

**EFEITO DA SOBREALIMENTAÇÃO COM
FONTES DE PROTEÍNA DE DIFERENTES
DEGRADABILIDADES SOBRE A
OVULAÇÃO E A TAXA DE PREENHEZ EM
OVELHAS SANTA INÊS**

GABRIELA DE ABREU SAUNDERS

2009

GABRIELA DE ABREU SAUNDERS

**EFEITO DA SOBREALIMENTAÇÃO COM FONTES DE
PROTEÍNA DE DIFERENTES DEGRADABILIDADES SOBRE A
OVULAÇÃO E A TAXA DE PREENHEZ EM OVELHAS SANTA
INÊS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora
Profa. Dra. Nadja Gomes Alves

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Saunders, Gabriela de Abreu.

Efeito da sobrealimentação com fontes de proteína de diferentes degradabilidades sobre a ovulação e a taxa de prenhez em ovelhas Santa Inês / Gabriela de Abreu Saunders. – Lavras : UFLA, 2009.

93 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Nadja Gomes Alves.

Bibliografia.

1. *Flushing*. 2. Reprodução. 3. Concentração plasmática de N-ureico. 4. Proteína degradável no rúmen. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.3089

GABRIELA DE ABREU SAUNDERS

**EFEITO DA SOBREALIMENTAÇÃO COM FONTES DE
PROTEÍNA DE DIFERENTES DEGRADABILIDADES SOBRE A
OVULAÇÃO E A TAXA DE PREENHEZ EM OVELHAS SANTA
INÊS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 5 de maio de 2009

Prof. Dr. Juan Ramon Olalquiaga Pérez UFLA

Prof. Dr. José Camisão de Souza UFLA

Prof. Dr. Joel Augusto Muniz UFLA

Profª Dra. Nadja Gomes Alves
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

OFEREÇO

As minhas amigas Fabíola e Leandra, que estiveram ao meu lado durante os momentos mais difíceis, me incentivando a lutar sempre!

Ao meu amor, André, pessoa que admiro muito, por todo o apoio, carinho, dedicação e amor.

Aos meus irmãos, Emmanuel e Wagner, e a todos os meus familiares, pelo apoio incentivo e amor.

DEDICO

Aos meus pais, Antonio Carlos e Maria Lucia, por todo o esforço que fizeram para que eu terminasse mais uma etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda a proteção, força, amor e luz.

Aos meus pais, pela dedicação, ensinamentos, amor e por tudo o que oferecem e fazem por mim.

À professora Nadja Gomes Alves, pela orientação, pela confiança e por todos os ensinamentos, contribuindo para a execução desta dissertação.

Aos professores Juan Ramon Olalquiaga Pérez e José Camisão de Souza, pelos ensinamentos durante a execução deste trabalho.

Ao professor Joel Augusto Muniz, por contribuir com toda a estatística deste trabalho.

A Taciana Vilella, pela grande ajuda na realização das análises estatísticas.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo financiamento do projeto.

À Empresa Tecnopec, pela doação dos hormônios utilizados na sincronização de estro.

Aos estagiários Gustavo Lazarin (Gambazão), Antônio José Neto (Dedé), Alexandre Rotilli (Xexéu), Mariana Hamaue e Marcelo Joseph, pela imprescindível ajuda durante a condução do experimento.

Às amigas Fabíola Meirelles e Leandra Leal, pela amizade, companheirismo, incentivo (vai lá e arrasa) e, durante os momentos mais difíceis, mostrar sempre o lado positivo da situação e o aprendizado adquirido.

Ao meu amor, André Morais Moura, pelo carinho, amor, amizade, dedicação, troca de conhecimentos e por estar sempre ao meu lado.

As minhas amigas do coração, Núbia Garcia Vianna, Anna Carolina Delgado de Mello e Mariana do Desterro que, mesmo distantes, sempre me apoiaram.

Ao amigo Rafael Fernandes, pela grande contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Às amigas Amanda Azarias e Karina Costa, pelo apoio e amizade no período final da confecção deste trabalho.

Aos amigos da pós-graduação: Otávio Rodrigues Machado Neto, Aníbal Coutinho, Fabiano Luis Simioni, Fabrício Rodrigues Campos, Julimar do Sacramento Ribeiro, João Fernando Carvalho, Adimar Cardoso Júnior e Patrícia França.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, que me auxiliaram durante toda a condução do experimento.

Aos funcionários do laboratório de Pesquisa Animal, Márcio e José Virgílio, pelo auxílio durante as análises bromatológicas.

Aos professores do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, Victor Cruz Rodrigues, João Batista Rodrigues de Abreu, José Bonifácio Menezes, Pedro Antônio Muniz Malafaia e Carlos Elysio Fonseca, que transmitiram os ensinamentos durante a minha graduação.

Aos amigos da UFRRJ, Vivian lo Tierzo, Thiago Gomes dos Santos Braz, João Paulo Franco da Silveira e Adenilson José Paiva.

Aos integrantes do Grupo de Apoio à Ovinocultura (GAO), pela ajuda na condução do experimento de campo e pela oportunidade de participar do grupo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Metabolismo de proteína nos ruminantes.....	3
2.2 Concentração de N-ureico no sangue.....	6
2.3 Determinação da síntese de proteína microbiana por derivados de purina.....	9
2.4 Características do farelo de soja, do glúten de milho e do farelo de algodão.....	14
2.5 Efeitos do flushing sobre a taxa de ovulação e a prolificidade.....	16
2.6 Efeito de elevada concentração de amônia e N-ureico no sangue sobre o fluido folicular, o desenvolvimento folicular e a taxa de ovulação.....	21
2.7 Influência do N-ureico no sangue sobre a taxa de concepção.....	26
2.7.1 Concentração de progesterona e ambiente uterino.....	27
2.7.2 Qualidade e desenvolvimento embrionários.....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Animais e delineamento experimental.....	35
3.2 Tratamentos.....	35
3.3 Avaliação do peso e do escore de condição corporal e coletas de sangue.....	38
3.4 Coleta de urina.....	39
3.5 Sincronização de estros e determinação do número de ovulações.....	39

3.6 Diagnóstico de gestação.....	40
3.7 Análise estatística	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
4.1 Número de ovulações.....	44
4.1.1 Dietas	44
4.1.2 Peso vivo e ECC	47
4.1.3 Concentração plasmática de N-ureico	48
4.1.4 Número de ovulações e diâmetro do folículo ovulatório.....	53
4.2 Taxa de prenhez e prolificidade.....	57
4.2.1 Dietas	57
4.2.2 Peso vivo e ECC	59
4.2.3 DPC índice.....	62
4.2.4 Concentração plasmática de N-ureico	64
4.2.5 Taxa de prenhez e prolificidade.....	66
5 CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXOS	88

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Composição, em ingredientes e nutrientes, das dietas de <i>flushing</i> formuladas com farelo de soja (FFS) ou glúten de milho e farelo de algodão (FGM+FA) e da dieta de manutenção.....	37
TABELA 2 Composição das dietas de <i>flushing</i> formuladas com farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão em ingredientes e nutrientes no período anterior à ovulação.....	45
TABELA 3 Estimativa do consumo médio individual de MS, em % peso vivo e em kg/dia, de MO, em kg/dia e de PB, CNF, EE, FDN e cinzas, em g/dia, durante os 28 dias antes da ovulação.....	46
TABELA 4 Média e erro padrão do ganho de PV e de ECC, durante os 28 dias anteriores à ovulação e do PV e do ECC das ovelhas, no 28º dia do experimento.	47
TABELA 5 Média e erro padrão da concentração plasmática de N-ureico nos dias 7, 14, 21 e 28 do experimento nas ovelhas que consumiram as dietas de <i>flushing</i> com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão.....	49
TABELA 6 Média e erro padrão do número de ovulações e do diâmetro do folículo ovulatório das ovelhas que receberam as dietas de <i>flushing</i> com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão.....	53
TABELA 7 Composição das dietas de <i>flushing</i> formuladas com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão e da dieta de manutenção em ingredientes e nutrientes no período pós-ovulatório.....	58
TABELA 8 Estimativa do consumo médio individual de MS, em % do PV e em kg/dia, de MO, em kg/dia e de PB, CNF, EE, FDN, FDA e cinzas, em g/dia, durante 28 dias após a ovulação.....	59

TABELA 9 Média e erro padrão do ganho de peso vivo e do peso vivo final das ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, durante todo o período experimental.	60
TABELA 10 Média e erro padrão do ganho de ECC e do ECC final das ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, durante todo o período experimental.	61
TABELA 11 Média e erro padrão do DPC <i>índice</i> , no 21º dia após a ovulação, das ovelhas submetidas aos tratamentos T1, T2, T3 e T4.....	62
TABELA 12 Média do N-ureico (mg/dL) nas ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, nos dias 7, 14, 21 e 28 após a ovulação.	65
TABELA 13 Taxa de prenhez (%) das ovelhas que receberam os tratamentos T1, T2, T3 e T4.	67
TABELA 14 Prolificidade e erro padrão das ovelhas que receberam os tratamentos T1, T2, T3 e T4.	69

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 Concentração de N-ureico e consumo de PB nas ovelhas que receberam *flushing* com farelo de soja 50
- FIGURA 2 Concentração de N-ureico e consumo de proteína bruta nas ovelhas que receberam *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão..... 51

RESUMO

SAUNDERS, Gabriela de Abreu. **Efeito da sobrealimentação com fontes de proteína de diferentes degradabilidades sobre a ovulação e a taxa de prenhez em ovelhas Santa Inês**. 2009. 93p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o número de ovulações de ovelhas da raça Santa Inês submetidas ao *flushing* com fontes de proteína de diferentes degradabilidades ruminais. Buscou-se, ainda, avaliar o fornecimento das dietas de *flushing* antes da ovulação e o fornecimento dessas mesmas dietas ou de uma dieta de manutenção após a ovulação sobre a taxa de prenhez e a prolificidade. O experimento foi conduzido no setor de Ovinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. Quarenta e quatro ovelhas, as quais tiveram o estro sincronizado, foram distribuídas em dois tratamentos em um delineamento de blocos com três faixas de escore. Os tratamentos consistiram em duas dietas de *flushing*, isoproteicas, formuladas com farelo de soja - FFS (n=24) ou com glúten de milho e farelo de algodão – FGM+FA (n=20), fornecidas por 28 dias antes da ovulação. Durante 28 dias após a ovulação, as ovelhas continuaram a receber estas mesmas dietas ou receberam uma dieta de manutenção, formando quatro tratamentos: T1 – FFS, antes e após a ovulação (n=12); T2 – FFS, antes da ovulação e dieta de manutenção após a ovulação (n=11); T3 – FGM+FA, antes e após a ovulação (n=10); T4 – FGM+FA, antes da ovulação e dieta de manutenção após a ovulação (n=10). O ganho de PV e de ECC e a concentração de N-ureico no plasma no período anterior à ovulação, o PV e o ECC no 28^o dia do experimento, o número de ovulações e o diâmetro do folículo ovulatório não diferiram entre as ovelhas submetidas ao FFS ou FGM+FA ($P>0,05$). No período anterior à ovulação, as ovelhas que consumiram o FFS apresentaram maior ($P<0,05$) concentração de N-ureico nos dias 7 e 14 e menor ($P<0,05$) no dia 28, em comparação às que receberam o FGM+FA (interação tratamento vs dia, $P<0,0001$). O ganho de PV em todo período experimental e o PV final não diferiram ($P>0,05$) entre os animais dos tratamentos T1, T2, T3 e T4. O ganho de ECC durante todo o período experimental foi maior ($P<0,001$) nas ovelhas dos tratamentos T1 e T3 do que nas do tratamento T2. O ECC final foi maior ($P<0,05$) nas ovelhas do tratamento T3 do que naquelas do tratamento T2. A estimativa da produção de proteína microbiana foi maior ($P<0,05$) nas ovelhas do tratamento T1, comparadas àquelas dos demais. A concentração de N-ureico foi maior ($P<0,05$) nas ovelhas dos tratamentos T1 e T3 do que naquelas dos tratamentos T2 e T4. Após a ovulação, o dia de coleta de sangue influenciou a concentração

plasmática de N-ureico ($P < 0,01$). A maior ($P < 0,01$) concentração de N-ureico foi observada no dia 21 e a menor ($P < 0,01$), no dia 28 após a ovulação. A concentração de N-ureico nestes dias não foi diferente ($P > 0,05$) das observadas nos dias 7 e 14. A taxa de prenhez e a prolificidade não diferiram ($P > 0,05$) entre os animais dos tratamentos. O *flushing* com fontes de proteína de diferentes degradabilidades não alterou o número de ovulações. O fornecimento das dietas de *flushing* antes da ovulação, seguido pelo fornecimento destas mesmas dietas ou de uma dieta de manutenção após a ovulação, não alterou a taxa de prenhez e prolificidade

¹ Comitê Orientador: Profa. Dr. Nadja Gomes Alves – UFLA (Orientadora), Prof. Dr. Marcos Neves Pereira – UFLA (Coorientador).

ABSTRACT

SAUNDERS, Gabriela de Abreu. **Effect of over-feeding with protein sources from different degradabilities on ovulation and pregnancy rate in Santa Inês sheep**. 2009. 93p. Dissertation (Master Program in Animal Science) – Lavras Federal University, Lavras, MG.²

This study aimed to evaluate the number of ovulations of Santa Inês sheep submitted to *flushing* with protein sources from different ruminal degradabilities. In addition, this study aimed to evaluate feeding with *flushing* diet before ovulation and feeding with this same diet or a maintenance diet after ovulation on pregnancy rate and prolificacy. This experiment was carried out at the Sheep Raising sector at the Animal Science Department of the Federal University of Lavras. Forty-four ewes, which had the estrus synchronized, were assigned to two treatments in a block design with three score levels (2.25 to 2.50, 2.75 and 3.00 to 3, 25). The treatments consisted of two iso-nitrogenous *flushing* diets, composed of soybean meal - SMF (n = 24) or corn gluten and cottonseed meal – CG+CMF (n = 20), furnished for 28 days before ovulation. For 28 days after ovulation, the ewes continued either to be fed this same diet or a maintenance diet, thus amounting to four distinct treatments: T1 - SMF before and after ovulation (n = 12), T2 - SMF before ovulation and a maintenance diet after ovulation (n = 11), T3 - CG+CMF before and after ovulation (n = 10), T4 - CG+CMF before ovulation and a maintenance diet after ovulation (n = 10). The gain in BW and ECC, and the plasma urea nitrogen concentration during the period prior to ovulation, the BW and ECC on the 28th experimental day, the number ovulations and ovulatory follicle diameter did not differ (P> 0.05) among ewes feed with SMF or CG+CMF. In the period before ovulation the ewes fed with SMF had greater (P<0,05) plasma urea nitrogen concentration on days seven and fourteen and lower (P<0,05) concentration on the 28th day as compared to the ones fed with CG+CMF (interaction treatment vs. day, P <0.0001). The gain in BW throughout the experimental period and the final BW did not differ (P>0,05) among animals in T1, T2, T3 and T4 treatments. The gain in ECC during all the experimental period was higher (P<0,0001) in ewes of T1 and T3 treatments than in those in the T2 treatment. The final ECC was higher (P<0,05) in the ewes of the T3 treatment group than in those in T2 treatment. The estimated production of microbial protein was higher (P <0.01) in ewes of T1 treatment than in the ones in the other treatments. The plasma urea nitrogen concentration was higher (P <0.05) in ewes of T1 and T3 than in those of T2 and T4 treatments. After ovulation, blood collection day influenced in the plasma urea nitrogen concentration (P<0,01). The highest (P<0,01) plasma urea

nitrogen concentration was observed on the 21st while the lowest ($P < 0,01$) was on 28th day. Plasma urea nitrogen concentration on those days was not different ($P > 0,05$) from those observed on days seven and fourteen. The pregnancy rate and prolificacy did not differ ($P > 0.05$) between treatments. The *flushing* with protein sources from different ruminal degradabilities did not alter the number of ovulations. Feeding ewes with *flushing* diets before ovulation and feeding them either with this same diet or a maintenance diet after ovulation did not alter the pregnancy rate and prolificacy.

² Guidance Committee: Profa. Dr. Nadja Gomes Alves – UFLA (Advisor), Prof. Dr. Marcos Neves Pereira – UFLA (Co-guide).

1 INTRODUÇÃO

A raça Santa Inês tem alto valor adaptativo e produtivo, boa resistência a parasitas gastrointestinais (Amarante, 1997), bom potencial de crescimento e boa produção de leite para a criação dos cordeiros (Figueiredo et al., 1983), destacando-se como excelente alternativa na produção de ovinos em quase todas as regiões do Brasil (Souza et al., 2003). Com relação às características reprodutivas, ovelhas da raça Santa Inês caracterizam-se como sendo poliéstricas anuais, não apenas na região nordeste do Brasil (Girão, 1984), mas também na região Sudeste (Sasa et al., 2002), o que possibilita a realização de mais de uma estação de monta ao longo do ano. Dessa forma a raça Santa Inês se sobrepõe às raças lanadas, as quais estão sujeitas à influência do fotoperíodo e apresentam sazonalidade reprodutiva.

A reprodução é um fator importante na maximização da produção animal, uma vez que existe estreita relação entre o número de crias produzidas/fêmea/ano e a lucratividade do empreendimento. A adequada reprodução dos rebanhos é o ponto inicial da cadeia de eventos do processo produtivo. A ineficiência da reprodução pode comprometer a lucratividade da exploração por impedir que o potencial produtivo máximo do rebanho seja atingido.

A eficiência reprodutiva em ovelhas é o produto de três fatores: fertilidade, prolificidade e sobrevivência dos cordeiros. A prolificidade é determinada pela taxa de ovulação, que pode ser manipulada por meio da nutrição. O aumento do nível de nutrição antes da cobertura, ou *flushing*, é praticado, comumente, em ovinos para aumentar a taxa de ovulação. Embora os seus efeitos com dietas ricas em energia sejam bem documentados (Rhind et al., 1989, Vinõles, 2003), as informações relativas ao *flushing* com alimentos

proteicos são escassas e os resultados são contraditórios. Enquanto alguns autores (Molle et al., 1997, Ocak et al., 2006) demonstraram que o *flushing* com concentrados proteicos aumentou a taxa de ovulação e a prolificidade, outros observaram que essa suplementação também ocasionou maior mortalidade embrionária (Molle et al., 1995) e elevação da concentração de nitrogênio ureico no leite, o que foi inversamente relacionado à taxa de concepção (Branca et al., 2000).

Estudos com ovelhas demonstraram que o consumo de nitrogênio não proteico na forma de ureia e de proteína degradável no rúmen (PDR,) além da quantidade requerida para atender à exigência nutricional, foi associado à elevada concentração de amônia e ureia no sangue e no fluido útero-tubárico (McEvoy et al., 1997) e à redução da viabilidade (Bishonga et al., 1994, McEvoy et al., 1997) e do desenvolvimento embrionários (Fahey et al., 2001, Papadopoulos et al., 2001).

Este experimento foi realizado com os objetivos de avaliar: o número de ovulações de ovelhas da raça Santa Inês submetidas ao *flushing* com dietas contendo fontes de proteína de diferentes degradabilidades ruminais (farelo de soja vs glúten de milho e farelo de algodão); o fornecimento das dietas de *flushing* antes da ovulação e o fornecimento dessas mesmas dietas, ou de uma dieta de manutenção, após a ovulação, sobre a taxa de prenhez e a prolificidade

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Metabolismo de proteína nos ruminantes

Os ruminantes, por uma adaptação ao meio em que viviam, com baixa disponibilidade de energia e proteína, desenvolveram em seu aparelho digestivo uma câmara fermentativa, o rúmen. Nesta câmara, a simbiose com microrganismos anaeróbicos, como bactérias, protozoários e fungos, possibilitou a digestão dos carboidratos fibrosos (celulose e hemicelulose) por estes microrganismos. A hidrólise das ligações beta entre as moléculas de glicose da celulose disponibiliza energia para o animal e libera o conteúdo celular, no qual está presente a proteína. A proteólise que ocorre no rúmen pelos microrganismos origina os oligopeptídeos, os quais são posteriormente degradados a pequenos peptídeos e aminoácidos (Nolan, 1993). Os aminoácidos podem ser deaminados pelas bactérias ruminais, dando origem ao esqueleto de carbono e amônia, que é utilizada na síntese de proteína microbiana.

A aaminação de esqueleto de carbono advindo dos carboidratos, para a formação de aminoácidos e proteína microbiana, é outra vantagem que os ruminantes adquiriram com a simbiose, o que possibilita o aumento da proteína absorvida pelo animal. Os ruminantes contam ainda com a reciclagem da ureia por meio da saliva ou por passagem do sangue para o rúmen através da parede ruminal, possibilitando o reaproveitamento do nitrogênio pelo animal.

O nitrogênio presente nos alimentos dos ruminantes é composto por nitrogênio não proteico (NNP), que inclui ácidos nucleicos, amidas, amins, aminoácidos e nitrato, PDR e proteína não degradável no rúmen (PNDR). A quantidade de proteína que é degradada no rúmen depende da fonte de proteína, do nível da atividade proteolítica microbiana, da taxa de passagem do alimento

pelo rúmen e de outros fatores como pH e espécies de microrganismos presentes no rúmen (Nolan, 1993).

A taxa e a extensão de degradação das proteínas dependem do acesso enzimático às áreas hidrolisáveis da cadeia polipeptídica. Essa acessibilidade depende do tipo de enzima envolvida (proteases, peptidases) e das condições de ligação com a parede celular bacteriana (Nolan, 1993). O excesso de lipídeos na dieta, acima de 6% da dieta total (National Research Council - NRC, 2001), a estrutura proteica (secundária e terciária) e a densidade de ligações cruzadas de dissulfeto reduzem a taxa de degradação (Nolan, 1993). Os lipídeos e o tipo de estrutura proteica prejudicam a aderência das bactérias à partícula de alimento e a atividade hidrolítica bacteriana (Jenkins, 1993). As ligações cruzadas de dissulfeto são ligações de difícil hidrólise e quanto maior a presença destas no substrato menor é a hidrólise da cadeia polipeptídica (Mahadevan et al., 1980 citado por Nolan, 1993). Em uma revisão, Hoover e Stokes (1991) relataram que a redução do pH diminui a digestão de proteínas, celulose, hemicelulose e pectina, exercendo menor efeito sobre a digestão do amido.

Muitas bactérias que degradam peptídeos e aminoácidos o fazem intracelularmente e usam seus produtos (aminoácidos, esqueleto de carbono e amônia) *in situ* ou excretam no meio ruminal. Outras têm peptidases extracelulares que catalisam a degradação da proteína e liberam os peptídeos diretamente no meio, talvez para terem acesso direto aos produtos da degradação (Cotta & Hespell, 1986 citados por Nolan, 1993).

Os protozoários também têm papel importante no metabolismo da proteína ruminal, apesar de terem atividade bastante inferior à das bactérias. A atividade proteolítica dos protozoários é principalmente endógena, estando restrita ao engolfamento de bactérias e partículas de material insolúvel, para digestão intracelular (Teixeira, 1996), mas não sintetizam aminoácidos a partir da amônia. A função desses microrganismos na fermentação ruminal ainda é

incerta. Em dietas que contêm pouco nitrogênio, a predação de bactérias ruminais por protozoários e a posterior lise destes permitem a reciclagem da proteína microbiana no rúmen e há uma relação direta entre a presença de protozoários e a amônia ruminal. Além disso, se a dieta é baseada em grãos, o engolfamento dos grãos de amido pelos protozoários pode modular o pH e proteger o animal da acidose ruminal (Russell, 2002).

Segundo Russell (2002), estes eucariontes crescem lentamente e, ao se associarem às partículas de maior permanência no rúmen, prolongam seu tempo de retenção. A proteína dos protozoários tem maior valor biológico do que a das bactérias, mas pequena quantidade de proteína de origem dos protozoários deixa o rúmen.

A síntese de proteína microbiana é dependente da disponibilidade de carboidratos e de nitrogênio no rúmen. A incorporação de nitrogênio à proteína microbiana é dependente da produção de energia a partir da fermentação de carboidratos fibrosos (CF) e não fibrosos (CNF). No entanto, a produção de proteína microbiana a partir da energia gerada pela fermentação de CF e CNF não é a mesma, devido à variação nas taxas de degradação dos carboidratos. No rúmen, CNF suportam maior produção de proteína microbiana que os CF, em decorrência de suas maiores taxa e extensão de degradação (Santos, 2006).

A amônia é a única fonte de nitrogênio para três espécies de bactérias celulolíticas, *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens* e *Fibrobacter succinogenes*. Bactérias que fermentam CNF podem utilizar amônia, aminoácidos e peptídeos e podem produzir amônia (Russel, 1992). Segundo Nolan (1975) e Leng & Nolan (1984), citados por Nolan (1993), mais de 50% do nitrogênio microbiano é derivado da amônia, sendo o resto proveniente de peptídeos e aminoácidos.

O processo catabólico (fermentação de carboidratos) é vinculado ao processo anabólico (síntese microbiana) via adenosina trifosfato (ATP). Se a taxa de produção de ATP excede a sua utilização, a energia excedente é

dissipada como calor. Isso ocorre quando há excesso de energia na dieta, por exemplo, com o uso de altos níveis de concentrado, ou quando há deficiência de minerais como enxofre e fósforo (Nocek & Russell, 1988).

O assincronismo entre a liberação de nitrogênio e energia no rúmen também resulta em utilização ineficiente de substratos fermentáveis e reduz a síntese de proteína microbiana. Em situações em que há excesso de PDR ou ausência de energia disponível, a taxa de liberação de amônia no rúmen excede a sua utilização pelas bactérias (NRC, 2001), levando à perda da proteína fornecida na dieta do animal. Dietas formuladas para o sincronismo na taxa de digestão ruminal de carboidratos e proteínas aumentaram o fluxo e a eficiência da síntese da proteína microbiana em ovelhas (Sinclair et al., 1993, 1995).

Segundo o NRC (2001), a cinética de degradação dos carboidratos e proteínas varia de acordo com o alimento, sua composição química e método de processamento. Quando a fermentação ruminal é normal, um pequeno benefício adicional é conseguido com a alteração da taxa de degradação dos carboidratos e proteínas ou do seu nível de sincronismo sobre a síntese de proteína microbiana.

2.2 Concentração de N-ureico no sangue

A concentração da amônia no rúmen é regulada por sua entrada e saída deste compartimento gástrico. A amônia no rúmen tem sua origem na fermentação de alimentos, fragmentos de células lisadas, proteínas endógenas, NNP e excreção pelos protozoários. É removida do rúmen pela incorporação na proteína microbiana que chega ao abomaso, pela saída através da parede ruminal para o sangue e pelo fluido ruminal que chega ao intestino. A amônia presente no rúmen é utilizada pela maioria das espécies de bactérias para o seu crescimento (Nolan, 1975 e Leng & Nolan, 1984, citados por Nolan, 1993).

Em dietas ricas em proteína, com presença de elevada quantidade de PDR, a produção de amônia no rúmen pode ser maior que a utilização pelas

bactérias ruminais, gerando um excesso de amônia que será eliminado na forma de ureia. De acordo com Soest (1994), a concentração de nitrogênio amoniacal considerada ótima para a fermentação microbiana é de 10 mg/100 mL de fluido ruminal. Concentrações superiores representam um excesso de amônia que não será utilizado para a síntese microbiana. A amônia que escapa da incorporação pelos microrganismos ruminais é absorvida através da parede ruminal por difusão e pode seguir em duas rotas: a síntese de ureia na região periportal do fígado ou a síntese de glutamina na região perivenosa do mesmo órgão (Haussinger, 1990, citado por Zhu et al., 2000). A síntese de ureia é um sistema de baixa afinidade pela amônia, pois possui valores de 1 a 2 mM para a constante de Michaelis-Menten (K_m), enquanto o sistema da síntese da glutamina tem alta afinidade, apresentando K_m de 0,2 mM (Meijer et al., 1990, citados por Zhu et al., 2000). A afinidade da enzima pelo substrato está relacionada ao K_m , de forma que, quanto menor for o seu valor maior é a afinidade. Assim, a amônia que escapar da síntese da ureia será removida pelo sistema glutamina sintetase, de forma que a circulação sanguínea de amônia somente estará aumentada se ambos os sistemas estiverem saturados.

O fornecimento de PNDR disponibiliza aminoácidos que serão absorvidos no intestino delgado e deaminados no fígado. A estrutura de carbono dos aminoácidos é destinada à formação de compostos gliconeogênicos e a amônia é detoxificada pelo ciclo da ureia. Assim, tanto o excesso de PDR quanto o de PNDR elevam a concentração de N-ureico no sangue.

Normalmente, o pico de NH_3 no rúmen, ocasionado pelo catabolismo de PDR, ocorre no intervalo de uma a duas horas após a alimentação, seguido do pico de N-ureico no sangue cerca de quatro a seis horas após a ingestão da dieta, enquanto o metabolismo da PNDR contribui para a manutenção do N-ureico no sangue continuamente ao longo do dia (Butler, 2005). No estudo feito por Mc Evoy et al. (1997), o pico de amônia no plasma de ovelhas que receberam 15 ou

30g de ureia na dieta ocorreu duas horas após a alimentação, voltando aos níveis basais cerca de quatro a seis horas após o fornecimento da dieta. Neste estudo, a maior concentração de ureia no plasma ocorreu quatro horas após a alimentação independente da quantidade de ureia fornecida.

Em cabras da raça Alpina, que consumiram dietas com níveis crescentes de farelo de soja (6,0%, 16,4%, 26,7% e 37,1%) no concentrado e níveis crescentes de PB (11,5; 13,5; 15,5 e 17,5% da MS) e PDR (7,4; 8,9; 10,3 e 11,8% da MS), Fonseca et al. (2008) avaliaram a concentração de N-ureico em amostras de soro sanguíneo (NUS) coletadas quatro horas após o fornecimento das dietas. Os autores observaram aumento linear da concentração de NUS (24,4; 24,6; 28,2 e 31,3 mg/dL) em função do aumento da ingestão de PB na dieta.

Milis et al. (2005) pesquisaram ovelhas da raça Chio alimentadas com dietas isonitrogenadas, isocalóricas e isofibrasas, formuladas com farelo de soja e farelo de trigo (37 g de PNDR/kg de MS), glúten de milho (53 g de PNDR/kg de MS) ou glúten de milho com adição de lisina (53 g de PNDR/kg de MS), durante o período de três semanas antes até oito semanas após o parto. As ovelhas que consumiram a dieta contendo farelo de soja e farelo de trigo apresentaram maior concentração de N-ureico no sangue do que as ovelhas que consumiram as dietas com glúten de milho ou glúten de milho com adição de lisina. Segundo os autores, a dieta formulada com farelo de soja e farelo de trigo resultou em maior concentração de N-ureico no sangue devido à assincronia entre a degradação de proteínas e carboidratos no rúmen, resultando na saída de grande quantidade de amônia do rúmen para a corrente sanguínea.

Baker et al. (1995) observaram maior concentração de N-ureico no plasma (PUN) de vacas alimentadas com uma dieta contendo excesso de PB e de PDR, mas quantidade adequada de PNDR (23,4 mg/dL), comparadas àquelas que consumiram dietas formuladas com quantidades adequadas de PDR e PNDR

(16 mg/dL) ou com excesso de PDR (18,5 mg/dL). De acordo como os autores, as dietas foram isocalóricas e o aumento da concentração de PUN foi causado pela falta de sincronismo entre energia e proteína para a síntese de proteína microbiana no rúmen. Segundo Lewis, (1957), citado por Broderick et al. (1997), a concentração de N-ureico no sangue reflete o uso ineficiente da PB da dieta pelos ruminantes.

2.3 Determinação da síntese de proteína microbiana por derivados de purina

A proteína microbiana é normalmente a principal fonte de proteína metabolizável (PM) para os ruminantes, na maioria das situações produtivas. De acordo com Schwab (1994), a proteína microbiana sintetizada no rúmen fornece 50% ou mais dos aminoácidos disponíveis para a absorção, em dietas balanceadas, sendo considerada uma fonte de aminoácidos de alta qualidade. Dados mais recentes demonstram que a PM pode representar de 45% a 55% da PM no intestino de vacas leiteiras de alta produção, 55% a 65% em bovinos de corte confinados com rações ricas em energia e mais de 65% em bovinos mantidos exclusivamente em pastagens (Santos, 2006).

Estudos realizados por Smith e Mc Allan, na década de 1970, sobre o metabolismo do ácido nucleico no trato gastrintestinal de ruminantes, foram cruciais para a estimativa da produção de proteína microbiana no rúmen a partir da excreção de derivados de purinas (Smith & McCallan, 1970; McCallan & Smith 1973a e b). Estas pesquisas demonstraram que fontes exógenas de ácidos nucleicos foram completamente degradadas no rúmen, gerando produtos intermediários, nucleotídeos e nucleosídeos. Estes resultados indicaram que os ácidos nucleicos dos alimentos não contribuem para o conteúdo de ácidos nucleicos presente no rúmen. Assim, o aporte de ácidos nucleicos para o

duodeno dos ruminantes foi essencialmente de origem microbiana (Chen & Orskov, 2003).

Os microrganismos ruminais são ricos em ácido nucleicos. Cerca de 18% do nitrogênio total está na forma de ácidos nucleicos ou 11% de purinas. As purinas dos microrganismos são absorvidas e metabolizadas pelo ruminante e seu produto final é excretado na urina como derivados de purina (DP): hipoxantina, xantina, ácido úrico e alantoína (Chen & Orskov, 2003), proporcionalmente à quantidade de purinas absorvidas (Chen & Gomes, 1992). No método de determinação da proteína microbiana a partir dos derivados de purina, assume-se que o fluxo duodenal de ácidos nucleicos é essencialmente de origem microbiana porque os alimentos consumidos pelos ruminantes possuem baixa concentração de ácidos nucleicos e estes são degradados durante o processo fermentativo ruminal (Valadares Filho et al., 2007). Com o conhecimento da relação entre o nitrogênio das purinas e o nitrogênio total de microrganismos pode-se calcular a absorção de nitrogênio microbiano a partir da quantidade de purinas absorvidas, a qual pode ser estimada a partir da excreção urinária de derivados de purinas (Valadares Filho et al., 2007).

Os derivados de purina podem ser de origem endógena ou exógena. Os derivados endógenos de purina são originados a partir da degradação dos tecidos, da síntese de novo dos nucleotídeos de purinas e da recuperação dos derivados pré-formados. Este ciclo é um processo contínuo no tecido animal. Durante esse processo, uma pequena porção das purinas em reciclagem é decomposta à alantoína, ácido úrico, xantina e hipoxantina, as quais são excretadas na urina (Chen & Orskov, 2003). A mensuração da fração endógena é um importante parâmetro para modelar a excreção total de derivados de purinas, a qual será utilizada para estimar a síntese microbiana ruminal (Valadares Filho et al., 2007).

Em ovinos, a quantidade de DP de origem endógena excretada na urina é menor em relação à excretada pelos bovinos. Chen et al. (1990b) sugeriram que a diferença na quantidade de DP endógenos entre ovinos e bovinos pode estar relacionada à atividade da enzima xantina oxidase. Esta enzima oxida a hipoxantina a ácido úrico e, por meio deste processo, a hipoxantina não pode mais ser reutilizada para a síntese de nucleotídeos de purinas. Esta enzima está ausente no sangue dos ovinos, enquanto no sangue dos bovinos está presente e apresenta alta atividade (Chen et al. 1990b). De acordo com Chen et al. (1990) citados por Chen & Orskov (2003), relataram que, em ovinos, a recuperação de purina absorvida, na forma de DP na urina, aumentou com a absorção, seguindo um padrão curvilíneo.

Com relação às purinas exógenas, foi observada outra diferença entre ovinos e bovinos. Em bovinos, por causa da elevada atividade da xantina oxidase na mucosa intestinal, purinas exógenas podem ser completamente convertidas aos produtos finais, que não serão utilizados pelos tecidos. A baixa atividade da xantina oxidase no intestino dos ovinos permite que as purinas exógenas sejam reutilizadas pelos tecidos (Al-Khalidi & Chaglassian, 1965). Os estudos de Chen et al. (1990) e Balcells et al. (1992), citados por Chen e Orskov (2003), demonstraram que purinas reutilizadas estavam presentes no sangue portal nas ovelhas, mas não nos bovinos, suportando esta evidência.

Em ovinos, os DP excretados na urina são compostos por 60% a 80% de alantoína, 30% a 10% de ácido úrico e 10% a 5% de xantina e hipoxantina. Quando a excreção total dos DP aumenta, a proporção de alantoína aumenta. Em bovinos, a alantoína representa de 80% a 85% e o ácido úrico de 20% a 15% dos DP, enquanto a xantina e a hipoxantina estão presentes em quantidades traço (Chen & Gomes, 1992).

Segundo Chen & Orskov (2003), aproximadamente 15% das purinas exógenas não são contabilizadas pela excreção urinária em ovinos e bovinos. A

infusão direta da alantoína no sangue de ovinos tem produzido uma recuperação incompleta. Uma possível resposta seria o desvio por uma rota não renal, como a saliva ou pela secreção direta no rúmen. Chen et al. (1990a) demonstraram posteriormente que a alantoína e o ácido úrico estavam presentes na saliva de ovinos e sugeriram que os DP que entram no rúmen seriam completamente catabolizados e não chegariam a urina.

Para a utilização da técnica de determinação dos DP em experimentos, seria ideal se a coleta *spot* de urina, plasma ou leite pudesse ser utilizada, em vez da coleta total de urina (Chen & Orskov, 2003). Antoniewicz et al. (1981), citados por Chen & Orskov (2003), observaram uma correlação linear entre a relação do nitrogênio da alantoína (N-alantoína), nitrogênio da creatinina (N-creatinina) e a ingestão de alimentos por ovinos. Esta correlação sugeriu a possibilidade de usar a relação alantoína:creatinina como um parâmetro nas amostras de urina *spot*.

Chen & Orskov (2003) revisaram vários trabalhos e concluíram que:

- a relação DP:creatinina está correlacionada com a ingestão de alimentos e o fluxo intestinal das purinas microbianas; sendo assim, pode ser usada como um indicador do suprimento da proteína microbiana;
- o número de mensurações deve ser suficiente para reduzir erros;
- a variabilidade da medida de urina *spot* é maior do que a baseada na coleta total de urina.

De acordo com estes pontos, para detectar diferença na síntese de proteína microbiana, a diferença entre os tratamentos deve ter uma dimensão suficiente, pois a resposta pode não ser refletida na mensuração realizada pela coleta de urina *spot* (Chen & Orskov, 2003).

O uso da relação direta da concentração de DP:creatinina só permite comparações entre várias coletas de urina de um mesmo animal ou entre animais

de mesmo peso vivo, pois a excreção diária de creatinina ocorre em função do peso (Chen & Orskov, 2003). Chen et al. (2003), citados por Chen & Orskov (2003), propuseram o termo DPC index, que leva em consideração o peso metabólico do animal:

$$\text{DPC index} = \{[\text{DP}] / [\text{Creatinina}]\} \times \text{PV}^{0,75}$$

em que:

[DP] é a concentração dos derivados de purinas na urina em mmol/L;

[Creatinina] é a concentração da creatinina na urina em mmol/L e

$\text{PV}^{0,75}$ é o peso vivo metabólico.

A creatinina é formada no músculo pela remoção de água da creatinina-fosfato, originada do metabolismo do tecido muscular. A molécula de creatinina-fosfato é degradada espontaneamente a taxas relativamente constantes, formando a creatinina. A creatinina é um metabólito do qual o organismo já não necessita, sendo utilizada para a formação de novas moléculas, sendo, portanto, excretada pelos rins. A produção diária de creatinina e, por conseguinte, a excreção de creatinina é dependente da massa muscular e, portanto, proporcional ao peso do animal (Koren, 2000). Assim, uma vez determinada a excreção diária de creatinina em função do peso do animal e considerando-se constante sua concentração urinária, pode-se estimar o volume urinário excretado diariamente a partir da concentração de creatinina em uma amostra de urina coletada de um animal de peso conhecido. A excreção de creatinina é pouco afetada pelo teor de proteína, NNP ou carboidratos não fibrosos da dieta (Susmel et al., 1994, Vagnoni et al., 1997, Valadares et al., 1997, Oliveira et al., 2001), portanto, não são esperadas variações devido à dieta. Dessa forma, se coletada uma única amostra diária de urina, amostra *spot* e determinada a concentração de

creatinina, o volume urinário e a excreção de outros compostos urinários podem ser estimados (Valadares Filho et al., 2007).

Tebot et al. (2002), trabalhando com ovelhas da raça Corriedale que consumiram dietas com quantidade normal (17,4g N/dia) ou baixa (7,5g N/dia) de nitrogênio na MS, com o objetivo de comparar a produção diária de proteína microbiana e utilizando a alantoína como um método indireto para esta estimativa, verificaram maior produção de proteína microbiana nas ovelhas que consumiram a dieta com maior quantidade de nitrogênio (3,99 e 3,79 g/dia, respectivamente). A eliminação de alantoína foi maior nas ovelhas que consumiram a dieta com 17,5 g N/dia do que naquelas que consumiram a dieta com 7,5 g N/dia. Os pesquisadores concluíram que o aporte de proteína microbiana no duodeno das ovelhas que consumiram a dieta com baixa quantidade de nitrogênio deve estar subestimado. A reabsorção líquida de alantoína da urina ocorre nos túbulos renais, mas essa capacidade é limitada e parece ser saturada quando a carga tubular é equivalente à produção endógena de alantoína. Isso significa que a taxa de filtração glomerular é constante e que a presença de alantoína no sangue, além da capacidade de reabsorção, será eliminada na urina. Todavia, as ovelhas alimentadas com a dieta contendo baixa quantidade de nitrogênio tiveram menor fluxo plasmático renal e menor taxa de filtração glomerular, de forma que a carga do filtrado e a eliminação de alantoína deveriam estar reduzidas.

2.4 Características do farelo de soja, do glúten de milho e do farelo de algodão

O farelo de soja é um alimento amplamente utilizado para a alimentação animal, principalmente pelo seu elevado valor proteico, que varia de 27% a 48% de PB na MS, dependendo da porcentagem de casca presente no farelo. É um alimento com grande quantidade de PDR, cerca de 65% de PDR na PB, com

6,8%, 20,5%, 70,2%, 2,0% e 1,4% da PB nas frações A, B1, B2, B3 e C, respectivamente (Valadares Filho et al., 2006).

A formulação de dietas para ruminantes deve ter por objetivo suprir quantidade adequada de PDR para maximizar a síntese microbiana e, então, complementá-la com PNDR, para suprir as exigências do animal em proteína metabolizável. Além disso, para que a resposta seja maximizada, é importante que a fonte de PNDR seja de alta qualidade, para que o perfil de aminoácidos essenciais da proteína metabolizável seja adequado. O fornecimento de alimentos que contêm alta porcentagem de PNDR é desejável em dietas de vacas de alta produção, que recebem volumoso de alta qualidade. Neste caso, a dieta atende ou até excede a exigência de PDR, mas fica deficiente em PNDR. Sendo assim, é necessário que a suplementação seja feita com alimentos ricos em PNDR, para evitar excesso de PDR (NRC, 2001).

O glúten de milho é o subproduto de melhor qualidade oriundo do processamento do milho para a fabricação do amido de milho e do xarope de glicose. É obtido a partir da remoção da maior parte do amido, do gérmen e das porções fibrosas, enquanto o farelo de glúten de milho, com 21% de PB, é a parte fibrosa do grão de milho que permanece após a extração da maior parte do amido, do glúten e do gérmen.

O glúten de milho é uma alternativa para aumentar o suprimento de PNDR, pois é um alimento com elevado teor proteico, 63% de PB (Valadares Filho et al., 2006) e que tem como característica a baixa degradabilidade ruminal da PB, 58% de PNDR na PB (Milis & Liamadis, 2008). Este alimento apresenta 85% da PB na fração B2, enquanto as frações A, B1, B3 e C representam 3,0%, 1,0%, 9,0% e 2,0% na PB, respectivamente Cornell Net Carbohydrate and Protein System - CNCPS (Cornell University, 2003). É um alimento considerado pobre em lisina, mas excelente fonte de metionina. Estes dois aminoácidos

essenciais são considerados os mais limitantes na dieta dos animais para a produção de leite e carne (Santos, 2006).

O farelo de algodão é um alimento proteico, obtido do caroço descortiado do algodão, após a extração do óleo por solvente. Contém 41% de PB, 26,1% de PDR e 13,6% de PNDR na MS. Da PB deste alimento, 8,0% pertencem à fração A, 12% à fração B1, 70,7% à fração B2, 7,8% e 1,5% às frações B3 e C, respectivamente (Cornell University, 2003). Os baixos teores dos aminoácidos essenciais, lisina e metionina, podem limitar o desempenho animal.

2.5 Efeitos do *flushing* sobre a taxa de ovulação e a prolificidade

Os efeitos da nutrição sobre a reprodução podem ser agrupados em estático, dinâmico e imediato. O efeito estático é observado por maior taxa de ovulação em animais pesados, comparados aos animais leves. O efeito dinâmico é observado quando a taxa de ovulação é aumentada em animais que estão ganhando peso e escore da condição corporal (ECC), cerca de três semanas antes da cobertura. O efeito imediato pode ser observado por meio do fornecimento de uma dieta energética ou proteica durante curto período (quatro a seis dias) antes da cobertura e não ocorre aumento do peso e do ECC (Rassu et al., 2004).

O efeito estático da nutrição sobre a reprodução foi demonstrado por Rhind & Mc Neilly (1985). Neste estudo, ovelhas com ECC mais alto, com média de 2,86 unidades (escala de 0 a 5, sendo 0 = emaciada e 5 = muito gorda), apresentaram maior taxa de ovulação (1,8 vs 0,9 CL), maior número de folículos maiores que 4 mm (4,6 vs 2,2) e maior concentração de hormônio folículo estimulante (FSH), nas fases lútea e folicular do ciclo estral do que as ovelhas de ECC baixo, com média de 1,84 unidades. Houve tendência de maior frequência de pulsos de hormônio luteinizante (LH) na fase lútea e maior amplitude dos pulsos deste hormônio na fase folicular do ciclo estral em ovelhas com ovulação

múltipla, comparadas àquelas com ovulação única. Os autores concluíram que o ECC afetou o tamanho da população dos folículos grandes, por meio de mudança na concentração de FSH, assim como, possivelmente, na secreção pulsátil de LH, durante a fase lútea e a folicular do ciclo estral. O número de folículos com potencial para ovular foi, provavelmente, determinado durante a fase lútea do ciclo estral. No entanto, a sua habilidade para atingir o estágio final de desenvolvimento folicular e ovulação pode estar relacionada à quantidade de LH secretada durante a fase folicular.

Segundo Rhind (1992), citado por Rassu et al. (2004), o peso vivo e o ECC das ovelhas podem influenciar de forma positiva os folículos com diâmetro acima de 2mm, os quais respondem à ação do FSH, que lhes permite atingir a maturidade. Forcada et al. (1992) relataram que uma diferença de 0,25 pontos no ECC de ovelhas da raça Aragonesa pode representar uma diferença de, aproximadamente, 0,2 folículos ovulatórios.

O *flushing* refere-se à prática de fornecer às ovelhas uma dieta densa em nutrientes durante duas a três semanas antes do início da estação reprodutiva para aumentar a taxa de ovulação (Gordon, 1997) e é geralmente acompanhado por aumento do peso vivo e do ECC. Assim, o efeito dinâmico da nutrição é a base conceitual do *flushing*.

O *flushing* difere quanto ao momento em que o tratamento é iniciado e à sua duração. O nível (Parr et al., 1987, Rhind et al., 1989, Abecia et al., 1997) ou o momento (Molle et al., 1997) da suplementação com energia ou proteína, bem como a fonte de proteína utilizada (Landau et al., 1996), podem ter consequências críticas para a eficiência reprodutiva de ovelhas porque a exigência de nutrientes para o ótimo crescimento folicular pode ser diferente daquela para o desenvolvimento do embrião (O'Callaghan & Boland, 1999).

Os tratamentos nutricionais podem influenciar a taxa de ovulação por alterarem a metabolização hepática de hormônios esteroides. O metabolismo

hepático é influenciado diretamente pela ingestão de alimentos (Farningham e Whyte, 1993). Maior tamanho hepático e maior concentração das enzimas hepáticas observados nos animais com alta ingestão de alimentos foram relacionados à maior metabolização dos hormônios esteroides e, conseqüentemente, à diminuição do *feedback* negativo desses hormônios na liberação de gonadotrofinas, FSH e LH (Smith & Stewart, 1990). O aumento na ingestão de energia e proteína também eleva a concentração sanguínea de insulina e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), os quais agem sobre os folículos em associação ao FSH, estimulando o desenvolvimento folicular (Fortune et al., 2004). Segundo Rhind (1992), citado por Rassu et al. (2004), o *flushing* pode atuar sobre os folículos responsivos ao FSH e que já iniciaram o processo de maturação.

Em contrapartida, a manutenção do alto nível nutricional após a cobertura pode levar à maior metabolização de progesterona pelo fígado, reduzindo sua concentração sanguínea, o que não é compensado pelo aumento na secreção de progesterona pelo CL, a fim de manter a homeostase e, conseqüentemente, a prenhez (Parr et al., 1993; O'Callaghan & Boland, 1999). A progesterona é um hormônio essencial à manutenção da gestação e a redução de sua concentração ocasiona morte embrionária no início da gestação.

O *flushing*, quando não deprime significativamente o consumo de forragem, pode ser de curta duração, de até seis dias (Lindsay, 1976, citado por Molle et al., 1995). No entanto, se houver substituição da forragem pelo concentrado, as ovelhas não devem ser cobertas antes da recuperação do consumo da forragem, proporcionando um tempo de *flushing* maior, de cerca de três semanas (Molle et al., 1995). Segundo os autores, neste período de recuperação do consumo, os animais voltam a ingerir a quantidade de energia e proteína necessária para atender às suas exigências.

O *flushing* pode ser feito com alimentos energéticos ou proteicos. Em estudo realizado por Molle et al. (1995), ovelhas da raça Sarda mantidas a pasto e suplementadas com 270g de farelo de soja/dia, a partir de duas semanas antes até três semanas após a introdução do macho no rebanho, apresentaram maior número de ovulações (1,7 CL), comparadas às ovelhas suplementadas com 250g de milho pelo mesmo período (1,1 CL) ou às não suplementadas (1,2 CL). As ovelhas que receberam milho consumiram menos forragem (745g MS/dia) do que aquelas que receberam farelo de soja (1162g MS/dia), antes da cobertura. O efeito substitutivo reduziu a ingestão de energia e de proteína pelos animais que receberam milho antes da cobertura, ficando o consumo abaixo das exigências nutricionais (-0,14 Mcal EM/dia e -5g PB/dia), o que explica a menor taxa de ovulação neste grupo. A alteração do peso corporal das ovelhas não diferiu entre os tratamentos, mas o ECC à cobertura foi maior nas ovelhas suplementadas com farelo de soja ou milho do que nas não suplementadas (2,89, 2,97 e 2,70, respectivamente). Apesar do maior número de ovulações, maior mortalidade embrionária foi observada nas ovelhas suplementadas com farelo de soja, visto que a prolificidade neste grupo foi de apenas 1,3 cordeiro/ovelha, enquanto naquelas não suplementadas e nas suplementadas com milho foi de 1,1 cordeiro/ovelha.

Molle et al. (1997) observaram que ovelhas da raça Sarda, suplementadas com 270g de farelo de soja/dia a partir de 14 dias antes até dois dias após a monta, apresentaram maior número de ovulações (1,8 vs 1,3 CL) e maior prolificidade (1,7 vs 1,3 cordeiros) do que as ovelhas não suplementadas. Os autores sugeriram que o *flushing* com farelo de soja poderia ter um efeito imediato sobre a reprodução, visto que o ECC não foi alterado no período de suplementação.

Branca et al. (2000) realizaram trabalho com ovelhas da raça Sarda que receberam dietas isoproteicas (120g de PB/dia) e isoenergéticas, uma com farelo

de soja e outra com glúten de milho, que diferiram na quantidade de proteína não degradável no rúmen (46 e 85g de PNDR/dia), por 14 dias antes até dois dias após a inseminação artificial (IA). Estes autores não observaram diferença no número de ovulações (1,89 vs 2,28, respectivamente) e no ECC. Os autores relataram que a ausência de diferença no número de ovulações se deve ao pasto de excelente qualidade oferecido aos animais, que também continha elevada quantidade de PDR.

Viñoles et al. (2008) estudaram ovelhas da raça Corriedale, separadas em categorias de ECC médio de 2,9 e 2,3 (escala de 0 a 5, onde 0 = emaciada e 5= muito gorda), suplementadas com 300g de milho e 70g de farelo de soja por sete dias antes da ovulação ou não suplementadas. Em ambas as categorias de ECC, as ovelhas suplementadas apresentaram maior taxa de ovulação (1,6 e 1,3 folículos nos animais de maior e menor ECC, respectivamente) do que as não suplementadas (1,4 e 1,1 folículo nos animais de maior e menor ECC, respectivamente). Outros estudos, nos quais as ovelhas de maior ECC apresentaram maior taxa de ovulação, sugerem que, para ocorrer o efeito da suplementação alimentar sobre a taxa de ovulação, pode ser necessário certo nível de reserva energética no animal (Leury et al., 1990; Blache et al., 2006).

Ocak et al. (2006) avaliaram a taxa de não retorno, a taxa de parição e a prolificidade de ovelhas da raça Karayaca mantidas a pasto e suplementadas com dois níveis de proteína. As ovelhas receberam suplementos que resultaram na ingestão diária de 113g de PB ou 1,3 vez a exigência de proteína de manutenção (dieta de alta proteína - A) ou 58g de PB ou 0,7 vez a exigência de proteína de manutenção (dieta de baixa proteína - B), por 17 dias antes da cobertura. Após a cobertura, os animais receberam os suplementos com alta ou baixa proteína por 15 dias, formando quatro tratamentos: AA - dieta de alta proteína antes e após a cobertura, BA – dieta de baixa proteína antes e de alta após a cobertura, AB – dieta de alta proteína antes e de baixa após a cobertura e BB – dieta de baixa

proteína antes e após a cobertura. Os autores observaram maior ganho de peso antes da cobertura nas ovelhas do tratamento AA (1,3 kg/ovelha). As ovelhas dos tratamentos BA e AB apresentaram maior ganho de peso (0,6 e 0,7 kg/ovelha), comparadas às do tratamento BB (0,3 kg/ovelha). Após a cobertura, as ovelhas do tratamento BA tiveram maior ganho de peso do que as do BB (1,9 vs 0,9 kg/ovelha, respectivamente), não diferindo das ovelhas dos tratamentos AB e AA (0,7 e 1,1 kg/ovelha, respectivamente). O fornecimento de dietas com alta proteína após a cobertura resultou em aumento de 19% na taxa de não retorno, 22% na taxa de parição e 0,21 cordeiros/ovelha.

Os autores relataram que as ovelhas da raça Karayaka são consideradas de baixa fecundidade (0,66), têm baixo peso à cobertura (45 kg) e, em criações comerciais, são mantidas em pasto de baixo conteúdo proteico sem suplementação volumosa ou de concentrado, desde o desmame até a estação de monta. Dessa forma, o efeito benéfico da suplementação proteica antes e após a cobertura sobre o desempenho reprodutivo pode ter sido causado pelo maior conteúdo energético e proteico do farelo de soja, mantendo um nível nutricional constante. A maior taxa de parição pode ter sido o resultado do aumento no ganho de peso vivo das ovelhas alimentadas com alta proteína antes e após a cobertura.

2.6 Efeito de elevada concentração de amônia e N-ureico no sangue sobre o fluido folicular, o desenvolvimento folicular e a taxa de ovulação

Hammon et al. (2000a) estudaram a concentração de amônia no fluido folicular de bovinos. Foliculos com diâmetros de 1mm, 2-4 mm, 5-8 mm e 10-15mm foram aspirados de ovários provenientes de matadouros. A concentração de amônia no fluido folicular decresceu com o aumento do diâmetro do foliculo. Os foliculos de 1 mm apresentaram maior concentração de amônia (366 μ M) em relação aos demais (247 μ M, 134 μ M e 33 μ M de amônia, nos foliculos com 2-4 mm, 5-8 mm e 10-15mm de diâmetro, respectivamente). Estes resultados

indicam que oócitos imaturos e células foliculares se desenvolvem em um microambiente contendo elevada concentração de amônia.

Os mecanismos responsáveis pelo aumento da concentração de amônia no fluido de folículos pequenos não são conhecidos. Segundo Telfer (1998), a maior concentração de amônia encontrada nos folículos pequenos pode ser o resultado da elevada atividade metabólica durante o início do desenvolvimento folicular, como a rápida expansão das células da granulosa, o aumento em massa do oócito e o aumento no conteúdo proteico durante os estádios pré-antral e antral do desenvolvimento folicular.

É ainda provável que a captação de amônia pelas células da granulosa seja inibida pela elevada concentração de potássio no fluido de folículos pequenos (Hammon et al., 2000a). É suposto que a alta concentração de potássio no fluido folicular inibe o transporte de íons amônio para dentro da célula (Martinelle & Häggtröm, 1993). Estes autores sugeriram um modelo de transporte ativo do íon amônio pelas membranas celulares, segundo o qual, o íon amônio compete com o íon potássio por seu sítio ativo em proteínas transportadoras presentes na membrana citoplasmática, como a bomba Na^+/K^+ -ATPase e o cotransportador $\text{Na}^+ \text{K}^+ 2\text{Cl}^-$. O transporte dos íons amônio ocasiona mudanças no pH intra e extracelular e aumenta a demanda de energia de manutenção das células, causada pela necessidade de manter o gradiente iônico na membrana citoplasmática. Este mecanismo está relacionado ao efeito tóxico da amônia e/ou do íon amônio às células. Este modelo também sugere que os íons potássio podem ser utilizados para a detoxificação da amônia e/ou do íon amônio no cultivo de células animais.

Contudo, Hammon et al. (2005) não encontraram diferença na concentração dos minerais K, Mg, P, Ca e Na no fluido de folículos pré-ovulatórios aspirados dos ovários de vacas leiteiras com $\text{PUN} \geq 20$ mg/dL ou < 20 mg/dL, no dia do estro. Entretanto, as concentrações de amônia e de ureia no

fluido folicular foram maiores nos animais com $PUN \geq 20$ mg/dL (339,0 μ mol/L e 22,36 mg/dL) em relação aos com $PUN < 20$ mg/dL (93,9 μ mol/L e 17,0 mg/dL). Estes resultados indicam que concentrações de PUN maiores que 20mg/dL estão relacionadas a elevadas concentrações de amônia e de ureia no fluido folicular.

A relação entre concentração de amônia e ou de N-ureico no sangue e o desenvolvimento folicular ovariano foi pouco estudado e as informações disponíveis na literatura consultada são contraditórias. Visek (1984) propôs que a alta concentração de amônia no sangue inibe as células betapancreáticas, ocasionando diminuição do estímulo da glicose sobre a liberação de insulina. Esta inibição reduz a concentração de insulina e de IGF-I na circulação sanguínea. Sabe-se que o IGF-I aumenta a sensibilidade das células da granulosa ao FSH (Adashi et al., 1985), estimula a esteroidogênese nas células da teca (andrógenos) e da granulosa (estrógenos), promovendo o desenvolvimento folicular (Spicer et al., 1996).

O fornecimento de dietas com 12,3% ou 27,4% de PB não influenciou as características de desenvolvimento folicular durante o ciclo estral sincronizado (diâmetro máximo do folículo pré-ovulatório, dia de emergência do folículo dominante da primeira onda, fase de crescimento do folículo dominante, diâmetro máximo do folículo dominante e número médio de folículos em cada classe de diâmetro folicular até o 10^o dia do ciclo estral) e durante o processo de superovulação (número médio de folículos ovarianos em cada classe de diâmetro folicular, número e percentagem de folículos pré-ovulatórios, anovulatórios e ovulatórios) de vacas holandesas não lactantes. Todavia, o N-ureico foi maior nas vacas que consumiram a dieta com 27,4% de PB em relação àquelas que consumiram a dieta com 12,3% de PB (21,3 vs 9,8 mg/dL). Neste estudo, a ausência de efeito das dietas com 27,4% de PB sobre as várias medidas de eficiência reprodutiva pode ter ocorrido devido à utilização de vacas não

lactantes, eliminando o efeito de outros possíveis fatores sobre a reprodução (Garcia-Bojalil et al., 1994).

Oliveira (2001) não verificou efeito do fornecimento de dietas com 0%, 0,7%, 1,4% e 2,1% de ureia nos primeiros 115 dias pós-parto a vacas mestiças holandês x zebu, sobre o período interovulatório (15,3; 21,0; 19,5 e 21,0 dias), o número de ondas de crescimento folicular (1,6; 2,3; 2,0 e 2,0), o dia de emergência da primeira (0,3; 0,6; 0,5 e 0,3 dia) e da segunda onda de crescimento folicular (9,0; 12,0; 10,0 e 10,3), a persistência do folículo ovulatório (15,3; 16,6; 14,5 e 12,3 dias) e o diâmetro máximo do folículo ovulatório (16,0; 15,0; 15,0 e 14,0 mm).

Laven et al. (2004) também não observaram diferença no número e no diâmetro de folículos ovarianos, no momento de ovulação e na duração do ciclo estral de vacas holandesas lactantes, que receberam uma dieta suplementada com 250g de ureia/dia e aquelas não suplementadas com ureia (dieta controle). As concentrações de PUN (8,2 vs 6,5 mmol/L) e de amônia (100,4 vs 85,2 mmol/L) foram maiores nas vacas que receberam ureia em comparação àquelas que receberam a dieta controle. As concentrações de insulina e de IGF-1 não diferiram entre os animais dos tratamentos (0,63 vs 0,65 µg/L e 102 vs 105 ng/mL, respectivamente).

Da mesma forma, Alves (2005) não observou diferença na dinâmica folicular (dia de emergência e do final das ondas, comprimento e intervalos das ondas foliculares, dia de emergência, diâmetro máximo, fase e taxa de crescimento do maior folículo por onda), nos períodos interestro e interovulatório e na duração das fases lútea e folicular de cabras da raça Alpina alimentadas com dietas contendo 0%, 0,73%, 1,46% e 2,24% de ureia na MS. A concentração de PUN antes da alimentação e quatro horas após não diferiu entre os animais dos tratamentos, sendo, em média, de 20,34 e 22,40mg/dL.

No entanto, menor atividade ovariana (redução no número de folículos ovarianos, no diâmetro do maior folículo, no número de CL e no diâmetro do maior CL), nos primeiros 50 a 57 dias pós-parto, em vacas que receberam 15,7% de PDR, foi relatada por Garcia-Bojalil et al. (1998b), o que foi relacionado à maior concentração de N-ureico no plasma (23,5 vs 18,2 mg/dL), maior concentração de glicose (62,8 vs 59,9 mg/dL) e menor concentração plasmática de insulina nesses animais (0,54 vs 0,65 ng/mL), em comparação aos que receberam 11,1% de PDR na dieta (Garcia-Bojalil et al., 1998a). Segundo os autores, a elevada concentração de glicose, concomitante ao aumento da concentração de N-ureico, nos animais que receberam 15,7% de PDR, ocorreu devido à redução na taxa de utilização da glicose pelos tecidos extra-hepáticos e sugeriram que a elevada concentração de N-ureico pode prejudicar a utilização da glicose.

Em ovelhas Suffolk, o fornecimento de PDR na forma de farelo de soja, durante quatro dias antes até quatro dias após o tratamento com prostaglandina F_{2α}, estimulou o recrutamento e a maturação folicular, resultando em maior diâmetro folicular e em menor intervalo entre a aplicação do hormônio e a ovulação, comparado ao fornecimento de uma mistura de glúten de milho e milho moído (Landau et al., 1996).

Em ovelhas suplementadas com 24 ou 48g de ureia/dia ou não suplementadas com ureia, Bishonga et al. (1996) verificaram diferença na concentração plasmática de N-ureico ao longo do período de coleta de 24 horas, sendo a maior concentração observada nas ovelhas que consumiram 48g de ureia. A concentração de N-ureico no sangue não influenciou a taxa de ovulação (4,1; 2,9 e 2,4, respectivamente). Da mesma forma, em ovelhas superovuladas e suplementadas com 50g de ureia/dia ou não suplementadas com ureia, Fahey et al. (2001) não encontraram relação entre a concentração de ureia no plasma (10,14 vs 6,47mg/dL) e taxa de ovulação (5,66 vs 6,35).

2.7 Influência do N-ureico no sangue sobre a taxa de concepção

O excesso de proteína na dieta, em especial de PDR, o fornecimento de NNP ou a falta de sincronia na degradação de carboidratos e proteínas no rúmen podem gerar um excesso de amônia que não será utilizada pelas bactérias ruminais e será eliminada na forma de ureia na urina. Se a capacidade de detoxificação da amônia a ureia pelo fígado for excedida, ocorrerá aumento da concentração destes compostos nos fluidos corporais, como sangue e fluidos do trato reprodutivo. A amônia é tóxica aos gametas e ao embrião e é frequentemente associada à redução da eficiência reprodutiva (Visek, 1984; Ferguson et al., 1988; Staples et al., 1993). Da mesma forma, a elevada concentração de N-ureico no sangue tem sido associada à redução da fertilidade.

Canfield et al. (1990) estudaram 33 vacas lactantes e 32 novilhas em primeira lactação, que receberam dietas isoenergéticas com 19% de PB (58,2% de PDR) ou 16% de PB (55,7% de PDR), a partir do dia do parto até 20 dias após a primeira IA. As vacas que consumiram a dieta com 19% de PB apresentaram menor taxa de concepção ao primeiro serviço (31% vs 48%) e maior concentração de N-ureico no plasma (19,3 vs 12,3 mg%) do que aquelas que receberam a dieta com 16% de PB. A concentração de N-ureico, de todos os animais, aumentou após o parto, até atingir um platô. Todos os animais que conceberam ao primeiro serviço apresentaram menor platô do que aqueles que não conceberam (15,7 vs 18,6 mg%). Da mesma forma, Ferguson et al. (1993), ao trabalharem com nove rebanhos de vacas leiteiras (n=323), que receberam dietas isoenergéticas variando no teor de PB e na degradabilidade da proteína (16,5% e 62%, 16,5% e 70% e 21% e 70%, respectivamente) a partir do parto até o 150^o dia pós-parto, verificaram que 85% das vacas prenhas apresentaram N-ureico no soro menor que 20 mg/dL. Segundo Butler et al. (1996), a

concentração de N-ureico no plasma (PUN) maior que 19 mg/dL foi associada à redução de 20% na taxa de prenhez de vacas leiteiras.

Branca et al. (2000), trabalhando com ovelhas da raça Sarda, mantidas em pasto de alta qualidade, não suplementadas ou suplementadas com concentrados isonitrogenados à base de farelo de soja (46g PNDR/ovelha/dia) ou glúten de milho (85g PNDR/ovelha/dia), a partir de 14 dias antes até dois dias após a IA, não observaram diferença na taxa de concepção (73% e 50%, respectivamente). Maior probabilidade de concepção foi observada nas ovelhas que apresentaram concentração de N-ureico no leite (MUN) inferior a 26,13 mg/dL, comparadas àquelas em que o MUN foi superior a 26,13 mg/L (64% vs 44%, respectivamente). No entanto, como todos os animais receberam volumoso com grande quantidade de PDR, os autores sugeriram que a substituição de PDR por PNDR não aumenta a taxa de concepção em ovelhas que são alimentadas com dietas ricas em PB.

Os mecanismos relacionados à menor taxa de concepção nos animais com alta concentração de PUN podem envolver alteração da concentração de progesterona no sangue, do pH uterino e da qualidade e do desenvolvimento dos embriões.

2.7.1 Concentração de progesterona e ambiente uterino

O excesso de amônia ou ureia nos fluidos corporais pode alterar o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal pelo decréscimo da amplitude e frequência dos pulsos de LH (Kaur & Aurora, 1995) e por interferir com a ligação do LH aos receptores ovarianos (Jordan et al., 1983), ocasionando redução da secreção de progesterona (Pires & Susin, 1994) e, conseqüentemente, redução da fertilidade, uma vez que esse hormônio é essencial à manutenção da gestação.

Garverick et al. (1971) observaram que novilhas holandesas alimentadas com dietas isoproteicas, contendo farelo de soja ou ureia, não apresentaram

diferença na concentração de progesterona plasmática. No entanto, a síntese de progesterona pelo tecido lúteo cultivado *in vitro* foi maior nos animais que consumiram farelo de soja. Da mesma forma, Jordan & Swanson (1979) observaram maior concentração de progesterona no soro, no 14^o dia do primeiro ciclo estral pós-parto, em vacas lactantes que receberam 12,7% de PB (4,9 ng/mL), comparadas às que receberam dietas com 16,3% e 19,3% de PB (3,5 e 3,5 ng/mL, respectivamente).

Elrod & Butler (1993) não observaram diferença na concentração de progesterona plasmática entre novilhas prenhas que receberam uma dieta com 15,4% de PB, atendendo o requerimento de PDR (73% da PB) e aquelas que receberam dieta com 21,8% de PB, excedendo em 50% o requerimento de PDR (82,5% da PB). No entanto, analisando a concentração de progesterona após a IA, naquelas novilhas que não ficaram prenhas, observaram que sete animais que receberam a dieta com 21,8% de PB exibiram a fase lútea aumentada e intervalo de estros prolongado (26 a 36 dias), enquanto todas aquelas que receberam a dieta com nível adequado de PB e nove do grupo que recebeu a dieta com 21,8% de PB tiveram ciclos estrais normais, de 21 dias, em média. Este aumento da fase lútea é indicativo da ocorrência de mortalidade embrionária após o período crítico de reconhecimento materno da gestação (15^o a 16^o dia após IA).

Em um segundo experimento, os autores avaliaram o pH uterino no dia do estro e no 7^o dia do ciclo estral, em novilhas holandesas que consumiram as mesmas dietas descritas acima. No dia do estro, o pH uterino não diferiu entre os animais dos tratamentos (6,87 vs 6,75), mas, no 7^o dia do ciclo estral, as novilhas que receberam a dieta com excesso de PDR tiveram menor pH uterino (6,87) do que aquelas que receberam a dieta com menos PDR (7,09). A redução do pH uterino, no 7^o dia do ciclo estral, nas novilhas que receberam excesso de PDR, pode estar relacionada à redução na secreção uterina de Mg, K e P,

durante a fase lútea, conforme observado por Jordan et al. (1983), em vacas alimentadas com alta proteína na dieta. A modificação do ambiente uterino no 7º dia do ciclo estral é prejudicial ao desenvolvimento do embrião que, neste momento, é muito sensível a alterações em seu ambiente.

Em vacas holandesas, Elrod et al. (1993) avaliaram o fornecimento de três dietas, sendo a primeira balanceada em relação às exigências de PDR e PNDR com 18% de PB; a segunda, excedendo em 25% a exigência de PNDR (19,8% de PB) e a última, excedendo em 25% a exigência de PDR (20,4% de PB). Independente da degradabilidade da proteína no rúmen, as dietas com elevado teor proteico reduziram o pH uterino no 7º dia do ciclo estral (7,13; 6,95 e 6,85, respectivamente), sendo este inversamente relacionado à concentração de PUN ($\text{pH}=7,48 -0,026 \times \text{PUN}$, $R^2=0,20$). Os autores sugeriram que o mecanismo regulador do ambiente uterino é afetado por algum metabólito da proteína da dieta, podendo ser este a ureia e ou a amônia.

Rhoads et al. (2004) estudaram relação entre a concentração PUN e o pH uterino no 7º dia do ciclo estral, em vacas holandesas lactantes. As vacas receberam uma infusão de solução salina ou de ureia na veia jugular durante as primeiras 24 horas e receberam o tratamento oposto durante as 24 horas seguintes. O pH uterino das vacas do grupo controle manteve-se próximo à neutralidade durante todo o período de infusão. Nas vacas tratadas com ureia, o pH uterino foi de 7,08 na 6ª hora e decresceu para 6,88 na 18ª hora do período de infusão, tendendo a permanecer próximo a este valor até a 24ª hora. A relação entre o N-ureico e o pH uterino foi inversa, ou seja, durante o período de infusão de uréia, o PUN aumentou, enquanto o pH uterino diminuiu. O inverso ocorreu durante o período de infusão de solução salina.

Rodriguez-Martinez et al. (1991), citados por Rhoads et al. (2004), relataram que o pH do lúmen uterino é controlado pela enzima anidrase carbônica. Esta enzima, que cataliza a reação $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ +$

HCO_3^- , está presente em muitos epitélios secretores, incluindo o do trato reprodutivo, e atua no transporte seletivo de íons hidrogênio e bicarbonato. Dependendo da permeabilidade da membrana plasmática apical ou basolateral, o transporte de íons hidrogênio e bicarbonato pode ocorrer para dentro ou para fora das células epiteliais, em troca por Na^+ , K^+ e Cl^- . Esta troca de íons afeta o conteúdo iônico celular e modifica o pH no fluido luminal. Rhoads et al. (2004) relataram que o elevado PUN pode alterar o pH uterino pela mudança na atividade da anidrase carbônica endometrial durante a fase lútea, mas não no estro e sugeriram um possível envolvimento da progesterona na expressão da anidrase carbônica, visto que menor quantidade desta enzima no endométrio foi detectada no dia do estro do que no 9º dia do ciclo estral (4,6 e 6,1 unidades/mg de proteína).

Dimski (1994), citado por Hammon et al. (2005), propôs que a utilização da glutamina pelo tecido uterino como fonte de energia pode aumentar o NH_4^+ no fluido uterino, uma vez que a glutamina e outros aminoácidos, ao serem catabolizados, geram NH_4^+ . Como a ionização da amônia é dependente do pH, a diferença de pH entre o sangue e o fluido uterino, em vacas com alto PUN, pode levar ao acúmulo de NH_4^+ no ambiente com menor pH, ou seja, o fluido uterino. Assim, a redução do pH do lúmen uterino no diestro pode ser o resultado do aumento do íon amônio em relação a NH_3 .

Hammon et al. (2005), estudando a associação entre os níveis de PUN e a concentração de N-ureico e amônia nos fluidos reprodutivos de vacas no início da lactação, com PUN superior ou inferior a 20 mg/dL, observaram que a alta concentração de PUN (≥ 20 mg/dL) foi associada à elevada concentração de amônia no fluido uterino no 7º dia do ciclo estral (1562 vs 1082 $\mu\text{mol/L}$), mas não no dia do estro (1141 vs 1025 $\mu\text{mol/L}$). A concentração de N-ureico no fluido uterino foi maior nas vacas com alto PUN no dia zero (26,9 vs 20,4 mg/dL) e no dia sete (26,5 vs 21,4 mg/dL).

Resultados similares foram relatados por McEvoy (1997) em ovelhas Border Leicester x Scottish Blackface. Nesse estudo, o excesso de PDR na dieta (2,5 vs 30,0 g ureia/kg MS) elevou a concentração plasmática de ureia (2,4 vs 5,2 mmol/L, respectivamente), assim como a concentração de ureia (0,2 vs 0,6 mmol/L, respectivamente) e de amônia (37 vs 79 μ mol/L, respectivamente), no fluido útero-tubárico. Apesar da concentração de amônia nos fluidos reprodutivos estar relacionada à ingestão de proteína e ao nível de PUN, o mecanismo exato responsável pelo aumento da concentração de amônia no fluido uterino não é conhecido.

2.7.2 Qualidade e desenvolvimento embrionários

Hammon et al. (2000a), trabalhando com oócitos bovinos coletados de abatedouros e maturados *in vitro* (MIV) na presença de concentrações crescentes de amônia (29, 88, 132, 176 e 356 μ M), não encontraram diferença na taxa de clivagem (84,4%, 82,7%, 78,0%, 81,5% e 81,7%), na porcentagem de ovócitos degenerados (26,9%, 30,3%, 28,4%, 29,5% e 29,1%) e no desenvolvimento aos estádios de mórula (29,9%, 25,5%, 27,4%, 30,0% e 26,5%) e blastocisto (11,2%, 7,6%, 8,4%, 10,4% e 8,6%). Os oócitos maturados, fertilizados e cultivados *in vitro* em meio sem amônia apresentaram 78,4% de taxa de clivagem. As porcentagens de ovócitos degenerados e de embriões que se desenvolveram aos estádios de mórula e blastocisto foram de 26,1%, 33,2% e 10,5%, respectivamente. A concentração de amônia no meio de cultivo do grupo controle aumentou de menos de 4 μ M, no início da maturação para 13 μ M ao final do período de 24 horas, mostrando que certas quantidades de amônia são geradas pela degradação de aminoácidos durante o período de maturação.

Em um estudo complementar ao anterior, utilizando as mesmas concentrações de amônia e um grupo controle, Hammon et al. (2000b) descreveram um efeito dose-dependente, no qual a exposição contínua de

embriões bovinos à amônia, durante o cultivo *in vitro*, aumentou a proporção de embriões degenerados e reduziu a proporção de ovócitos fertilizados que se desenvolveram a blastocistos. Gardner & Lane (1993), citados por Alves (2005), relataram que a amônia presente nos meios de cultivo *in vitro* pode afetar adversamente o desenvolvimento embrionário, por ocasionar redução da concentração de α -cetoglutarato, por meio de sua conversão a glutamato. Isto ocasionaria redução do fluxo de α -cetoglutarato pelo ciclo do ácido tricarbóxico e, assim, menor produção de ATP pelas células embrionárias.

Rhoads et al. (2006), trabalhando com embriões de vacas lactantes com moderado (<19 mg/dL) ou alto (≥ 19 mg/dL) PUN e com novilhas receptoras com baixo ou alto PUN (7,7 e 25,2 mg/dL, respectivamente), observaram menor taxa de prenhez nas novilhas que receberam os embriões coletados das vacas com alto PUN (11%), em relação aos coletados das vacas com PUN moderado (35%). Essa diferença ocorreu apesar de os embriões coletados nos dois grupos serem classificados como excelentes e bons, sugerindo que o elevado PUN tem efeitos prejudiciais aos oócitos ou embriões, antes do 7^o dia de gestação.

Ao analisar, por microscopia eletrônica, embriões excelentes e bons, coletados de cabras da raça Alpina, que foram alimentadas com uma dieta controle ou com dietas contendo 0,73% ou 1,46% de ureia na MS total, durante 81 dias, Alves (2005) observou alterações na ultraestrutura dos embriões coletados das cabras que consumiram ureia. As alterações foram caracterizadas principalmente por redução das microvilosidades, acúmulo de vacúolos e inclusões lipídicas no citoplasma e aumento de estruturas relacionadas com processos de reorganização e/ou degeneração celular. Estas alterações foram mais intensas nos embriões coletados das cabras que consumiram 1,46% de ureia. De acordo com estes resultados, a menor taxa de prenhez observada em animais com elevada concentração de PUN pode estar relacionada à ocorrência

de alterações morfológicas nos embriões considerados excelentes e bons ao microscópio óptico.

Alves (2007) sugeriu que o efeito tóxico de ureia sobre os embriões pode estar relacionado ao momento de seu fornecimento, isto é, se fornecida antes ou após a IA. Neste estudo, menor proporção de oócitos fecundados (50,7% vs 75,3%, respectivamente) e de embriões viáveis (39,4 vs 73,2%) foi recuperada das vacas que consumiram 100g ureia/dia por cinco dias após a IA, em relação às que consumiram a mesma quantidade de ureia por cinco dias antes da IA. A concentração de PUN no dia da IA e no 5º dia após a IA foi maior que 19 mg/dL nas vacas de ambos os tratamentos.

Em ovelhas, Bishonga et al. (1994) observaram que o fornecimento de 30g de ureia/kg MS, durante 72 dias, resultou em aumento da concentração de ureia plasmática (8,2 mmol/L), redução da proporção de embriões viáveis (25%) e da taxa de gestação (33%), em comparação ao fornecimento de 15g de ureia/kg MS (6,4 mmol/L, 66% e 71%, respectivamente) e de uma dieta controle, sem ureia (3,2 mmol/L, 80% e 75%, respectivamente). Da mesma forma, McEvoy et al. (1997) observaram maior concentração de ureia no plasma (7,1 mmol/L) e menor percentagem de embriões viáveis (43%), nas ovelhas suplementadas com 30g de ureia/kg MS, em comparação às ovelhas não suplementadas com ureia (2,0 mmol/L e 91%, respectivamente) ou suplementadas com 15g de ureia/kg MS (5,1 mmol/L e 91%, respectivamente). Com base na concentração plasmática de progesterona, as taxas de gestação no 18º dia após transferência de um único embrião foram de 75%, 71% e 33% e, no 68º dia, as taxas foram de 63%, 43% e 33%, nas ovelhas não suplementadas ou suplementadas com 15 ou 30g de ureia, respectivamente.

Em ovelhas controle ou suplementadas com 50 g de ureia/dia, Fahey et al. (2001) não observaram diferença número de embriões coletados por doadora (3,68 vs 3,83). Contudo, o desenvolvimento embrionário foi reduzido pela

ingestão de ureia, como observado pelo menor número médio de células por embrião (10,27 vs 8,17) e menor percentagem de embriões com ≥ 10 células (73% vs 42%). A dieta oferecida às receptoras não influenciou a taxa de gestação (75% vs 82%), assim como não houve diferença na taxa de gestação das receptoras inovuladas com embriões coletados de doadoras suplementadas ou não com ureia (87% vs 71%). Foi sugerido que os efeitos de elevada concentração de ureia na dieta sobre a qualidade embrionária estão, provavelmente, relacionados a alterações no ambiente da tuba uterina e a prejuízo na qualidade do ovócito dentro do folículo, mais do que a mudança no ambiente uterino.

Berardinelli et al. (2001) demonstraram que ovelhas que ingeriram uma dieta contendo o equivalente a duas vezes a exigência de proteína de manutenção, durante um ciclo estral sincronizado e, nos primeiros cinco dias após a cobertura, apresentaram maior concentração de N-ureico no sangue do que as ovelhas que consumiram a dieta formulada para atender à exigência de proteína de manutenção (dieta controle). No 5º dia após a cobertura, 100% dos embriões foram coletados do útero das ovelhas que receberam a dieta de alta proteína, enquanto, nas ovelhas que receberam a dieta controle, 33,3% foram coletados do istmo da tuba uterina e 66,7% do útero. Os embriões coletados das ovelhas que consumiram excesso de proteína foram mais desenvolvidos (64 vs 24,7 células). Os autores sugeriram que o excesso de proteína na dieta acelerou o desenvolvimento e alterou o transporte dos embriões na tuba uterina, o que pode afetar negativamente o reconhecimento materno da gestação e a sobrevivência dos mesmos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e delineamento experimental

O experimento foi realizado no Setor de Ovinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de setembro a dezembro de 2007. Foram utilizadas 48 ovelhas da raça Santa Inês, múltíparas, não gestantes, em bom estado sanitário e clínico geral, com peso médio de $51,33 \pm 0,15$ kg e ECC entre 2,25 e 3,25 (escala de 0 a 5, sendo 0 = emaciada e 5 = muito gorda; Gordon, 1997). As ovelhas foram distribuídas equitativamente em quatro tratamentos em um delineamento de blocos com três faixas de escore (2,25 a 2,50; 2,75 e 3,00 a 3,25) e quatro repetições dentro do bloco.

3.2 Tratamentos

As ovelhas foram submetidas ao *flushing* com uma dieta contendo farelo de soja (n=24) ou outra contendo glúten de milho e farelo de algodão (n=24) por 28 dias antes da data prevista para a ovulação. Após a ovulação e a cobertura, 12 ovelhas de cada grupo receberam a mesma dieta de *flushing* e 12 receberam uma dieta de manutenção, durante 28 dias, resultando em quatro tratamentos: T1 - *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação (n=12), T2 - *flushing* com farelo de soja antes da ovulação e dieta de manutenção após a ovulação (n=12), T3 - *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação (n=12) e T4 - *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes da ovulação e dieta de manutenção após a ovulação (n=12).

As dietas foram calculadas conforme o Agricultural and Food Research Council - AFRC (1993), considerando o peso vivo médio das ovelhas de 55 kg e consumo diário de 1,5 kg e 1,0 kg de MS para as dietas de *flushing* e de

manutenção, respectivamente. Para a estimativa dos teores de PDR e PNDR na PB, foi utilizado o sistema CNCPS (Cornell University, 2003), considerando a eficiência de degradação para cada fração da PB. Contudo, os valores de PNDR apresentados na tabela não incluem a fração C. Para a estimativa da energia metabolizável (EM), foi utilizado o Small Ruminant Nutrition System – SRNS (Texas University, 2008). A composição das dietas experimentais em ingredientes e nutrientes é apresentada na Tabela 1.

TABELA 1 Composição, em ingredientes e nutrientes, das dietas de *flushing* formuladas com farelo de soja (FFS) ou glúten de milho e farelo de algodão (FGM+FA) e da dieta de manutenção.

Ingredientes	FFS	FGM+FA	Mantença
	% da MS da dieta		
Silagem de milho	69,8	71,2	76,2
Polpa cítrica	10,0	10,2	12,7
Farelo de soja	15,1		8,6
Glúten de milho		8,1	
Farelo de algodão		5,4	
Minerais ¹	5,0	5,1	2,5
Nutrientes			
MS (%MN)	38,68	38,73	37,17
PB (%MS)	13,48	13,48	10,77
PDR (%PB)	61,01	46,88	57,0
PNDR (%PB)	30,06	43,86	31,44
FDN (%MS)	41,85	42,01	44,46
EE (%MS)	5,45	2,37	4,13
Cinzas (%MS)	9,30	9,31	6,93
CNF (%MS)	30,0	32,83	33,71
EM (Mcal/dia)	3,71	3,46	2,44

MS: matéria seca; PB: proteína bruta; PDR: proteína degradável no rúmen; PNDR: proteína não degradável no rúmen; FDN: fibra em detergente neutro; EE extrato etéreo; CNF: carboidrato não fibroso; EM: energia metabolizável estimada pelo SRNS.

¹Níveis de garantia por kg do produto: 80 g de P, 18 g de Mg, 150 g de Na, 15 g de S, 125 mg de Ca, 65 mg de Co, 95 mg de I, 1500 mg de Mn, 30 mg de Se, 350 mg de Zn, 800mg de F, 30.000 UI de Vit A, 3.000 UI de Vit D, 60 UI de Vit E.

As ovelhas foram mantidas em baias coletivas, respeitando-se o limite máximo de 12 ovelhas por baía. As dietas foram fornecidas na forma de mistura completa, duas vezes ao dia. O consumo das dietas de *flushing* foi ajustado em função da porcentagem de peso vivo, para que o consumo de MS fosse semelhante entre as ovelhas que receberam essas dietas. A dieta de manutenção foi

fornecida em quantidade fixa para alcançar o consumo de 1kg MS/animal/dia. As sobras de cada baia foram retiradas e pesadas, antes do fornecimento diário do alimento, para a determinação de consumo do grupo e a estimativa do consumo médio individual. Amostras das sobras e do alimento fornecido foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a -20°C, diariamente. Análises bromatológicas de amostras compostas por semana foram realizadas no Laboratório de Ciência Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA. As amostras compostas foram pré-secas em estufa ventilada por 72 horas a 55°C, trituradas em peneira de 1 mm em moinho do tipo Thomas-Willey e uma subamostra foi desidratada, a 100°C, por 24 horas, para a determinação do teor de matéria seca. As análises de PB, EE, fibra em detergente neutro corrigido para cinzas (FDNc) e cinzas foram realizadas de acordo com Silva & Queiroz (2002). O CNF foi determinado pela equação: $CNF = 100 - (PB + EE + FDNc + cinzas)$.

3.3 Avaliação do peso e do escore de condição corporal e coletas de sangue

As ovelhas foram pesadas e o ECC foi avaliado semanalmente, até o fim do experimento.

Amostras de sangue de todas as ovelhas foram coletadas por punção da veia jugular, em tubos de vidro de coleta a vácuo com anticoagulante EDTA, para dosagem de ureia no plasma. As amostras foram coletadas nos dias 7, 14, 21 e 28 do *flushing* e nos dias 7, 14, 21 e 28 após a ovulação. As amostras foram coletadas aproximadamente quatro horas após a alimentação, acondicionadas em caixa de isopor com gelo e centrifugadas, a 3.000 rpm, durante 15 minutos, para a obtenção de plasma, que foi identificado e armazenado a -20°C, para posterior análise. As análises de ureia foram realizadas por método colorimétrico enzimático, utilizando kit comercial (Ureia 500®, Doles Reagentes e Equipamentos para Laboratórios Ltda., Belo Horizonte, MG.). Posteriormente,

os dados de ureia no plasma foram transformados para N-ureico, multiplicando-se o valor de ureia encontrado na análise por 0,4666, equivalente à porcentagem do nitrogênio presente na molécula de ureia.

3.4 Coleta de urina

Amostras de urina foram coletadas de oito em oito horas (às 8h00, 16h00 e 24h00) no 21º dia após a ovulação, para a estimativa de produção da proteína microbiana. As amostras foram coletadas diretamente da bexiga, com o auxílio de uma sonda uretral. Em cada amostra de urina, foi adicionado ácido sulfúrico a 10%, em quantidade equivalente a 10% do volume de urina coletado, para cessar a degradação dos derivados de purina.

Para estimar a produção de proteína microbiana, foi utilizado o índice da relação derivados de purina:creatinina (DPC índice), proposto por Chen et al. (2003), citados por Chen & Oskov (2003):

$$DPC \text{ índice} = ([DP] / [Creatinina]) \times PV^{0,75},$$

em que:

DP é o derivado de purina que, neste caso, é a alantoína e

PV^{0,75} é o peso vivo metabólico.

A concentração dos derivados de purina foi determinada a partir da concentração de alantoína presente na urina, segundo a metodologia proposta por Chen & Gomes (1992) e a concentração de creatinina determinada por kit comercial (Creatinina®, Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG).

3.5 Sincronização de estros e determinação do número de ovulações

O protocolo de sincronização de estros foi iniciado no 17º dia após o início do *flushing*. Foram utilizadas esponjas intravaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP60®, Tecnopec, Brasil), por 11 dias e aplicação de 300 UI de eCG (Novormon®, Syntex S.A.) e 50 µg de

cloprostenol (Prolise®, ARSA S. R. L.), via i.m., no 9^o dia do tratamento com a esponja. A partir de 12 horas após a retirada das esponjas, a manifestação de estros foi monitorada duas vezes ao dia (das 08h00 às 09h00 e das 17h00 às 18h00), com auxílio de rufiões. Os rufiões foram levados às baias e as ovelhas que apresentaram estro foram cobertas por carneiros de fertilidade comprovada por exame andrológico.

As ovelhas em estro tiveram o número de ovulações determinado por ultrassonografia transretal, utilizando um aparelho marca Chisson 500 com um transdutor linear de 5 MHz, o qual foi acoplado a uma extensão rígida (3cm de diâmetro e 16cm de comprimento), que permitiu sua introdução no reto. Após a contenção do animal em posição de estação, o reto foi esvaziado, reduzindo a possibilidade de as fezes envolverem o transdutor e prejudicarem a formação de uma imagem de boa qualidade. O transdutor foi lubrificado com gel próprio para ultrassonografia e inserido no reto para a visualização dos ovários. A ovulação foi determinada pelo desaparecimento do(s) folículo(s) dominante(s) presente(s) na superfície dos ovários.

Uma ovelha de cada um dos tratamentos T3 e T4 foi retirada do experimento ao ser diagnosticada gestante no momento de avaliação do número de ovulações. Uma ovelha do tratamento T4 e outra do T3 não apresentaram estro e também foram retiradas do experimento. Um animal do T2 ovulou sem manifestar estro e não foi coberto, sendo retirado das análises posteriores à ovulação.

3.6 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia transretal no dia 28 e confirmado entre os dias 35 e 42 após a cobertura. Em ambos os exames foram visualizados os envoltórios fetais e o feto e realizada a avaliação da viabilidade fetal (movimentos e batimentos cardíacos), bem como a contagem

do número de fetos (Oliveira et al., 2004). A taxa de prenhez no dia 35 (número de ovelhas diagnosticadas gestantes dividida pelo total de ovelhas sincronizadas, multiplicado por 100) e a prolificidade (número de cordeiros nascidos por ovelha parida) foram determinados.

3.7 Análise estatística

O efeito do *flushing* com farelo soja ou com glúten de milho e farelo de algodão sobre o ganho de peso e de ECC e a concentração plasmática de N-ureico antes da ovulação, o peso e o ECC no 28º dia após o início do *flushing*, o número de ovulações e o diâmetro do folículo ovulatório foram submetidos à análise de variância, com comparação das médias pelo teste F, adotando-se o nível de 5% de probabilidade (Statistical Analyses System Institute - SAS, 1999). Como não houve interação entre o tratamento e o bloco, considerado erro experimental, esta interação não foi considerada no modelo estatístico (Banzatto & Kronka, 2006). O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + \varepsilon_{ijk}$$

sendo:

μ uma constante inerente a cada observação;

A_i o efeito da fonte de proteína ($i = 1, 2$);

B_j o efeito da faixa de escore ($j = 1, 2$ e 3);

ε_{ijk} o erro experimental aleatório, independente com distribuição normal de média zero e variância σ^2 ($k = 1, 2, 3$ e 4).

O efeito do fornecimento das dietas de *flushing* antes da ovulação e dessas mesmas dietas ou de uma dieta de manutenção após a ovulação sobre o ganho de peso e de ECC em todo o período experimental, o peso e o ECC final, o DPC índice e a prolificidade foram analisados como quatro tratamentos e 12 repetições no T1, 11 no T2, 10 no T3 e 10 no T4. Os dados foram submetidos à análise de variância, com comparação das médias pelo teste de Tukey, adotando-

se o nível de 5% de probabilidade (SAS, 1999). Conforme descrito anteriormente, o modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ijk}$$

sendo:

μ uma constante inerente a cada observação;

A_i o efeito do tratamento ($i = 1, 2, 3$ e 4);

B_j o efeito da faixa de escore ($j = 1, 2$ e 3);

ϵ_{ijk} = erro experimental aleatório, independente com distribuição normal de média zero e variância σ^2 ($k = 1, 2, 3$ e 4).

A concentração de N-ureico no plasma foi analisada segundo um esquema em parcela subdividida no tempo, considerando dois tratamentos (*flushing* com farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão) antes da ovulação e quatro tratamentos (T1, T2, T3 e T4) após a ovulação e os dias de coleta de sangue antes e após a ovulação, com comparação de médias pelo teste de Tukey, adotando-se o nível de 5% de probabilidade (SAS, 1999):

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij} + D_k + TD_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

sendo:

μ a média geral;

T_i o efeito do tratamento ($i = 1, 2$) ou ($i = 1, 2, 3$ e 4);

ε_{ij} erro experimental associado à parcela, considerado independente e identicamente distribuído de uma normal de média zero e variância σ^2 ;

D_k o efeito do tempo ($k = 1, 2, 3$ e 4);

TD_{ik} interação entre o tratamento e o tempo;

ε_{ijk} erro experimental associado à subparcela, considerado independente e identicamente distribuído de uma normal de média zero e variância σ^2 .

A variável qualitativa (taxa de prenhez) foi comparada em tabela de contingência, aplicando-se o teste de qui-quadrado, a 5% de probabilidade (SAS, 1999).

Correlações simples de Pearson foram estimadas entre todas as variáveis quantitativas (SAS, 1999).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Número de ovulações

4.1.1 Dietas

A composição das dietas de flushing com farelo de soja e com glúten de milho e farelo de algodão, em ingredientes e nutrientes, consumidas pelas ovelhas durante os 28 dias antes da ovulação, é apresentada na Tabela 2. Ao comparar a composição das dietas consumidas com as que foram calculadas, de maneira geral, observou-se que a percentagem de PB não alcançou aquela calculada para os dois tratamentos, enquanto a EM excedeu o calculado. No entanto, as dietas consumidas foram isoproteicas e isoenergéticas.

TABELA 2 Composição das dietas de *flushing* formuladas com farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão em ingredientes e nutrientes no período anterior à ovulação.

Ingredientes	Dietas	
	FFS	FGM+FA
Silagem de milho (% MS)	72,14	73,27
Farelo de soja (% MS)	13,98	
Glúten de milho (% MS)		7,45
Farelo de algodão (% MS)		4,96
Polpa (% MS)	9,25	9,55
Sal mineral (% MS) ¹	4,62	4,77
Nutrientes		
MS (% MN)	41,31	41,22
MO (% MS)	90,89	91,21
PB (% MS)	12,04	12,25
FDNc (% MS)	43,81	40,83
EE (% MS)	3,11	2,90
CNF (% MS)	31,93	35,23
Cinzas (% MS)	9,11	8,79
EM (Mcal/dia)	3,96	3,93

FFS: *flushing* com farelo de soja, FGM+FA: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNc: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas; EE: extrato etéreo; CNF: carboidrato não fibroso e EM: energia metabolizável estimada de acordo com o SRNS.

¹Níveis de garantia por kg do produto: 80 g de P, 18 g de Mg, 150 g de Na, 15 g de S, 125 mg de Ca, 65 mg de Co, 95 mg de I, 1500 mg de Mn, 30 mg de Se, 350 mg de Zn, 800mg de F, 30.000 UI de Vit A, 3.000 UI de Vit D, 60 UI de Vit E.

A alimentação das ovelhas foi realizada em baias coletivas, de forma que os dados de consumo apresentados na Tabela 3 representam estimativas do consumo médio individual e não puderam ser analisados estatisticamente. Observou-se que o consumo de MS foi maior que o calculado, devido ao ajuste realizado no campo. As ovelhas submetidas ao *flushing* com farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão apresentaram o mesmo consumo médio individual de PB. As ovelhas consumiram o correspondente a 1,6 vez a exigência de EM de manutenção e 1,86 vez a exigência de proteína de manutenção.

TABELA 3 Estimativa do consumo médio individual de MS, em % peso vivo e em kg/dia, de MO, em kg/dia e de PB, CNF, EE, FDN e cinzas, em g/dia, durante os 28 dias antes da ovulação.

Dieta	MS		Nutrientes					
	kg/dia	% do PV	MO	PB	CNF	EE	FDN	Cinzas
FFS	1,638	2,96	1,489	198	524	51	716	149
FGM+FA	1,613	2,93	1,471	198	571	47	656	142

MS: matéria seca, PB: proteína bruta, CNF: carboidrato não fibroso, EE: extrato etéreo, FDN: fibra em detergente neutro

Alguns autores observaram que dietas contendo glúten de milho reduziram a ingestão de MS por bovinos e ovinos (Costa, 2001, Salvador, 2007). No entanto, o glúten de milho na quantidade utilizada neste experimento não deprimiu o consumo de MS. A proporção deste ingrediente na dieta (7,45% da MS) foi próxima ao nível máximo consumido por borregas Santa Inês (7,91%), em experimento conduzido por Salvador (2007). Este autor forneceu uma dieta sem glúten de milho ou com diferentes proporções deste alimento (1,14%, 0,88% e 11,58% da MS) e, apesar de não ter observado diferença significativa na ingestão de MS, verificou que esta foi numericamente menor nas ovelhas que receberam a dieta com maior proporção de glúten de milho. Além disso, menor consumo de glúten de milho do que o estimado foi observado em todos os tratamentos (0,78%, 0,50% e 7,91% da MS, respectivamente). Da mesma forma, Costa (2001), trabalhando com novilhos confinados, observou rejeição por parte dos animais em ingerir o concentrado contendo glúten de milho (31,98% da MS), sendo, inclusive, necessário promover a substituição de alguns animais em função da recusa do suplemento.

Santos et al. (1998), ao analisarem três artigos (Holter et al., 1992; Polan et al., 1991 e Wohlt et al., 1991), em que o farelo de soja foi totalmente substituído pelo glúten de milho em dietas baseadas em silagem de milho para vacas leiteiras, observaram menor ingestão de MS. Em nenhum dos trabalhos

analisados a causa da redução na ingestão de MS foi relatada. Esta redução no consumo pode ter como causa a baixa palatabilidade do glúten de milho (Teixeira, 1997).

4.1.2 Peso vivo e ECC

Os ganhos de PV, de ECC, o PV e o ECC no 28^o dia após o início do *flushing* não diferiram ($P>0,05$) entre os animais dos tratamentos (Tabela 4). A avaliação das duas dietas no *Small Ruminant Nutrition System* (2008) indicou que os animais de ambos os tratamentos ingeriram quantidades semelhantes de EM (3,9 Mcal/dia), justificando a ausência de diferença no ganho de PV e de ECC e, portanto, no PV e no ECC ao final deste período.

TABELA 4 Média e erro padrão do ganho de PV e de ECC, durante os 28 dias anteriores à ovulação e do PV e do ECC das ovelhas, no 28^o dia do experimento.

Variáveis	Dietas	
	FFS (n=24)	FGM+FA (n=20)
Ganho de PV (kg)	3,14±0,55	2,94±0,61
Ganho de ECC	0,04±0,05	0,10±0,06
PV final (kg)	54,46±1,31	53,36±1,44
ECC final	2,78±0,05	2,85±0,05

n= número de ovelhas em cada tratamento

FFS: flushing com farelo de soja, FGM+FA: flushing com glúten de milho e farelo de algodão.

Branca et al. (2000) também não observaram diferença no ganho de PV e de ECC de ovelhas suplementadas com dois concentrados isoproteicos, contendo farelo de soja ou glúten de milho, durante os quatorze dias antes até dois dias após a IA. O ganho diário de PV das ovelhas dos tratamentos (52 e 29 g/dia,

respectivamente) foi menor do que o observado no presente estudo ($116\pm 0,02$ e $109\pm 0,02$ g/dia nas dietas de *flushing* com farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão, respectivamente). A diferença no ganho de PV das ovelhas entre os dois estudos se deve à maior duração do fornecimento das dietas neste experimento (28 dias), em relação aos 16 dias de suplementação no estudo de Branca et al. (2000) e ao estado produtivo dos animais, pois os autores trabalharam com ovelhas lactantes, enquanto neste estudo as ovelhas estavam secas. No entanto, Molle et al. (1997), estudando ovelhas em lactação, observaram perda de 12g de peso corporal por dia nos animais suplementados com 270g de farelo de soja, durante 14 dias antes da cobertura.

4.1.3 Concentração plasmática de N-ureico

A concentração plasmática de N-ureico não diferiu ($P>0,05$) entre as ovelhas que receberam *flushing* com farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão ($17,25\pm 0,60$ vs $16,23\pm 0,66$ mg/dL, respectivamente). Estes valores foram maiores do que os relatados por McEvoy et al. (1997) em dois experimentos realizados com ovelhas adultas Border Leicester x Stottish Blackface, não lactantes, alimentadas com dietas para atender às exigências de manutenção (5,5 e 6,7 mg/dL). Berardinelli et al. (2001), em um estudo com ovelhas Western White-Faced, não lactantes, que receberam dietas que atenderam à exigência de proteína de manutenção, observaram concentração de N-ureico no plasma de 13,1 mg/dL. A concentração plasmática de N-ureico no presente estudo sugere que houve um excesso de proteína na dieta consumida pelas ovelhas, o que gerou um excesso de amônia e a subsequente conversão à ureia.

Ao analisar a concentração plasmática de N-ureico durante os 28 dias antes da ovulação, observou-se interação tratamento vs dia ($P<0,0001$). Nos animais submetidos ao *flushing* com farelo de soja, a concentração de N-ureico

no 14^o dia foi maior ($P<0,05$) do que a observada nos dias 7 e 28 e igual ($P>0,05$) à observada no dia 21. Os animais que receberam *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão apresentaram maior concentração de N-ureico nos dias 21 e 28 do que nos dias 7 e 14. A concentração de N-ureico nos dias 7 e 14 nas ovelhas que consumiram *flushing* com farelo de soja foi maior ($P<0,05$) do que naquelas que consumiram *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão. Ao contrário, no 28^o dia, a concentração de N-ureico foi maior nas ovelhas que consumiram glúten de milho e farelo de algodão (Tabela 5).

TABELA 5 Média e erro padrão da concentração plasmática de N-ureico nos dias 7, 14, 21 e 28 do experimento nas ovelhas que consumiram as dietas de *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão.

Dia	N-ureico (mg/dL)	
	FFS	FGM+FA
7	15,51±0,86 ^{Ba}	10,26±0,94 ^{Bb}
14	20,83±0,86 ^{Aa}	12,62±0,94 ^{Bb}
21	16,95±0,86 ^{Ab}	19,77±0,94 ^{Aa}
28	16,56±0,86 ^{BCb}	22,49±0,94 ^{Aa}

^{a,b}entre tratamentos ($P<0,01$) e ^{A,B}entre dias de coleta em um mesmo tratamento ($P<0,05$) diferem entre si, pelo teste F.

FFS: *flushing* com farelo de soja, FGM+FA: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão.

Analisando-se os dados da concentração de N-ureico no plasma apresentados na Tabela 5, juntamente com o consumo de PB, observou-se que as ovelhas que receberam *flushing* com farelo de soja apresentaram aumento do consumo de PB até o dia 14, concomitante ao aumento de N-ureico no plasma até este dia, seguido por redução nos valores das duas variáveis até o 28^o dia (Figura 1).

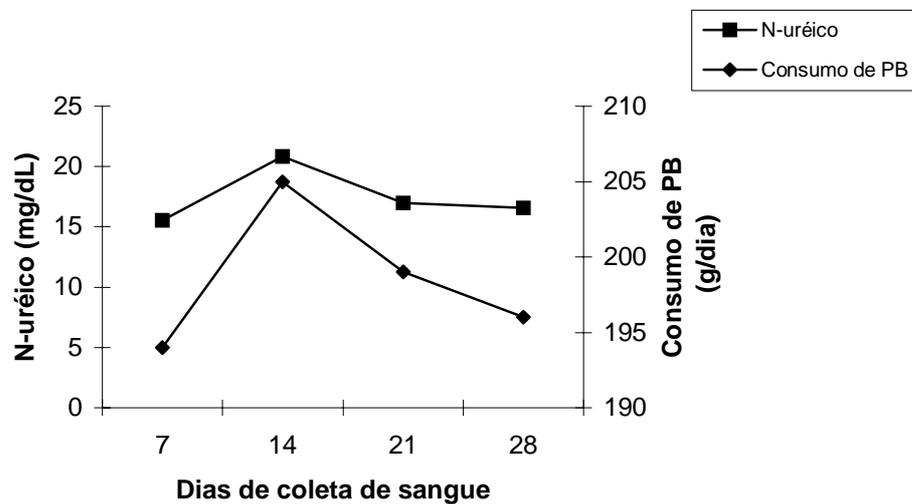


FIGURA 1 Concentração de N-urêico e consumo de PB nas ovelhas que receberam *flushing* com farelo de soja.

Nas ovelhas que receberam *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão, observou-se aumento na concentração de N-urêico no plasma de, aproximadamente, 2,7mg/dL entre os dia 21 e 28 do experimento, enquanto o consumo diário de PB neste mesmo período diminuiu, em média, cinco gramas (Figura 2).

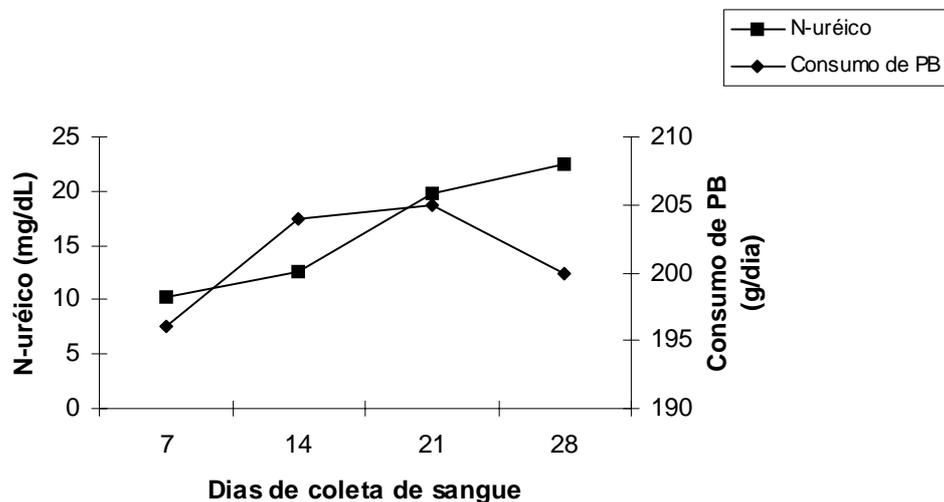


FIGURA 2 Concentração de N-uréico e consumo de proteína bruta nas ovelhas que receberam *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão.

A concentração de ureia ou de N-uréico no plasma está diretamente associada à ingestão de PB (Claypool et al., 1980) ou nitrogênio (Moscardini et al., 1998, Cannas et al., 1998) na dieta. Durante períodos de alta disponibilidade ruminal de nitrogênio, como ocorre com o consumo de dietas ricas em PDR, a produção de amônia no rúmen pode ser maior que a utilização pelas bactérias ruminais, gerando um excesso de amônia que será convertido à ureia, no fígado, com gasto de energia (Rennó et al., 2000). Por outro lado, o fornecimento de PNDR disponibiliza aminoácidos que serão absorvidos no intestino delgado e deaminados no fígado, sendo a amônia detoxificada pelo ciclo da ureia. Assim, tanto o excesso de PDR quanto o de PNDR elevam a concentração de N-uréico no sangue (Elrod et al., 1993) e este metabólito pode ser um bom indicador da proteína não utilizada pelo animal (Moore & Varga, 1996, citados por Lucci et al., 2006).

Swanson et al. (2000) estudaram ovelhas que receberam dietas que atenderam à exigência de PNDR ou excederam a esta exigência em 20% ou 40%. Os autores observaram aumento na concentração sanguínea de N-ureico concomitante ao aumento da percentagem de PNDR na dieta (14,3; 18,4 e 21,2 mg/dL, respectivamente) e sugeriram que este aumento foi devido ao catabolismo dos aminoácidos oriundos da PNDR. O aumento na ingestão de 1g de PB elevou em, aproximadamente, 0,11mg/dL a concentração de N-ureico no sangue. A concentração plasmática de N-ureico, nos dias 21 e 28, nas ovelhas que consumiram o *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão, neste estudo, foi maior do que a concentração deste metabólito nas ovelhas que receberam a dieta que atendeu à exigência de PNDR no experimento de Swanson et al. (2000).

A substituição de farelo de soja por glúten de milho e farelo de algodão não foi efetiva em reduzir a concentração plasmática de N-ureico a partir do 21º dia do experimento, ocasionando, inclusive, aumento ($P < 0,05$) desta concentração no 28º dia (Tabela 5). A explicação para estas observações não é clara, mas poderia estar relacionada ao menor valor biológico do perfil de aminoácidos absorvidos e ao maior catabolismo endógeno de aminoácidos em animais que recebem dietas contendo glúten de milho (Mabjeesh et al., 1998).

O glúten de milho é um alimento rico em metionina e pobre em lisina (5,2% e 3,7% dos aminoácidos essenciais) e tem 45,2% de aminoácidos essenciais na PB. O farelo de algodão é uma fonte com teor intermediário de PNDR, pobre em metionina e lisina (3,7% e 9,7% dos aminoácidos essenciais) e tem 42,6% de aminoácidos essenciais na PB. Esses alimentos são considerados fontes proteicas de pior qualidade, se comparados à proteína microbiana (Santos & Greco, 2007). Reynolds (2006) relatou que os aminoácidos absorvidos pelas vísceras drenadas pelo sistema porta (trato gastrintestinal, pâncreas, baço e tecido adiposo associado) podem ser utilizados na síntese de proteínas ou

oxidados, sendo os aminoácidos essenciais preferencialmente utilizados na síntese proteica, enquanto os não essenciais são preferencialmente oxidados. Os autores relataram, ainda, que a captação de aminoácidos pelo fígado é proporcional à sua concentração no sangue, especialmente com relação aos aminoácidos não essenciais, o que poderia aumentar o catabolismo de aminoácidos e a produção de ureia.

Dessa forma, fica clara a importância de se maximizar a síntese de proteína microbiana no rúmen, pois isso representa um uso eficiente da PDR, menor perda de amônia ruminal, menor excreção de ureia e maior fluxo de aminoácidos essenciais para o intestino (Santos & Greco, 2007).

4.1.4 Número de ovulações e diâmetro do folículo ovulatório

O número de ovulações e o diâmetro do folículo ovulatório não diferiram ($P>0,05$) entre as ovelhas que receberam *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão (Tabela 6).

TABELA 6 Média e erro padrão do número de ovulações e do diâmetro do folículo ovulatório das ovelhas que receberam as dietas de *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão.

Variáveis	Dietas	
	FFS	FGM+FA
Número de ovulações (número)	2,25±0,16	2,24±0,18
Folículo ovulatório (mm)	6,61±0,17	6,72±0,19

FFS: *flushing* com farelo de soja, FGM+FA: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão

Não houve correlação entre o número de ovulações e o peso vivo ($r=0,09$, $P>0,05$) ou o ECC ($r=0,17$, $P>0,05$), no 28^o dia do experimento. Também

não houve correlação entre o número de ovulações e o ganho de peso vivo ($r=0,24$, $P>0,05$) ou o ganho de ECC ($r=0,24$, $P>0,05$), antes da ovulação.

As ovelhas de ambos os tratamentos iniciaram o experimento com ECC de 2,74 e ganharam peso e ECC no período anterior à ovulação. Durante a semana da ovulação, as ovelhas submetidas ao *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão apresentaram ECC de 2,75 ou 2,85, respectivamente. O ECC maior do que 2,5 foi considerado por Gunn et al. (1991) como mínimo para as ovelhas lanadas de origem escocesa manifestarem sua capacidade reprodutiva. Sendo assim, provavelmente, foi este o motivo da ausência de diferença no número de ovulações entre os tratamentos e da ausência de correlação entre o número de ovulações e o ECC, o peso vivo, o ganho de ECC e de peso vivo.

Da mesma forma, Branca et al. (2000) trabalharam com ovelhas da raça Sarda que receberam dietas isoproteicas (120g de PB/dia) e isoenergéticas, uma com farelo de soja e outra com glúten de milho, que diferiram na quantidade de proteína não degradável no rúmen (46 e 85g de PNDR/dia), por 14 dias antes até dois dias após a IA. Estes autores não observaram diferença no número de ovulações (1,89 vs 2,28, respectivamente) e no ECC. A ausência de diferença no número de ovulações foi atribuída à utilização de um volumoso rico em PDR, que aumentou a quantidade de PDR na dieta total consumida pelas ovelhas de ambos os tratamentos. Além disso, as ovelhas já iniciaram o tratamento com ECC de 2,57, acima do limiar de 2,5, estabelecido por Gunn et al. (1991).

Molle et al. (1995), ao suplementarem ovelhas lactantes, da raça Sarda, com 270g/dia de farelo de soja ou 250g/dia de milho, observaram maior ECC e maior número de ovulações nas ovelhas suplementadas com farelo de soja (1,7 CL) do que nas suplementadas com milho (1,1 CL). A diferença no número de ovulações foi atribuída à substituição da forragem pelo concentrado nas ovelhas suplementadas com milho, o que ocasionou redução na ingestão de energia

metabolizável e de PB. Alguns autores observaram maior número de ovulações nas ovelhas suplementadas com alimentos proteicos (Molle et al., 1997) ou energéticos (Viñoles et al., 2008) do que nas não suplementadas.

Silva (2008) observou o número de ovulações de 1,5 e 1,7 folículos em ovelhas da raça Santa Inês, com estro sincronizado com análogo de prostaglandina F2 α ou com uma associação de progestágeno e eCG, respectivamente. No presente estudo, as ovelhas submetidas ao *flushing* apresentaram número médio de ovulações de 2,24 folículos e, portanto, superior à média observada por Silva (2008) nas ovelhas desta raça, sugerindo que os tratamentos foram efetivos em aumentar ao número de ovulações.

Não houve correlação entre o número de ovulações e a concentração de N-ureico no plasma ($r=-0,08$, $P>0,05$). A ausência de correlação pode estar relacionada ao *flushing*, que aumenta o fluxo sanguíneo porta-hepático e a metabolização de hormônios esteroides e reduz o efeito de *feedback* negativo dos hormônios esteroides sobre a secreção de FSH e LH (Smith e Stewart, 1990). Existe, ainda, a possibilidade de a elevada concentração de N-ureico não ser tão prejudicial ao controle hormonal da ovulação quanto é ao oócito e ao início do desenvolvimento embrionário.

A concentração média de N-ureico nas ovelhas que receberam *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão, neste estudo, permaneceu abaixo de 19mg/dL, concentração considerada prejudicial à reprodução (Butler et al., 1996, Butler et al., 2005). Sendo assim, não seria esperado efeito prejudicial da concentração plasmática de N-ureico sobre o número de ovulações. Segundo Branca (2000), a concentração de N-ureico prejudicial ao desempenho reprodutivo de ovelhas Sarda foi de 26,13 mg/dL e, portanto, superior ao observado neste estudo.

A alta concentração de amônia no sangue pode inibir as células betapancreáticas, diminuindo o estímulo da glicose sobre a liberação de insulina

e reduzindo a concentração sanguínea desse hormônio (Visek, 1984). A insulina é o fator primário da produção de estradiol em bovinos (Butler, 2005). Segundo Butler (2003), a habilidade dos folículos de produzirem estradiol suficiente para desencadear a onda pré-ovulatória de LH e a ovulação parece depender da disponibilidade de insulina e de IGF-1 circulantes.

O IGF-I é um fator mitogênico que, juntamente com a insulina, estimula a proliferação de células da granulosa e o crescimento de pequenos folículos (Butler, 2005). Assim, baixas concentrações de insulina e de IGF-I poderiam diminuir o diâmetro do folículo ovulatório, a secreção de estradiol e o número de ovulações.

Garcia-Bojalil et al. (1998b) relataram maior diâmetro do folículo dominante (24,8 vs 18,9 mm) de vacas no pós-parto, alimentadas com dietas contendo 11,1% de PDR na MS, comparadas àquelas que receberam dieta com 15,7% de PDR na MS, o que foi relacionado à menor concentração plasmática de insulina nesses animais (0,54 vs 0,65 ng/mL), em comparação aos que receberam 11,1% de PDR na dieta (Garcia-Bojalil et al., 1998a), sugerindo que o desenvolvimento folicular pode ter sido reduzido nos animais que consumiram 15,7% de PDR, devido à baixa concentração de insulina. Ao contrário, neste estudo, o fornecimento de dietas com diferentes proporções de PDR não influenciou o diâmetro do folículo ovulatório (6,6 e 6,7 mm nos tratamentos de *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão, respectivamente). O diâmetro do folículo ovulatório, neste estudo, foi similar ao relatado por Cavalcanti (2008), para ovelhas da raça Santa Inês, de 6,4 mm.

Como a concentração plasmática de N-ureico, o número de ovulações e o diâmetro do folículo ovulatório, neste estudo, não diferiram entre os animais dos tratamentos, pode-se supor que, provavelmente, não ocorreu diferença na concentração sanguínea de insulina e de IGF-I. Além disso, em vista o alto número de ovulações observado, é provável que esses hormônios tenham tido

suas concentrações aumentadas, o que seria esperado devido à alta ingestão de EM, relativa às exigências nutricionais.

4.2 Taxa de prenhez e prolificidade

4.2.1 Dietas

No período pós-ovulatório, 12 ovelhas que receberam o *flushing* com farelo de soja continuaram a receber a mesma dieta (T1 - *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação) e 11 passaram a receber uma dieta de manutenção (T2 - *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação). daquelas que receberam o *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes da ovulação, 10 continuaram a receber a mesma da dieta (T3 - *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação) e 10 passaram a receber a dieta de manutenção (T4 - *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação).

A composição das dietas de *flushing* consumidas pelas ovelhas e a estimativa do consumo médio individual de MS e de nutrientes, durante os 28 dias antes da ovulação, foram apresentadas nas Tabelas 2 e 3. Na Tabela 7 é apresentada a composição das dietas de *flushing* e da dieta de manutenção consumidas pelos animais após a ovulação. Na Tabela 8, são apresentadas as estimativas do consumo médio individual de MS e de nutrientes das ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, durante os 28 dias após a ovulação.

A percentagem de PB na dieta de *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão foi 1,16% maior que a do tratamento com farelo de soja, contudo, a estimativa do consumo médio individual de PB foi semelhante entre os tratamentos (Tabela 8). As ovelhas que receberam a dieta de manutenção após a ovulação (T2 e T4) consumiram 58% e 59% do total de PB consumido pelas ovelhas que continuaram a receber as dietas de *flushing* (T1 e T3). Ou seja, as ovelhas dos tratamentos T1 e T3 consumiram 1,86 e 1,88 vez a exigência de PB

de manutenção. Em relação à EM, as ovelhas dos tratamentos T1 e T3 consumiram 1,56 e 1,40 vez a exigência de EM, em relação à exigência de manutenção.

TABELA 7 Composição das dietas de *flushing* formuladas com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão e da dieta de manutenção em ingredientes e nutrientes no período pós-ovulatório.

Ingredientes	Dietas		
	FFS	FGM+FA	Dieta de manutenção
Silagem de milho (%MS)	70,05	69,57	75,95
Farelo de soja (%MS)	15,04		8,66
Glúten de milho (%MS)		8,48	
Farelo de algodão (%MS)		5,65	
Polpa (%MS)	9,95	10,87	12,84
Sal mineral (%MS) ¹	4,97	5,43	2,55
Nutrientes			
MS (%MN)	38,49	36,29	36,39
MO (%MS)	90,23	89,73	92,75
PB (%MS)	12,68	13,84	10,22
FDN (%MS)	42,22	41,77	46,65
EE (%MS)	3,48	3,43	3,57
CNF (%MS)	31,85	30,69	32,32
Cinzas (%MS)	9,77	10,27	7,25
EM (Mcal/dia)	3,81	3,42	2,78

FFS: *flushing* com farelo de soja; FGM+FA: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNc: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas; EE: extrato etéreo; CNF: carboidrato não fibroso; EM: energia metabolizável estimada de acordo com o SRNS.

¹Níveis de garantia por kg do produto: 80 g de P, 18 g de Mg, 150 g de Na, 15 g de S, 125 mg de Ca, 65 mg de Co, 95 mg de I, 1500 mg de Mn, 30 mg de Se, 350 mg de Zn, 800mg de F, 30.000 UI de Vit A, 3.000 UI de Vit D, 60 UI de Vit E.

TABELA 8 Estimativa do consumo médio individual de MS, em % do PV e em kg/dia, de MO, em kg/dia e de PB, CNF, EE, FDN, FDA e cinzas, em g/dia, durante 28 dias após a ovulação.

Tratamentos	Consumo de MS		Nutrientes					
	kg	% do PV	MO	PB	CNF	EE	FDN	Cinzas
T1	1,556	2,96	1,404	198	495	54	657	152
T2	1,157	2,09	1,078	115	377	41	545	79
T3	1,455	2,99	1,306	201	447	50	608	149
T4	1,135	2,19	1,048	119	363	40	526	87

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação, T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação, T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação, T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação. MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDNc: fibra em detergente neutro corrigida para cinzas; EE: extrato etéreo e CNF: carboidrato não fibroso

4.2.2 Peso vivo e ECC

O ganho de PV ao longo de todo o período experimental e o PV final não diferiram ($P>0,05$) entre os animais dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 (Tabela 9). Os resultados deste estudo são similares aos de Molle et al. (1995) que, estudando ovelhas não suplementadas ou suplementadas com 270g de farelo de soja ou 250g de milho por 15 dias antes da cobertura até três semanas após a introdução do macho no rebanho, não observaram diferença na alteração do peso corporal das ovelhas.

TABELA 9 Média e erro padrão do ganho de peso vivo e do peso vivo final das ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, durante todo o período experimental.

Tratamentos	Ganho de PV	PV final
T1	5,16±1,09	56,82±2,04
T2	5,12±1,14	55,91±2,13
T3	6,91±1,21	58,15±2,25
T4	4,37±1,20	53,97±2,24

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação; T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação; T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação e T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação.

O ganho de ECC durante todo o período experimental foi maior ($P<0,001$) nas ovelhas que receberam os tratamentos T1 e T3, comparadas àquelas que receberam o tratamento T2. No entanto, o ganho de ECC das ovelhas do tratamento T4 não diferiu do observado naquelas dos tratamentos T1, T2 e T3 (Tabela 10). As ovelhas do tratamento T3 apresentaram maior ECC final ($P<0,05$) do que aquelas do tratamento T2. As ovelhas dos tratamentos T1 e T4 não diferiram ($P>0,05$) entre si, assim como não foram diferentes ($P>0,05$) das ovelhas dos tratamentos T2 e T3 (Tabela 10). O ganho de ECC e o ECC final semelhantes entre as ovelhas do tratamento T4 e aquelas dos tratamentos T1 e T3, provavelmente, ocorreram porque, durante as duas últimas semanas experimentais, as ovelhas do tratamento T4 receberam silagem de milho de melhor qualidade, o que pode ter favorecido a fermentação ruminal, aumentando a disponibilidade de energia para o animal e a quantidade e/ou qualidade da proteína metabolizável (Santos & Greco, 1997).

TABELA 10 Média e erro padrão do ganho de ECC e do ECC final das ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, durante todo o período experimental.

Tratamentos	Ganho de ECC	ECC final
T1	0,23±0,08a	2,96±0,08ab
T2	-0,08±0,08b	2,67±0,08b
T3	0,44±0,08a	3,18±0,08a
T4	0,12±0,08ab	2,86±0,08ab

^{a, b}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação; T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação; T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação e T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação.

Costa (2001) avaliou o desempenho de bovinos confinados alimentados com dietas contendo fontes de proteína de diferentes degradabilidades. Os animais que consumiram dietas formuladas para exceder a quantidade de PDR, exceder a quantidade de PNDR ou que consumiram uma dieta balanceada em PDR e PNDR para permitir máximo potencial de desempenho apresentaram ganho de PV semelhante. Apesar de não ter avaliado o ECC, o autor relatou que os animais que consumiram a dieta que continha a maior quantidade de PNDR apresentou a condição corporal visivelmente diferente dos demais, sugerindo a possibilidade de ter havido diferença na composição de ganho de peso.

Apesar de o ganho de ECC ter sido menor ($P<0,05$) nas ovelhas que receberam o tratamento T2, em relação às que receberam os tratamentos T1, T3 e T4, a taxa de prenhez não foi reduzida ($P>0,05$) naquelas ovelhas. Considerando que o ECC das ovelhas durante os 28 dias após a ovulação, permaneceu acima de 2,5, a influência do ECC sobre a taxa de prenhez pode ter sido reduzida.

4.2.3 DPC índice

A estimativa de síntese de proteína microbiana ruminal é apresentada na Tabela 11. Observou-se maior ($P<0,05$) estimativa de síntese de proteína microbiana nas ovelhas que receberam o tratamento T1 do que naquelas que receberam os tratamentos T2, T3 e T4, mas não houve diferença entre as ovelhas desses tratamentos. Sendo assim, o fornecimento de uma dieta de manutenção após a ovulação, independente da fonte de proteína consumida anteriormente, resultou na mesma estimativa de síntese de proteína microbiana que o fornecimento de *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão durante todo o experimento.

TABELA 11 Média e erro padrão do DPC *índice*, no 21^o dia após a ovulação, das ovelhas submetidas aos tratamentos T1, T2, T3 e T4.

Tratamentos	Média
T1	5,79±0,31a
T2	4,07±0,33b
T3	4,33±0,33b
T4	3,74±0,33b

^{a, b}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$)

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação; T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação; T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação e T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação.

Como esperado, o *flushing* formulado com farelo de soja, que continha maior teor de PDR, resultou em maior estimativa da produção de proteína microbiana do que aquele formulado com glúten de milho e farelo de algodão, contendo menor teor de PDR. De acordo com o NRC (2001), a PDR é degradada pelos microrganismos ruminais, produzindo peptídeos, AA e amônia que são utilizados para a síntese de proteína microbiana. Este resultado está de acordo

com os relatados por Fonseca et al. (2006) que, ao estimarem a produção de proteína microbiana em cabras lactantes alimentadas com teores crescentes de PB (11,5%, 13,5%, 15,5% e 17,5%) e de PDR (7,4%, 8,9%, 10,3% e 11,8%) na MS total, observaram resposta linear crescente do fluxo de nitrogênio microbiano nas amostras de coleta total de urina (15,0; 15,6; 20,9 e 22,5 g/dia) e nas amostras spot (15,7; 16,9; 18,5 e 20,6 g/dia), em relação ao conteúdo de PB e de PDR na dieta.

Em vacas lactantes que consumiram dietas isoproteicas com diferentes teores de NNP (2,22%, 4,18%, 5,96% e 8,09%), Oliveira et al. (2001) observaram relação quadrática entre os teores de NNP na dieta e a síntese de nitrogênio microbiano (160,7; 189,6; 199,5 e 167,2 g/dia), enquanto a concentração de N-ureico no sangue aumentou linearmente com o consumo de NNP (16,4; 19,5; 20,6 e 23,1 mg/dL). Os autores sugeriram que o aumento do NNP em dietas isoproteicas parece diminuir a eficiência da utilização de amônia no rúmen, resultando em aumento da concentração de N-ureico.

No presente estudo, as ovelhas que consumiram a dieta com maior teor de PDR não apresentaram a concentração de N-ureico maior ($P>0,05$) do que aquelas que consumiram a dieta com o menor teor de PDR (Tabela 12).

Santos et al. (1998), ao revisarem 12 anos de literatura sobre os efeitos da PNDR sobre o desempenho de vacas leiteiras, relataram que, quando o farelo de soja foi substituído por alimentos ricos em PNDR, a produção de proteína microbiana e seu fluxo para o duodeno foram reduzidos, o fluxo de nitrogênio não amoniacal e não microbiano aumentou, mas a variação no fluxo de proteína total no duodeno foi pequena. Os autores relataram que, devido ao fato de a proteína microbiana ser uma fonte melhor de lisina e metionina do que a maioria dos alimentos ricos em PNDR, a utilização desses alimentos pode não promover o benefício esperado, uma vez que reduzem a síntese de proteína microbiana. No entanto, neste estudo, as ovelhas que consumiram *flushing* com farelo de soja

(T1), *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão (T3) e *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação (T4) não apresentaram diferença ($P>0,05$) no ganho de ECC, durante todo o período experimental (Tabela 10).

4.2.4 Concentração plasmática de N-ureico

Na Tabela 12 são apresentadas as médias da concentração plasmática de N-ureico das ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, nos dias de coleta 7, 14, 21 e 28 após a ovulação. Observou-se diferença na concentração plasmática de N-ureico entre os dias de coleta ($P<0,01$) e entre os tratamentos ($P<0,001$), mas não houve interação ($P>0,05$) entre os tratamentos e os dias. A maior ($P<0,01$) concentração plasmática de N-ureico foi observada no dia 21 e a menor ($P<0,01$), no dia 28. A concentração de N-ureico nestes dias não foi diferente ($P>0,05$) das observadas nos dias 7 e 14. A concentração plasmática de N-ureico foi maior ($P<0,05$) nas ovelhas que continuaram a receber o *flushing* (T1 e T3) do que naquelas que receberam a dieta de manutenção (T2 e T4). No entanto, não houve diferença ($P>0,05$) na concentração deste metabólito entre as ovelhas que receberam o *flushing* formulado com as fontes de proteína de diferentes degradabilidades (farelo de soja ou glúten de milho e farelo de algodão), assim como entre aquelas que receberam a dieta de manutenção.

TABELA 12 Média do N-ureico (mg/dL) nas ovelhas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, nos dias 7, 14, 21 e 28 após a ovulação.

Dia	Tratamentos				Média
	T1	T2	T3	T4	
7	17,00±1,17	14,60±1,23	21,20±1,30	15,31±1,29	17,03±0,63 ^{ab}
14	19,27±1,17	14,52±1,23	21,40±1,30	13,04±1,29	17,06±0,63 ^{ab}
21	23,15±1,17	14,05±1,23	21,27±1,30	17,69±1,29	19,04±0,63 ^a
28	17,79±1,17	10,85±1,23	20,68±1,30	14,40±1,29	15,93±0,63 ^b
Média	19,30±0,66 ^a	13,51±0,69 ^b	21,14±0,76 ^a	15,11±0,73 ^b	

^{a, b}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,001).

^{A, B}Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,01).

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação, T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação, T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação, T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação.

A concentração plasmática de N-ureico mais elevada nas ovelhas que continuaram a receber o *flushing* após a ovulação em relação àquelas que receberam a dieta de manutenção indica que, independente da degradabilidade da proteína, o aumento da PB na dieta eleva a concentração de N-ureico (Elrod & Butler, 1993, Butler, 2005). Após a absorção no intestino, os aminoácidos são utilizados pelos tecidos do animal, principalmente para a síntese de proteínas. Os aminoácidos não utilizados na síntese de proteína são deaminados, originando amônia e esqueletos carbônicos (Santos & Greco, 2007). A amônia é transformada em ureia, para poder ser reciclada no rúmen ou eliminada pela urina (Hammond, 1998). Sendo assim, o consumo de proteína acima das exigências aumenta a concentração de N-ureico no plasma.

Os resultados do DPC índice, juntamente com os resultados da concentração plasmática de N-ureico, sugerem que a origem da amônia, que

contribuiu para o aumento do N-ureico no plasma, foi diferente, de acordo com a dieta consumida. As ovelhas que continuaram consumindo o *flushing* com farelo de soja após a ovulação tiveram o excesso de amônia chegando à corrente sanguínea através da parede ruminal, enquanto aquelas que continuaram consumindo o *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão podem ter apresentado maior deaminação, no fígado, dos aminoácidos absorvidos no intestino. Como pode ser observado na Tabela 12, o objetivo de reduzir a concentração de N-ureico no plasma das ovelhas que consumiram a dieta de *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão, que continha maior teor de PNDR em relação à dieta de *flushing* com farelo de soja (53,2% e 39% de PNDR na PB), não foi alcançado.

Assim como nos tratamentos T1 e T3, que apresentavam diferentes teores de PDR, Bruckental et al. (2007) também não observaram diferença na concentração de N-ureico no plasma de vacas em lactação que receberam dietas isoproteicas formuladas com glúten de milho e farinha de peixe, mas com diferentes níveis de PDR na MS (10,6%, 9,8% e 8,9%, respectivamente). A concentração de N-ureico no plasma das ovelhas do tratamento T3 foi similar ao observado por Mabweesh et al. (1998) em amostras de sangue coletadas de vacas leiteiras às três e às seis horas após o fornecimento de dieta formulada com caroço de algodão e glúten de milho (23,0 e 19,0 mg/dL, respectivamente).

4.2.5 Taxa de prenhez e prolificidade

As ovelhas que continuaram a consumir o *flushing* com farelo de soja ou com glúten de milho e farelo de algodão e as que receberam a dieta de manutenção após a ovulação não apresentaram diferença ($P>0,05$) na taxa de prenhez (Tabela 13).

TABELA 13 Taxa de prenhez (%) das ovelhas que receberam os tratamentos T1, T2, T3 e T4.

Tratamento	Taxa de prenhez (%)
T1	75 (9/12)
T2	91 (10/11)
T3	80 (8/10)
T4	70 (7/10)

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação, T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação, T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação, T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação.

De acordo com Parr et al. (1993) e O'Callaghan & Boland (1999), a manutenção do alto nível nutricional após a cobertura pode levar à maior metabolização de progesterona pelo fígado, reduzindo sua concentração sanguínea e resultando em menor taxa de prenhez. McKelvey et al. (1988), citados por Gordon (1997), relataram que alto plano nutricional após a monta pode adversamente influenciar a sobrevivência embrionária e que este processo é mediado por declínio da concentração plasmática de progesterona. Segundo os autores, o baixo plano nutricional neste período não influenciou a sobrevivência dos embriões. Embora a concentração de progesterona neste estudo não tenha sido analisada, os resultados sugerem que a manutenção de alto nível nutricional após a cobertura não aumentou a metabolização deste hormônio em magnitude suficiente para reduzir a taxa de prenhez. Além da possível vantagem em relação à manutenção da concentração sanguínea de progesterona adequada ao desenvolvimento do embrião, o fornecimento de uma dieta de manutenção ainda é mais interessante economicamente.

Branca et al. (2000) também não observaram diferença na taxa de concepção de ovelhas suplementadas com dietas isoproteicas contendo glúten de

milho ou farelo de soja, diferindo na quantidade de PNDR (46 ou 86g/dia). Como as ovelhas consumiram volumoso rico em PDR, os autores sugeriram que a substituição de PDR por PNDR não aumenta a taxa de concepção em ovelhas que são alimentadas com dietas ricas em PDR. Da mesma forma, neste estudo, as ovelhas consumiram um volumoso rico em NNP e PDR. Sendo assim, o possível efeito benéfico de PNDR sobre a taxa de prenhez pode ter sido mascarado pelo NNP e PDR presentes na silagem de milho.

No entanto, Elrod & Butler (1993) observaram menor taxa de prenhez em novilhas que receberam dieta que excedeu em 50% a exigência de PDR do que nas que receberam a dieta que atendeu à exigência de PDR (61% e 82%, respectivamente). Bishonga et al. (1994) observaram menor proporção de embriões viáveis (25%) coletados no quarto dia após a IA e menor taxa de gestação (33%) nas ovelhas suplementadas com 30g de ureia em comparação às suplementadas com 15 g de ureia (66% e 71%, respectivamente) ou não suplementadas (80% e 75%, respectivamente).

Vários autores observaram relação inversa entre concentração de N-ureico no sangue e taxa de concepção de vacas (Canfield et al., 1990; Ferguson et al., 1993; Butler et al., 1996; Rhoads et al., 2005), principalmente em concentrações superiores a 19 mg/dL. Em ovelhas, Branca et al. (2000) relataram tendência de maior taxa de concepção associada à concentração de N-ureico no leite inferior a 26,13 mg/dL, em comparação a valores superiores a este (64% vs 44%, respectivamente) e Mc Evoy et al. (1997) verificaram que as taxas de prenhez foram de 75%, 71% e 33%, em ovelhas com concentração de N-ureico no plasma de 5,59, 14,25 e 19,84 mg/dL, respectivamente.

O excesso de PB na dieta pode alterar o ambiente uterino ao ocasionar alterações na concentração iônica (Jordan et al., 1983; Rhoads et al., 2004), redução no pH (Elrod et al., 1993; Elrod & Butler, 1993) e aumento na concentração de amônia no fluido uterino (Hammon, 2000). Estes fatores podem

alterar o desenvolvimento embrionário nos 11 primeiros dias, retardando a sua proliferação celular e diminuindo o número de embriões viáveis (Mc Evoy et al., 1997). Estes autores observaram que 80%, 70% e 40% das ovelhas não suplementadas, suplementadas com 15 ou 30g de ureia/dia, apresentaram embriões viáveis, respectivamente.

Neste estudo, não foi observado efeito da degradabilidade ruminal da proteína nas ovelhas submetidas ao *flushing* após a ovulação e do nível nutricional após a ovulação sobre a prolificidade, pois não houve diferença no número de cordeiros nascidos ($P>0,05$) entre os tratamentos, como mostrado na Tabela 14.

TABELA 14 Prolificidade e erro padrão das ovelhas que receberam os tratamentos T1, T2, T3 e T4.

Tratamento	Prolificidade ¹
T1	1,90±0,27
T2	2,20±0,26
T3	2,13±0,29
T4	1,71±0,32

¹Número de cordeiros nascidos/ovelhas prenhas.

T1: *flushing* com farelo de soja antes e após a ovulação, T2: *flushing* com farelo de soja antes e dieta de manutenção após a ovulação, T3: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e após a ovulação, T4: *flushing* com glúten de milho e farelo de algodão antes e dieta de manutenção após a ovulação.

Molle et al. (1995) não observaram diferença na prolificidade de ovelhas suplementadas com 270g de farelo de soja ou 250g de milho, diariamente, durante duas semanas antes até três semanas após a introdução do macho no rebanho, comparadas às não suplementadas (1,3; 1,1 e 1,1 cordeiro/ovelha, respectivamente). No entanto, Molle et al. (1997) observaram que ovelhas da

raça Sarda, suplementadas com 270g de farelo de soja/dia a partir de quatorze dias antes e até dois dias após a monta apresentaram maior prolificidade (1,7 cordeiro) do que as ovelhas suplementadas a partir de quatorze dias antes até o vigésimo primeiro dia após a introdução do carneiro (1,5 cordeiro) e do que aquelas não suplementadas (1,3 cordeiro). O autor relata que o aumento do nível nutricional durante o primeiro mês de gestação está associado à perda embrionária. Contudo, no presente estudo, a manutenção do *flushing* durante os 28 dias após a ovulação não foi prejudicial à taxa de prenhez e à prolificidade.

5 CONCLUSÕES

O fornecimento de uma fonte de proteína de menor degradabilidade ruminal não reduziu a concentração plasmática de N-ureico.

O fornecimento de fontes proteicas com diferentes proporções de PDR, nos níveis utilizados neste estudo, não influenciou o número de ovulações e a taxa de prenhez.

O nível nutricional (*flushing* vs manutenção) após a ovulação não alterou a taxa de prenhez.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABECIA, J. A.; LOZANO, J. M.; FORCADA, F.; ZARAZAGA, L. Effect of level of dietary energy and protein on embryo survival and progesterone production on day eight of pregnancy in Rasa Aragonesa ewes. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 48, n. 2-4, p. 209-218, Aug. 1997.
- ADASHI, E. Y.; RESNICK, C. E.; DERCOLE, A. J.; SVOBODA, M. E.; VAN WYK, J. J. Insulin-like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cells growth and function. **Endocrinology Reviews**, Baltimore, v. 6, n. 3, p. 400-420, Sept. 1985.
- AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH COUNCIL. **Energy and protein requirements of ruminants**. Wallingford: CAB International, 1993. 159p.
- AL-KHALIDI, U. A. S.; CHAGLIASSIAN, T. H. The species distribution of xanthine oxidase. **Biochemistry Journal**, Ottawa, v.97, n. 1, p.318-320, Oct. 1965.
- ALVES, F. R. **Efeitos do fornecimento de dietas contendo nitrogênio não-protéico (NNP) sem prévia adaptação, durante curto espaço de tempo e em diferentes fases do ciclo estral na produção, qualidade e grau de desenvolvimento de embriões de fêmeas bovinas superovuladas**. 2007. 79p. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Pirassununga.
- ALVES, N. G. **Efeito de uréia na dieta sobre as características reprodutivas e concentração de progesterona e metabólitos em cabras da raça Alpina**. 2005. 166p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- AMARANTE, A. F.; BAGNOLA JÚNIOR, J.; AMARANTE, M. R.; BARBOSA, M. A. Host specificity of sheep and cattle nematodes in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 73, n. 1-2, p. 89-104, Dec. 1997.
- BAKER, L. D.; FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 78, n. 11, p. 2424, Oct. 1995.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 237p.

BERARDINELLI, J. G.; WENIG, J.; BURFENING, P. J.; ADAIR, R. Effect of excess degradable intake protein on early embryonic development, ovarian steroid and blood urea nitrogen on days 2, 3, 4, and 5 of the estrus cycle in mature ewes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, n. 1, p. 193-199, Jan. 2001.

BISHONGA, C.; ROBINSON, J. J.; McEVOY, T. G.; AITKEN, R. P.; FINDLAY, P. A. The effects of excess rumen degradable protein in ewes on ovulation rate, fertilization and embryo survival in vivo and during in vitro culture. **Journal Animal Production**, Edinburg, v. 58, n. 4, p. 447-451, Apr. 1994.

BISHONGA, C.; ROBINSON, J. J.; McEVOY, T. G.; FINDLAY, P.; AITKEN, R. P.; ROBERTSON, I. Excess dietary urea intake in ewes and its effect on ovulation rate and embryo development. **Japanese Journal of Veterinary Research**, Sapporo, v. 44, n. 3, p. 139-151, Apr. 1996.

BLACHE, D.; ZHANG, S.; MARTIN, G.B. Dynamic and integrative aspects of the regulation of reproduction by metabolic status in male sheep. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 46, n. 4, p. 379-390, Jul./Aug. 2006.

BLAUWIEKEL, R.; KINCAID, R. L.; REEVES, J. J. Effect of high crude protein on pituitary and ovarian function in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 1, p. 439-446, Jan. 1986.

BRANCA, A.; MOLLE, G.; SITZIA, M.; DECANDIA, M.; LANDAU, S. Short-term dietary effects on reproductive wastage after induced ovulation and artificial insemination in primiparous lactating Sarda ewes. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 58, n. 1-2, p. 59-71, Feb. 2000.

BRODERICK, G. A.; MURRAY, K. C. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 80, n. 11, p. 2964-2971, Nov. 1997.

BUTLER, W. R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 83, n. 2-3, p. 211-218, Oct. 2003.

BUTLER, W. R. Relationships of dietary protein and fertility. **Advances in Dairy Technology**, Palmerston North, v. 17, n. 1, p. 159-161, Jan. 2005.

BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 4, p. 858-865, Nov. 1996.

CANFIELD, R. W.; SNIFFEN, C. J.; BUTLER, W. R. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.73, n. 9, p. 2342-2349, Sept. 1990.

CANNAS, A.; PES, A.; MANCUSO, R.; VODRET, B.; NUDDA, A. Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 2, p. 499-508, Feb. 1998.

CAVALCANTI, A. dos S. **Avaliação do uso de GnRH em protocolos curtos de indução e sincronização do estro e da ovulação em ovelhas**. 2008. 111f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Reprodução Animal) – Universidade Federal Fluminense, Niterói.

CHALUPA, W. Discussion of protein symposium. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1134-1146, Apr. 1984.

CHEN, X. B.; GOMES, M. J. **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives: an overview of technical details**. Bucksburnd, Aberdeen: Rowett Research Institute, 1992. 21p.

CHEN, X. B.; HOVELL, F. D. D.; ORSKOV, E. R. Excretion of purine derivatives by ruminants: recycling of allantoin into the rumen via saliva and its fat in the gut. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 63, n. 2, p. 197-205, Mar. 1990a.

CHEN, X. B.; ORSKOV, E. R. **Research on urinary excretion of purine derivatives on ruminants: past, present and future**. Bucksburnd: Aberdeen: International Feed Research Unit, 2003. 34p.

CHEN, X. B.; ORSKOV, E. R.; HOVELL, F. D. D. Purine derivatives by ruminants: endogenous excretion differences between cattle and sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 63, n. 1, p.121-129, Jan. 1990b.

CLAYPOOL, D. W.; PANGBORN, M. C.; ADAMS, P. H. Effect of dietary protein on high-producing dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.63, n. 4, p.833-837, Apr. 1980.

CORNELL UNIVERSITY. **Cornell Net Carbohydrate and Protein System**: version 5.0. Cornell, 2003. Software.

COSTA, R. M. **Avaliação de suplementos com proteína degradável e de escape ruminal para recria de bovinos**. 2001. 47p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

ELROD, C. C.; BUTLER, W. R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 3, p. 694-701, Mar. 1993.

ELROD, C. C.; VAN AMBURGH, M.; BUTLER, W. R. Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 3, p. 702-706, Mar. 1993.

FAHEY, J.; BOLAND, M. P.; O'CALLAGHAN, D. The effects of dietary urea on embryo development in superovulated donor ewes and on early embryo survival and development in recipient ewes. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 2, p. 395-400, Feb. 2001.

FARNINGHAM, D. A.; WHYTE, C. C. The role of propionate and acetate in the control of food intake in sheep. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 70, n. 1, p. 37-46, Jul. 1993.

FERGUSON, J. D.; BLANCHARD, T.; GALLIGAN, D. T.; HOSHALL, A.; CHALUPA, W. Infertility in dairy cattle fed a high percentage of protein degradable in the rumen. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 192, n. 5, p. 659-692, Mar. 1988.

FERGUSON, J. D.; CHALUPA, W. Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 3, p. 746-766, Mar. 1989.

FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; BLANCHARD, T.; REEVES, M. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3742-3746, Dec. 1993.

FIGUEIREDO, E. A. P.; OLIVEIRA, E. R.; BELLAVER, C.; SIMPLICIO, A.A. Hair sheep performance in Brazil. In: FITZHUGH, H. A.; BRADFORD, G. E. (Ed.). **Hair sheep of western Africa and the Americas**. Colorado: Westview, 1983. p. 125-140.

FIGUEIREDO, E. A. P.; SHELTON, M.; BARBIERI, M. E. Available genetic resources: the origin and classification of the world's sheep. In: SHELTON, M.; FIGUEIREDO, E. A. P. (Ed.). **Hair sheep production in tropical and sub-tropical regions**: with reference to northeast Brazil and the countries of the Caribbean, Central America and South America. Davis: University of California, 1990. p. 17-32.

FONSECA, C. A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; CECON, P. R.; RODRIGUES, M. T.; PINA, D. dos S.; MARCONDES, M. I.; PAIXÃO, M. L.; ARAÚJO, A. M. Estimativa da produção microbiana em cabras lactantes alimentadas com diferentes teores de proteína bruta na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 1169-1177, maio/jun. 2006.

FONSECA, C. A. M.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; LEÃO, M. I.; MARCONDES, M. I. Digestão dos nutrientes e balanço dos compostos nitrogenados em cabras alimentadas com quatro níveis de proteína. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 1, p. 192-200, fev. 2008.

FORCADA, F.; ABECIA, J. A.; SIERRA, I. Seasonal change in oestrus activity and ovulation rate in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 8, n. 4, p. 313-324, Sept.1992.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82-83, n. 1, p. 109-126, July 2004.

GARCIA-BOJALIL, C. M.; STAPLES, C. R.; RISCO, C. A.; SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: productive responses. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1374-1384, May 1998a.

GARCIA-BOJALIL, C. M.; STAPLES, C. R.; RISCO, C. A.; SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W. Protein degradability and calcium salts of long-chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows: reproductive responses. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1385-1395, May 1998b.

GARCIA-BOJALIL, C. M.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; DROST, M. Protein intake and development of ovarian follicles and embryos of superovulated nonlactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 9, p. 2537-2548, Sept. 1994.

GARVERICK, H. A.; ERB, R. E.; RANDEL, R. D.; CUNNINGHAM, M. D. Dietary urea for dairy cattle. I. Relationship to luteal function. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 54, n. 11, p.1669-1674, Nov. 1971.

GATH, V.; LONERGAN, P.; BOLAND, M. P.; O'CALLAGHAN, D. Effects of diet type on establishment of pregnancy and embryo development in beef heifers. **Theriogenology**, Stoneham, v. 51, n. 1, p.224, Jan. 1999.

GIRÃO, R. N.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, E. S. **Índices produtivos de ovinos da raça Santa Inês no Estado do Piauí**. Teresina: EMBRAPA-UEPAE, 1984.

GORDON, I. **Controlled reproduction in sheep & goats**. New York: CAB International, 1997. 450p.

GUNN, R. G.; MAXELL, T. J.; SIM, D. A.; IONES, J. R.; JAMES, M. E. The effect of level of nutrition prior to mating on the reproductive performance of ewes of two welsh breeds in different levels of body condition. **Animal Production Science**, Amsterdam, v. 52, n. 1-2, p.157-163, Apr. 1991.

HAMMOND, A. C. Use of BUN and MUN as guides for protein and energy supplementation in cattle. **Revista Corpoica**, Bogota, v. 2, n. 2, p. 44-48, July 1998.

HAMMON, D. S.; HOLYOAK, G. R.; DHIMAN, T. R. Association between blood plasma urea nitrogen levels and reproductive fluid urea nitrogen and ammonia concentrations in early lactation dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 86, n. 1-2, p. 195-204, Mar. 2005.

HAMMON, D. S.; WANG, S.; HOLYOAK, G. R. Ammonia concentration in bovine follicular fluid and its effect during in vitro maturation on subsequent embryo development. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 58, n. 1-2, p.1-8, Feb. 2000a.

HAMMON, D. S.; WANG, S.; HOLYOAK, G. R. Effects of ammonia during different stages of culture on development of in vitro produced bovine embryos. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam v. 59, n. 1-2, p. 23-30, Apr. 2000b.

HOOVER, W. H.; STOKES, S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum ruminal microbial yield. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 3630-3644, Oct. 1991.

HOWARD, H. J.; ALSETH, E. P.; ADAMS, G. D.; BUSH, L. J. Influence of dietary protein on reproductive performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 70, n. 7, p. 1563-1403, July 1987.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3851-3863, Dec. 1993.

JORDAN, E.R.; CHAPMAN, T. E.; HOLTAN, D. W.; SWANSON, L. V. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, n. 8, p. 1854-1862, Aug. 1983.

JORDAN, E. R.; SWANSON, L. V. Serum progesterone and luteinizing hormone in dairy cattle fed varying levels of crude protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 48, n. 5, p. 1154-1158, Nov. 1979.

KAUR, H.; ARORA, S. P. Dietary effects on ruminant livestock reproduction with particular reference to protein. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 8, n. 2, p. 121-136, June 1995.

KOREN, A. **Medical encyclopedia**: creatinine urine. 2000. Disponível em: <www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003610.html>. Acesso em: 11 dez. 2008.

LANDAU, S.; HOUGHTON, J. A.; MAWHINNEY, J. R.; INSKEEP, E. K. Protein sources affect follicular dynamics in ewes near the onset of the breeding season. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 8, n. 6, p. 1021-1028, Aug. 1996.

LAVEN, R. A.; DAWUDA, P. M.; SCARAMUZZI, R. J.; WATHES, D. C.; BIGGADIKE, H. J.; PETERS, A. R. The effect of feeding diets high in quickly degradable nitrogen on follicular development and embryo growth in lactating Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 84, n. 1-3, p. 41-52, Feb. 2004.

LEURY, B. J.; MURRAY, P. J.; ROWE, J.B. Effect of nutrition on the response in ovulation rate in Merino ewes following short-term lupin supplementation and insulin administration. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 41, n. 3, p. 751-759, Sept. 1990.

LIAMADIS, D.; MILIS, C. Significance of quality of truly digestible protein on performance of ewes at late pregnancy and early lactation. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 71, n. 1-3, p. 67-74, Aug. 2007.

LUCCI, C. S. de; VALVASORI, E.; PEIXOTO JUNIOR, K.; FONTOLAN, V. Concentrações de nitrogênio na dieta, no sangue e no leite de vacas lactantes no período pós-parto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 1, p. 258-263, jan. 2006.

MABJEESH, S. J.; ARIELI, A.; ZAMWELL, S.; TAGARI, H. Heat-treated whole cottonseed versus maize gluten meal as a rumen undegradable protein supplement for lactating dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 55, n. 3, p. 249-259, Sept. 1998.

MARTINELLE, K.; HÄGGSTRÖM, L. Mechanisms of ammonia and ammonium ion toxicity in animal cells: Transport across cell membranes. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 30, n. 2, p. 339-350, Aug. 1993.

McALLAN, A. B.; SMITH, R. H. Degradation of nucleic acids derivatives by rumen bacteria in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 29, n. 2, p. 467-474, Mar. 1973a.

McALLAN, A. B.; SMITH, R. H. Degradation of nucleic acids in the rumen. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 29, n. 2, p. 331-341, Mar. 1973b.

McEVOY, T. G.; ROBINSON, J. J.; AITKEN, R. P.; FINDLAY, P. A.; ROBERTSON, I. S. Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 47, n. 1-2, p. 71-90, May 1997.

MILIS, C.; LIAMADIS, D. Nutrient digestibility and energy value of sheep rations differing in protein level, main protein source and non-forage fiber source. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 92, v.1, p. 44-52, Feb. 2008.

- MILIS, C.; LIAMADIS, D.; ROUBIES, N.; CHRITODOULOU, V.; GIOUSELJIANNIS, A. Comparison of corn gluten products and soybean-bran mixture as sources of protein for lactating Chios ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 237-244, June 2005.
- MOLLE, G.; BRANCA, A.; LIGIOS, S.; SITZIA, M.; CASU, S.; LANDAU, S.; ZOREF, Z. Effect of grazing background and flushing supplementation on reproductive performance in Sarda ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p.245-254, Aug. 1995.
- MOLLE, G.; LANDAU, S.; BRANCA, A.; SITZIA, M.; FOIS, N.; LIGIOS, S.; CASU, S. Flushing with soybean meal can improve reproductive performances in lactating Sarda ewes on a mature pasture. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 24, n. 2, p. 157-165, Mar. 1997.
- MORI, R. M.; RIBEIRO, E. L. A. de; MIZUBUTI, I. Y.; ROCHA, M. A. da; SILVA, L. das D. F. da. Desempenho reprodutivo de ovelhas submetidas a diferentes formas de suplementação alimentar antes e durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 1122-1128, maio 2006.
- MOSCARDINI, S.; WRIGHT, T. C.; LUIMES, P. H.; McBRIDE, B. W.; SUSMEL, P. Effects of rumen-undegradable protein and feed intake on purine derivate and urea nitrogen:comparison with predictions from the Cornell Net Carbohydrate and protein system. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 10, p. 2421-2429, Oct. 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ed. Washington: National Academy, 2001. 381p.
- NOCEK, J. E.; RUSSEL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminant protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, n. 7, p. 2070-2107, July 1988.
- NOLAN, J. V. Nitrogen kinetics. In: FORBES, F. M.; FRANCE, F. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallingford: CAB Internacional, 1993. p. 123-163.
- O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M. P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Animal Science**, Penicuik, v. 69, n. 2, p. 299-314, Jan. 1999

OCAK, N.; CAM, M. A.; KURAN, M. The influence of pre- and post-mating protein supplementation on reproductive performance in ewes maintained on rangeland. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 64, n. 1, p. 16-21, Jan. 2006.

OLDHAM, J. D. Protein-energy interrelationships in cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 4, p. 1090, Apr. 1984.

OLIVEIRA, A. S.; VALADARES, R. F. D.; VALADARES FILHO, S. C.; CECON, P. R.; RENNÓ, L. N.; QUEIROZ, A. C. de; CHIZZOTTI, M. L. Produção de proteína microbiana e estimativas das excreções de derivados de purinas e de uréia em vacas lactantes alimentadas com rações contendo diferentes níveis de compostos nitrogenados não-protéico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 30, n. 5, p. 1621-1629, set. 2001.

OLIVEIRA, M. A. L.; REICHENBACH, H. D.; SANTOS, M. H. B.; TENÓRIO FILHO, F. Aplicabilidade do scan B na reprodução de pequenos ruminantes. In: SANTOS, M. H. B.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P. F. **Diagnóstico de gestação na cabra e na ovelha**. São Paulo: Varela, 2004. p. 85-96.

OLIVEIRA, M. M. N. F. **Uréia para vacas leiteiras no pós-parto: dinâmica folicular e características reprodutivas**. 2001. 93p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

PAPADOPOULOS, S.; LONERGAN, P.; GATH, V.; QUINN, K. M.; EVANS, A. C. O.; O'CALLAGHAN, D.; BOLANDA, M. P. Effect of diet quantity and urea supplementation on oocyte and embryo quality in sheep. **Theriogenology**, Stoneham, v. 55, n. 5, p. 1059-1069, Apr. 2001.

PARR, R.; DAVIS, I.; FAIRCLOUGH, R.; SQUIRES, T. J. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. **Journal Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 80, n. 1, p. 317-320, Sept. 1987.

PARR, R.; DAVIS, I. F.; MILES, M. A.; SQUIRES, T. J. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. **Research Veterinary Science**, London, v. 55, n. 3, p. 311-316, Mar. 1993.

PIRES, A. V.; SUSIN, I. Relações entre nutrição e reprodução. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 9., 1994, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: FEALQ, 1994. p.69-97.

RASSU, S. P. G.; ENNE, G.; LIGIOS S.; MOLLE G. Nutrition and Reproduction. In: PULINA G.; BENCINI R. **Dairy Sheep Nutrition**. Cambridge: CAB Internacional, 2004. p. 217-222.

RENNO, L. N.; VALADARES, R. F. D.; LEÃO, M. I.; VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C. da; CECON, P. R.; DIAS, H. L. C.; COSTA, M. A. L.; OLIVEIRA, R. V. de. Estimativa da produção de proteína microbiana pelos derivados de purinas na urina em novilhos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 29, n. 4, p. 1223-1234, jul. 2000.

REYNOLDS, C. K. Splanchnic amino acid metabolism in ruminants. In: SEJRSEN, K.; HVELPLUND, T.; NIELSEN, M. O. **Ruminant Physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress**. Wageningen: Wageningen Academic, 2006. p.225-244.

RHIND, S. M.; McKELVEY, W. A. C.; McMILLEN, S. R.; GUNN, R. G.; ELSTON, D. A. Effect of restricted food intake before and/or after mating, on the reproductive performance of Greyface ewes. **Animal Production**, Edinburg, v. 48, n. 2, p. 149-155, Apr. 1989.

RHOADS, M. L.; GILBERT, R. O.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. Effects of urea Infusion on the uterine Luminal unvironment of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 9, p. 2896-2901, Sept. 2004.

RHOADS, M. L.; RHOADS, R. P.; GILBERT, R. O.; TOOLE, R.; BUTLER, W. R. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 91, n. 1-2, p. 1-10, Jan. 2006.

RIBEIRO, L. A. O.; FONTANA, C. S.; WALD, V. B.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C. Relação entre a condição corporal e a idade das ovelhas no encarneamento com a prenhez. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 357-361, fev. 2003.

RUSSELL, J. B. Ruminant protozoa and fungi. In: _____. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. Ithaca: Cornell University, 2002. p. 95-101.

RUSSELL, J. B.; O'CONNOR, J. D.; FOX, D. G.; VAN SOEST, P. J.; SNIFFEN, C. J. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: i. Ruminant Fermentation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3551-3561, Nov. 1992.

SALVADOR, F. M. **Proteína degradável no rúmen e proteína metabolizável em ovinos em crescimento**. 2007. 147p. Tese (Doutorado em Nutrição de Ruminantes) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.

SANTOS, F. A. P. Metabolismo de proteínas. In: BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

SANTOS, F. A. P.; GRECO, L. F. Digestão pós-ruminal de proteínas e exigências de aminoácidos para ruminantes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2007, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2007. p. 122-159.

SANTOS, F. A. P.; SANTOS, J. E. P.; THEURER, C. D.; HUBER, J. T. Effects of rumen undegradable protein on dairy cow performance: A 12- year literature review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 12, p. 3182-3213, Dec. 1998.

SASA, A.; TESTON, D. C.; RODRIGUES, P. A.; COELHO, L. A.; SCHALCH, E. Concentrações plasmáticas de progesterona em borregas lanadas e deslanadas no período de abril a novembro, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 3, p. 1150-1156, jun. 2002.

SATTER, L. D.; STYTER, L. L. Effect of ammonia concentration on ruminal microbial protein production in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 32, n. 2, p. 199-208, Sept. 1974.

SCHWAB, C. G., Optimizing amino acid nutrition for optimum yields of milk protein. In: SOUTHWEST NUTRITION MANAGEMENT, 1994, Phoenix. **Proceeding...** Phoenix: University of Arizona, 1994. p. 114.

SILVA, B. D. M. **Sincronização de estro com prostaglandina F2 α versus progesterona associada à gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) em ovelhas deslanadas no Distrito Federal**. 2008. 50p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. de. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa: UFV, 2002. 235p.

SINCLAIR, L. A.; GARNSWORTHY, P. C.; NEWBOLD, J. R.; BUTETERY, P. J. Effects of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release in diets with similar carbohydrate composition on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 124, n. 3, p. 463-472, June 1995.

SINCLAIR, L. A.; GARNSWORTHY, P. C.; NEWBOLD, J. R.; BUTETERY, P. J. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 120, n. 2, p. 251-263, June 1993.

SMITH, A. J.; STEWART, R. D. Effects of nutrition on the ovulation rate of ewes. In: OLDHAM, C. M.; MARTIN, G. B.; PURVIS I.W. (Ed.). **Reproductive physiology of merino sheep concepts and consequences**. Perth: University of Western Australia, 1990. p. 85-101

SMITH, R. H.; McALLAN, A. B. Nucleic acid metabolism in the ruminant: 2. Formation of microbial nucleic acids in the rumen in relation to digestion of food nitrogen and the fate of dietary nucleic acids. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.24, n. 2, p. 540-556, June 1970.

SOEST, P. J. van. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Comstock, 1994. 476p.

SONDERMAN, J. P., LARSON, L. L. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaigne, v. 72, n. 8, p. 2179-2183, Aug. 1989.

SOUZA, W. H.; LÔBO, R. N. B.; MORAIS, O. R. Ovinos Santa Inês: Estado de Arte e Perspectivas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2., 2003, Paraíba. **Anais...** Paraíba: Emepa, 2003. p. 501-522.

SPICER, L. J.; HAMILTON, T. D.; KEEFER, B. E. Insulin-like growth factor I enhancement of steroidogenesis by bovine granulosa cells and thecal cells: dependence on de novo cholesterol synthesis. **Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 151, n. 3, p.365-373, Dec. 1996.

STAPLES, C. R.; GARCIA-BOJALIL, C.; OLDICK, B. S.; THATCHER, W. W. Protein intake and reproductive performance of dairy cows: a review, a suggested mechanism, and blood and milk urea measurements. In: FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 4., 1993, Gainesville. **Proceeding...** Gainesville: University of Florida, 1993. p. 37-52.

STATISTICAL ANALYSES SYSTEM INSTITUTE. SAS/STAT user's guide: statistics. 4. ed. Cary, 1997. v. 2, 943p.

SUSMEL, P.; STEFANON, B.; PLAZZOTA, E.; SPANGHERO, M.; MILLS, C. R. The effect of energy and protein intake on excretion of purine derivatives. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 123, n. 2, p. 257-265, Oct. 1994.

SWANSON, K. C.; CATON, J. S.; REDMER, D. A.; BURKE, V. I.; REYNOLDS, L. P. Influence of undegraded intake protein on intake, digestion, serum hormones and metabolites, and nitrogen balance in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 35, n. 3, p. 225-233, Mar. 2000.

TEBOT, I.; BRITOS, A.; GODEAU, J. M.; CIRIO, A. Microbial protein production determined by urinary allantoin and renal urea sparing in normal and low protein fed corriedale sheep. **Veterinary Research**, Sapporo, v. 33, n. 1, p. 101-106, Jan./Feb. 2002.

TEIXEIRA, J. C. Degradabilidade ruminal e síntese de proteína. In: GARCIA, A.; BATISTA, A. M. V.; SIQUEIRA, E. R.; ORTOLANI, E. L.; SUSIN, I.; SILVA, J. F. C. da; TEIXEIRA, J. C.; BORBA, M. F. S. **Nutrição de ovinos**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 258p.

TEIXEIRA, J. C. **Nutrição de Ruminantes**. Lavras, MG: FAEPE, 1997 239p.

TELFER, E. E. In vitro models for oocyte development. **Theriogenology**, Stoneham, v. 49, n. 2, p. 451-460, Jan. 1998.

TEXAS UNIVERSITY. **Small Ruminant Nutrition System**: version 1.8.4. College Station, 2008. Software.

VAGNONI, D. B.; BRODERICK, G. A.; CLAYTON, M. K.; HATFIELD, R. D. Excretion of purine derivatives by holstein cows abomasally infused with incremental amounts of purines. **Journal of Dairy Science**, Champaigne, v. 80, n. 8, p. 1695-1702, Aug. 1997.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S.; AZEVÊDO, J. A. G.;
VALADARES, R. F. D. Estimativa da produção de proteína microbiana
utilizando a excreção de derivados de purinas na urina. In: SIMPÓSIO
INTERNACIONAL AVANÇOS EM TÉCNICAS DE PESQUISA EM
NUTRIÇÃO DE RUMINANTES, 2007, Pirassununga. **Anais...** Pirassununga:
USP - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007. p. 90-120.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R.;
CAPELLE, R. E. **Tabela brasileira de composição de alimentos para
bovinos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006. 329p.

VALADARES FILHO, S. C.; PINA, D. S. Fermentação Ruminal. In:
BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de
ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

VALADARES, R. F. D.; GONÇALVES, L. C.; RODRIGUES, N. M.;
VALADARES FILHO, S. C.; SILVA, J. F. C. da. Níveis de proteína em dietas
de bovinos: consumo, digestibilidades e balanço de compostos nitrogenados.
Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, MG, v. 26, n. 6, p. 1259-1263, nov.
1997.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A.
Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral
em vacas da raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e
Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 15, n. 3, p. 251-256, jun. 1999.

VIÑOLES, C. **Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate
in the ewe**. 2003. 56p. Thesis (Doctoral in Agricultural Sciences) – Swedish
University of Agricultural Sciences, Uppsala.

VIÑOLES, C.; MEIKLE, A.; MARTIN, G.B. Short-term nutritional treatments
grazing legumes or feeding concentrates increase prolificacy in Corriedale Ewes,
Animal Reproduction Science, Amsterdam, v. 113, n. 1-4, p. 82-92, July 2008.

WISEK W. J. Ammonia: its effects on biological systems, metabolic hormones
and reproduction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 67, n. 2, p. 481-
498, Feb. 1984.

ZHU L. H.; ARMENTANO L. E.; BREMMER D. R.; GRUMMER, R. R.; BERTICS, S. J. Plasma concentration of urea, ammonia, glutamine around calving, and the relation of hepatic triglyceride, to plasma ammonia removal and blood acid-base balance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 83, n. 4, p. 734-740, Apr. 2000.

ANEXOS

ANEXO A

TABELA 1A	Resumo da análise de variância aplicada às variáveis ganho de peso, de peso médio diário e de ECC, PV e ECC, no período anterior à ovulação.	89
TABELA 2A	Resumo da análise de variância aplicada às variáveis concentração plasmática de N-ureico (mg/dL), número de ovulações (número) e diâmetro do folículo ovulatório (mm), durante o período anterior à ovulação.....	90
TABELA 3A	Resumo da análise de variância aplicada à variável concentração plasmática de N-ureico (mg/dL) ao longo do tempo, durante o período anterior à ovulação.....	91
TABELA 4A	Resumo da análise de variância aplicada às variáveis ganho de peso e de ECC durante todo o período experimental, PV e ECC final.	92
TABELA 5A	Resumo da análise de variância aplicada à variável DPC índice no 21º dia após a ovulação.....	93
TABELA 6A	Resumo da análise de variância aplicada à variável prolificidade.....	93
TABELA 7A	Resumo da análise de variância aplicada à variável concentração plasmática de N-ureico (mg/dL) ao longo do tempo, durante os 28 dias após a ovulação.....	93

TABELA 1A Resumo da análise de variância aplicada às variáveis ganho de peso, de peso médio diário e de ECC, PV e ECC, no período anterior à ovulação.

Ganho de peso (kg)					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	1	0,39800052	0,39800052	0,05	0,8167
Bloco	2	7,79233683	3,89616841	0,53	0,5908
Resíduo	40	292,2955590	7,3073890		
Total	43	300,6178977			
Coeficiente de variação = 89,06					
Ganho de peso médio diário (g/dia)					
Tratamento	1	0,00054931	0,00054931	0,05	0,8160
Bloco	2	0,01048639	0,00524319	0,52	0,5963
Resíduo	40	0,40041519	0,01001038		
Total	43	0,41163064			
Coeficiente de variação = 89,01					
Ganho de ECC					
Tratamento	1	0,04315684	0,04315684	0,67	0,4177
Bloco	2	0,56830565	0,28415283	4,42	0,0185
Resíduo	40	2,57440268	0,06436007		
Total	43	3,19744318			
Coeficiente de variação = 343,46					
PV (kg)					
Tratamento	1	13,2031504	13,2031504	0,32	0,5756
Bloco	2	778,5780938	389,2890469	9,39	0,0005
Resíduo	40	1657,715469	41,442887		
Total	43	2455,772443			
Coeficiente de variação = 11,95					
ECC					
Tratamento	1	0,04589629	0,04589629	0,88	0,3539
Bloco	2	1,11129808	0,55564904	10,65	0,0002
Resíduo	40	2,08713942	0,05217849		
Total	43	3,23295455			
Coeficiente de variação = 8,14					

TABELA 2A Resumo da análise de variância aplicada às variáveis concentração plasmática de N-ureico (mg/dL), número de ovulações (número) e diâmetro do folículo ovulatório (mm), durante o período anterior à ovulação.

Concentração de N-ureico (mg/dL)					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	1	11,40448206	11,40448206	1,29	0,2620
Bloco	2	39,06198170	19,53099085	2,22	0,1221
Resíduo	40	352,3747941	8,8093699		
Total	43	402,6442432			
Coeficiente de variação = 17,67					
Número de ovulações					
Tratamento	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	1	0,00029970	0,00029970	0,00	0,9829
Bloco	2	0,53601399	0,26800699	0,42	0,6619
Resíduo	40	25,71398601	0,64284965		
Total	43	26,25000000			
Coeficiente de variação = 35,63					
Diâmetro do folículo ovulatório					
Tratamento	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	1	0,14286547	0,14286547	0,20	0,6560
Bloco	2	1,12288928	0,56144464	0,79	0,4601
Resíduo	40	28,37294406	0,70932360		
Total	43	29,64431818			
Coeficiente de variação = 12,64					

TABELA 3A Resumo da análise de variância aplicada à variável concentração plasmática de N-ureico (mg/dL) ao longo do tempo, durante o período anterior à ovulação.

Concentração de N-ureico (mg/dL)					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	1	60,0482506	60,0482506	0,12	0,7474
Bloco	2	151,8246868	75,9123434	0,16	0,8609
Trat*bloco	2	55,515479	27,757740	1,32	0,2687
Dia	3	1099,446174	366,482058	17,49	<,0001
Trat*dia	3	1445,419987	481,806662	23,00	<,0001
Resíduo	164	3436,170752	20,952261		
Total	175	6107,800149			
Coeficiente de variação = 27,07					

TABELA 4A Resumo da análise de variância aplicada às variáveis ganho de peso e de ECC durante todo o período experimental, PV e ECC final.

Ganho de peso durante todo o período experimental (kg)					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	3	34,25783445	11,41927815	0,79	0,5050
Bloco	2	17,13063424	8,56531712	0,60	0,5564
Resíduo	37	532,0384870	14,3794186		
Total	42	577,3561628			
Coeficiente de variação = 70,60					
Ganho de ECC durante todo o período experimental					
Tratamento	3	1,47683011	0,49227670	6,82	0,0009
Bloco	2	0,62684364	0,31342182	4,34	0,0202
Resíduo	37	2,67078893	0,07218348		
Total	42	5,06686047			
Coeficiente de variação = 154,04					
PV final (kg)					
Tratamento	3	91,0675672	30,3558557	0,61	0,6133
Bloco	2	773,0284590	386,5142295	7,76	0,0015
Resíduo	37	1843,780480	49,831905		
Total	42	2659,752791			
Coeficiente de variação = 12,58					
ECC final					
Tratamento	3	1,41709797	0,47236599	6,52	0,0012
Bloco	2	1,26309364	0,63154682	8,71	0,0008
Resíduo	37	2,68141393	0,07247065		
Total	42	5,25290698			
Coeficiente de variação = 9,26					

TABELA 5A Resumo da análise de variância aplicada à variável DPC índice no 21º dia após a ovulação.

DPC índice					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	3	25,96083510	8,65361170	8,05	0,0003
Bloco	2	2,33500299	1,16750149	1,09	0,3487
Resíduo	35	37,62527974	1,07500799		
Total	40	66,81051220			

Coeficiente de variação = 23,00

TABELA 6A Resumo da análise de variância aplicada à variável prolificidade.

Prolificidade					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	3	1,15446178	0,38482059	0,58	0,6349
Bloco	2	0,12116452	0,06058226	0,09	0,9134
Resíduo	28	18,67129580	0,66683199		
Total	33	20,00000000			

Coeficiente de variação = 40,83

TABELA 7A Resumo da análise de variância aplicada à variável concentração plasmática de N-ureico (mg/dL) ao longo do tempo, durante os 28 dias após a ovulação.

Concentração de N-ureico (mg/dL)					
Fontes de variação	GL	Soma de quadrado	Quadrado médio	F	Probabilidade
Tratamento	2	88,168234	44,084117	2,13	0,1998
Bloco	3	1530,110335	510,036778	24,66	0,0009
Trat*bloco	6	124,092453	20,682076	1,25	0,2850
Dia	3	215,342357	71,780786	4,33	0,0059
Trat*dia	9	259,821705	28,869078	1,74	0,0842
Resíduo	148	2451,952942	16,567250		
Total	171	4665,859011			

Coeficiente de variação = 23,62