseminação artificial, comparadas às primíparas do mesmo tratamento. No tratamento com 20% de proteína bruta, não houve diferenças entre multíparas e primíparas.

Segundo BUTLER (1998), uma possível explicação das diferenças encontradas na literatura pode ser o status lactacional das vacas nos diferentes estudos. As concentrações plasmáticas de progesterona aumentam

progressivamente do primeiro para o terceiro ciclo estral no pós-parto, sendo que esse aumento pode ser influenciado pelo balanço energético negativo (BEN). Quando vacas são alimentadas com excesso de proteína ou compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), no início da lactação, o BEN é exacerbado, dado o custo energético da detoxificação da amônia que escapa do rúmen (STAPLES et al., 1993) resultando num aumento do "clearance" da progesterona, e conseqüentemente redução da fertilidade.

2.7. Proteína, NNP e energia na dieta e aspectos reprodutivos do pós-parto

O fornecimento de uréia na alimentação de ruminantes tem sido relacionado a problemas reprodutivos, mesmo nas quantidades comumente recomendadas, o que tem limitado o seu uso por um elevado número de produtores. Todavia, a literatura mostra que diferentes níveis de uréia ou de proteína, a fonte protéica e sua degradabilidade ou o conteúdo de N-total da dieta podem influenciar ou não alguns aspectos reprodutivos, e também que outros fatores adversos podem potencializar esses efeitos.

Word et al. (1969), citados por BOIN (1984), verificaram que vacas experimentalmente intoxicadas por uréia e recuperadas por meio de tratamento estratégico, com ácido acético, não apresentaram maior incidência de abortos e partos distócicos, e que a taxa de gestação, calculada 165 dias após a cobertura, também não foi influenciada pela intoxicação, bem como o peso da cria ao parto e a desmama. Também Patton et al. (1970), citados por BOIN (1984), observaram que a substituição do farelo de soja por uréia, com NNP, fornecendo 45% do N-total, não influenciou o desempenho reprodutivo de novilhas leiterias à primeira cobertura.

ERB et al. (1976) forneceram dietas com 12% de PB para novilhas entre 7 e 12 meses de idade, até a metade da gestação, nas quais a uréia substituiu 0%, 50% e 100% do farelo de soja, correspondendo a 0, 22% e 45% do N-total da dieta na forma de NNP. A partir da metade e até duas semanas antes do parto previsto, a uréia substituiu 0%, 8% e 16% do nitrogênio total da dieta e, durante a

lactação, foi utilizada uma dieta contendo 14% de PB e a substituição do N-total por uréia foi de 0%, 18% e 36%. Na primeira lactação, os consumos médios de uréia foram de 0, 145 e 290g/animal/dia, respectivamente, atingindo um consumo máximo de 180 a 360g, no pico da lactação, para os tratamentos com menor e maior teor de uréia, respectivamente. Foi verificada uma incidência de 14% de aborto, quando na dieta a uréia substituiu 100% do farelo de soja. Em outro experimento, novilhas holandesas alimentadas com dietas contendo 0 (controle) e 36% do N-total fornecido pela uréia, após três partos consecutivos, observou-se maior incidência de retenção de placenta (37% e 20%) e menor taxa de gestação após duas inseminações (65% e 77%) nos animais que consumiram uréia, permitindo concluir que nas dietas com silagem de milho e gramínea associada à leguminosa, a substituição do farelo de soja do concentrado por uréia e milho (uréia equivalente a aproximadamente 1,8% da matéria seca da ração total) afetou a eficiência reprodutiva de vacas nas três primeiras lactações. Entretanto, o uso de 50% de substituição, equivalente a 0,9% de uréia na dieta completa, proporcionou desempenho reprodutivo pelo menos igual ao de animais que não consumiram uréia.

O efeito de dietas contendo elevadas quantidades de proteína degradável na recrudescência da atividade ovariana é semelhante ao do status energético negativo de vacas no início da lactação e do pós-parto. A extensão do BEN é um importante fator que afeta o retorno da atividade ovariana no pós-parto. BUTLER e SMITH (1989) verificaram que a primeira ovulação no pós-parto foi retardada, em média, 2,75 dias para cada 1 Mcal de status energético negativo, durante os primeiros 20 dias do pós-parto, sugerindo que o excesso de proteína na dieta resulta num custo energético significativo para a vaca ou um comprometimento das vias metabólicas de produção de energia.

O controle endócrino da reprodução nos animais domésticos é mediado pelo eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano. Em resposta a estímulos externos, fatores ambientais ou demanda fisiológica do organismo, o hipotálamo produz o hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH), o qual estimula a síntese e secreção adenohipofisária do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio

estimulante do crescimento folicular (FSH). As gonadotropinas, por sua vez, regulam a síntese e a secreção ovariana de estrógeno e de progesterona, pelos folículos ovarianos e pelo corpo lúteo, respectivamente. Os esteróides ovarianos exercem efeitos de retroalimentação negativa ou positiva nos centros cerebrais superiores, hipotálamo e, ou adenohipófise, regulando as secreções de gonadotropinas e mantendo os ciclos reprodutivos. A concepção e o estabelecimento da gestação envolvem todos os tecidos dos órgãos reprodutivos e são conseqüência de uma progressão ordenada de eventos inter-relacionados: desenvolvimento folicular ovariano resultando na ovulação, fertilização do oócito, transporte e desenvolvimento embrionário, reconhecimento materno da gestação e implantação.

Clarke et al., em 1984, citados por PHOGAT et al. (1997), sugeriram que a descarga pulsátil de GnRH é essencial para a secreção de LH. Em estudos posteriores, Moenter et al. (1992), também citados por PHOGAT et al. (1997), verificaram que, paralelamente à secreção de LH, o GnRH também é liberado durante a fase luteal do ciclo estral, em menor frequência pulsátil. Com a progressão da fase folicular, ocorre aumento da frequência e redução da amplitude dos pulsos de GnRH, seguido de uma vigorosa descarga, coincidente à onda pré-ovulatória de LH. Porém, as descargas máximas de GnRH, continuaram após o término da onda de LH. Segundo Crowder e Nett (1984) citados por PHOGAT et al. (1997), o término da onda de LH, antes do GnRH, pode ser devido à exaustão do estoque adenohipofisário de LH liberável, ou a dessensibilização da adenohipófise (NETT et al., 1981).

O controle dos esteróides gonadais sobre as secreções de gonadotropinas, por meio de retroalimentação positiva ou negativa no hipotálamo e na adenohipófise, pode ser mediado pela modulação das secreções de GnRH ou por alterações na responsividade da adenohipófise ao GnRH, e variam em função do estágio do ciclo estral. Nas fêmeas bovinas, assim como nas suínas, ovinas e primatas, ocorre uma elevação das concentrações de LH no início do estro, induzido pelo estradiol secretado por folículos pré-ovulatórios, resultando num aumento da responsividade adenohipofisária ao GnRH, que pode ser proveniente

de uma elevação do número de receptores celulares para o hormônio (GREGG e NETT, 1989) bem como um aumento na síntese de gonadotropinas [Gharib et al. (1990), citados por PHOGAT et al. (1997)].

Há evidências de que o estradiol também possui retroalimentação negativa na secreção tônica de LH, visto que sua concentração basal é menor em animais intactos, quando comparado a ovariectomizados da mesma espécie. A regulação do LH pelo estradiol pode ser em nível hipotalâmico ou hipofisário. Carity et al. (1989), citados por PHOGAT et al. (1997), verificaram rápida redução nas concentrações de LH, após administração de estradiol, enquanto os pulsos de GnRH continuaram, sugerindo uma redução da responsividade hipofisária e subsequente redução nos pulsos de GnRH, indicando um efeito adicional tardio, em nível hipotalâmico. Os pulsos de LH são mais freqüentes na fase folicular que na luteal, sendo uma consequência da remoção da retroalimentação negativa da progesterona.

Durante a gestação, elevadas concentrações circulantes de progesterona e estradiol, no fim do período gestacional, resultam numa retroalimentação negativa no eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano, acarretando inibição da síntese de LH pela adenohipófise. Em decorrência da inibição da síntese de LH por longo período, os estoques adenohipofisários da gonadotropina são reduzidos e a liberação basal de LH é diminuída.

Para NETT (1987), durante o período pós-parto, ocorrem duas etapas distintas de recuperação do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano. A primeira fase, da segunda a quinta semana após o parto, é caracterizada por descargas relativamente infreqüentes de GnRH, com pulsos intervalados de 4-8 h, estimulando a biossíntese de LH. Nessa freqüência, os pulsos de GnRH estimulam aumento das taxas de síntese de LH. Apenas quantidades pequenas da gonadotropina recém-sintetizada são secretadas, ocasionando restauração dos estoques adenohipofisários de LH. Como a magnitude dos pulsos de LH é dependente da quantidade do hormônio estocado na glândula, durante a fase de recuperação, a secreção pulsátil de LH é insuficiente para induzir a maturação folicular. Somente após a recarga da concentração normal dos estoques

adenohipofisários de LH é que os pulsos de LH são liberados com amplitude suficiente para estimular o crescimento folicular, correspondendo ao início da segunda fase de recuperação do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano. O reinício do crescimento folicular e conseqüentemente das secreções de estradiol sugerem que o primeiro efeito do esteróide seja o estímulo a biossíntese de seus próprios receptores no hipotálamo e na hipófise, aumentando a sensibilidade desses tecidos ao efeito de retroalimentação positiva do estradiol.

Segundo OPSOMER et al. (1996), as vacas podem apresentar níveis crescentes de FSH, a partir do quinto dia no pós-parto, resultando no crescimento folicular, na secreção de estradiol e no aparecimento do primeiro folículo dominante, próximo ao 11^o dia pós-parto. O estrógeno produzido pelos folículos exerce um efeito retroalimentação positiva na adenohipófise, estimulando a secreção de LH e o aumento no número de receptores hipofisários para GnRH.

A exposição de um folículo dominante, produzindo estrógeno, a pulsos freqüentes de LH, é a chave para a maturação final e ovulação desse folículo (ROCHE et al., 1992), resultando na primeira ovulação no pós-parto, que, na maioria das vezes, representa o reinício da atividade ovariana luteal cíclica. Para SAVIO et al. (1990), são necessários, no mínimo, seis dias para o crescimento, a maturação final e a ovulação de folículos ovarianos de vacas em anestro pós-parto.

Para BARTON et al. (1996), o reinício do desenvolvimento folicular ovariano no pós-parto, incluindo recrutamento e seleção do primeiro folículo dominante, ocorreu independente do status metabólico do animal e, aparentemente, em resposta a fatores relacionados ao metabolismo energético, isto é, um declínio do estradiol gestacional e um aumento das concentrações periféricas de FSH. Também foi observado que a capacidade estrogênica de folículos dominantes é diretamente relacionada a sua competência ovulatória, durante a primeira onda de crescimento folicular no período pós-parto, enquanto falhas na ovulação foram associadas aos reduzidos níveis plasmáticos de estradiol e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), bem como um atraso no ponto mínimo do balanço energético negativo (BEN), permitindo

concluir que o intervalo anovulatório no pós-parto é adversamente estendido, quando não ocorre a ovulação do primeiro ou do folículo subsequente, e que existem mecanismos hormonais interagindo ou não a metabólicos que governam o reinício da atividade ovariana no pós-parto.

Com o objetivo de conhecer os efeitos da restrição da energia da dieta sobre a performance reprodutiva de vacas de corte, BURNS et al. (1997) forneceram dietas isonitrogenadas, contendo energia para prover ganho (controle) ou perda de peso corporal, verificando que as menores concentrações de IGF-1 das vacas submetidas à restrição resultaram em alterações no crescimento folicular e na presença de corpo lúteo subfuncional. Todavia, as baixas concentrações de IGF-1 podem reduzir as células da granulosa, uma vez que o fator atua como regulador da proliferação e diferenciação dessas células, resultando em menores folículos ovulatórios e, subsequentemente, pequenos corpos lúteos. Há evidências da presença de receptores para IGF-1 nas células luteais, e a adição do fator a células luteais em cultivo resultou em aumento das concentrações de progesterona (Sauerwein et al. (1992), citados por BURNS et al., 1997).

A atividade ovariana no pós-parto nas vacas leiteiras é diretamente dependente da disponibilidade dos nutrientes em relação a sua utilização para a lactação. O retorno dos ciclos estrais ovarianos ocorrem durante as primeiras semanas de lactação, com a primeira ovulação no pós-parto ocorrendo, em média, entre 15 e 49 (BUTLER E SMITH, 1989) e 17 e 42 dias no pós-parto (BUTLER e ELROD, 1991), podendo esse período ser prolongado em vacas de alta produção, e, ou, em animais com dietas desbalanceadas.

SENATORE et al. (1996) verificaram que as taxas de gestação após a primeira inseminação artificial foram positivamente relacionadas ao número de ovulações antes da inseminação, ao balanço energético durante o primeiro mês após o parto, ao menor número de dias entre o parto e a primeira ovulação e ao maior peso corporal ao parto.

GARCIA-BOJALIL et al. (1998) observaram que vacas alimentadas com dietas contendo 15,7% de PNDR perderam mais peso (30 kg) e tiveram a

primeira fase luteal após o parto mais tardia (13,4 dias) que vacas que receberam dietas contendo 11,1% de PDR.

No início da lactação, a taxa de aumento da produção de leite excede a quantidade de nutrientes que é ingerida, dado o consumo subótimo de matéria seca. A deficiência na ingestão de energia líquida em relação a sua utilização para manutenção e produção de leite resulta no Balanço Energético Negativo (BEN). O BEN é diretamente relacionado ($r = 0.80$) à produção de leite, e, freqüentemente é máximo durante as duas ou três primeiras semanas de lactação, resultando em mobilização de reservas e perdas de peso corporal que podem persistir por 10 a 12 semanas de lactação (BUTLER e ELROD, 1991).

Vacas subalimentadas no período pós-parto possuem maior mobilização de reservas corporais e ausência de atividade ovariana, provavelmente por causa da supressão da liberação pulsátil de LH (RANDEL, 1990). Portanto, o efeito do BEN pode ser comparado ao da subnutrição, uma vez que, em função da severidade que ocorre, há um prolongamento do número de dias transcorridos do parto até a primeira ovulação, acompanhada ou não das manifestações de estro.

O restabelecimento dos padrões da secreção pulsátil de LH é fundamental para o retorno da atividade ovariana, bem como o reinício da ciclicidade no pós-parto. O mecanismo pelo qual o balanço energético negativo líquido retarda a atividade ovariana, de acordo com BUTLER e SMITH (1989), provavelmente seja um sinal que inibe a secreção pulsátil de LH. Para esses autores, o sinal emitido pelo animal são os teores circulantes de ácidos graxos não-esterificados (AGNE).

CANFIELD et al. (1990) forneceram dietas isocalóricas, contendo 19% de PB formuladas para atender as exigências de PNDR e exceder as de PDR, a primíparas e múltiparas e não observaram efeito das dietas no número de dias até o ponto mínimo do balanço energético negativo e na média do BEN nos primeiros 14 dias pós-parto. Verificaram que novilhas tiveram uma recuperação mais rápida do que vacas, expressando menor severidade do balanço negativo em animais que ainda estavam em crescimento. O número de dias transcorridos do parto até a primeira ovulação no pós-parto foi correlacionado ao dia do balanço

energético negativo mínimo em novilhas ($r = 0.81$), vacas ($r = 0.63$) em ambas categorias ($r=0.75$). O ponto mínimo do BEN ocorreu aos 15 dias pós-parto, enquanto a primeira ovulação foi verificada por volta do 29^o dia pós-parto. A média de 14 dias entre o ponto mínimo do BEN e a primeira ovulação pós-parto foi semelhante nos experimentos de BUTLER et al. (1981).

SENATORE et al. (1996), trabalhando com primíparas, verificaram que o intervalo do parto à primeira ovulação foi, em média, 30 dias, correspondendo a 12 dias após o ponto mínimo do BEN. Em ambos os estudos, a primeira ovulação pós-parto ocorreu quando as vacas ainda apresentavam BEN, mas sempre após o ponto mínimo de sua curva, quando os animais estavam em fase de recuperação, tendendo ao balanço energético de equilíbrio. Verificaram também que os teores de AGNE na corrente sanguínea foram relacionados com balanço energético. O metabólito foi considerado o mais provável sinal para o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano reativar a sua sintonia durante a fase de retorno da atividade cíclica no puerpério e descartaram a função da glicose, uma vez que seus teores permaneceram homeostaticamente estáveis durante o período pós-parto.

Staples et al. (1990) citados por BUTLER e ELROD (1991) verificaram que vacas que apresentaram anestro por mais de 63 dias pós-parto consumiram menos matéria seca, tiveram maior perda de peso corporal e menor produção de leite, resultando num status energético negativo maior que vacas ciclando. Os animais que retornaram a atividade ovariana mais cedo exibiram menores perdas de energia, a partir de reservas corporais, e menores teores de AGNE.

BUTLER e ELROD (1991) consideraram que além da influência primária do BEN sobre a atividade ovariana, por meio do bloqueio dos estímulos gonadotrópicos, outros efeitos diretos na função ovariana poderiam estar envolvidos, como as concentrações plasmáticas de insulina, que estão diretamente relacionadas ao balanço energético de vacas em lactação. Atribuíram ao hormônio a característica de um regulador metabólico do desenvolvimento folicular ovariano no pós-parto. Quando o balanço energético tende ao equilíbrio, com o aumento do consumo de matéria seca, ocorre o primeiro sinal metabólico que resulta em aumento dos pulsos de LH, e também aumento da disponibilidade

de insulina, habilitando os folículos ovarianos a responderem aos estímulos gonadotrópicos.

Para SPICER et al. (1993), a insulina é o principal hormônio metabólico estimulador do desenvolvimento das células foliculares, e o IGF-1, cujas concentrações foram reduzidas em vacas submetidas à restrição de energia na dieta (BURNS et al., 1997), regulam a proliferação e diferenciação das células da granulosa de folículos em desenvolvimento.

Trabalhando com vacas de alta produção, recebendo dietas na forma de mistura completa, na ração volumoso concentrado de 60:40, contendo 1,47 a 1,86 Mcal/kg de MS, visando atender as exigências nutricionais de proteína para manutenção e produção média de leite de 40 kg, ZUREK et al. (1995) observaram que as primeiras ovulações ocorreram 24,1 dias pós-parto, correspondendo à média de 15,4 dias após o balanço energético negativo mínimo. O menor tempo transcorrido entre a primeira ovulação pós-parto e o ponto mínimo do BEN foram oito dias, sugerindo ser o limiar necessário para atividade do sistema sinalizador e o tempo para o crescimento folicular, a maturação final de folículos pré-ovulatórios e a ovulação. Por meio da determinação da concentração plasmática de 3-metilhistidina, foram detectados aumentos na mobilização de proteína muscular, durante as três primeiras semanas do pós-parto, relacionados ao balanço energético negativo. As elevadas concentrações plasmáticas da enzima aspartato aminotransferase foram inversamente correlacionadas ao BEN e diretamente às concentrações de 3-metilhistidina e de LH, e decresceram significativamente 9 a 12 dias antes da primeira ovulação no pós-parto. Esse período foi considerado suficiente para o início da atividade ovariana, inclusive crescimento e maturação de um folículo do primeiro pool recrutado.

O declínio da concentração da enzima aspartato aminotransferase também sugere uma redução da utilização de aminoácidos como precursores gliconeogênicos, por causa da menor utilização da proteólise muscular como substrato energético e maior disponibilidade de propionato, bem como de glicose para o trato gastrointestinal, cerca de 12 dias antes da primeira ovulação no pós-parto. O propionato pode estimular o aumento da concentração plasmática de

insulina, que é necessária para um aumento dos receptores de IGF-1, sendo o fator também considerado um outro possível sinal metabólico para o retorno da atividade ovariana no pós-parto. Durante o período de recuperação do ponto mínimo do balanço energético até a primeira ovulação no pós-parto, foi observado baixa concentração de IGF-1, que foi positivamente relacionada com a frequência pulsátil de LH. A redução da utilização de aminoácidos para produção de glicose foi associada à aproximação da primeira ovulação no pós-parto e o aumento da concentração de LH (ZUREK et al., 1995).

JORDAN e SWANSON (1979) encontraram como efeito de alta ingestão de proteína, redução da concentração de progesterona, aumento da concentração de LH e redução de responsividade ao LHRH.

Por outro lado, BLAUWIEKEL et al. (1986) compararam os efeitos de dietas contendo 15 ou 25% de PB em vacas não-lactantes, ovariectomizadas ou inteiras e verificaram que as concentrações basais de LH tenderam a ser menores durante a fase folicular e foram significativamente mais altas durante a fase luteal nos animais que receberam 25% de proteína na dieta. Também, não foram observadas diferenças nas concentrações de progesterona, e de LH liberados em resposta a hormônio liberador de hormônio luteinizante (LHRH). Nas vacas intactas e nas ovariectomizadas, os padrões da secreção pulsátil de LH, o conteúdo adenohipofisário do hormônio e o número de receptores para LHRH não foram influenciados pelo conteúdo dietético de proteína. As diferenças dos resultados podem ter sido uma consequência da frequência das coletas de sangue que no experimento de JORDAN e SWANSON (1979) não foi eficiente na diferenciação do modo de secreção basal ou tônico do hormônio luteinizante.

HOWARD et al. (1987) não observaram diferenças no intervalo do parto ao primeiro estro no pós-parto, 40,5 e 38,2 dias, no número de dias abertos, 80,4 e 79,9, nas médias do número de serviços/concepção 1,55 e 1,47, e nas taxas de gestação 86,5% e 84,8% de vacas recebendo dietas com 15% e 20% de PB, respectivamente. CARROL et al. (1988) também não verificaram diferenças nos mesmos parâmetros reprodutivos, entre animais recebendo dietas contendo 13 ou 20% de PB e fornecidas na forma de mistura completa ou volumoso e

concentrado separadamente. Entretanto, o segundo trabalho considerou uma média de 90% de eficiência nas observações de estro, resultando em menores números de dias do parto ao primeiro estro no pós-parto (24 e 27) e do primeiro serviço (55 e 59) para os grupos baixo e alto consumo protéico, respectivamente. Já o intervalo do parto à primeira ovulação estimada estendeu por 22 dias nos animais mais velhos que receberam 20% de PB, quando comparado àqueles que receberam menor teor de proteína na dieta, sugerindo uma interação entre ingestão de proteína e número de lactações.

A proposta dos experimentos de CARROL et al. (1988) de estudar os impactos da proteína dietética sobre a performance reprodutiva de vacas no pós-parto, mantidas em condições ótimas de manejo sanitário e reprodutivo, mostrou que, em condições de um manejo reprodutivo eficiente, dieta contendo 20% de PB na matéria seca não teve efeito significativo na fertilidade. Entretanto, não foi possível descartar os efeitos biológicos de alta ingestão de proteína ou de NNP na reprodução, sugerindo que outros fatores, como o número de primíparas distribuídas em cada tratamento, o estado de saúde e a idade dos animais, podem influenciar em experimentos que utilizam vacas leiteiras no pós-parto. Os resultados semelhantes entre dias abertos e número de serviços/concepção sugeriram que outros fatores, além de teores de proteína na dieta, podem ser os responsáveis por diferenças na literatura envolvendo aspectos nutricionais e reprodutivos de vacas no pós-parto.

FERGUSON et al. (1988) relataram uma redução de 50% para 20% nas taxas de concepção ao primeiro serviço, em um rebanho de vacas leiteiras de alta produção, previamente caracterizado por boa eficiência reprodutiva, com média de 1,7 serviços/concepção e de 12,5 meses de intervalo de partos, quando se aumentou a proteína da ração para 18,5% de PB na matéria seca da dieta completa. A alteração no manejo nutricional, com objetivo de fornecer um incremento adicional de proteína e sustentar elevadas produções de leite no início da lactação, quando o consumo de matéria seca está reduzido, resultou em teores de NUP de 23 mg/dL, tendo sido relacionado o excesso da ingestão de PDR ao declínio da fertilidade.

Nos bovinos, teor de NUP, acima de 20 mg/dL, pode indicar que as rações contenham excesso de PB ou que a quantidade excedente de proteína é degradável no rúmen. Após a reformulação das dietas, para prover um balanço ótimo de PDR e PNDR, 62% e 38%, respectivamente, as taxas de concepção retomaram os percentuais anteriores à alteração no manejo nutricional, em torno de 50, sugerindo que os efeitos negativos do excesso de proteína na dieta sobre a fertilidade podem ser eliminados por meio do manejo nutricional adequado (FERGUSON et al. 1988).

As recomendações do NRC (1989), para vacas leiteiras de alta produção, são dietas contendo 17% a 18% de PB, sendo 35% de PNDR e 65% de PDR. Em decorrência do consumo de matéria seca, reduzido no início da lactação, a máxima síntese de proteína microbiana não é atingida até 8 a 12 semanas pós-parto. Assim, recomendações um pouco mais elevadas, da ordem de 18,5% a 19% de PB na dieta, durante as primeiras semanas de lactação, visam compensar o consumo limitado de matéria seca. Para prover um fluxo ideal de aminoácidos essenciais para o intestino delgado, a elevação das porcentagens de PNDR, para 35% a 40% da PB, é também recomendada, uma vez que pode reduzir os efeitos da produção de proteína microbiana, a qual só atinge o potencial máximo quando o consumo de matéria seca é ótimo.

Por outro lado, CANFIELD et al. (1990) verificaram taxas de concepção ao primeiro serviço de 31% em vacas que receberam dietas contendo 19% de PB e excesso de PDR, e de 48% para os animais recebendo 13% de PB. A diferença foi atribuída aos efeitos negativos de elevados teores de NUP na fertilidade durante o pós-parto. Os animais que ficaram gestantes tiveram teores de NUP menores que 18,6 mg/dL.

BARTON et al. (1996) não observaram efeitos interativos entre idade e número de lactações e o fornecimento de dietas contendo 13% ou 20% de PB na matéria seca. As variações no peso corporal e nos escores de condição corporal, durante as quinze primeiras semanas do pós-parto, também não foram influenciadas pela dieta, pelo número de lactações ou pelas raças Holandesa e Jersey. Animais alimentados com dietas contendo 20% de PB tiveram maior

número de dias abertos. As múltiparas apresentaram um período de serviço 17,5 dias mais longos e foram necessários 0,42 serviços/concepção a mais que para primíparas. As taxas de concepção de vacas de primeira lactação (67%) e vacas mais velhas (20%) evidenciaram interação entre os efeitos da dieta e sugeriram que a capacidade de os animais responderem a agentes estressores, durante o período reprodutivo, pode ser reduzida em animais mais velhos, expressa por um maior impacto negativo sobre o sistema imunológico.

BLANCHARD et al. (1990) estudaram o efeito de dietas para vacas em lactação, inseridas num programa de transferência de embriões, formuladas para serem isocalóricas e isonitrogenadas, contendo 16% de PB, e 64 ou 73% de PDR. Verificaram, nesse estudo, que a porcentagem de embriões transferíveis, coletados de doadoras que ingeriram maiores quantidades de PDR, foi menor (44,2%) que no grupo que consumiu 64% de PDR (66,9%). Entretanto, o número de embriões transferíveis (4,5 vs. 5,5), embriões não-transferíveis (4,0 vs. 3,0) e estruturas não-fertilizadas (3,1 vs. 2,3) não diferiram entre doadoras que receberam 73% e 64% de PDR, respectivamente.

ELROD E BUTLER (1993) observaram taxas de fertilização de 82% em novilhas alimentadas com dietas com conteúdo de proteína, para atender às exigências nutricionais; e de 61% nos animais que receberam dietas excedendo os requerimentos de PDR em 50%. Entretanto, sete das dezesseis novilhas, que receberam excesso de PDR e que não ficaram gestantes, apresentaram um prolongamento da fase luteal, resultando em intervalos de estros de 26 a 36 dias, sugerindo morte embrionária ocorrida após o período crítico (15 a 16 dias pós-cobertura) do reconhecimento materno da gestação.

Por outro lado, avaliando alguns parâmetros da dinâmica folicular e da resposta superovulatória de vacas não-lactantes, GARCIA-BOJALIL et al. (1994) não constataram efeitos de dietas contendo 12,3% ou 27,4% de PB, com ingestão de 70,7% de proteína de alta degradabilidade, fornecida na forma de uréia e, ou, farelo de soja, no diâmetro máximo de folículos pré-ovulatórios (16,4 vs. 15,8 mm), no dia da emergência do folículo dominante (2,2 vs. 2,1d), no tempo necessário para o folículo dominante atingir o diâmetro máximo

(7,3 vs. 7,5d) e no diâmetro máximo de folículos dominantes (14,0 vs. 14,4 mm) para animais recebendo quantidade de proteína adequada ou em excesso, respectivamente. Quando submetidas ao tratamento superovulatório, nenhuma diferença foi verificada no número e na porcentagem de folículos pré-ovulatórios, anovulatórios e ovulatórios. Também não foi verificada diferença nas médias do número total de embriões recuperados (aproximadamente 50%), do número e da porcentagem de embriões normais, de anormais, de estruturas não-fertilizadas, e o número de embriões transferíveis ou desclassificados. A concentração plasmática de insulina não variou em função das dietas, durante a primeira onda de crescimento folicular, após a sincronização do cio e durante a indução da superovulação. Entretanto, a concentração de insulina foi mais elevada, após a cobertura, em vacas recebendo alto teor de proteína na dieta. A concentração plasmática de progesterona não diferiu, e a de estradiol, durante a superovulação, tendeu a ser menor nas vacas consumindo quantidades adequadas de proteína.

GARCIA-BOJALIL et al. (1998) utilizaram dietas formuladas para exceder as exigências de PDR, aproximadamente 11,1% e 15,7% da matéria seca, com farelo de soja e uréia, a principal fonte de nitrogênio nas dietas, contendo 15,7% de PDR. Os autores verificaram que a involução da cérvix não foi influenciada pelas dietas, e que a involução uterina apresentou uma regressão mais lenta nos animais que consumiram dietas de menor degradabilidade (11,1% PDR) acrescidas de sais de cálcio e ácidos graxos de cadeia longa (Megalac[®]).

O aumento da degradabilidade da proteína da dieta resultou em menor média de folículos (1,7 vs. 2,1) e tamanho do maior folículo (18,9 vs. 24,8 mm), enquanto a suplementação com sabões de Ca não influenciou os parâmetros. O número de corpos lúteos (0,7 vs. 1,1), o tamanho do maior corpo lúteo (11,8 vs. 17,6mm) e a área luteal total (12,2 vs. 18,4mm) também foram menores nos animais que receberam dietas contendo 15,7% de PDR. O início da atividade luteal foi 13,4 dias mais tardia (38,6 vs. 25,2), a primeira fase luteal mais curta (10,4 vs. 18,1), a concentração de progesterona mais baixa (5,8 vs. 8,2 ng/dL) e foram observados menores números de fases luteais nos primeiros 50 dias no pós-parto (1,2 vs. 1,6), nas vacas que consumiram dietas contendo 15,7% de PDR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTON, B. A., ROSARIO, H. A., ANDERSON, G. W. et al. 1996. Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 79(12): 2225-2236.
- BEAM, S.W., BUTLER, W.R., 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.*, 56:133-142.
- BLANCHARD, T.J., FERGUSSON, L., LOVE, T., et al. 1990. Effect of dietary crude protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *Anim. J. Vet. Res.* 51(6): 905-908.
- BLAUWIEKEL, R., KINCAID, R.L., REEVES, J.J. 1986. Effect of high crude protein on pituitary and ovarian function in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 69(2): 439-446.
- BOIN, C. 1984. Efeitos desfavoráveis da utilização de uréia. In: 2º Simpósio sobre Nutrição de Bovinos, 1984, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: FEALQ, 1984, p.25-79.
- BURNS, P.D., SPITZER, J.C., HENRICKS, D.M. 1997. Effect of dietary energy restriction on follicular development and luteal function in nonlactating beef cows. *J. Anim. Sci.*, 75:1078-1086.

- BUTLER, W.R. 1998. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81 (9): 2533-2539.
- BUTLER, W.R., CALAMAN, J.J., BEAM, S.W. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 74: 858-865.
- BUTLER, W.R., CHERNEY, D.J.R., ELROD, C.C. 1995. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. Department of Animal Science, Cornell University.
- BUTLER, W.R., ELROD, C.C. 1991 Nutrition and reproduction relationships in dairy cattle. In *Proc. Cornell Nutricional Conference*, p. 73-82.
- BUTLER, W.R., EVERETT, R.W., COPPOCK, C.E. 1981. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, 53: 742-748
- BUTLER, W.R., SMITH, R.D. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function. *J. Dairy Sci.*, 72:767-783.
- CANFIELD, R.W., SNIFFEN, C.J., BUTLER, W.R. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73(9): 2343-2349.
- CARROL, D.J., BARTON, B.A., ANDERSON, G.W. et al. 1988. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71(12): 3471-3481.
- COELHO DA SILVA, J.F., LEÃO, M.I. 1979. *Fundamentos de Nutrição dos Ruminantes*. Livroceres, Piracicaba. 380p.
- ELDON, J., ÓLAFSSON, Th., THORSTEINSSON, Th. 1988. The relationship between blood and fertility parameters in post partum dairy cows. *Acta Vet. Scand.*, 29 (3-4): 393-399.
- ELROD, C.C. 1995. High dietary protein and high fertility: can we have both? In: Cornell Cooperative Extension, Waterloo, NY, p. 32-39.
- ELROD, C.C., BUTLER, W.R. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.*, 71: 694-701.

- ELROD, C.C., VAN AMBURG, M., BUTLER, W.R. 1993. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.*, 71: 702-706.
- ERB, R.E., BROWN JR., C.M., CALLAHAN, C.J. et al. 1976. Dietary urea for dairy cattle. II. Effect on functional traits. *J. Dairy Sci.*, 59(4): 656-667.
- FERGUSON, J.D., BLANCHARD, T., GALLIGAN, D.T., et al. 1988. Infertility in dairy cattle fed high percentage of protein degradable in the rumen. *JAVMA.*, 192 (5): 659-662.
- FINDLAY, J.K. 1994. Peripheral and local regulators of folliculogenesis. *Reprod. Fertil.*, 6:127-139.
- FOLMAN, Y., NEWMARK, H., KAIM, M. et al. 1981. Performance, rumen and blood metabolites in high-yielding cows fed varying protein percents and protected soybeans. *J. Dairy Sci.*, 64:759-768.
- GARCIA-BOJALIL, C.M., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. et al. 1994. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77 (9): 2537-2548.
- GARCIA-BOJALIL, C.M., STAPLES, C.R., RISCO, C.A., et al. 1998. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: reproductive responses. *J. Dairy Sci.*, 81(5):1385-1395.
- GREGG, D.W., NETT, T.M. 1989. Direct effects of estradiol 17- β on the number of gonadotropin-releasing hormone receptors in the ovine pituitary. *Biol. Reprod.*, 40: 288-293.
- HOWARD, H.J., AALSETH, E.P., ADAMS, G.D. et al. 1987. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 70(8): 1563-1571.
- HOLTER, J. B., COLOVOS, N.F., DAVIS, H.A. et al. 1968. Urea for lactating dairy cattle. III. Nutritive value of rations of corn silage plus concentrate containing various levels of urea. *J. Dairy Sci.*, 51(8): 1243-1248.
- HUBER, J.T. 1984. *Uréia ao nível do rúmen*. In: 2º Simpósio sobre Nutrição de Bovinos, 1984, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1984, p.25-79.

- HUBER, J.T., KUNG, J.R.L. 1981. Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 64(6): 1170-1195.
- JORDAN, E.R., CHAPMAN, T.E., HOLTAN, D.W. et al. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 66(9): 1854-1862.
- JORDAN, E.R., SWANSON, L.V. 1979. Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein, and albumin in the high-producing dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 62(1): 58-63.
- KAIM, M., FOLMAN, Y., NEUMARK, H., et al. 1983. The effect of protein intake and lactation number on post-partum body weight loss and reproductive performance of dairy cows. *Anim. Prod.* 37: 229-235.
- MUTSVANGWA, T. BUCHANAN-SMITH, J.G., McBRIDE, B.W. 1997. Effects of ruminally degradable nitrogen intake and in vitro addition of ammonia and propionate on the metabolic fate of L- [¹⁴C] alanine and L- [¹⁵N] alanine in isolated sheep hepatocytes. *J. Anim. Sci.*, 75: 1149-1159.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1989. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 6ed. Washington: National Academy. 242p.
- NETT, T.M. 1987. Function of the hypothalamic- hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *J. Reprod. Fert., Supp*, 34 (1987): 201-213.
- NETT, T.M., CROWDER, M.E., MOSS, G.E. et al. 1981. GnRH-receptor interaction. V-Down regulation of pituitary receptors for GnRH in ovariectomized ewes by infusion of homologous hormone. *Biol. Reprod.* 24:1145-1155.
- OPSOMER, G., MITJEN, P., CORYN, M. et al. 1996. Post-partum anoestrus in dairy cows: a review. *Vet. Quater.*, 18:68-75.
- PHOGAT, J.B., SMITH, R.F., DOBSON, H. 1997. The influence of stress on neuroendocrine control of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Vet. Bulletin.*, 67(7): 552-567.
- RANDEL, R.D. 1990 Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.*, 68:853-862.

- ROCHE, J.F., CROWE, M.A., BOLAND, M.P. 1992. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 28:371-378.
- ROSELER, D.K., FERGUSON, C.J., SNIFFEN, C.J. et al. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk nonprotein nitrogen in holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 76(2): 525:534.
- SAVIO, J.D., BOLAND, M.P., HYNES, N., et al. 1990. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 88:569-579.
- SENATORE, E.M., BUTLER, W.R., OLTENACU, P.A. 1996. Relationships between energy and balance and post-partum ovarian activity and fertility in first lactation dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 62: 17-23.
- SIDDONS, R.C., NOLAN, J.V., BEEVER, D.E., et al. 1985. Nitrogen digestion and metabolism in sheep consuming diets containing contrasting forms and levels of N. *Br. J. Nutr.*, 54(1): 425-441.
- SONDERMAN, J. P., LARSON, L. L. 1989. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone and performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 72: 2179-2183.
- SPICER, L.J., ALPIZAR, E., ECHTERNKAMP, S.E. 1993. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. *J. Anim. Sci.*, 71: 1232-1241.
- STAPLES, C. R., GARCIA-BOJALIL, C. M., OLDICK, B.S. et al. 1993. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In: Proc. 4th Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp. Univ. Florida, Gainesville.
- VAN SOEST, P.J. 1994. *Nutritional ecology of ruminants*. 2.ed. Cornell University, Ithaca. 476p.
- VISEK, W.J. 1984. Ammonia: Its effects on biological systems, metabolic hormones and reproduction. *J. Dairy Sci.*, 67 (3): 481-498.
- WILSON, G., MARTZ, F. A., CAMPBELL, J.R. et al. 1975. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea for ruminants. *J. Anim. Sci.*, 41(5):1431-1437.

ZUREK, E., FOXCROFT, G.R., KENNELLY, J.J. 1995. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 78(9): 1909-1920.

1. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: desempenho produtivo e reprodutivo

RESUMO – O experimento foi realizado na Fazenda Experimental EPAMIG, localizada no município de Leopoldina - Minas Gerais. Foram utilizadas 15 vacas mestiças (holandês-gir) com peso médio de 511,8 Kg e escore corporal ao parto entre 3,5 e 4,5 (escala de 1 a 5) distribuídas em delineamento inteiramente casualizado sendo quatro animais no tratamento 1, 2 e 4 e três animais no tratamento 3. As dietas constituídas de volumoso (silagem de milho) e concentrado na proporção 60:40 foram fornecidas individualmente e à vontade e continham 0,0; 0,7; 1,4 e 2,1% de uréia correspondendo aos níveis de 2,08; 4,01; 5,76 e 8,07 de proteína bruta na forma de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), para os tratamentos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Durante o período experimental, em média de 115 dias, realizou-se a ultra-sonografia diariamente do 14^o ao 90^o dia do pós-parto; coletaram-se amostras de leite aos 30, 60 e 90 dias de lactação para determinação dos teores de gordura, e aos 30 dias coletou-se amostra de sangue para determinação dos teores plasmáticos de uréia. As médias do consumo de matéria seca, expressos em kg/dia e %PV, foram 16,04; 16,49; 11,64; e 11,93 kg/dia e 3,29; 3,09; 2,47; e 2,35% PV e da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura 21,18; 24,92; 20,63; e 18,83 kg/dia, para os níveis de NNP de 2,08; 4,01; 5,76; e 8,07, respectivamente, e reduziram com o aumento de NNP nas rações. As médias dos teores plasmáticos de uréia e N-uréia foram de 45,66 e 21,59 mg/dL e não foram influenciadas pelos teores de NNP das dietas. O número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral, a emergência da primeira e da segunda onda de crescimento folicular, a persistência do folículo ovulatório e o diâmetro máximo do folículo ovulatório não foram influenciados pelos níveis de NNP nas rações. A primeira ovulação e o primeiro estro no pós-parto foram verificados aos 55 e 81 dias, respectivamente, e o número de inseminações/concepção de 1,2 e período de serviço médio de 94 dias também não foram influenciados pelos níveis de NNP nas rações.

Palavras-chave: dinâmica folicular, pós-parto, uréia.

1. Urea for Postpartum Dairy cows: Productive and Reproductive Performance

ABSTRACT – The experiment was done in the EPAMIG Experimental Farm, located in the Leopoldina county – Minas Gerais. Fifteen crossbred (Holstein-Gir) cows with an average weight of 511.8 Kg and body condition at parturition between 3.5 and 4.5 (1 to 5 scale) were allocated into an experiment in a complete randomized design, with four animals in the treatments 1, 2, and 4 and three in the treatment 3. The diets used were made up of corn silage and concentrate in the proportion of 60:40 and were fed individually and *ad libitum* and their contents in percentage of urea were: 0.0, 0.7, 1.4 and 2.1 corresponding to the 2.08, 4.01, 5.76 and 8.07 of crude protein in the form of non-protein nitrogen (NNP) for the treatments 1, 2, 3 and 4, respectively. During the experimental period of 115 days, the animals were examined by the ultrasonography daily from the 14th to the 90th day postpartum. Milk samples were collected on days 30, 60 and 90 of lactation for fat determination and on day 30 for plasma urea analysis. The average dry matter (DM) intake expressed in kg/day and in percentage of body weight were: 16.04, 16.49, 11.64, 11.93 and 3.29, 3.09, 2.47 and 2.35, respectively. The milk production for 3.5% of fat were: 21.18, 24.92, 20.63 and 18.83 kg/day for the NNP levels of 2.08, 4.01, 5.76 and 8.07, respectively and decreased with the increase of NNP levels in the rations. The mean plasma levels of urea and N-urea were: 45.66 and 21.59 mg/dL, and were not affected by the levels of NNP in the diets. The number of follicular waves per cycle and the emergency of the first and second follicular waves and the persistency of the ovulatory follicle and its diameter were not affected by the levels of NNP in the diets. The first estrus and ovulation occurred on days 55 and 81, respectively and the number of IA/conception of 1.2 and the service period of 94 days also were not affected by the NNP levels of the rations.

Key words: follicular dynamics, postpartum, urea.

Introdução

O uso da uréia nas dietas de ruminantes pode representar uma alternativa para atender parte das exigências nutricionais de proteína, permitindo a substituição parcial dos concentrados protéicos nas rações para vacas em lactação e, conseqüentemente, reduzir os custos de produção.

O conteúdo de nitrogênio da uréia (N-uréia), que corresponde a 46,6% da molécula, pode ser medido no leite (NUL) e no sangue, nas frações plasmática (NUP) ou sérica (NUS), e tem sido utilizado com uma eficiente ferramenta para avaliar o equilíbrio de nitrogênio nos ruminantes, além de auxiliar o monitoramento dos efeitos do excesso de proteína e da deficiência de carboidratos fermentáveis ou da assincronia entre a degradabilidade da proteína e a disponibilidade de energia no rúmen, sobre a redução da fertilidade de vacas leiteiras no pós-parto. Para BUTLER (1998), concentrações de NUP acima de 19 mg/dL têm sido associadas a alterações do pH e modificações no ambiente uterino, constituindo as principais causas da redução da fertilidade de vacas no início da lactação.

O consumo de matéria seca e a produção de leite também podem ser influenciados pelos teores de NNP ou proteína da dieta. HOLTER et al. (1968) verificaram que a uréia fornecida até o nível de 2,5%, em misturas de concentrados, não apresentou efeito no consumo de alimento, na digestibilidade ou na produção de leite, enquanto WILSON et al. (1975) observaram decréscimo no consumo de matéria seca (MS) de uma ração completa, contendo 2,3% de uréia (425 a 450 g/dia), quando a uréia foi administrada oralmente ou via fistula ruminal. Também HUBER e KUNG (1981) constataram redução no consumo voluntário, quando a uréia representava mais de 1% da matéria seca da dieta, tendo sido atribuído à baixa palatabilidade do alimento. Por outro lado, HOWARD et al. (1987) forneceram dietas com 15% ou 20% de proteína bruta para vacas de 10 a 149 dias pós-parto, e verificaram que o consumo de matéria

seca não foi alterado pela porcentagem de proteína dietética, mesmo quando animais consumiram 190% das exigências nutricionais do nutriente.

Ciclos estrais com duas ondas de crescimento folicular têm sido observados com frequência nas vacas lactantes de raças européias (GINTHER et al., 1989; TAYLOR e RAJAMAHENDRAN, 1991), de raças zebuínas (FIGUEIREDO et al., 1997) e mestiças (FIGUEIREDO et al., 2000). Entretanto, outros trabalhos mostraram ciclos estrais caracterizados por três ondas de crescimento folicular em raças européias (SIROIS e FORTUNE, 1988) e vacas zebuínas da raça Gir (GAMBINI et al., 1998).

Nos ciclos estrais com duas ondas de crescimento folicular a emergência da primeira onda foi detectada por volta do dia 1,5 e a segunda em torno do dia 10 do ciclo estral nos achados de GAMBINI et al. (1998) que consideraram dia 0 o dia da ovulação, enquanto nos ciclos estrais caracterizados por três ondas de crescimento folicular a emergência da primeira, segunda e terceira onda ocorreu, respectivamente nos dias 1,9; 9,4; e 16,1 (SIROIS e FORTUNE, 1988). O intervalo de duas ovulações foi menor nos ciclos com duas ondas de crescimento folicular do que nos ciclos com três ondas, sendo atribuído como causa da maior duração um prolongamento da fase luteal e o surgimento da terceira onda.

Os diâmetros máximos de folículos ovulatórios observados para vacas *Bos taurus indicus* (RHODES et al., 1995; FIGUEIREDO et al., 1997) foram menores que os verificados em vacas *Bos taurus taurus* (TAYLOR e RAJAMAHENDRAN, 1991; McDOUGALL, et al., 1995).

A dinâmica folicular ovariana foi influenciada por fatores nutricionais, como verificado por LUCY et al. (1992). Entretanto, GARCIA-BOJALIL et al. (1994) não constataram efeitos de dietas contendo 12,3% ou 27,4% de PB, com ingestão de 70,7% de proteína de alta degradabilidade, fornecida na forma de uréia e, ou, farelo de soja, no diâmetro máximo de folículos pré-ovulatórios (16,4 vs. 15,8 mm), no dia da emergência do folículo dominante (2,2 vs. 2,1d), no tempo necessário para o folículo dominante atingir o diâmetro máximo (7,3 vs. 7,5d) e no diâmetro máximo de folículos dominantes (14,0 vs. 14,4 mm)

para animais recebendo quantidades de proteína adequada ou em excesso, respectivamente.

Objetivou-se avaliar os efeitos de níveis crescentes de NNP nas rações de vacas mestiças leiteiras no pós-parto sobre o consumo de matéria seca, a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, o peso corporal, o teor plasmático de N-uréia (NUP), a dinâmica folicular ovariana e o retorno da atividade ovariana no pós-parto.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental Leopoldina, propriedade da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais -EPAMIG. O município de Leopoldina está localizado na Zona da Mata Leste, no estado de Minas Gerais, a 220 m de altitude, 21°31'50" latitude Sul, 42°38'30" longitude Oeste e possui clima tropical úmido, com médias anuais de temperatura máxima de 39°C, mínima de 11°C e precipitação pluviométrica de 1.200 mm.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se 15 vacas mestiças (holandês/zebu) com peso médio de 511,8 kg, e escore corporal ao parto entre 3,5 e 4,5 numa escala de 1 a 5 (1=muito magra e 5=gorda), sendo quatro animais nos tratamentos 1, 2 e 4 e três animais no tratamento 3.

O período experimental foi definido entre o parto e o diagnóstico de gestação realizado, por meio de ultra-sonografia, aos 21 dias após a inseminação artificial. As vacas foram inseminadas no primeiro ou segundo estro no pós-parto, desde que houvessem transcorrido 45 dias do pós-parto. Assim, o período experimental variou com os animais, sendo, em média, de 115 dias.

Os animais foram mantidos em baias individuais providas de cochos e bebedouro manual, e foram soltos em áreas coletivas das 12 às 14 h, das 17 às 18 h e das 20 às 7 h, para favorecer as observações de estro.

As dietas constituídas de volumoso e concentrado na proporção 60:40 foram formuladas para serem isotéicas e continham 0,0%; 0,7%; 1,4% e 2,1% de uréia, correspondendo aos níveis de 2,08%; 4,01%; 5,76%; e 8,07% de proteína bruta na forma de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), respectivamente, para os tratamentos 1, 2, 3 e 4.

As vacas foram adaptadas de forma gradual às rações contendo uréia, utilizando-se 0,7% de uréia na primeira semana pós-parto, para o tratamento 2; 0,7% e 1,4% de uréia na primeira e segunda semanas para o tratamento 3; e 0,7%, 1,4%, e 2,1% de uréia na primeira, segunda e terceira semana, respectivamente, para o tratamento 4.

A Tabela 1 mostra a composição percentual dos ingredientes das dietas.

Tabela 1 – Composição percentual dos ingredientes utilizados nos tratamentos experimentais (% na MS)

Ingredientes	Tratamentos			
	1	2	3	4
Silagem de milho	60	60	60	60
Fubá	18,31	22,19	26,07	29,95
Farelo de soja	20,09	15,51	10,93	6,35
Uréia	0,00	0,70	1,40	2,10
Mistura mineral	1,60	1,60	1,60	1,60

O alimento foi fornecido à vontade, na forma de mistura completa, duas vezes ao dia, de modo a permitir, no mínimo, 5% de sobras.

As sobras foram retiradas e pesadas antes do fornecimento diário do alimento, visando à determinação do consumo voluntário. Diariamente, foram coletadas amostras das sobras, da silagem, do concentrado e do alimento fornecido, sendo estas acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20°C. Amostras compostas por semanas foram analisadas no Laboratório de Nutrição

Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, conforme SILVA (2000).

A composição química dos concentrados e da silagem de milho e a das quatro rações, obtidas por SILVA (2000), podem ser observadas nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

As análises utilizadas na determinação de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE), compostos nitrogenados totais (N-total), fibra em detergente neutro (FDN), compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), as equações para a obtenção dos carboidratos totais (CHO) e nutrientes digestíveis totais (NDT) encontram-se descritas em SILVA (2000).

As vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia (6 e 15 h) e as produções de leite da manhã, da tarde e total, foram registradas diariamente.

Foram coletadas amostras de leite das duas ordenhas, dos dias 30, 60 e 90 do período experimental para determinação dos teores de gordura (PREGNOLLATO e PREGNOLLATO, 1985). O leite foi corrigido para o teor de 3,5% de gordura, conforme a equação descrita por Sklan et al. (1992), citados por SILVA (2000): Produção de leite corrigida (PLC) = $(0,432 + 0,1625 \times \% \text{ de gordura do leite}) \times \text{kg de leite}$.

Ao 30^o dia do período experimental, foram coletadas amostras de leite e sangue para determinação dos teores de uréia. Aliquotas de 10 mL de leite foram desproteinizadas com 5,0 mL de ácido tricloroacético. As amostras desproteinizadas resultantes foram mantidas a -20°C até as análises. As amostras de sangue, obtidas aproximadamente 4 h após o fornecimento do alimento, foram analisadas pelo método diacetil modificado (SILVA, 2000).

Os animais foram pesados no dia do parto e semanalmente até a inseminação artificial. As observações visuais das manifestações de estro foram realizadas três vezes ao dia (6 às 7; 13 às 14; e 17 às 18 h).

Para o monitoramento da atividade ovariana pós-parto e o reinício da ciclicidade, realizou-se a ultra-sonografia pela via trans-retal, utilizando-se um aparelho marca ALOKA modelo SSD-500, acoplado a um transdutor linear de 5 MHz.

Tabela 2 – Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO) e fibra detergente neutro (FDN) dos concentrados e da silagem de milho

Itens	Concentrados				
	C1	C2	C3	C4	Silagem
MS %	84,97	84,85	84,95	84,18	30,04
MO ¹	94,15	94,48	94,59	95,05	94,45
PB ¹	24,20	24,20	24,20	24,20	6,30
NNP (%PB)	0,06	0,26	0,44	0,73	0,39
EE ¹	1,31	1,73	1,69	1,14	1,94
CHO ¹	68,64	68,55	68,70	69,71	86,21
FDN ¹	15,12	15,12	15,12	15,12	57,50

¹Porcentagem da MS.

Tabela 3 – Teores médios de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB), compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), extrato etéreo (EE), carboidratos totais (CHO), fibra detergente neutro (FDN) e nutrientes digestíveis totais (NDT) obtidos para as quatro rações experimentais

Itens	Rações experimentais			
	R1	R2	R3	R4
MS%	53,03	52,84	50,92	50,89
MO ¹	94,33	94,46	94,59	95,05
PB ¹	13,46	13,46	13,46	13,46
NNP (%PB)	2,08	4,01	5,76	8,07
EE ¹	1,69	1,85	1,84	1,62
CHO ¹	79,18	79,45	79,29	79,97
FDN ¹	40,55	40,55	40,55	40,55
NDT ¹	73,99	74,15	83,93	77,36

¹Porcentagem da MS.

Os exames foram realizados diariamente, sempre após a ordenha da manhã, a partir do 14^o até o 90^o dia do pós-parto. Para o estudo da dinâmica folicular, foram considerados somente os dados de vacas que apresentaram um ou mais ciclos ovulatórios completos nos primeiros 90 dias pós-parto.

O diâmetro máximo dos folículos foi definido como o maior diâmetro medido em milímetros entre dois pontos da cavidade antral (SIROIS e FORTUNE, 1988). A ovulação foi determinada pelo desaparecimento de um folículo com diâmetro máximo ≥ 10 mm (QUIRK et al., 1986) e subsequente formação de um corpo lúteo no mesmo local, tornando-se visível, aproximadamente três dias após (HINKELDEY e HOPKINS, 1996). O intervalo de ovulações foi definido como o número de dias compreendidos entre duas ovulações consecutivas, detectadas por meio de ultra-sonografia.

A emergência da primeira e da segunda onda de crescimento folicular foi definido como o dia em que no mínimo dois folículos ovarianos com diâmetro > 4 mm, foram pela primeira vez visualizados (McDOUGALL et al., 1995).

A variável da dinâmica folicular, persistência do folículo ovulatório, correspondeu ao número de dias em que um mesmo folículo com diâmetro > 5 mm foi visualizado até a ovulação.

As análises estatísticas dos resultados foram avaliadas por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o programa SAEG-Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1998).

Resultados e Discussão

As médias do consumo de matéria seca (CMS), entre 21 e 84 dias pós-parto, expressas em kg/dia e %PV e da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PLG), em função dos níveis de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) das dietas, são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 – Consumos médios diários de matéria seca (CMS) expressos em kg/dia

e %PV, produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PLG), em função dos níveis de NNP das rações, coeficientes de variação (CV) e nível de probabilidade dos efeitos linear (L) e quadrático (Q)

	Níveis de NNP (%)				CV (%)	P	
	2,08	4,01	5,76	8,07		L	Q
CMS (kg/dia)	16,04	16,49	11,64	11,93	17,32	0,0073	n.s.
CMS (%PV)	3,29	3,09	2,47	2,35	16,46	0,0026	n.s.
PLG (kg/dia)	21,18	24,92	20,63	18,83	15,94	0,0979	n.s.

n.s.: não-significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

Os consumos de matéria seca expressos em kg/dia e %PV e a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura reduziram linearmente ($P < 0,05$) com o aumento de NNP nas rações. Os resultados assemelham-se aos de CHALUPA et al. (1979) que, com adição de 2,5% de uréia em rações completas, verificaram redução na ingestão de matéria seca total, em relação à dieta sem uréia, o que foi atribuído a uma indisposição no animal, provocada pela toxidez da amônia a nível celular, e ao aroma das dietas. HUBER e KUNG (1981) também observaram redução do consumo, quando dietas contendo níveis acima de 1,5% a 2,0% de uréia foram fornecidas a animais aparentemente adaptados, e citaram como provável causa a baixa palatabilidade devido ao sabor amargo da uréia.

SILVA (2000) verificou que os consumos de MO, EE, PB, CHO, FDN e NDT diminuíram ($P < 0,05$) com o aumento nas proporções de NNP nas dietas, refletindo o mesmo comportamento do consumo de MS, o que permite inferir que a redução da produção de leite, observada no presente experimento, foi decorrente do menor consumo de nutrientes pelos animais que receberam maiores quantidades de uréia.

Para FARIA e HUBER (1984), a quantidade máxima de uréia nos concentrados para vaca em lactação não deve exceder 2%, mesmo considerando

animais fisiologicamente adaptados, ocasionando redução no consumo de matéria seca, menor produção de leite e maior perda de peso corporal. No caso de rações completas, o limite seria de 1%, que é inferior ao proposto nos tratamentos 3 e 4 do presente experimento, correspondendo aos níveis de 1,4% e 2,1% de uréia, e aos níveis de 5,76% e 8,07% de NNP, respectivamente, nos quais também foram verificados os menores consumos de matéria seca, expressos em kg/dia e %PV, bem como as menores produções de leite.

A Tabela 5 mostra os pesos médios (kg) das vacas, em função dos níveis de NNP nas rações experimentais. O peso dos animais nas 12 primeiras semanas de lactação não foi influenciado ($P>0,05$) pelos níveis de NNP das dietas.

Tabela 5 – Pesos médios (kg) em função dos níveis de NNP nas rações, avaliados em diferentes dias após o início da lactação (DAIL)

DAIL	Níveis de NNP(%)			
	2,08	4,01	5,76	8,07
21	492,16	520,00	476,33	511,25
49	505,55	538,75	479,50	507,38
77	507,63	562,50	484,83	514,88
84	510,50	564,75	484,67	517,25

cv = 15,23%.

No início da lactação, quando o aumento na produção de leite excede a quantidade de nutrientes ingerida, dado o consumo subótimo de matéria seca, ocorre o balanço energético negativo (BEN), que é diretamente relacionado à produção de leite e, freqüentemente, é máximo durante as duas ou três primeiras semanas de lactação, resultando em mobilização de reservas e perdas de peso corporal que podem persistir por 10 a 12 semanas de lactação (BUTLER e ELROD, 1991), o que não foi evidenciado neste experimento.

Considerando os consumos médios de 2,29; 2,33; 1,63; e 1,49 kg/dia de PB e 11,87; 12,10; 9,74 e 9,12 kg/dia de NDT (SILVA, 2000), para os níveis de NNP de 2,08; 4,01; 5,76 e 8,01, respectivamente, e as exigências nutricionais de PB e NDT de uma vaca com 500 kg de peso vivo com produção de 20 kg de leite/dia, corrigida para 3,5% de gordura, da ordem de 2,044 kg/dia de PB e 9,72 kg/dia de NDT (NRC, 1989), e também que as perdas de peso não evidenciaram significativas mobilizações de reservas corporais, observa-se que as exigências nutricionais de proteína foram parcialmente supridas, e a quantidade de NDT ingerida foi suficiente para atender a manutenção e os níveis médios de produção de leite, corrigida para 3,5% de gordura.

Os teores de uréia plasmática (UP), N-uréia plasmática (NUP), uréia no leite (UL) e N-uréia no leite (NUL), expressos em mg/dL são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Teores plasmáticos de uréia (UP), N-uréia plasmática (NUP), uréia no leite (UL) e N-uréia no leite (NUL), expressos em mg/dL, em função dos níveis de NNP das rações, coeficientes de variação (CV) e nível de probabilidade dos efeitos linear (L) e quadrático (Q)

Itens	Níveis de NNP(%)					P	
	2,08	4,01	5,76	8,07	CV	L	Q
UP (mg/dL)	45,52	41,75	55,34	42,70	17,54	n.s.	n.s.
NUP (mg/dL)	21,21	19,46	25,79	19,90	17,54	n.s.	n.s.
UL (mg/dL)	41,14	44,18	46,21	43,94	19,02	n.s.	n.s.
NUL (mg/dL)	19,17	20,59	21,53	20,48	19,02	n.s.	n.s.

n.s.: não-significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

Os diferentes níveis de NNP das rações não influenciaram ($P>0,05$) nas médias dos teores plasmáticos de uréia e N-uréia que foram respectivamente de 46,33 e 21,59 mg/dL. Entretanto, os teores de NUP foram mais elevados do que

os 9,9 mg/dL, encontrados por CARROL et al. (1988), em amostras obtidas 2 h após o fornecimento do alimento para vacas consumindo dietas com 13% de PB, fornecidas na forma de mistura completa. CANFIELD et al. (1990), por sua vez, encontraram teores de NUP de 12,3 mg/dL, para vacas recebendo dietas com 16% de PB, em amostras coletadas três vezes ao dia, independente do horário de fornecimento do alimento.

ELROD et al. (1993) verificaram por meio da análise de amostras de sangue obtidas com intervalo de 4 h, durante 24 h, que os teores máximos de NUP ocorreram quatro e 16 h após a alimentação, em animais recebendo dietas com altos teores de proteína degradável e não-degradável no rúmen, respectivamente, e atribuíram a causa da variação no tempo dos picos dos teores de NUP à diferença dos locais e do tempo em que a amônia foi liberada, sendo que na PDR a liberação, em nível ruminal é mais rápida que a absorção de aminoácidos oriundos da PNDR, no intestino delgado, e concluíram que elevados teores de NUP ocorreram oito a 24h após a alimentação, independente da fonte protéica da dieta, quando a disponibilidade de nitrogênio excede a sua utilização.

Corroborando esses resultados, BUTLER et al. (1995) verificaram que o pico dos teores de NUP ocorreu quatro a seis horas após a alimentação, dado o catabolismo da PDR, enquanto o metabolismo da PNDR contribuiu para a manutenção dos níveis sanguíneos do metabólito ao longo do dia. O fornecimento de dietas na forma de mistura completa permitiu menores flutuações diárias (2-3 mg%) dos teores de N-uréia no sangue, que as observadas para concentrado e volumoso fornecidos separadamente, ou em animais mantidos a pasto.

Provavelmente, os maiores teores de NUP, verificados no presente experimento, foram decorrentes do tempo da coleta das amostras, sempre quatro horas após o fornecimento das dietas, permitindo obter valores máximos ou próximo do pico dos teores.

A média do teor de NUP, no presente experimento, determinada a partir de amostras de sangue coletadas quatro horas após o fornecimento das dietas, foi de 21,59 mg/dL e não corroboram os achados de BUTLER et al. (1996), que

observaram decréscimo de 18% nas taxas de gestação em vacas com teores de NUP maior que 19 mg/dL. ELROD (1995) apontou um nível crítico de NUP de 19 mg/dL, representando o limiar de compatibilidade, com os aspectos reprodutivos de vacas em lactação.

Os teores de uréia (UL) e N-uréia no leite (NUL) não foram influenciados ($P < 0,05$) pelos teores de NNP das rações, cujas médias foram de 43,87 e 20,44 mg/dL, respectivamente, o que pode ser atribuído à utilização de dietas isoprotéicas e também às fontes PDR (farelo de soja) e NNP (uréia e silagem de milho). Essas fontes são rapidamente metabolizadas no ambiente ruminal e conseqüentemente absorvidas, estando presentes na corrente sanguínea, em teores máximos ou próximos dos máximos, dentro de quatro horas após o consumo da dieta. A uréia pode passar livremente do sangue para o leite, na glândula mamária, sendo que o período de estabilização é menor que uma hora (BUTLER et al., 1995). Assim, o teor de NUL também pode constituir um método rápido, não-invasivo e eficiente para avaliar o teor sanguíneo de N-uréia e o metabolismo protéico de vacas em lactação. ROSELER et al. (1993) observaram que NUP e NUL são influenciados similarmente por alterações nos conteúdos de PDR e PNDR das dietas e negativamente pelo aumento da ingestão de energia líquida para a lactação, e verificaram também que os teores de NUP foram altamente correlacionados aos de NUL ($r=0,88$) e ao nitrogênio não-protéico do leite ($r=0,76$), sendo NUL um indicador mais sensível dos teores de compostos não-nitrogenados no leite.

Para GARCIA-BOJALIL et al. (1998), dietas contendo excesso de compostos nitrogenados, deficiência de carboidratos ruminalmente fermentáveis, ou quando há uma assincronia entre degradação da proteína e disponibilidade de energia no rúmen, provocam aumento dos teores de N-uréia na corrente sanguínea e, conseqüentemente, uma elevação da excreção de uréia no leite e na urina (SILVA, 2000), o que não foi verificado no presente experimento.

Na Tabela 7, são apresentados o intervalo de duas ovulações consecutivas, o número de ondas de crescimento folicular, a emergência da primeira onda de crescimento folicular, a emergência da segunda onda de crescimento folicular, a

persistência do folículo ovulatório, expressos em dias do ciclo estral e o diâmetro máximo dos folículos ovulatórios expresso em mm, em função dos níveis de NNP das rações.

A média geral do intervalo de duas ovulações foi de 19 dias, e apenas um animal que não recebeu uréia na dieta apresentou um intervalo de oito dias entre duas ovulações consecutivas, visualizadas por meio de ultra-sonografia. Ciclos estrais curtos no início do pós-parto também foram verificados por PERRY et al. (1991), que encontraram $8,5 \pm 2$ dias de intervalo da primeira à segunda ovulação no pós-parto, demonstrando que fases luteais curtas ocorrem, freqüentemente, após a primeira ovulação em vacas de corte recém-paridas.

Tabela 7 – Médias do número de dias de duração do ciclo estral (INT) e parâmetros da dinâmica folicular em função dos níveis de NNP das rações, coeficientes de variação (CV) e nível de probabilidade dos efeitos linear (L) e quadrático (Q)

Variáveis	Níveis de NNP				CV (%)	P	
	2,08	4,01	5,76	8,07		L	Q
INT	15,33	21,00	19,50	21,00	6,15	n.s.	n.s.
NO	1,66	2,33	2,00	2,00	15,87	n.s.	n.s.
EPO	0,33	0,66	0,50	0,33	39,48	n.s.	n.s.
ESO	9,00	12,00	10,00	10,33	16,79	n.s.	n.s.
PFOV	15,33	16,66	14,50	12,33	38,76	n.s.	n.s.
DFOV	16,00	15,00	15,50	14,00	10,61	n.s.	n.s.

n.s.: não-significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

INT= Intervalo de duas ovulações.

NO= N.º de ondas de crescimento folicular.

EPO= Emergência da primeira onda de crescimento folicular (dia).

ESO= Emergência da segunda onda de crescimento folicular (dia).

PFOV= Persistência do folículo ovulatório(dias).

DFOV= Diâmetro máximo do folículo ovulatório (mm).

O número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral não foi influenciado pelos níveis de NNP das dietas, como pode ser observado na Tabela 7, sendo a maioria dos ciclos caracterizada por duas ondas de crescimento folicular.

Esses resultados são consonantes aos de GINTHER et al. (1989) e TAYLOR e RAJAMAHENDRAN (1991) que consideraram duas ondas de crescimento folicular o padrão para os ciclos estrais de vacas leiteiras no pós-parto, sendo que a duração da fase luteal é o principal determinante do número de ondas, e também por FIGUEIREDO et al. (2000), que verificaram os mesmos padrões de dinâmica folicular em vacas mestiças leiteiras.

Pela Tabela 7, verifica-se que não houve influência ($P>0,05$) dos níveis de NNP nas dietas, na emergência da primeira onda de crescimento folicular. A emergência da primeira onda de crescimento folicular nos dias 0 ± 1 do ciclo estral também foi encontrada por FORTUNE (1994), ao observar que folículos são recrutados após a formação do antro e em grupos, sugerindo que tenham recebido um sinal para continuar o crescimento, que corresponde a uma elevação plasmática de FSH nos dias que antecedem a emergência da onda de crescimento folicular.

Segundo TAYLOR e RAJAMAHENDRAN (1991), nos ciclos estrais com duas ondas de crescimento folicular, a maturação do segundo folículo dominante coincide com a regressão espontânea do corpo lúteo, e esse folículo ovula após a luteólise. Entretanto, o segundo folículo dominante pode se tornar atrésico. Se isso ocorrer, a terceira onda de crescimento folicular irá emergir e os animais terão um ciclo estral mais longo. As manifestações de estro apresentam-se mais tardias, quando o segundo folículo não ovula, e o terceiro folículo dominante requer um tempo adicional para completar seu desenvolvimento antes da ovulação.

HAMILTON et al. (1995) verificaram que o início do crescimento das ondas foliculares ocorreu nos dias 1, 3 e 12 nos ciclos estrais com duas ondas de crescimento folicular, enquanto ciclos com três ondas de crescimento folicular tenderam a ser mais longos ($23,3 \pm 1,3$ dia) que com duas ondas ($20,8 \pm 0,5$ dia),

com a emergência das ondas ocorrendo nos dias 1,7; 9,5; e 16,9 nos ciclos maiores. Corroborando esses resultados, na presente pesquisa também foi detectado um ciclo estral com três ondas de crescimento folicular, com duração de 23 dias, em uma vaca recebendo dieta com 0,7% de uréia.

A Tabela 7 mostra que a persistência do folículo ovulatório foi em média de 14,7 dias e não foi influenciada ($P>0,05$) pelos níveis de NNP das rações. Esses resultados evidenciam que o folículo ovulatório nem sempre emergiu na segunda onda de crescimento folicular, ocorrendo também a emergência na primeira onda de crescimento folicular em alguns casos e na terceira onda na vaca que apresentou ciclo estral com três ondas de crescimento folicular. Contraditoriamente, LUCY et al. (1992) observaram que, independente do número de ondas de crescimento folicular, o folículo ovulatório é derivado da última onda, o que nem sempre foi encontrado neste estudo.

Para GINTHER (2000), a capacidade dos folículos dominantes de suprimir a onda de FSH, por meio da síntese de inibina e estradiol, para concentrações menores que as requeridas pelos outros folículos em desenvolvimento e a habilidade de utilizar as reduzidas concentrações de FSH no seu crescimento e desenvolvimento, é definida no momento da divergência folicular, resultando no processo de dominância folicular.

Os resultados da presente pesquisa são semelhantes aos de FORTUNE (1994), ao verificar que o folículo dominante no momento da regressão luteal tornou-se o folículo ovulatório. Esses achados podem ser sustentados pelo fato de que após a regressão luteal ocorre uma remoção do mecanismo de retroalimentação negativa da progesterona sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário, permitindo aumento na frequência dos pulsos de LH.

Os níveis de NNP nas dietas não influenciaram ($P>0,05$) o diâmetro máximo dos folículos ovulatórios (Tabela 7), que apresentaram em média 15mm. McDOUGALL et al. (1995), trabalhando com vacas leiteiras no período pós-parto, encontraram a média dos diâmetros de folículos ovulatórios de $17,0 \pm 0,6$ mm, valores superiores aos detectados nesta pesquisa. HAMILTON et al. (1995) obtiveram valores médios de $16,0 \pm 0,5$ mm e $28,0 \pm 0,19$ mm para

foliculos ovarianos e cistos foliculares, respectivamente. Os achados desta pesquisa encontram-se bem próximos dos valores médios das estruturas foliculares encontrados por esses autores. Os resultados obtidos no presente experimento assemelham-se aos de GARCIA-BOJALIL et al. (1994) que não constatarem efeitos de dietas contendo 12,3 ou 27,4% de PB, com ingestão de 70,7% de proteína de alta degradabilidade, fornecida na forma de uréia e, ou, farelo de soja, no diâmetro máximo de foliculos pré-ovulatórios que foram de 16,4 e 15,8 mm, respectivamente.

Possivelmente, somente a medida do diâmetro folicular não seja suficiente para determinar se o processo de atresia já foi iniciado, como sugerido por SUNDERLAND et al. (1994), uma vez que as medidas de ultra-sonografia devem ser associadas às relações entre concentrações estrógeno:progesterona para monitorar precisamente seleção, dominância e atresia folicular.

Na Tabela 8, pode ser visto o número de dias transcorridos do parto até a detecção ultra-sonográfica do primeiro foliculo ovariano e da primeira ovulação pós-parto, a observação da primeira manifestação de estro no pós-parto, o número de inseminações/concepção e o período de serviço em função dos níveis de NNP nas dietas. Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de NNP nas dietas, sobre a presença do primeiro foliculo dominante, verificada em média aos 19 dias pós-parto, permitindo inferir que, ao término do período de 21 dias, considerado de adaptação às dietas, já havia estruturas estrógeno ativas nos ovários.

Para NETT (1987), o reinício do crescimento folicular no pós-parto, e o conseqüente aumento das secreções de estradiol, sugerem que o primeiro efeito do esteróide seja um estímulo à biossíntese de seus próprios receptores no hipotálamo e na hipófise, aumentando a sensibilidade desses tecidos ao de retroalimentação positiva do estradiol.

Os resultados obtidos no presente experimento são tardios em relação aos de KAMIMURA et al. (1993a), que encontraram um intervalo de 9,0 dias do parto à detecção do primeiro foliculo dominante. O primeiro foliculo dominante

ovulou em 34 vacas; não ovulou em 18, e tornou-se cístico em 10 animais, o que não foi observado no presente experimento.

Tabela 8 – Características reprodutivas do pós-parto, em função dos níveis de NNP das rações, coeficientes de variação (CV) e nível de probabilidade dos efeitos linear (L) e quadrático (Q)

Variáveis	Níveis de NNP (%)				CV (%)	P	
	2,08	4,01	5,76	8,07		L	Q
PFOL	19,5	18,2	19,0	19,7	15,32	n.s.	n.s.
POPP	53,2	62,5	57,0	47,7	46,02	n.s.	n.s.
PEPP	71,7	104,2	84,0	65,5	45,99	n.s.	n.s.
PS	102,2	119,5	84,0	71,0	34,82	n.s.	n.s.
NI/C	1,5	1,2	1,0	1,2	37,64	n.s.	n.s.

n.s.: não-significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

PFOL = primeiro folículo dominante (dia).

POPP = primeira ovulação do pós-parto (dias).

PEPP = primeiro estro do pós-parto (dias).

OS = período de serviço (dias).

NI/C = número de inseminações/ concepção.

KAMIMURA et al. (1993b) concluíram que vacas com longos intervalos ovulatórios, após a primeira ovulação no pós-parto, tenderam a apresentar involução uterina tardia e, conseqüentemente, retardamento da concepção, evidenciando que a emergência precoce do folículo ovulatório, formação do corpo lúteo e luteólise são necessárias para desencadear a atividade cíclica ovariana e a involução uterina no pós-parto.

OPSOMER et al. (1996) detectaram níveis crescentes de FSH a partir do 5º dia pós-parto e a emergência do primeiro folículo dominante em torno de 11 dias, e consideraram que o estrógeno produzido pelos folículos exerce um

efeito de retroalimentação positiva na adenohipófise, estimulando a secreção de LH e aumentando o número de receptores hipofisários para GnRH. Falhas na ovulação dos primeiros folículos dominantes retardam o retorno da atividade ovariana no pós-parto.

Como pode ser observado na Tabela 8, o número de dias transcorridos entre o parto e a primeira ovulação do pós-parto não foi influenciado ($P>0,05$) pelos níveis de NNP das dietas, ocorrendo em média aos 55 dias pós-parto. Os resultados encontrados para a primeira ovulação no período pós-parto são tardios, se comparados aos de ZUREK et al. (1995), que observaram as primeiras ovulações aos 24,1 dias nesse período, correspondendo à média de 15,4 dias após o ponto máximo do balanço energético negativo (BEN). McDOUGALL et al. (1995) encontraram a ocorrência da primeira ovulação aos 43,4 dias (variação de 13 a 93 dias), após 4,2 ondas de crescimento folicular. BUTLER (2000) verificou que o desenvolvimento de folículos dominantes não-ovulatórios prolonga o intervalo da primeira ovulação para 40 ou 50 dias pós-parto, o que também foi verificado no presente experimento.

BUTLER e SMITH (1989) consideram que a minimização do intervalo parto-primeira ovulação pós-parto seja um fator essencial no incremento da eficiência reprodutiva dos rebanhos, uma vez que possibilita maior tempo para a ocorrência de ciclos ovarianos antes da inseminação, resultando em maiores taxas de concepção.

O retorno dos ciclos ovarianos no período pós-parto pode ser influenciado pela severidade e extensão do BEM, que ocorre em função do nível de produção de leite e, ou, do fornecimento de dietas desbalanceadas. Vacas subalimentadas pós-parto têm maior mobilização de reservas corporais, codificadas por maiores perdas de peso e atraso no retorno da atividade ovariana, provavelmente, por causa da supressão da liberação pulsátil de LH. Portanto, o efeito do BEN pode ser comparado ao da subnutrição, uma vez que, em função da severidade com que ocorre, há um prolongamento do número de dias transcorridos do parto até a primeira ovulação (RANDEL, 1990).

BUTLER (2000) verificou que o BEN retarda a primeira ovulação no pós-parto, por meio da inibição da frequência dos pulsos de LH e da redução dos níveis sanguíneos de glicose, insulina e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) que coletivamente reduzem a produção de estrógenos pelos folículos dominantes. Entretanto, o início de uma onda de crescimento folicular e a formação de um folículo dominante durante o período de BEN parece não ser uma limitação para a primeira ovulação pós-parto. Para BEAM e BUTLER (1997), o desenvolvimento folicular no início do pós-parto pode resultar em: ovulação do primeiro folículo dominante (16-20 dias pós-parto); falha da ovulação do primeiro folículo dominante e emergência de nova onda de crescimento folicular; ou falha na ovulação do folículo dominante, o qual torna-se cístico. Corroborando esses resultados, no presente experimento também se verificou falha da ovulação do primeiro folículo dominante e emergência de nova onda de crescimento folicular, podendo atribuir como causa da primeira ovulação no pós-parto um pouco mais tardia.

A exposição de um folículo dominante, produzindo estrógeno, a pulsos frequentes de LH, é a chave para a maturação final e ovulação desse folículo, resultando na primeira ovulação pós-parto, que, na maioria das vezes, representa o reinício da atividade ovariana luteal cíclica. O retorno da ciclicidade pode ser considerado o momento em que ocorre uma sincronia entre os pulsos hipotalâmicos de GnRH e a resposta adenohipofisária por meio do aumento da síntese e secreção de LH, e a presença de folículos responsáveis nos ovários, correspondendo ao momento fisiológico de um equilíbrio metabólico e hormonal (ROCHE et al., 1992).

Os níveis de NNP nas dietas não influenciou ($P>0,05$) o número de dias transcorridos entre o parto e as primeiras manifestações de estro no pós-parto, que foram observadas, em média, aos 81 dias pós-parto (Tabela 8). A comparação dos dados de HOWARD et al. (1987) e CARROL et al. (1988), que também não verificaram diferenças no intervalo do parto ao primeiro estro, no período de serviço, nas médias do número de serviço/concepção e nas taxas de gestação de vacas que consumiram 13%, 15% ou 20% de PB, mostra que os

melhores resultados do segundo trabalho foram decorrentes da eficiência de 90% de detecção de estro, o que pode ter sido um pouco menos eficiente no presente experimento.

A contenção dos animais em baias individuais, para conhecimento do consumo de matéria seca, mesmo com a estratégia da colocação das vacas em áreas coletivas três vezes ao dia, pode ter contribuído para algumas falhas na detecção do primeiro estro no pós-parto em alguns animais. Por outro lado, a ultra-sonografia diária, do 14^o ao 90^o dia pós-parto, constitui-se em eficiente ferramenta para o monitoramento das primeiras ovulações no pós-parto, permitindo certificar que a maioria das primeiras ovulações pós-parto nem sempre foram acompanhadas de manifestações de estro, o que também foi verificado por FIGUEIREDO et al. (2000), que trabalharam com vacas mestiças leiteiras em condições tropicais. Portanto, as possíveis falhas na detecção de estro, levantadas como causa do prolongamento do intervalo parto ao primeiro estro pós-parto, podem ter ocorrido após o término do período da ultra-sonografia diária, quando os animais permaneceram nas baias individuais, recebendo o mesmo tipo de dieta até a confirmação do diagnóstico de gestação, e foram monitorados por meio de observações visuais das manifestações do estro.

Para SMITH (1986), os principais fatores limitantes da identificação de estro, por meio das observações visuais, são a maior frequência (70%) de montas durante a noite, entre 18 e 6 h; a duração do estro de 25% dos animais inferior a oito horas: o tempo da monta, em média de 10 segundos; e nos rebanhos com pequeno número de animais a frequência da atividade de monta de 1,2/h, quando os animais não são sincronizados.

OPSOMER et al. (1996) consideraram que as falhas na observação de estro constituem a principal causa do anestro no pós-parto, sendo uma maior acurácia, na sua detecção, o principal fator para melhorar a eficiência reprodutiva. Por outro lado, BUTLER e SMITH (1989) verificaram que a redução da ingestão de nutrientes é a principal causa de perda de peso corporal, do atraso da primeira ovulação, da redução da atividade luteal e prolongamento do anestro no período pós-parto.

Não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de NNP das rações no número de inseminações/concepção e no período de serviço (Tabela 8). As médias do número de inseminações/ concepção de 1,2 e do período de serviço de 94 dias permitem inferir que a eficiência reprodutiva não foi influenciada pelos níveis de substituição do farelo de soja por uréia, no presente experimento, possibilitando uma média de intervalo de partos de 12 a 13 meses, quando do uso das dietas no terço inicial da lactação.

Conclusões

O aumento dos níveis de NNP nas rações reduziu o consumo de matéria seca, expresso em kg/dia e %PV, e a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, e não influenciou nos teores de uréia e N-uréia no plasma e no leite, não alterou a dinâmica folicular, nem as características reprodutivas do pós-parto.

Referências Bibliográficas

- BEAM, S.W., BUTLER, W.R., 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol. Reprod.*, 56:133-142.
- BUTLER, W.R. 1998. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81 (9): 2533-2539.
- BUTLER, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 60-61: 449-457.
- BUTLER, W.R., CALAMAN, J.J., BEAM, S.W. 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 74: 858-865.
- BUTLER, W.R., CHERNEY, D.J.R., ELROD, C.C. 1995. Milk urea nitrogen (MUN) analysis: field trial results on conception rates and dietary inputs. Department of Animal Science, Cornell University.
- BUTLER, W.R., ELROD, C.C. 1991 Nutrition and reproduction relationships in dairy cattle. In: *Proc. Cornell Nutricional Conference*, p. 73-82.
- BUTLER, W.R., SMITH, R.D. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function. *J. Dairy Sci.*, 72:767-783.
- CANFIELD, R.W., SNIFFEN, C.J., BUTLER, W.R. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73(9): 2343-2349.
- CARROL, D.J., BARTON, B.A., ANDERSON, G.W. et al. 1988. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71(12): 3471-3481.
- CHALUPA, W.C.A., BAILE, C.A., McLAUGHLIN, C.L., et al. 1979. Effect of introduction of urea on feeding behavior of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 62(8): 1278-1284.

- ELROD, C.C. 1995. High dietary protein and high fertility: can we have both? In: Cornell Cooperative Extension, Waterloo, NY, p. 32-39.
- ELROD, C.C., BUTLER, W.R. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.*, 71: 694-701.
- ELROD, C.C., VAN AMBURG, M., BUTLER, W.R. 1993. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.*, 71: 702-706.
- FARIA, V.P., HUBER, J.T. 1984. Effect of dietary protein and energy levels on rumen fermentation in Holstein steers. *J. Anim. Sci.*, 58:452.
- FIGUEIREDO, R.A., BARROS, C.M., PINHEIRO, O.L. et al. 1997. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos Indicus*). *Theriogenology*, 47:1489-1505.
- FIGUEIREDO, M.M.N., FONSECA, F.A., TORRES, C.A.A. et al. 2000. Dinâmica folicular ovariana de vacas leiteiras no pós-parto após tratamentos com buserelina (GnRH) e cloprostenol (PGF 2α). *Rev. Bras. Zootec.*, 29 (3): 725-731.
- FORTUNE, J.E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol., Reprod.*, 50:225-232.
- GAMBINI, A.L.G., MOREIRA, M.B.P., CASTILHO, C. et al. 1998. Desenvolvimento folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça Gir. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 22 (4):201-210.
- GARCIA-BOJALIL, C.M., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. et al. 1994. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 77 (9): 2537-2548.
- GINTHER, O.J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. *J. Anim. Sci.*, 60-61: 61-79.
- GINTHER, O. J., KNOPF, L., KASTELIC, J. P. 1989. Temporal association among events in cattle during oestrus cycle with two or three follicular waves. *J. Reprod. Fert.*, 87:223-230.

- HAMILTON, S.A. GARVERICK, H.A., KEISLER, D.H. et al. 1995. Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cattle. *Biol. Reprod.* 53 890-898.
- HINKELDEY, J.A. HOPKINS,S. 1996. Using ultrasonography in bovine reproduction. *Spring*, 26-30.
- HOLTER, J. B., COLOVOS, N.F., DAVIS, H.A. et al. 1968. Urea for lactating dairy cattle. III. Nutritive value of rations of corn silage plus concentrate containing various levels of urea. *J. Dairy Sci.*, 51(8): 1243-1248.
- HOWARD, H.J., AALSETH, E.P., ADAMS, G.D. et al. 1987. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 70(8): 1563-1571.
- HUBER, J.T. 1984. *Uréia ao nível do rúmen*. In: 2º Simpósio sobre Nutrição de Bovinos, 1984, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ,1984, p.25-79.
- KAMIMURA, S., OHGI, T., TAKAHASHI, M., et al. 1993a. Turnover of dominant follicles prior to first ovulation and subsequent fertility in postpartum dairy cows *Reprod. Dom. Anim.*,28:85-90.
- KAMIMURA, S., OHGI, T., TAKAHASHI, M., et al. 1993b. Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J. Vet. Med. Sci.*,55 (4):643-647.
- LUCY, M.C., SAVIO, J.D., BADINGA, L., et al. 1992. Factors that affect follicular ovarian dynamics in cattle. *J. Anim. Sci.*, 70: 3615- 3626.
- McDOUGALL, S., BURKE, C.R., MACMILLAN, K.L., et al. 1995. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Res. Vet. Sci.*, 58: 212-216.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1989. *Nutrient Requeriments of Dairy Cattle*. 6ed. Washington: National Academy. 242p.
- NETT, T.M. 1987. Function of the hypothalamic- hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *J. Reprod. Fert., Supp*, 34 (1987): 201-213.

- OPSOMER, G., MITJEN,P., CORYN, M. et al. 1996. Post-partum anoestrus in dairy cows: a review. *Vet. Quater.*, 18:68-75.
- PERRY, R.C., CORAH, L.R., KIRACOFÉ, G.H. et al. 1991. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles. *J. Anim. Sci.*,69:2548-2555.
- PREGNOLATTO. W., PREGNOLATTO, N.P. 1985. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz- métodos químicos e físicos para análises de alimentos*. 3.ed. v.1, São Paulo. p. 533.
- QUIRK, S.M., HUCKEY, G.J., FORTUNE, J.E. 1986 Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the oestrus cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF₂ α - induced luteolysis. *J. Reprod. Fert.*,77: 211-219.
- RANDEL, R.D. 1990 Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *J. Anim. Sci.*, 68:853-862.
- RHODES, F.M., DE'ATH, G., ENTWISTLE, K.W. 1995. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 38: 265-277.
- ROCHE, J.F., CROWE, M.A., BOLAND, M.P. 1992. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 28:371-378.
- ROSELER, D.K., FERGUSON, C.J., SNIFFEN, C.J. et al. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk nonprotein nitrogen in holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 76(2): 525:534.
- SILVA, R.M.N. *Uréia para vacas em lactação: consumo, digestibilidade, produção e composição do leite, e estimativas do volume urinário, da produção microbiana e da excreção de uréia*. Viçosa, MG:UFV, 2000.85p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa.
- SIROIS, J., FORTUNE, J. E. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real - time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, 39: 308-317.
- SMITH, D.R. 1986. Estrus Detection. In: *Current Therapy in Theriogenology*.2. West Washington Square, Philadelphia, 1143p.

- STAPLES, C. R., GARCIA-BOJALIL, C. M., OLDICK, B.S. et al. 1993. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In: Proc. 4th Annu. Florida Ruminant Nutr. Symp. Univ. Florida, Gainesville.
- SUNDERLAND, S. J., CORWE, M. A., BOLAND, M. P., et al. 1994. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrus cycle of heifers. *J. Reprod. Fert.*, 101:547-555.
- TAYLOR, C., RAJAMAHENDRAN, R. 1991. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 71:61-68.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV. 1998. SAEG- *Sistema de análises estatísticas e genética*. Versão 8.0. Viçosa, MG.
- WILSON, G., MARTZ, F. A., CAMPBELL, J.R. et al. 1975. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea for ruminants. *J. Anim. Sci.*, 41(5):1431-1437.
- ZUREK, E., FOXCROFT, G.R., KENNELY, J.J. 1995. Metabolic status and interval to first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 78(9): 1909-1920.

2. Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: teor plasmático de uréia e pH uterino

RESUMO – Foram utilizadas 16 vacas mestiças (holandês-gir) com escore corporal ao parto entre 3,5 e 4,0 (escala 1 a 5), alimentadas individualmente com dietas compostas de volumoso (silagem de milho) e concentrado na proporção 60:40, contendo 0,0%; 0,7%; 1,4%; e 2,1% de uréia na matéria seca total, respectivamente tratamentos 1, 2, 3 e 4. No estro e no diestro do segundo ou terceiro ciclo estral pós-parto, realizou-se a medição do pH uterino em 60 mL de água destilada e deionizada, que foram infundidos e aspirados nos cornos uterinos após 30 segundos de massageamento. As medições de pH uterino foram realizadas quatro horas após o fornecimento da dieta e simultaneamente foram coletadas amostras de sangue para determinação dos teores plasmáticos de uréia. A ingestão de matéria seca dos 70 aos 110 dias de lactação reduziu com o aumento dos níveis de uréia nas dietas e a produção de leite não foi influenciada pelos níveis de uréia nas dietas. Não houve influência dos níveis de uréia sobre os teores plasmáticos de N-uréia, em amostras de sangue coletadas no estro, que foram em média 19,59 mg/dL. O pH uterino no estro (6,66) e no diestro (6,97) também não foram influenciados pelos diferentes níveis de uréia.

Palavras-chave: pH uterino, uréia, uréia plasmática.

2. Urea for dairy cows in the postpartum: urea levels in the plasma and uterine pH

ABSTRACT – Sixteen crossbred cows (Holstein-Gir) with body condition score between 3.5 and 4.0 (1 to 5 scale) fed individually with diets made up with corn silage and concentrate in the proportion of 60:40 with 0.0; 0.7; 1.4 and 2.1% of urea in the total dry matter for the treatments 1, 2 ,3 and 4, respectively. The uterine pH were measured four hours after the diet intake, during the estrus and diestrus from the second or third estrous cycle in the postpartum period through the infusion of 60 mL of deionized and distilled water, into the uterus by trans-cervical methodology, and aspirated after 30 seconds of light massage of the uterus. Simultaneously blood samples were collected for the determination of the plasma level of urea. The dry matter intake from 70 to 110 days of lactation reduced with the increase of the levels of urea in the diets. The levels of plasma N-urea were not affected in the samples collected during the estrus (19.59 mg/dL). The uterine pH during estrus (6.66) and in the diestrus (6.97) were not affected by the different levels of urea used.

Key words: urea, plasma urea, uterine pH.

Introdução

O consumo de dietas contendo elevadas quantidades de proteína bruta (PB) ou de proteína degradável no rúmen (PDR) aumenta o teor de nitrogênio uréico no sangue (NUS) e no leite (NUL) e altera algumas funções uterinas, as quais podem comprometer a fertilidade no pós-parto, principalmente por meio da redução das taxas de concepção (SANTOS e AMSTALDEN, 1998).

Os efeitos do excesso de proteína, independente de sua degradabilidade, e, ou, de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) nas dietas de vacas em lactação, têm sido atribuídos, isoladamente ou associados à redução da concentração plasmática de progesterona (JORDAN e SWANSON, 1979); alteração na composição iônica do fluido uterino e redução do pH intra-uterino (JORDAN et al., 1983; ELROD e BUTLER, 1993; ELROD et al., 1993); exacerbação do balanço energético negativo (BEN) e aumento da secreção endometrial de $\text{PGF2}\alpha$ (BUTLER, 1998); presença de componentes tóxicos do metabolismo do nitrogênio (amônia ou uréia) nas secreções dos órgãos reprodutivos, comprometendo a viabilidade de espermatozóides ou ovócitos ou a sobrevivência e o desenvolvimento embrionário inicial (SANTOS e AMSTALDEN, 1998).

O ambiente uterino é dinâmico e apresenta diferenças acentuadas nas fases do ciclo estral devido à regulação esteroideogênica dos ovários e a secreção endometrial (BUTLER, 2000). O pH e a concentração iônica da secreção uterina, durante a fase luteal, podem ser influenciados pela ingestão de dietas contendo elevados teores de proteína, provocando redução da fertilidade de vacas leiteiras no pós-parto (BUTLER, 1998).

O pH uterino apresenta um aumento fisiológico durante a fase luteal, variando de 6,8 no estro para 7,1 no sétimo dia do ciclo estral (ELROD e BUTLER, 1993), resultante do aumento das concentrações de Na, K, P e da anidrase carbônica, decorrentes da ação da progesterona. ELROD et al. (1993) verificaram que o pH uterino é inversamente relacionado aos teores plasmáticos

de uréia, e que ocorre uma redução específica do pH durante a fase luteal, sugerindo que a redução da fertilidade seja resultado de alterações dos efeitos da progesterona no microambiente uterino, gerando condições subótimas para o desenvolvimento embrionário, quando existem elevadas concentrações de uréia na corrente sanguínea.

Como PDR ou NNP e PDR são metabolizados e utilizados em órgãos diferentes e a resposta fisiológica comum decorrente da ingestão do excesso desses nutrientes é a formação de uréia no fígado e, conseqüentemente, a elevação dos teores de uréia nos fluidos orgânicos, pode-se sugerir que a uréia seja o mediador uterino das alterações locais que ocorrem quando dietas contendo elevadas quantidades de proteína são consumidas (BUTLER, 1998).

Os efeitos diretos do pH uterino, na sobrevivência embrionária nas espécies domésticas, ainda não são totalmente conhecidos e, para ELROD (1995), as alterações na disponibilidade de íons para os embriões podem influenciar nas interações dos hormônios com seus receptores e, ou, na utilização de aminoácidos, glicose ou lactato, comprometendo a viabilidade dos conceptos, principalmente na fase de rápida expansão, após o oitavo dia de gestação, quando a demanda de nutrientes é crescente.

Considerando que as recomendações tradicionais para a utilização de uréia em rações de ruminantes sugerem valores de no máximo 1% de uréia na base de matéria seca total, objetivou-se verificar os efeitos de níveis crescentes de uréia nas dietas de vacas leiterias no pós-parto sobre os teores plasmáticos de N-uréia (NUP) e o pH uterino no estro e no diestro.

Material e Métodos

O local do experimento, o manejo dos animais, os constituintes e a composição das rações foram descritos no capítulo anterior.

Foram utilizadas 16 vacas mestiças (holandês/zebu) com escore corporal ao parto entre 3,5 e 4,0, adotando-se uma escala de 1 a 5 (1 = muito magra; 5 =

gorda), que apresentaram parto eutócico e expulsão da placenta até 12 h após o parto, distribuídas aleatoriamente e equitativamente em quatro tratamentos. As vacas foram rigorosamente examinadas, aos 45 dias pós-parto, por meio de palpação retal, para avaliação do retorno da atividade ovariana e involução uterina, tendo sido utilizados apenas animais com puerpério normal.

À abertura de cada silo, foram retiradas amostras para determinação do teor de matéria seca da silagem de milho e cálculo das quantidades de volumoso e concentrado de cada dieta, obedecendo à proporção de 60:40, previamente estabelecida. As dietas foram formuladas para serem isotróficas e continham 0,0%; 0,7%; 1,4% e 2,1% de uréia, respectivamente tratamentos 1, 2, 3 e 4.

A ingestão de matéria seca (MS) foi estimada com base no consumo de matéria natural dos 70 aos 110 dias de lactação. O consumo de matéria natural foi obtido diariamente por meio da diferença entre o alimento fornecido e a sobra que foi recolhida e pesada antes do fornecimento de nova dieta, admitindo-se que as sobras tinham o mesmo teor de MS do alimento fornecido. Foram utilizados valores de 40,44% e 42,15% para os teores de MS da silagem de milho e 88,3% dos concentrados, respectivamente.

As partes de volumoso e de concentrado, na relação 60:40, previamente estabelecida, foram determinadas por meio da razão entre a proporção de cada alimento e seu respectivo teor de matéria seca. A ingestão de matéria seca estimada resultou da soma do percentual de partes do volumoso e do concentrado multiplicados por seus respectivos conteúdos de matéria seca, menos a sobra.

Foram realizadas medições do pH intra-uterino, no estro (dia 0) e na fase luteal (dia 7) do segundo ou terceiro ciclo estral pós-parto, desde que houvessem transcorrido no mínimo 90 dias pós-parto. Com auxílio de uma pipeta para infusão uterina descartável, instilou-se, pela via transcervical, 60 mL de água destilada e deionizada, nos cornos uterinos. Após 30 segundos de massageamento, coletou-se o líquido por meio de aspiração e mediu-se o pH utilizando-se um peagâmetro digital, marca Analyser, modelo pH 200, acoplado a um eletrodo de pH modelo 2 A09 e com capacidade de medição de pH de 0 a 14, temperatura de 0 a 90°C, resistência de 500 MOhms e sistema de referência

Ag/AgCL. Após a aspiração do líquido, os cornos uterinos foram novamente massageados para retirar o excesso.

As medições foram realizadas sempre quatro horas após o fornecimento da dieta e o equipamento foi previamente calibrado, com soluções tampão para pH 4 e 7 e ajuste de temperatura ambiente.

Imediatamente após medição do pH intra-uterino no estro, foram coletadas amostras de sangue para determinação dos teores plasmáticos de uréia. As amostras foram coletadas em tubos de vidro vacuolizados, contendo anticoagulante EDTA (K3), por meio de punção da artéria ou veia coccígea, transportadas em caixas de isopor com gelo e centrifugadas a 5.000 rpm, durante 20 minutos. O plasma obtido foi conservado a -20° até a sua análise. As amostras foram analisadas pelo método diacetil modificado no Laboratório de Fisiologia Animal do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

Todos os animais foram inseminados ao final do terceiro ciclo estral no pós-parto e o diagnóstico de gestação realizado 60 dias após por meio de palpação retal.

As análises estatísticas dos resultados foram avaliadas por meio de análises de variância e de regressão, utilizando-se o programa SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1998).

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, podem ser observadas as médias diárias da ingestão de matéria seca e da produção de leite dos 70 aos 110 dias de lactação.

Tabela 1 – Médias da ingestão de matéria seca (IMS) e da produção de leite (PL), expressas em kg/dia, em função dos níveis de uréia nas dietas, obtidas do 70^o ao 110^o dia de lactação

	Níveis de uréia (%)				P	
	0,0	0,7	1,4	2,1	L	Q
IMS	15,78	18,88	13,57	9,07	0.0270	0.0012
PL	16,90	18,13	17,64	14,26	NS	NS

IMS = 16,1876 + 4,9926 uréia - 4.8073 uréia² (R²= 0,7960),

NS: Não-Significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

A ingestão de matéria seca reduziu (P<0,05) com o aumento dos níveis de uréia nas dietas, podendo ser atribuído aos efeitos metabólicos da uréia e, ou, à baixa palatabilidade do alimento, caracterizada pelo seu sabor amargo. Um outro aspecto, observado na presente pesquisa, e que provavelmente contribuiu para a redução do consumo de matéria seca é o peso específico e a granulometria da uréia, que favorecem a segregação do alimento, permitindo que, mesmo com o fornecimento da dieta na forma de mistura completa, a uréia fosse refugada em maior quantidade, nos níveis de 1,4% e 2,1%, ocasionando maiores sobras diárias.

Resultados semelhantes foram encontrados por HUBER e KUNG (1981), que verificaram redução no consumo de matéria seca, dada a quantidade elevada de uréia na dieta (acima de 1,5% a 2,0%) em animais aparentemente adaptados fisiologicamente para tolerar grandes quantidades de uréia. Também nos experimentos de WILSON et al. (1975), que estudaram o efeito de níveis crescentes de uréia, em rações completas, verificou-se que níveis de uréia acima de 2% reduziram o consumo de matéria seca, permitindo sugerir que os metabólitos intermediários do catabolismo da uréia podem, em parte, ser os responsáveis pela redução na ingestão de alimentos, quando os níveis de uréia na ração total estão acima de 1%.

HUBER (1984) considera que os mecanismos envolvidos na redução do consumo, provenientes da ingestão de uréia, podem estar relacionados a uma rejeição pelo paladar e não a eventos ruminais ou pós-ruminais, quando o consumo diário de uréia é de até 300g do alimento, e que pode ocorrer também uma resposta condicionada pelos animais, como verificado por CHALUPA et al. (1979).

Segundo o NRC (1989), a ingestão de matéria seca é o principal fator determinante da performance animal, uma vez que controla o ingresso de nutrientes, principalmente energia e proteína para atender as exigências nutricionais. A quantidade de matéria seca ingerida depende do peso vivo, do nível de produção de leite, do estágio da lactação, de condições climáticas, do manejo nutricional, de fatores sociais do grupo, do histórico da alimentação, da condição corporal e do tipo e da qualidade dos alimentos fornecidos, principalmente das forragens.

Embora na presente pesquisa tenham sido utilizadas vacas mestiças, provenientes de cruzamentos entre raças Holandesa e Gir, e com diferentes graus de sangue, o que resulta numa heterogeneidade de peso corporal e tamanho do animal, as vacas foram criteriosamente selecionadas pelo escore de condição corporal ao parto, entre 3,5 e 4,0 (escala de 1 a 5), o que pode ter proporcionado uma boa uniformidade fisiológica entre as unidades experimentais. A condição corporal foi avaliada por observação visual da presença de gordura sobre as costelas, a região dorso-lombar, as ancas e a inserção da cauda, atribuindo-se valores numéricos (escores) sendo 1 muito magra e 5 muito gorda, e valores intermediários de 0,5 pontos como proposto por FERREIRA e TORRES (1993). Para PATIL e DESHPANDE (1981), a condição corporal é considerada o melhor fator indicativo do funcionamento fisiológico normal de todos os sistemas orgânicos, sendo o escore de condição corporal uma medida subjetiva, mas, eficiente na avaliação preliminar das exigências nutricionais dos animais, com a vantagem de ser uma técnica simples e que não requer equipamentos especializados.

Com relação ao nível de produção de leite e ao estágio da lactação, observa-se, na Tabela 1, que não houve efeito ($P>0,05$) dos níveis de uréia nas dietas sobre as médias da produção de leite, observadas dos 70 aos 110 dias de lactação, permitindo inferir que a ingestão de matéria foi suficiente para atender as exigências nutricionais dos animais.

Não houve influência ($P>0,05$) dos níveis de uréia nas dietas sobre os teores plasmáticos de N-uréia (NUP), como pode ser observado na Tabela 2. A média geral dos teores de NUP obtidos em amostras de sangue coletadas no estro, foi de 19,59 mg/dL, podendo ser esses resultados atribuídos ao fornecimento de dietas isoprotéicas. Os resultados obtidos na presente pesquisa são próximos ao limiar de compatibilidade aos aspectos reprodutivos proposto por ELROD (1995).

Para ELROD (1995), os teores de uréia no plasma e no leite são reflexos da ingestão de proteína, da degradabilidade das fontes protéicas e da energia disponível no rúmen, e apresentam uma correlação negativa com a fertilidade, sendo que níveis acima de 16 mg/dL refletiram uma redução de 30% da taxa de concepção ao primeiro serviço de novilhas. A análise dos dados de vacas em lactação mostrou um nível crítico de NUP de 19 mg /dL, acima do qual foi observada uma significativa redução da fertilidade, confirmando os achados de FERGUSON et al. (1988), que verificaram uma redução das taxas de gestação em vacas com NUP acima de 20mg/dL e também CANFIELD et al. (1990), ao observarem que animais com NUP acima de 18,57 mg/dL foram relacionados a menores índices de prenhez.

O principal mecanismo envolvido na redução da fertilidade de vacas leiteiras no pós-parto, relacionado às variações nos teores de NUP, são as variações no ambiente uterino decorrentes de alterações no fluxo iônico entre as camadas do endométrio. ELROD et al. (1993) verificaram que o pH uterino é inversamente relacionado aos teores de NUP, e que ocorre uma redução específica do pH durante a fase luteal, sugerindo que a redução da fertilidade seja resultado de alterações dos efeitos da progesterona no microambiente uterino, gerando condições sub-ótimas para o desenvolvimento embrionário.

Tabela 2 – Médias do pH uterino no estro (pHE) e no sétimo dia do ciclo estral (pHL) e dos teores plasmáticos de N-uréia (NUP) expressos em mg/dL, em função dos níveis de uréia (%) das rações, coeficiente de variação (cv) e nível de probabilidade (P) dos efeitos linear (L) e quadrático (Q)

	Níveis de uréia (%)				Cv (%)	P	
	0,0	0,7	1,4	2,1		L	Q
pHE	6,53	6,67	6,81	6,64	5,48	NS	NS
pHL	7,13	6,73	6,97	6,98	6,64	NS	NS
NUP	21,05	18,25	20,84	17,91	38,53	NS	NS

NS: Não-Significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

Na Tabela 2, estão apresentadas as médias do pH uterino no estro e no sétimo dia do ciclo estral, correspondendo à fase luteal, em função dos níveis de uréia nas dietas, os coeficientes de variação e o nível de probabilidade dos efeitos linear e quadrático.

O pH uterino no estro não foi influenciado ($P > 0,05$) pelos níveis de uréia nas dietas. Resultado semelhante foi obtido por ELROD et al. (1993), que também não verificaram diferença significativa entre médias do pH uterino no estro, para vacas consumindo dietas balanceadas (6,83), contendo excesso de PNDR (6,81) ou excesso de PDR (6,84), sugerindo que a ingestão de quantidades excessivas de proteína, independente de sua degradabilidade, não provoca alterações do pH uterino nessa fase do ciclo estral.

A média geral do pH obtida no presente experimento foi 6,66 e 6,97 no estro e no diestro, respectivamente, sendo que pH uterino mais alto no diestro também foi observado por ELROD et al. (1993), que consideraram essa diferença, uma condição fisiológica da fase luteal, resultante do aumento dos teores de Na^+ , K^+ , P^- e também da anidrase carbônica, decorrentes da ação da progesterona.

Como pode ser observado na Tabela 2, o pH uterino no sétimo dia do ciclo estral não foi influenciado ($P>0,05$) pelos níveis de uréia nas dietas. Elrod e Butler (1992), citados por ELROD (1995), utilizando carúnculas endometriais dissecadas do útero de vacas e novilhas no diestro, após 4 h de perfusão com uréia (25 mg/dL) ou amônia (5 μ g/dL), verificaram que independente do tratamento, os teores de Mg^{++} , Ca^{++} , Cl , Na^+ e HCO_3^- foram maiores na serosa, enquanto as de P^- e K^+ foram mais elevadas na mucosa, resultando numa medida de pH aproximadamente 0,19 unidades mais baixo que na serosa. A amônia alterou significativamente o fluxo de Na^+ e K^+ via endométrio, e a uréia reduziu significativamente o pH na mucosa e alterou o transporte de P^- , K^+ e Na^+ , evidenciando que uréia e amônia influenciaram, por meio de mecanismos diferentes, o processo de transporte iônico no endométrio, resultando em alterações do ambiente uterino, principalmente na mucosa, o que pode ser prejudicial ao desenvolvimento do concepto. Os resultados obtidos sugeriram que o mecanismo fisiológico envolvido na redução do pH uterino na fase luteal, decorrente da elevação do teor de uréia endógena presente nos fluidos orgânicos, não seriam provenientes da presença de uréia no ambiente uterino, uma vez que a molécula apresenta características eletrolíticas de base, o que resultaria num aumento do pH, mas, de um sinal metabólico reconhecido especificamente pela mucosa endometrial, gerando uma alteração no gradiente de concentração dos cátions P, K e Na, atraindo íons hidrogênio e, conseqüentemente, reduzindo o pH.

Embora na presente pesquisa não tenham sido determinados os teores de uréia no fluido endometrial, nas diferentes fases do ciclo estral, o fornecimento de dietas isoprotéicas, variando apenas os níveis de uréia em substituição ao farelo de soja, que se constituem fonte de NNP e PDR, respectivamente, resultou em pequena variação no teor plasmático de N-uréia, que, possivelmente, seja o principal sinal metabólico para a redução no pH uterino durante a fase luteal, permitindo inferir que os níveis de uréia que foram testados na dieta não alteram o pH uterino na fase luteal.

ELROD et al. (1993) verificaram que dietas contendo excesso de proteína, independente da sua degradabilidade, diminuem o pH uterino no dia 7 do ciclo estral, e que o mecanismo fisiológico envolvido é uma redução nas concentrações de Mg^{++} , K^+ e P^- no ambiente uterino durante a fase luteal, o que também foi detectado por JORDAN et al. (1983) em animais consumindo dietas contendo 23% de PB.

Com o objetivo de otimizar o manejo reprodutivo, eliminando possíveis efeitos de desordens metabólicas do pós-parto, ELROD e BUTLER (1993) utilizaram novilhas virgens, que receberam dietas formuladas para ingestão de 70% das exigências de energia metabolizável, 100% das de PNDR e PDR, variando de normal para alta ingestão, na qual as exigências foram excedidas em 50% e verificaram que, no dia 7 do ciclo estral, o pH uterino foi significativamente menor (6,79) no grupo com alta proteína, quando comparado ao grupo recebendo dieta com as exigências de proteína (7,09), sugerindo que o efeito de dietas com alta ingestão de proteína influenciam o pH uterino somente na fase luteal, o que não foi observado neste experimento.

Os efeitos diretos do pH uterino na sobrevivência embrionária, nas espécies domésticas, ainda não são totalmente conhecidos. Para ELROD (1995), as alterações na disponibilidade de íons para os embriões podem influenciar nas interações dos hormônios com seus receptores e, ou, na utilização de aminoácidos, glicose ou lactato, comprometendo a viabilidade dos conceptos, principalmente na fase de rápida expansão, após o oitavo dia de gestação, quando a demanda de nutrientes para o seu desenvolvimento é crescente.

BUTLER (1998) verificou que teores de NUP maiores que 19mg/dL, estavam associados a alterações no pH e modificações do ambiente uterino, sendo essa a principal causa da redução da fertilidade de vacas leiteiras no pós-parto. No presente experimento, a média dos teores de NUP foi de 19,59 mg/dL, e não houve alterações no pH uterino decorrentes da substituição do farelo de soja pela uréia nos níveis testados, permitindo inferir que, nos níveis de produção de leite e de consumo de matéria seca encontrados, não se pode atribuir ao efeito

das dietas a redução da fertilidade decorrente de modificações no ambiente uterino.

Conclusões

A elevação dos níveis de uréia nas rações reduziu a ingestão de matéria seca, não influenciou a produção de leite, dos 70 aos 110 dias de lactação e não teve efeito nos teores de NUP e no pH uterino no estro e no diestro.

Referências Bibliográficas

- BUTLER, W.R. 1998. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 81 (9): 2533-2539.
- BUTLER, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *J. Anim. Sci.*, 60-61: 449-457.
- CANFIELD, R.W., SNIFFEN, C.J., BUTLER, W.R. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 73(9): 2343-2349.
- CHALUPA, W.C.A., BAILE, C.A., McLAUGHLIN, C.L., et al. 1979. Effect of introduction of urea on feeding behavior of Holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 62(8): 1278-1284.
- ELROD, C.C. 1995. High dietary protein and high fertility: can we have both? In: Cornell Cooperative Extension, Waterloo, NY, p. 32-39.
- ELROD, C.C., BUTLER, W.R. 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.*, 71: 694-701.
- ELROD, C.C., VAN AMBURG, M., BUTLER, W.R. 1993. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J. Anim. Sci.*, 71: 702-706.
- FERREIRA, A.M., TORRES, C.A.A. 1993. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteal cíclica em vacas mestiças leiteiras. *Pesq. Agropec. Bras.*, 28(3): 411-418.
- FERGUSON, J.D., BLANCHARD, T., GALLIGAN, D.T., et al. 1988. Infertility in dairy cattle fed high percentage of protein degradable in the rumen. *JAVMA.*, 192 (5): 659-662.
- HUBER, J.T. 1984. *Uréia ao nível do rúmen*. In: 2º Simpósio sobre Nutrição de Bovinos, 1984, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1984, p.25-79.
- HUBER, J.T., KUNG, JR.L. 1981. Protein and nonprotein nitrogen utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 64(6): 1170-1195.

- JORDAN, E.R., CHAPMAN. T.E., HOLTAN, D.W. et al. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 66(9): 1854-1862.
- JORDAN, E.R., SWANSON, L.V. 1979. Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein, and albumin in the high-producing dairy cow. *J. Dairy Sci.*, 62(1): 58-63.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1989. *Nutrient Requeriments of Dairy Cattle*. 6ed. Washington: National Academy. 242p.
- PATIL, J.S., DESHPANDE, B.R. 1981. The study of body weight changes during antepartum, parturition and post-partum periods in Gir cows. With special reference to exhibition of pos-partum oestrus. *Ind. Vet. J.*, 58:376-379.
- SANTOS, J.E.P., AMSTALDEN, M. 1998. Effects of nutrition on bovine reproduction. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 26(1): 19-89.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV.1998. SAEG- *Sistema de análises estatísticas e genética*. Versão 8.0. Viçosa, MG.
- WILSON, G., MARTZ, F. A., CAMPBELL,J.R. et al. 1975. Evaluation of factors responsible for reduced voluntary intake of urea for ruminants. *J. Anim. Sci.*, 41(5):1431-1437.

3. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes níveis de uréia na dieta de vacas mestiças leiteiras no pós-parto sobre o consumo de matéria seca, a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura, o peso corporal, o teor plasmático de N-uréia (NUP), a dinâmica folicular ovariana, o retorno da atividade ovariana e o pH intra-uterino no estro e no diestro. Foram realizados dois experimentos na Fazenda Experimental Leopoldina-EPAMIG, nos anos de 1999 e 2000, respectivamente experimento I e II. No experimento I, foram utilizadas 15 vacas mestiças (holandês-gir) com peso médio de 511,8 kg e escore corporal ao parto entre 3,5 e 4,5 (escala de 1 a 5), distribuídas em delineamento inteiramente casualizado sendo quatro animais no tratamento 1, 2 e 4 e três animais no tratamento 3. As dietas constituídas de volumoso (silagem de milho) e concentrado na proporção 60:40 foram fornecidas individualmente e à vontade, e continham 0,0%; 0,7%; 1,4% e 2,1% de uréia, correspondendo aos níveis de 2,08; 4,01; 5,76 e 8,07 de proteína bruta na forma de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP), tratamentos 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Durante o período experimental, que foi em média de 115 dias, realizou-se a ultra-sonografia diariamente do 14^o ao 90^o dia do pós-parto; foram coletadas amostras de leite aos 30, 60 e 90 dias de lactação para determinação dos teores de gordura, e, também, no 30^o dia do período experimental coletou-se amostra de

sangue para determinação dos teores plasmáticos de uréia. As médias do consumo de matéria seca, expresso em kg/dia e %PV foram 16,04; 16,49; 11,64; e 11,93 kg/dia e 3,29; 3,09; 2,47; e 2,35% PV e da produção de leite corrigida para 3,5% de gordura 21,18; 24,92; 20,63; e 18,83 kg/dia, para os níveis de NNP de 2,08; 4,01; 5,76; e 8,07, respectivamente, e reduziram com o aumento de NNP nas rações. As médias dos teores plasmáticos de uréia e N-uréia foram de 45,66 e 21,59 mg/dL e não foram influenciados pelos níveis de NNP das dietas. O número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral, a emergência da primeira e da segunda onda de crescimento folicular, a persistência do folículo ovulatório e o diâmetro máximo do folículo ovulatório não foram influenciados pelos níveis de NNP nas rações. A primeira ovulação no pós-parto, verificada em média aos 55 dias após o parto, o primeiro estro pós-parto (81 dias), o número de inseminações/concepção (1,2) e o período de serviço médio de 94 dias também não foram influenciados pelos níveis de NNP nas rações. No experimento II, foram utilizadas 16 vacas mestiças (holandês-gir) com escore corporal ao parto entre 3,5 e 4,0 (escala 1 a 5), distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, alimentadas com as mesmas dietas do Experimento I. No estro e no diestro do segundo ou terceiro ciclo estral pós-parto, realizou-se a medição do pH uterino em 60 mL de água destilada e deionizada, que foram infundidos e aspirados nos cornos uterinos após 30 segundos de massageamento. As medições de pH uterino foram realizadas quatro horas após o fornecimento da dieta e simultaneamente foram coletadas amostras de sangue para determinação dos teores plasmáticos de uréia. A ingestão de matéria seca dos 70 aos 110 dias de lactação reduziu com o aumento dos níveis de uréia nas dietas e a produção de leite não foi influenciada. Não houve efeito dos níveis de uréia nos teores plasmáticos de N-uréia, em amostras de sangue coletadas no estro, que foram em média 19,59 mg/dL. O pH uterino no estro (6,66) e no diestro (6,97) também não foi influenciado pelos diferentes níveis de uréia nas dietas.

O estudo possibilitou as seguintes conclusões:

- o aumento dos níveis de NNP nas rações reduziu o consumo de matéria seca, expresso em kg/dia e %PV e a produção de leite corrigida para 3,5% de

gordura, e não influenciou os teores de uréia e N-uréia no plasma (NUP) e no leite (NUL), na dinâmica folicular e nas características reprodutivas do pós-parto;

- a elevação dos níveis de uréia nas rações reduziu a ingestão de matéria seca, não influenciou a produção de leite, dos 70 aos 110 dias de lactação e não teve efeito nos teores de NUP e no pH uterino no estro e no diestro.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Tabela 1A – Equações de regressão ajustadas para o consumo de matéria seca (CMS) expresso em kg/dia e em %PV e para a produção de leite corrigida para 3,5% de gordura (PLG), em função dos níveis de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) das rações e os respectivos coeficientes de determinação (r^2)

Variáveis	Equações	r^2
CMS (kg/dia)	$\bar{U} = 18,2825 - 0,831678\text{NNP}$	0,7153
CMS (%PV)	$\bar{U} = 3,66145 - 0,170274\text{NNP}$	0,9154
PLG (Kg/dia)	$\bar{U} = 24,2912 - 0,57799\text{NNP}$	0,3314

Tabela 2A – Peso médio das vacas (kg) por tratamento

TMT	ANIMAL	NNP	21 dias	49 dias	77 dias	84 dias
1	1	2,08	395,5	420,0	424,5	429,0
1	2	2,08	557,0	550,5	570,0	571,0
1	3	2,08	512,0	501,2	508,0	514,0
1	4	2,08	504,1	550,5	528,0	528,0
2	1	4,01	648,5	678,5	708,0	712,0
2	2	4,01	574,0	573,0	589,0	594,0
2	3	4,01	431,0	433,5	450,0	450,0
2	4	4,01	426,5	470,0	503,0	503,0
3	1	5,76	446,0	436,5	437,0	440,0
3	2	5,76	482,5	491,0	487,5	484,0
3	3	5,76	500,5	511,0	530,0	530,0
4	1	8,07	540,5	532,0	525,5	529,0
4	2	8,07	586,5	597,5	611,0	611,0
4	3	8,07	480,5	469,0	466,0	466,0
4	4	8,07	437,5	431,0	457,0	436,0

Tabela 3A – Resumo da análise de variância dos pesos (kg) das vacas em função dos tratamentos

Fontes de variação	GL	SQ	QM
NNP	3	31298,31	31298,31
Linear (R² = 0,02)	1	780,9748	780,9748
Quadrático (R² = 0,07)	1	1501,943	1501,943
Resíduo	56	275489,5	4919,455

Tabela 4A- Teor plasmático de uréia (UP), N-uréia plasmática (NUP), teor de uréia no leite (UL), N-uréia no leite, expressos em mg/dL

TMT	ANIMAL	NNP	UP	NUP	UL	NUL
1	1	2,08	31,960	14,893	29,790	13,882
1	2	2,08	56,875	26,504	43,410	20,229
1	3	2,08	45,790	21,338	47,000	21,902
1	4	2,08	47,460	22,116	44,360	20,672
2	1	4,01	41,533	19,354	32,110	14,963
2	2	4,01	45,841	21,362	35,200	16,403
2	3	4,01	38,350	17,871	51,790	24,134
2	4	4,01	41,280	19,236	57,630	26,856
3	1	5,76	57,400	26,748	45,980	21,427
3	2	5,76	63,387	29,538	46,860	21,837
3	3	5,76	45,240	21,082	45,780	21,333
4	1	8,07	34,590	16,119	35,490	16,538
4	2	8,07	53,430	24,898	44,220	20,607
4	3	8,07	43,309	20,182	45,700	21,296
4	4	8,07	39,480	18,398	50,350	23,463

Tabela 5A – Resumo da análise de variância das variáveis da dinâmica folicular número de dias de duração do ciclo estral (INT), número de ondas de crescimento folicular (NO), emergência da primeira onda de crescimento folicular (EPO), emergência da segunda onda de crescimento folicular (ESO), persistência do foliculo ovulatório (PFOV), expressos em dias do ciclo estral, diâmetro máximo do foliculo ovulatório (mm) em função dos níveis de NNP das rações

INT					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	5,7333	1,9111	1,251	0,3716
Linear ($R^2 = 0,08$)	1	0,4645	0,4645	0,304	***
Quadrático ($R^2 = 0,29$)	1	1,1854	1,1854	0,776	***
Cúbico ($R^2 = 1,00$)	1	4,0833	4,0833	2,673	0,1532
Resíduo	6	9,1666	1,5277		
NO					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	0,2333	0,7777	0,700	***
Linear ($R^2 = 0,12$)	1	0,2903	0,2903	0,261	***
Quadrático ($R^2 = 0,49$)	1	0,8430	0,8430	0,759	***
Cúbico ($R^2 = 1,00$)	1	0,1200	0,1200	1,080	0,338
Resíduo	6	0,6666	0,1111		
EPO					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	0,5666	0,1888	0,618	***
Linear ($R^2 = 0,05$)	1	0,29032	0,29032	0,095	***
Quadrático ($R^2 = 0,85$)	1	0,4543	0,4543	1,487	0,268
Cúbico ($R^2 = 1,00$)	1	0,8333	0,833	0,273	***
Resíduo	6	1,833	0,3055		
ESO					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	11,833	3,944	1,268	0,366
Linear ($R^2 = 0,01$)	1	0,8064	0,8064	0,026	***
Quadrático ($R^2 = 0,45$)	1	5,2993	5,2993	1,703	0,239
Cúbico ($R^2 = 1,00$)	1	6,4533	6,4533	2,074	0,199
Resíduo	6	18,667	3,111		
PFOV					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	60,566	20,188	0,566	***
Linear ($R^2 = 1,00$)	1	60,545	60,545	1,699	0,240
Quadrático ($R^2 = 1,00$)	1	0,1817	0,1817	0,001	***
Cúbico ($R^2 = 1,00$)	1	0,3333	0,333	***	***
Resíduo	6	213,833	35,638	***	***
DFOV					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	3,900	1,300	0,520	***
Linear ($R^2 = 0,60$)	1	2,351	2,352	0,941	***
Quadrático ($R^2 = 0,72$)	1	0,468	0,468	0,187	***
Cúbico ($R^2 = 1,00$)	1	1,080	1,080	0,432	***
Resíduo	6	15,000	2,500		

Tabela 6A – Resumo das análises de variância do número de dias transcorridos do parto até a presença do primeiro folículo (PFOL), primeira ovulação no pós-parto (POPP), primeiro no estro pós-parto (PEPP) e período de serviço (PS), e número de inseminações por concepção (NI/C), em função dos níveis de compostos nitrogenados não-protéicos (NNP) das rações

PFOL					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	5,233	1,744	***	***
Resíduo	11	94,500	8,590	***	***
POPP					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	459,500	153,166	0,239	***
Linear ($R^2 = 0.22$)	1	102,618	102,618	0,160	***
Quadrático ($R^2 = 0.95$)	1	335,838	335,838	0,524	***
Cúbico ($R^2 = 1.00$)	1	21,043	21,043	0,03	***
Resíduo	11	7046,500	640,590		
PEPP					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	3491,900	1163,967	0,835	***
Linear ($R^2 = 0.09$)	1	319,477	319,477	0,229	***
Quadrático ($R^2 = 0.85$)	1	2655,857	2655,857	1,904	***
Cúbico ($R^2 = 1.00$)	1	516,565	516,565	0,370	***
Resíduo	11	15340,50	1394,591		
PS					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	5277,983	1759,328	1,1612	0,242
Linear ($R^2 = 0.61$)	1	3245,409	3245,409	2,974	0,112
Quadrático ($R^2 = 0.81$)	1	1047,781	1047,781	0,960	***
Cúbico ($R^2 = 1.00$)	1	984,793	984,793	0,902	***
Resíduo	11	12005,75	1091,432		
NI/C					
Fontes de variação	GL	SQ	QM	F	Sign.
Tratamento	3	0,4333	0,144	0,636	***
Linear ($R^2 = 0.41$)	1	0,1765	0,1765	0,777	***
Quadrático ($R^2 = 0.90$)	1	0,2132	0,2132	0,212	***
Cúbico ($R^2 = 1.00$)	1	0,4347	0,04347	0,191	***
Resíduo	11	2,5000	0,2272		

APÊNDICE B

Tabela 1B – Médias da ingestão de matéria seca (IMS) e da produção diária de leite (PL), expressas em kg/dia, em função dos níveis de uréia nas dietas

Teores de Ureia			
Animal	(%)	IMS	PL
1	0,0	14,87	15,70
2	0,0	17,51	23,53
3	0,0	17,69	16,90
4	0,0	13,08	11,48
1	0,7	18,02	19,88
2	0,7	18,80	20,99
3	0,7	18,81	15,42
4	0,7	19,90	16,24
1	1,4	12,98	17,72
2	1,4	12,09	18,14
4	1,4	15,66	17,08
1	2,1	10,89	15,87
2	2,1	8,14	13,60
3	2,1	6,96	12,85
4	2,1	10,32	14,74

Tabela 2B – Resumo da análise de variância dos teores plasmáticos de N-uréia em amostras obtidas no estro, expressos em mg/dL, em função dos níveis de uréia nas dietas

Fontes de variação	GL	SQ	QM
Devido a Regressão	1	10,36750	10,36750
Independente	13	648,2086	49,86220

Tabela 3B – Resumo da análise de variância do pH uterino medido no dia do estro (pHE) e no sétimo dia do ciclo estral (pHL), em função dos níveis de uréia nas dietas

pHE			
Fontes de variação	GL	SQ	QM
Tratamento	3	0,1653688	0,5512292
Resíduo	12	1,599325	0,1332771
pHL			
Fontes de variação	GL	SQ	QM
Tratamento	3	0,2723433	0,907811
Resíduo	12	2,356550	0,2142318