BRENO DALLA MAESTRI

FERTILIDADE, PERFIL METABÓLICO E ASPECTOS CLIMÁTICOS E NUTRICIONAIS DE NOVILHAS E VACAS EM LACTAÇÃO TRATADAS COM ACETATO DE BUSERELINA

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2001

BRENO DALLA MAESTRI

FERTILIDADE, PERFIL METABÓLICO E ASPECTOS CLIMÁTICOS E NUTRICIONAIS DE NOVILHAS E VACAS EM LACTAÇÃO TRATADAS COM ACETATO DE BUSERELINA

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

APROVADA: 19 de fevereiro de 2001.

Prof. Melba Maria Furtado Gastal
(Conselheira)

Prof. Eduardo Paulino da Costa
(Conselheiro)

Prof. Giovanni Ribeiro de Carvalho

Prof. Carlos Antônio de Carvalho Fernandes

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres
(Orientador)

“E assim ele falou, que qualquer homem que produza duas espigas de milho ou duas folhas de capim onde apenas uma antes crescia, merece melhor juízo da humanidade e presta maiores serviços ao seu país, que toda a raça de políticos juntos”.

JONATHAN SWIFT
The voyage to brobdingang,
nas viagens de Gulliver

A Deus, pela vida e pelos sonhos.

Aos meus pais Alvino e Angela, com muito amor e gratidão.

Aos meus irmãos João, Paulo, Dani e Alexandre, pelo amor e pela amizade.

Às minhas cunhadas Solange, Penha e Cinthia, por adicionarem felicidade.

Aos meus sobrinhos Felipe, Alvino, Régis, Maíra, Victor, Lívia,
Paulinho, Mariana e Henrique, por serem fonte de amor infinita.

À Lú, razão dos meus sonhos, que pelo nosso amor até o
momento tudo superou e muito me ensinou.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, em especial aos professores e funcionários do Departamento de Zootecnia.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Sr. Elesbão e Dona Rosa, pelo amor com que me recebem.

Ao Tio Batista, Tia Carminha, João Henrique e Xanda, pelo apoio jamais esquecido.

Ao Sr. Florentino, Dona Luci, Marcos, Marina, André, Cintia, Nando e Chris, pela sincera amizade construída e cessão de local e animais para a realização do experimento.

Ao Antônio, por toda a paciência e companheirismo no auxílio das atividades do experimento, sem o qual não seria possível a execução. Ao José Almir, Geraldo, Carlinhos, Wilson e todos os demais funcionários da Agropecuária Paraíso (Leite Fiore).

Ao Anão, Gilberto, Rodrigo, Roger e Toninho, que, mesmo distantes, cultivam nossa amizade.

Aos amigos Sr. Anselmo e Dona Penha, Bráulio, Fernando, Haroldo e Hildo Favaratto e família pela amizade crescente e pelos ensinamentos.

Aos amigos de república: Batata, Gordinho e Gustavo, pela alegre convivência e compreensão.

Aos amigos Anselmo, Antônia, Carlos, Chico, Claudinho, Cristina, Fabiano, Fabienne, Flávia, Flor, Hugo, Luís, Luís Carlos, Mothé, Paulo,

Samuca, Vitinho, Wilson e a todos os contemporâneos, pelo alegre convívio e pelas valiosas sugestões.

Ao Prof. Ciro Alexandre Alves Torres, pela orientação, sinceridade, pelos ensinamentos, pela seriedade, paciência e amizade proporcionada, minha gratidão.

Ao Prof. Carlos Antônio de Carvalho Fernandes (Carlão), pela amizade, pelos ensinamentos, pelo apoio e pela referência.

Aos professores Eduardo Paulino da Costa, Giovanni Carvalho Ribeiro, José Domingos Guimarães, Rita Flávia Miranda de Oliveira e Robledo de Almeida Torres, pelas críticas e valiosas sugestões.

Ao Dr. Ruas, pela paciência e pelos ensinamentos.

Ao Álan, pelo grande auxílio nas análises laboratoriais.

À Indústria Farmacêutica Hoechst, na pessoa do Médico Veterinário Luis Henrique Celani, pela doação do produto Conceptal®.

À Célia, pelo grande auxílio na execução das análises estatísticas.

A Deus, por tudo.

BIOGRAFIA

BRENO DALLA MAESTRI, filho de Alvino Maestri e Maria Angela Dalla Maestri, nasceu em Colatina - ES, em 20 de julho de 1972.

Em fevereiro de 1991, iniciou o curso de Medicina Veterinária da Universidade de Alfenas - MG, graduando-se em janeiro de 1996.

De janeiro a setembro de 1996, foi contratado como Médico Veterinário residente da ASSOCIL Agropecuária em Platina - SP, trabalhando com coleta e transferência de embriões em bovinos.

No período de outubro de 1996 a fevereiro de 1998, trabalhou com assistência técnica particular em bovinocultura de leite no Estado do Espírito Santo, como instrutor do Serviço Nacional de Aprendizagem Rural e como Médico Veterinário contratado da Cooperativa Agropecuária Mista de Castelo - ES.

Em janeiro de 1998, concluiu o curso de Pós-graduação “Lato-Sensu” Especialização Por Tutoria à Distância em Produção de Ruminantes na Universidade Federal de Lavras - MG.

Em março de 1998, iniciou o Programa de Mestrado em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa - MG, na área de Fisiologia da Reprodução.

Em fevereiro de 2000, foi contratado como professor da disciplina de Reprodução Animal e Inseminação Artificial e Fisiopatologia da Reprodução e Inseminação Artificial da UVV (Cetro Universitário Vila Velha), Vila Velha - ES.

Em 19 de fevereiro de 2001, submeteu-se à defesa de tese.

SUMÁRIO

Página

RESUMO..... ix

ABSTRACT..... xi

1. INTRODUÇÃO..... 1

2. REVISÃO DE LITERATURA..... 4

2.1. Uso de análogos de GnRH, corpo lúteo acessório, concentrações plasmáticas de progesterona e fatores endócrinos influenciando a taxa de gestação..... 4

2.2. Níveis séricos de colesterol total e taxa de gestação..... 8

2.3. Níveis plasmáticos de uréia e taxa de gestação..... 10

2.4. Influência do ECC sobre a taxa de gestação..... 12

2.5. Influência do estresse sobre a taxa de gestação..... 13

3. MATERIAL E MÉTODOS..... 20

3.1. Animais e manejo geral..... 20

3.2. Protocolo experimental..... 23

3.3. Análises estatísticas..... 25

3.3.1. Análise de regressão logística..... 27

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 29

4.1. Taxa de gestação..... 29

4.2. Colesterol total e progesterona 31
4.3. Uréia..... 35
4.4. Escore corporal..... 38
4.5. Dias pós-parto..... 39
4.6. Correlações entre as características de escore de condição corporal, grau de sangue e número de estros..... 41
4.6.1. Correlações entre as características de escore de condição corporal, grau de sangue e número de estros em novilhas..... 41
4.6.2. Correlações entre as características de escore de condição corporal, grau de sangue e número de estros em vacas..... 42
4.7. Índice THI, temperatura mínima e temperatura máxima..... 45
5. RESUMO E CONCLUSÕES..... 48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 51
7. APÊNDICE..... 61

RESUMO

MAESTRI, Breno Dalla, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2001. **Fertilidade, perfil metabólico e aspectos climáticos e nutricionais de novilhas e vacas em lactação tratadas com acetato de buserelina** Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. Conselheiros: Eduardo Paulino da Costa e Melba Maria Furtado Gastal.

O experimento foi conduzido na Agropecuária Paraíso, localizada no município de Santa Teresa, ES, para estudar o efeito do acetato de buserelina (AB), análogo de GnRH, sobre a fertilidade de novilhas e vacas lactantes. Oitenta e dois animais, 20 novilhas e 62 vacas, ½ Holandês/Zebu a Holandês puro de origem (P.O.), foram alocados em um delineamento experimental inteiramente casualizado, em quatro tratamentos, como a seguir: T1 - tratamento controle (5 novilhas e 16 vacas), aplicaram-se 2,5 mL de soro fisiológico (SF), intramuscular (i.m.), no momento da Inseminação Artificial (I.A.) (d 0); T2 - (5 novilhas e 15 vacas), aplicaram-se 10 μg de AB (i.m.) no dia da I.A. (d 0), T3 - (5 novilhas e 16 vacas), com aplicação de 10 μg de AB (i.m.) no 13º dia após a I.A. (d 0); e T4 (= T2 + T3) - (5 novilhas e 15 vacas), com aplicação de 10 μg de AB (i.m.) nos dias 0 e 13 da I.A. (d 0). As aplicações de SF e AB foram feitas após a coleta de sangue para dosagem hormonal e de metabólitos. Os animais foram alojados em “free-stall”, com observação de estro três vezes ao dia. As novilhas acima de 300 kg de peso vivo e as vacas consideradas aptas à reprodução, a partir de 45 dias no pós-parto, foram

inseminadas ao término do estro, por um único técnico, com sêmen da mesma partida de três touros de comprovada fertilidade. As novilhas foram alimentadas com capim-elefante picado, feno de gramíneas, silagem de milho, bagaço de laranja peletizado e mistura múltipla e as vacas, com ração total misturada (TMR) de composição variável de acordo com a produção. Foram dosadas as concentrações séricas de uréia, colesterol total e progesterona (P_4) plasmática e determinados o escore de condição corporal (ECC), dias no pós-parto (DPP), índice de temperatura e umidade (THI) e temperaturas mínima (TMín) e máxima (TMáx). O acetato de buserelina (AB) não afetou a taxa de gestação em novilhas e vacas apresentando valores de 100,00 e 37,52 (T1); 20,00 e 33,34 (T2); 100,00 e 31,25 (T3); e 40,00 e 40,00% (T4), respectivamente. Nas novilhas a administração do acetato de buserelina no momento da IA (T2) aumentou a concentração de colesterol e diminuiu a de P_4 em relação ao controle e, nas vacas (T2, T3 e T4) diminuiu a concentração de colesterol e de P_4. A administração de acetato de buserelina nas novilhas e nas vacas no 13º dia (T3 e T4) reduziu a concentração de uréia.

ABSTRACT

MAESTRI, Breno Dalla, M.S., Universidade Federal de Viçosa, February of 2001. **Effect of buserelin acetate on fertility, metabolic profile and nutritional and climatic aspects of heifers and lactating cows.** Adviser: Ciro Alexandre Alves Torres. Committee members: Eduardo Paulino da Costa and Melba Maria Furtado Gastal.

This study was carried out at “Agropecuária Paraíso, Santa Teresa, ES - Brazil, with the objective to evaluate the effect of the injection of buserelin acetate (BA), an analogue of GnRH, on the fertility of heifers and lactating cows. Eighty two animals, 20 heifers and 62 cows, ½ Holstein/Zebu crossbred to Holstein P.O., were distributed in a completely random design experiment, with four treatments, as follows: T1 - control treatment (5 heifers and 16 cows), received 2.5 mL of physiological solution (SF), intramuscularly (i.m.), at the artificial insemination time (A.I.; d 0); T2 - (5 heifers and 15 cows), received 10 μg of BA (i.m.) at the artificial insemination time (d 0), T3 - (5 heifers and 16 cows), received 10 μg of BA (i.m.) 13 days after A.I. (d 0) and, T4 – (=T2 + T3) (5 heifers and 15 cows), received 10 μg of AB (i.m.) on days 0 and 13 da AI. The injection of SF and BA were performed after blood collection. The animals were housed in free-stall with visual heat detection three times a day, each for 15 minutes. Heifers with body weight greater than 300 kg and cows considered able for reproduction, 45 days postpartum, were

inseminated at the end of estrus by just one technician, with a semen pool from three differents sires, of proved fertility. Heifers were fed with grounded *Pennisetum* sp., hay grass, corn silage, orange peel and multiples mixtures and cows with total ration mixture (TMR) with variable quality according to the production. The serum urea concentration, total cholesterol and the plasma progesterone level (P4), and estimated the body condition score (ECC), days open (DPP), index of temperature and humidity (THI), minimum temperature (TMin) e maximum (TMax). The buserelin acetate (AB) did not affected the pregnancy rate of heifers or cows showing values of 100.00 and 37.52 (T1); 20.00 and 33.34 (T2); 100.00 and 31.25 (T3); and 40.00 and 40.00% (T4), respectively. In the heifers the injection of buserelin acetate at the IA time (T2) increased the cholesterol and decreased the P4 concentration when compared to the control heifers, and decreased the cholesterol and P4 concentration in the cows from T2, T3 and T4. The injection of buserelin to heifers and cows on the 13^{th} (T3 and T4) reduced the urea concentration.

1. INTRODUÇÃO

Falhas no manejo nutricional podem ser consideradas as maiores causas de problemas da bovinocultura brasileira, devido às grandes perdas econômicas que acarretam. Dessa forma, a nutrição torna-se peça chave na cadeia produtiva, na qual, adotando-se correto manejo nutricional, tem-se acentuada redução nos problemas sanitários e reprodutivos. Uma das formas do monitoramento da nutrição do rebanho consiste na avaliação do escore de condição corporal (ECC), por intermédio da pontuação da condição muscular e de gordura do animal.

Estudos em manejo de gado leiteiro têm demonstrado que intervalos de partos de 12-13 meses são essenciais para a manutenção do lucro na atividade. Dificuldades na comercialização e fatores do meio, que interferem na produção de leite, levam alguns produtores a tomarem decisões de estacionalização das coberturas em curtos intervalos, aumentando a importância da alta fertilidade. Dessa forma, justifica-se a adoção de técnicas de custo benefício satisfatório que venham a incrementar as taxas de gestação, como a hormonioterapia com análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH).

O GnRH produzido pelo núcleo hipotalâmico modula a secreção de hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH) pelas células secretoras da adeno-hipófise em bovinos. O surgimento da onda de LH endógeno durante o estro é necessário para a ovulação e transformação das

células da granulosa e da teca em células luteais para secreção de progesterona (P_4) e manutenção de provável gestação.

Em vacas com atividade ovariana cíclica, a luteólise é provocada pela ação da prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), liberada pelo útero em resposta à ligação da ocitocina, produzida pelo corpo lúteo (CL), a receptores no endométrio. Durante o início da gestação, o concepto envia uma mensagem à mãe para prevenir a luteólise, mantendo assim a secreção de P_4, essencial para a continuidade de seu desenvolvimento. Para atingir isto, o concepto produz uma proteína antiluteolítica, interferon trofoblástico, que inibe o desenvolvimento dos receptores endometriais para ocitocina necessários à luteólise (FLINT et al., 1992).

Por outro lado, a dosagem de colesterol total assume importância na determinação da fertilidade, pois este está correlacionado negativamente com os níveis de P_4, no metaestro e início do diestro em novilhas de leite (TALAVERA et al., 1985). Os mesmos autores encontraram aumento na taxa de colesterol total e P_4, no meio e final da fase luteínica do ciclo estral, quando novilhas foram alimentadas com dieta hiperlipidêmica.

Em rebanhos de alta produção, alimentados com dieta de alta densidade, geralmente há um excesso no fornecimento de proteína degradável no rúmen (PDR). ELROD e BUTLER (1993) indicam aumento do pH e alteração do ambiente uterino oriundo dessa prática de manejo. Esses autores encontraram taxas de concepção de 82 e 61% para novilhas que foram alimentadas com dieta total que supriram e excederam as exigências de PDR, respectivamente.

Além dos efeitos dos níveis circulantes de uréia e colesterol sobre a fertilidade, grande número de pesquisas tem sido realizado sobre o perfil hormonal e sua correlação com a taxa de gestação. Neste contexto, a P_4 é um dos hormônios mais estudados na tentativa de determinar a melhor concentração plasmática nas diversas fases do ciclo estral e na taxa de gestação, fato ainda não muito claro. Segundo SREENAN e DISKIN (1987), não é possível determinar concentrações de P_4 circulante em dias específicos que sejam essenciais para a manutenção da gestação. Como ocorrem flutuações diárias, a mensuração das concentrações sangüíneas em um dia específico não é justificável (NIEMANN et al., 1985).

No pós-parto de matrizes leiteiras, determina-se o puerpério, que compreende as fases de involução uterina e restabelecimento do ambiente normal deste órgão. Concomitante ao puerpério, aumentando-se os dias no pós-parto, constata-se aumento na produção de leite e no balanço energético negativo, que contribui significativamente para redução no ECC e nas taxas de gestação.

Temperatura e umidade relativa do ar elevadas, associadas ao aumento na produção de calor endógeno, pela maior produção de leite, também contribuem para redução nas taxas de gestação, por retirarem as matrizes leiteiras da zona de conforto térmico.

Dessa forma, os objetivos do presente trabalho foram verificar o efeito da administração de acetato de buserelina (AB), sobre os níveis sanguíneos de P_4, colesterol total e uréia e taxa de gestação em novilhas e vacas; e o efeito de ECC, GS e algumas características reprodutivas em novilhas e vacas não gestantes e gestantes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Uso de análogos de GnRH, corpo lúteo acessório, concentrações plasmáticas de progesterona e fatores endócrinos influenciando a taxa de gestação

Relatos sobre a taxa de gestação em bovinos após o tratamento com GnRH e seus análogos, em vários momentos do ciclo estral, são inconsistentes e o seu uso pode não ser recomendado, devido ao alto custo e à baixa eficácia (MIJTEN et al., 1993), entretanto, existem afirmações de aumento da taxa de gestação com aplicação no momento da inseminação artificial (IA) (VAMERZANI et al., 1996) e no meio do ciclo após a IA (DREW e PETERS, 1991). Em contraste, em outros trabalhos não foi encontrado aumento na taxa de concepção com aplicação no dia da IA (DREW e PETERS, 1994).

RYAN et al. (1991) relataram aumento na taxa de concepção em vacas de alta produção e com menos de 60 dias no pós-parto tratadas com GnRH no momento da IA, não havendo melhores resultados, quando repetida a aplicação no 12º dia do ciclo (estro d 0).

MacMILLAN et al. (1986) relataram que o tratamento com buserelina em vacas com falha na concepção reduziu o número de retorno ao estro, fato confirmado por HARVEY et al. (1994), em que 50% das vacas com esta falha apresentaram ciclos longos de 31-43 dias, sugerindo que a buserelina estaria atrasando a regressão luteal em alguns animais e aumentando a vida média dos embriões.

STEVENSON et al. (1993), administrando buserelina (8 μg) no 11º ou 14º dia após a IA em vacas, encontraram aumento nos níveis séricos de LH, FSH e P_4, mas não de estrógeno (E_2), 6-12h após a aplicação. Os autores verificaram, ainda, maiores concentrações de P_4 por três dias em animais não-gestantes e por 12 dias em gestantes. Constatou-se também diminuição, por 10 dias após o tratamento, do número de folículos ovarianos, principalmente os de diâmetro antral de 10 mm e emergência mais tardia do folículo dominante da última onda de crescimento folicular.

Vacas que receberam tratamento com 10-12 μg de buserelina do 11º ao 14º dia do ciclo estral apresentaram aumento na taxa de gestação de 9,4 a 20% (DREW e PETERS, 1991; LAJILI et al., 1991; SHELDON e DOBSON, 1993; DREW e PETERS, 1994; SARATSIS et al., 1998). RYAN et al. (1991) e DREW e PETERS (1994) não obtiveram bons resultados com aplicações do mesmo produto entre o 7º e 10º dia do ciclo após a IA.

MANN e LAMMING (1995) não encontraram diferença na duração do ciclo estral, concentração e perfil de secreção de P_4 em vacas submetidas a tratamento com 10 μg de buserelina no 11º e 13º dia do ciclo estral, entretanto encontraram redução de 30% na concentração de E_2 do 13º ao 15º dia do ciclo estral, durante o qual há o desenvolvimento do mecanismo luteolítico na vaca, com sugestão de redução de sua importância e aumento das chances do embrião em inibir a luteólise e manter a gestação.

O uso de análogos de GnRH resulta em alterações na secreção de gonadotropinas, que, conseqüentemente, podem alterar a secreção dos hormônios esteróides (P_4 e E_2), importantes no controle dos mecanismos luteolíticos (SILVIA e TAYLOR, 1989). BEARD e LAMMING (1994) demonstraram que, em ovelhas, o estradiol estimulou o desenvolvimento de receptores para ocitocina, evento chave no desenvolvimento do mecanismo luteolítico. SILVIA e TAYLOR (1989) demonstraram que, em vacas, a quantidade de $PGF_{2\alpha}$ liberada após o tratamento com ocitocina exógena, em fase luteal tardia, foi diretamente correlacionada com a concentração de E_2.

O aumento da concentração plasmática de P_4, do 6º ao 13º dia do ciclo, diferiu entre os tratamentos feitos no dia cinco do estro (d 0) entre os grupos: controle (salina), buserelina (8 μg) e hCG (gonadotrofina coriônica

humana), sendo que o decréscimo de P_4 do dia 14 a 17 não diferiu entre os grupos (SCHMITT et al., 1996), fato não confirmado por TWAGIRAMUNGU et al. (1995), seis dias após o tratamento com buserelina.

Injeções de buserelina resultaram na liberação de LH comparável a onda pré-ovulatória (BOSTEDT, 1995), reduzindo as taxas de ovocitações retardadas e promovendo melhor sincronia entre a presença de espermatozóides e ovócitos no local da fertilização ou induzindo atresia dos folículos pré-ovulatórios das ondas de crescimento folicular. O tratamento com 20 μg de buserelina induziu à maior liberação de LH que doses de 4, 8, 40 ou 80 μg (GOEHRING, 1998).

BOSTEDT et al. (1995), administrando buserelina 30 minutos antes da IA encontraram 16,5 e 18,8% de ovocitação retardada no grupo tratado e controle, respectivamente, 70,6 e 61,5% de taxa de gestação e nas vacas com ovulação retardada, 64,3 e 45,4% de taxa de gestação, também no grupo tratado e controle.

Taxas de gestação de 62 e 40% foram obtidas por LAJILI et al. (1991) após tratamento com 10 μg de GnRH em vacas tratadas ou não com $PGF_{2\propto}$, respectivamente.

A resposta ao tratamento com GnRH não tem sido influenciada por fatores como patologias reprodutivas prévias, número de partos e produção de leite (LAJILI et al., 1991). Esses mesmos autores relataram que, no grupo de vacas não-gestantes, houve maior taxa de retorno ao estro 20-25 dias após a IA (91 e 74%) e maior fertilidade em IA posteriores (59 e 44%), em animais tratados e controle, respectivamente, achados confirmados por DREW e PETERS (1994), com 59,4 e 52,9% de taxa de gestação em animais tratados ou não.

DREW e PETERS (1994) encontraram média de 91,4 e 85,3 dias de intervalo do parto à concepção e incidência de vacas inférteis de 10,2 e 5,2% para o grupo de animais controle e tratados, respectivamente. Intervalos anormais de estros de 11 a 17 dias em 7 e 2% de vacas dos grupos controle e tratado foram observados por SHELDON e DOBSON (1993).

Têm sido utilizadas, no Brasil e no exterior, com relativa freqüência, injeções de uma única dose de GnRH ou hCG no dia da IA com o intuito de

aumentar a fertilidade e diminuir o retorno ao estro de vacas após o serviço. Tenta-se, com isto, induzir a ovocitação e luteinização em momento apropriado, em relação à IA, porém as evidências da eficácia deste procedimento são controvertidas. Entretanto, compilando dados de literatura, STEVENSON et al. (1993) encontraram, em média, aumento de 6% na taxa de gestação ao primeiro serviço de vacas tratadas com GnRH na IA e 7% de aumento em vacas tratadas como repetidoras de serviços.

O possível efeito luteotrófico do GnRH, quando administrado a vacas, foi demonstrado por MacMILLAN e THATCHER (1988) entre os dias 11 e 13 após a IA (d 0). Quando a aplicação foi feita entre os dias 11 e 13, houve aumento de 11,5% na taxa de gestação ao primeiro serviço, em comparação a vacas controle. Os autores detectaram, também, maior taxa de gestação para a segunda IA (15,6%). A prevenção da luteólise foi considerada o principal efeito do tratamento, com a manutenção de altas concentrações de P_4 plasmática durante o período do reconhecimento materno da gestação. Entretanto, a explicação da ação deste tratamento ainda é inconsistente, podendo variar desde a formação de CL acessório (MacMILLAN e THATCHER, 1988) à atrofia folicular induzida pelo LH afetando a luteólise (MANN e LAMMING, 1995). MacMILLAN e THATCHER (1988), entretanto, não encontraram um segundo CL em vacas estudadas, discordando dos 31,25% encontrados por HARVEY et al. (1994), em que houve 100% de gestação ao final do experimento.

As concentrações plasmáticas de P_4 elevaram-se entre o 3º e o 7º dia do ciclo estral (estro dia 0), atingindo valores máximos no 10º dia, quando permaneciam elevados até o dia 17 (VACA et al., 1983). Por ocasião da luteólise, em animais que não conceberam, as concentrações desse hormônio retornaram aos valores observados durante os primeiros quatro dias do ciclo. As concentrações de P_4 durante o ciclo estral podem apresentar valores abaixo de 1 ng/mL nos dias próximos ao estro e valores entre 3,6 e 7,6 ng/mL registrados dos dias 7 a 15 do ciclo estral (ADEYEMO e HEATH, 1980; JIMÉNEZ et al., 1988). Todavia, extremos variando de 2,3 (AGARWAL et al., 1977) a 16,0 ng/mL (BADINGA et al., 1994) têm sido relatados na literatura. Esta curva na secreção de P_4 caracteriza as quatro diferentes fases do ciclo estral de fêmeas bovinas, havendo o crescimento folicular, ovocitação,

formação do CL com produção crescente de P_4 e, caso não se estabeleça a gestação, luteólise e queda nos níveis séricos de P_4.

Doadoras de embriões apresentaram correlação positiva entre o número de CL e as concentrações plasmáticas de P_4 após a superovulação (GOTO et al., 1988). Dessa forma, a concentração de P_4 pode variar de 2,1 ng/mL, quando um CL está presente, a 56,7 ng/mL, para um número de CL superior a 20 (MORRIS et al., 1988).

As perdas reprodutivas são a maior causa de prejuízos na produção em bovinos e a mortalidade embrionária tem importante contribuição para estas perdas. Encontram-se, em revisão de literatura, estudos com vacas e novilhas sobre as taxas médias de concepção, que variam entre 88 e 90% (DISKIN e SREENAN, 1986), porém 28% dos embriões podem morrer até 25 dias após o serviço (LAMMING et al., 1989).

2.2. Níveis séricos de colesterol total e progesterona

A gordura absorvida da dieta, os lipídeos sintetizados pelo fígado e os armazenados no tecido adiposo devem ser transportados aos órgãos e tecidos para serem utilizados. Porém, devido a sua insolubilidade em água, é necessário sua associação com outros compostos para o seu transporte no plasma sangüíneo (BAUCHART, 1993), resultando na formação das lipoproteínas solúveis, sendo que a HDL (lipoproteína de alta densidade), a LDL (lipoproteína de baixa densidade) e o colesterol sintetizado “de novo” são as principais fontes de colesterol para a esteroidogênese ovariana em bovinos (GRUMMER e CARROL, 1988).

A concentração de colesterol total sérico durante o ciclo estral de novilhas apresenta um padrão cíclico (TALAVERA et al., 1985), com declínio durante a fase luteínica, provavelmente resultante da sua utilização para síntese de P_4 (CHRISTIE et al., 1979). No cultivo celular na presença de lipoproteínas HDL e LDL, verificou-se aumento da produção de P_4 nas células luteais de vacas (CARROL et al., 1992).

A síntese de P_4 nos bovinos ocorre principalmente a partir do colesterol HDL, por ser esta a mais abundante no plasma e no líquido folicular (GRUMMER e CARROL, 1991). Entretanto, as concentrações plasmáticas representam parcialmente as concentrações intrafoliculares, visto que os níveis de HDL intrafoliculares são de 45% em relação ao total plasmático, provavelmente devido à seletividade da membrana basal folicular íntegra (SAVION et al., 1982).

Os níveis de colesterol total em bovinos variam de 80 a 120 mg/dL (SMITH, 1992). Todavia, variações nas concentrações podem ocorrer entre vacas (172,8 mg/dL) e novilhas (121,4 mg/dL) (AVARE et al., 1974), dias de lactação (DELAZARI, 1996), níveis de extrato etéreo da dieta (PARK et al., 1983) e raça estudada (RUAS, 1998).

A alimentação de bovinos com dietas ricas em extrato etéreo aumenta as concentrações circulantes de colesterol e P_4, além de promover o crescimento folicular (WILLIAMS, 1996). Esta condição ocorre, provavelmente, devido à maior disponibilidade de substrato para a síntese de esteróides (Hawkins, 1995, citado por DIAZ GONZÁLES, 1991) ou ao aumento da concentração sérica de insulina e IGF-I (BAO et al., 1997), os quais estimulam a proliferação das células da granulosa (SAVION et al., 1981).

Os principais fatores controladores da captação de precursores esteroidogênicos são número e afinidade de receptores celulares às moléculas de lipoproteínas (BRANTIMEIR et al., 1988). Entretanto, diversos hormônios (estradiol, prolactina, insulina, hCG, LH e FSH) aumentam a captação e absorção das lipoproteínas e esteroidogênese pelas células da granulosa e do tecido luteal (VELDHUIS et al., 1986; BUHR, 1987), provavelmente, em função do aumento do número de receptores de membrana, que podem ser controlados por alterações na quantidade de colesterol celular e por hormônios tróficos (GRUMMER e CARROL, 1988).

2.3. Níveis plasmáticos de uréia e taxa de gestação

A uréia é um metabólito da proteína dietética formada a partir da amônia (NH_4) no fígado. O nível de uréia no plasma ou soro é reflexo da quantidade e degradabilidade da proteína consumida, da ocorrência e severidade do balanço energético negativo, ou da combinação destes fatores.

O efeito prejudicial à taxa de gestação pelo excesso de proteína dietética tem sido atribuído à fração de proteína degradável no rúmen (PDR) (CANFIELD et al., 1990). JORDAN e SWANSON (1979) demonstraram que o excesso de proteína reduziu a fertilidade e alterou a composição iônica do fluído uterino durante a fase luteal, mas não na fase folicular, em vacas em lactação.

KAIM et al. (1983) verificaram que vacas alimentadas com dietas contendo 20% de proteína bruta (PB) apresentaram 16,8 mg/dL de uréia plasmática, o que resultou em taxa de gestação mais baixa que em vacas alimentadas com 15% de PB e que apresentaram 9,0 mg/dL de uréia plasmática.

ELROD e BUTLER (1993) observaram maiores níveis de uréia plasmática e redução na taxa de gestação ao primeiro serviço em novilhas alimentadas com quantidade alta (61% de gestação) e quantidade normal (82% de gestação) de PDR. Estes mesmos autores encontraram aumento da duração do ciclo estral das fêmeas do primeiro grupo, sendo suposta a morte embrionária após o período de luteólise, que vai do 15º ao 16º dia do ciclo estral, e não à falha na fertilização, por efeitos diretos do excesso de PDR sobre o ambiente uterino.

ELROD e BUTLER (1993) afirmaram que a menor taxa de gestação está correlacionada com o maior nível de uréia plasmática, quando compararam novilhas gestantes e não-gestantes, em que as primeiras apresentaram nível de uréia plasmática de 12,35 mg/dL e as não-gestantes, níveis de 14,32 mg/dL, corroborando os achados de CANFIELD et al. (1990), que observaram valores de 15,7 e 18,6 mg/dL em vacas gestantes e não-gestantes respectivamente. Porém, CARROL et al. (1988) verificaram valores de 24 mg/dL de uréia plasmática em vacas em lactação alimentadas

com dietas com alta concentração protéica, não resultando em declínio da fertilidade.

O correto uso de proteína total no balanceamento de dietas de vacas em lactação ainda precisa ser melhor estudado com vistas à reprodução. Grande número de trabalhos indica que o desempenho animal (crescimento, ganho de peso, produção de leite e reprodução) e o custo podem ser otimizados pela correta formulação de dietas com base nos níveis de PNDR e PDR e da proteína total. Entretanto, não é completamente conhecido o impacto dessas dietas sobre a eficiência reprodutiva. Alguns experimentos mostram respostas expressivas, quando dietas com altos níveis de PDR são alteradas para dietas com níveis mais baixos (FERGUSON et al., 1988).

CARROL et al. (1988) sugeriram que o manejo reprodutivo no pós-parto (tratamento de desordens uterinas e programas de detecção de estro), mais que a degradabilidade da proteína dietética, poderia ser fonte de variação da taxa de gestação em vários estudos.

FERGUSON et al. (1988) afirmaram que, se houver baixas taxas de gestação no rebanho e taxas circulantes de uréia plasmática excedendo 20 mg/dL, a dieta deve ser avaliada quanto aos níveis de PB, PDR e PNDR.

Quanto à influência da ingestão de proteína sobre as taxas de gestação, parece que vacas mais velhas (quatro anos ou mais) são mais sensíveis a essas dietas do que as jovens (FERGUSON e CHALUPA, 1989).

Considera-se que um nível de 12% de proteína total seja requerido para manter níveis adequados de amônia ruminal, enquanto níveis superiores a 18% têm efeito tóxico sobre a sobrevivência do embrião, em ruminantes (Gerloff, 1986, citado por DIAZ GONZÁLES, 1991).

Em determinações do pH uterino no dia do estro e 7º dia do ciclo estral, em novilhas alimentadas com quantidade alta e normal de PDR, ELROD e BUTLER (1993) encontraram pH aumentado somente no 7º dia do ciclo estral no primeiro grupo, não encontrando diferenças no dia do estro. Este resultado está de acordo com achados de JORDAN et al. (1983), que constataram aumento de pH, Mg, K e P nas fases luteal e no estro de vacas alimentadas com dietas com alta valor protéico (23%). O aumento no pH uterino pode ser resultado de uma inibição da anidrase carbônica, que é sensível a alterações da composição iônica (ROWLETT et al., 1991). Até o momento não há como

afirmar se o aumento no pH uterino é devido ao excesso de proteína na dieta, amônia, uréia ou algum outro fator (ELROD e BUTLER, 1993).

Adequar um perfil metabólico para avaliar a condição fisiológica é difícil, porque ocorrem variações de fatores como o nível nutricional, a produção láctea, a condição corporal, a idade, as condições climáticas, o tempo de coleta do sangue e raça, entre outros, e porque os mecanismos homeostáticos de muitos componentes sangüíneos desfavorecem seu uso como indicadores do estado nutricional (DIAZ GONZÁLES, 1991).

As análises sangüíneas, a condição corporal, o nível de alimentação e manejo reprodutivo devem ser usados para interpretar a relação entre concentração de metabólitos e fertilidade.

2.4. Influência do escore de condição corporal sobre a taxa de gestação

A nutrição tem sido citada como responsável pela maior parte dos casos de infertilidade bovina. É importante conhecer os efeitos das variações dos níveis nutricionais sobre a fisiologia reprodutiva. Na literatura, verifica-se relação positiva entre o nível nutricional e a eficiência reprodutiva. Todavia, os efeitos específicos do nível nutricional sobre a taxa de sobrevivência embrionária são pouco estudados (SREENAN e DISKIN, 1987).

Economicamente, considera-se adequado que as vacas sejam alimentadas aquém de seus requerimentos nutricionais, em que moderado grau de subnutrição não tenha efeitos deletérios sobre a produção e ainda prolongue a vida produtiva do animal. A prioridade com que o animal usa os nutrientes para as funções metabólicas envolve primeiro o metabolismo basal, o crescimento, a gestação, a lactação, a manutenção das reservas corporais e, por último, a sobrevivência embrionária (DIAZ GONZÁLES, 1991).

A maioria dos estudos tem mostrado relação positiva entre ganho de peso e fertilidade em bovinos. Vacas acasaladas ganhando peso têm maior taxa de gestação que aquelas perdendo peso. A ingestão restrita de energia após o parto tem reduzido as taxas de gestação, por provocar decréscimo na manifestação de estro de vacas perdendo peso (SPITZER et al., 1978).

2.5. Influência do estresse térmico sobre a taxa de gestação

Os mamíferos são homeotérmicos e, por isso, são capazes de manter a temperatura corporal relativamente constante, até certos limites, apesar das variações térmicas ambientais. Esta capacidade de mantê-la estável é fundamental para reações bioquímicas e processos fisiológicos associados ao metabolismo. Todavia, o “ambiente animal” é afetado por fatores climáticos que incluem temperatura, umidade, radiação e ventos. As variações climáticas que alteram a transferência de calor entre o animal e o ambiente podem levá-lo à condição de estresse, prejudicando assim a sua fertilidade (GWAZDAUSKAS, 1985).

Um dos aspectos fundamentais para o sucesso na bovinocultura de leite é a obtenção de índices reprodutivos favoráveis. A análise da influência dos fatores ambientais sobre a eficiência reprodutiva dos bovinos contribui para alcançar este objetivo. É notório o aumento da temperatura corporal de vacas em lactação submetidas a estresse calórico, influenciando, assim, os processos fisiológicos e, em maiores proporções, a fisiologia da reprodução (PIRES, 1999).

Os prejuízos do estresse calórico sobre a fisiologia reprodutiva podem ocorrer de duas formas. A primeira seria alterando os sistemas fisiológicos envolvidos na regulação da temperatura corporal, podendo levar à interrupção da função reprodutiva; em segundo lugar, esses mecanismos podem levar ao comprometimento de vários tecidos do aparelho reprodutor que seria deletério aos embriões, os quais, no período próximo à nidação, são afetados por exposição a altas temperaturas (HANSEN e EALY, 1991). Hipertermia severa pode levar a efeitos drásticos e até mesmos letais na estabilidade das proteínas e funcionalidade das membranas celulares (HANSEN e EALY, 1991).

Alterações na duração do ciclo estral e do estro e aumento na percentagem de óvulos anormais e morte embrionária são manifestações características observadas durante o verão que afetam diretamente a fertilidade dos bovinos leiteiros (ABILAY et al., 1975). O estresse calórico afeta a fertilidade de rebanhos leiteiros por meio da redução da atividade sexual da fêmea, da capacidade de concepção e da manutenção da gestação (PIRES,

1999). Menor eficiência reprodutiva em gado de leite durante períodos sazonais de estresse calórico tem sido observada (PIRES, 1997), representando um sério problema econômico para a indústria leiteira em diversas áreas do mundo.

É característica a maior susceptibilidade do aparelho reprodutor ao estresse calórico, visto que a taxa de gestação é influenciada antes da produção de leite (DUPREEZ, 1991).

O estresse térmico afeta a reprodução de vacas leiteiras, devido à dificuldade na dissipação de calor, o que eleva a temperatura corporal (PUTNEY et al., 1988) e a temperatura uterina (GWAZDAUSKAS et al., 1973).

BIGGERS et al. (1986) afirmam que a ação do estresse calórico sobre o sistema endócrino materno resulta em aumento da concentração plasmática de progesterona, que pode ser responsável pela redução do fluxo sangüíneo uterino, e, conseqüentemente, em um ambiente hostil ao embrião, por redução dos substratos nutricionais necessários ao seu desenvolvimento. Este menor aporte de nutrientes uterinos atrasa o crescimento embrionário, impossibilitando-o de sintetizar os fatores necessários à manutenção da gestação (BIGGERS et al., 1986); esta situação compromete a produção de fatores de reconhecimento da gestação e da secreção de proteínas e prostaglandinas pelo endométrio (MALAYER, 1988). Além disso, a exposição ao estresse calórico reduz a síntese da proteína do choque térmico (HSP), a qual age de diversas maneiras revertendo os efeitos prejudiciais nas funções celulares, conferindo maior resistência celular ao calor (HANSEN e EALY, 1991).

Entre o 15º e 17º dia após a concepção, o embrião sintetiza a proteína interferon (proteína trofoblástica bovina 1), que auxilia na nidação embrionária inibindo a secreção materna de $PGF_{2\alpha}$ e, conseqüentemente, a luteólise. Este processo é conhecido como reconhecimento materno da gestação. A maior incidência de morte embrionária precoce pode ser conseqüência do atraso no crescimento embrionário, sob estresse calórico no período pré e pós-concepção, que leva ao atraso na produção da proteína trofoblástica, impossibilitando o embrião de sinalizar adequadamente sua presença (Wren, 1996, citado por PIRES, 1999).

As informações disponíveis quanto ao período de maior susceptibilidade embrionária ao estresse térmico são, até o momento

inconsistentes, de três dias antes do estro até três dias após (HANSEN e ARÉCHIGA, 1994), nos primeiros sete dias de gestação de forma mais severa e de oito a 16 dias pós-serviço, levando a conceptos mais leves e à menor taxa de gestação (HANSEN e EALY, 1991) entre o 7º e o 14º dia da gestação (MONTY e RACOWSKY, 1987).

Além dos efeitos do estresse térmico sobre a reprodução citados acima, FERREIRA e CARDOSO (1993), em revisão bibliográfica, enumeraram os seguintes fatores:

- alterações na duração e intensidade do estro, modificando o momento da ovocitação, levando ao insucesso da inseminação artificial (IA), quando realizada em horários pré-determinados para condições fisiológicas;
- concentrações plasmáticas de P_4 aumentadas, que, por *feedback* negativo, reduz as concentrações de LH hipofisário, levando à falha ou atraso na ovocitação;
- após a fase inicial de estresse, queda nos níveis de P_4, a patamares incompatíveis com a manutenção da gestação; e
- circulação periférica aumentada com redução do fluxo sangüíneo na tuba e útero, afetando a fecundação ou sobrevivência ou nidação do zigoto.

O aumento do fluxo sangüíneo periférico direcionado para as porções mais externas do organismo, objetivando a dissipação do calor, leva à redução no fluxo sangüíneo do aparelho reprodutor, comprometendo a disponibilidade de nutrientes nas secreções tubáricas e uterinas e, conseqüentemente, a sobrevivência embrionária (PUTNEY et al., 1989).

Novilhas expostas a elevadas temperaturas ambientes, no período próximo a ovulação, tiveram elevada incidência de embriões anormais e com desenvolvimento retardado (PUTNEY et al., 1988).

Elevadas temperatura e umidade prejudicam a qualidade e capacidade de desenvolvimento dos ovócitos recuperados de vacas da subespécie *Bos taurus taurus*. Todavia, vacas da subespécie *Bos taurus indicus* submetidas às mesmas condições exibiram ovócitos com morfologia e capacidade de

desenvolvimento normais, independentemente da estação (ROCHA et al., 1998).

Ao contrário da maioria das células, o ovócito próximo da ovulação não produz HSP-70, em resposta a temperaturas elevadas, o que diminui sua viabilidade e capacidade de maturação (EDWARDS e HANSEN, 1996). A viabilidade e o desenvolvimento embrionário estão comprometidos, quando há estresse térmico nos dois primeiros dias após a fertilização (MONTY e RACOWSKY, 1987), diminuindo assim a taxa de gestação.

Os embriões tornam-se mais resistentes ao estresse calórico, à medida que prosseguem seu desenvolvimento (EALY et al., 1993), provavelmente por desenvolverem mecanismos biológicos fornecedores de proteção a elevadas temperaturas. A exposição prévia a um estresse calórico leve confere aos embriões bovinos mais resistência a um estresse severo, processo conhecido por termotolerância induzida (EALY et al., 1995).

A temperatura ambiente e a umidade podem ser combinadas na formação do índice de temperatura e umidade (THI), utilizado como guia para determinar o estresse calórico em gado de leite (ARMSTRONG, 1994). O THI entre 64 e 71 não indica estresse para os animais. O valor 72 caracteriza início de estresse e, a partir de 76, há queda acentuada na produção animal. Com alta umidade relativa, a temperatura que causa um THI de 72 pode ser muito baixa; valores acima de 82 indicam uma zona de perigo para os animais (Tabela 1).

Apesar de os índices climáticos registrados até 11 dias antes da cobrição estarem negativamente relacionados com a taxa de gestação, o THI nos dois dias que antecedem a IA parece ser mais importante para a fertilidade dos animais (INGRAHAM et al., 1976).

Segundo BUCKLIN et al. (1991), as vacas leiteiras respondem a situações de estresse de várias maneiras: reduzindo a ingestão de alimentos e ocorrendo conseqüente queda na produção leiteira; alterando a taxa metabólica e os requerimentos de manutenção; elevando o consumo de água; aumentando a taxa respiratória; alterando a concentração de hormônios na circulação; aumentando a temperatura corporal; reduzindo a atividade motora; e aumentando o fluxo sangüíneo periférico.

Tabela 1 - Índice de temperatura e umidade (THI)[1] para várias temperaturas e umidade relativas

Temp.		Umidade relativa (%)																			
(F)	(ºC)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	1000
		THI																			
70	21,1	64	64	64	65	65	65	66	66	66	67	67	67	68	68	68	69	69	69	70	70
71	21,7	64	65	65	65	66	66	66	67	67	67	68	68	68	69	69	70	70	70	71	71
72	22,2	65	65	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	69	70	70	70	71	71	72	72
73	22,8	65	66	66	66	67	67	68	68	68	69	69	70	70	71	71	71	72	72	73	73
74	23,3	66	66	67	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74
75	23,9	67	67	67	68	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75
76	24,4	67	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	76	76
77	25,0	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	76	76	77
78	25,6	68	68	69	69	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	75	76	76	77	77	78
79	26,1	68	69	69	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	76	76	77	77	78	78	79
80	26,7	69	69	70	70	71	72	72	73	73	74	75	75	76	76	77	78	78	79	79	80
81	27,2	69	70	70	71	72	72	73	73	74	75	75	76	77	77	78	78	79	80	80	81
82	27,8	69	70	71	71	72	73	73	74	75	75	76	77	77	78	79	79	80	81	81	82

83	28,3	70	71	71	72	73	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	80	81	82	82	83
84	28,9	70	71	72	73	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	80	81	82	83	83	84
85	29,4	71	72	72	73	74	75	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84	85
86	30,0	71	72	73	74	74	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84	85	86
87	30,6	72	73	73	74	75	76	77	77	78	79	80	81	81	82	83	84	85	85	86	87
88	31,1	72	73	74	75	76	76	77	78	79	80	81	81	82	83	84	85	86	86	87	88
89	31,7	73	74	75	75	76	77	78	79	80	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88	89
90	32,2	73	74	75	76	77	78	79	79	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88	89	90
91	32,8	74	75	76	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	86	87	88	89	90	91
92	33,3	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	85	86	87	88	89	90	91	92
93	33,9	75	76	77	78	79	80	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93
94	34,4	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94
95	35,0	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
96	35,6	76	77	78	79	80	81	82	83	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96
97	36,1	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	91	92	93	94	95	96	97
98	36,7	77	78	79	80	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	93	94	95	96	97	98

99	37,2	78	79	80	81	82	83	84	85	87	88	89	90	91	92	93	94	96	97	98	99
100	37,3	78	79	80	82	83	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	98	99	100

[1]THI= BS – (0,55 X UR)(BS-58), onde BS= temp. bulbo seco (ºF) %

Adaptado de WEST, J.W. – Managing and feeding lactating dairy cows in hot weather, citado por BORGES, 1999.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Animais e manejo geral

O experimento foi conduzido na Agropecuária Paraíso (Granja produtora de leite Tipo A), localizada no distrito de Santo Antônio do Canaã, município de Santa Teresa, Estado do Espírito Santo, no período de 24/08/1999 a 09/11/1999, sendo dividido em dois períodos (P1 = 24/08 a 02/10/1999 e P2 = 03/10 a 09/11/1999), de acordo com as estações do ano (Inverno = 21/06 a 22/09 e Primavera = 22/09 a 21/12).

A Agropecuária Paraíso localiza-se a 4 km de distância da Escola Agrotécnica Federal de Santa Teresa (EAFST), que mantém uma estação meteorológica (São João de Petrópolis 07-00), onde foram obtidos os dados: latitude 19°48'21", longitude 40°40'44", altitude 150 m e clima tropical.

A temperatura ambiente foi monitorada durante todo o experimento, realizando-se leituras a cada quatro dias, de duas em duas horas, durante as 24 horas do dia. A temperatura do globo negro, do bulbo seco (BS) e do bulbo úmido foi utilizada para o cálculo do índice de temperatura e umidade (THI), utilizando-se a fórmula abaixo, citada por WEST (2001):

THI = BS - (0,55 X UR)(BS - 58) em que BS (ºF) e UR = Umidade relativa (%)

As temperaturas máximas e mínimas foram determinadas diariamente às oito horas da manhã.

Foram utilizadas 20 novilhas e 62 vacas, com grau de sangue (GS) variando de 1/2 Holandês/Zebu (HZ) a puro de origem (P.O.) Holandês, com o número de partos (NP) variando de um a sete, peso médio das vacas de 545 kg e das novilhas de 330 kg, alojadas em regime de “free-stall” equipado com ventiladores e aspersores (somente para vacas), com observação visual do estro, pelo inseminador, três vezes ao dia por cerca de 15 minutos. As novilhas foram alimentadas com capim picado, feno de gramíneas, silagem de milho, bagaço de laranja peletizado e sal mineralizado proteinado e energético e as vacas, com ração total misturada de qualidade variável de acordo com a produção (Tabela 2).

Consta da Tabela a análise bromatológica das rações totais misturadas fornecidas às vacas dos quatro diferentes tratamentos. As amostras foram obtidas por coletas semanais das dietas e formação, ao final do experimento, de uma amostra composta para análise. Não foram realizadas coletas de amostras de dietas das novilhas, devido às variações de qualidade pelo uso de forragens verdes.

Tabela 2 - Teores de matéria seca (MS), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e proteína bruta (PB) na MS das rações totais misturadas fornecidas as vacas dos lotes 1-2 e 3-4[1]

Lotes de produção[2]	MS (%)	PB (%)	EE (%)	FDN (%)	FDA (%)
	MS				
1-2*	51,65	18,58	5,36	39,34	17,82
3-4**	46,69	18,15	1,10	40,95	18,99

* Lote 1-2, formado por primíparas e multíparas de maior produção, respectivamente.
**Lote 3-4, formado por multíparas/primíparas e multíparas de média e baixa produção, respectivamente.
[1] Dados obtidos por meio de análises realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa - MG.
[2] Produção média do rebanho durante o período experimental 26 kg/vaca/dia.

As novilhas acima de 300 kg de peso vivo (PV) e as vacas consideradas aptas à reprodução a partir de 45 dias no pós-parto foram inseminadas ao término do estro, por um único técnico, com sêmen de três diferentes touros, porém de uma única partida e de comprovada fertilidade. O descongelamento foi feito por 20 segundos em água aquecida à temperatura de 35-37°C.

Avaliou-se o ECC das novilhas e vacas no momento da IA, segundo Lowan (1985), citado por DIAZ GONZÁLES (1991), como se segue:

1 - Excessivamente magra, pontas dos ísquios descarnadas, base da cauda fendida, pele aderida e costelas individualizadas;
2 - Magra, espinha dorsal proeminente, menos descarnada que a anterior, pele aderida e costelas individualizadas;
3 - Razoável, condição intermediária, moderadamente carnuda com base da cauda menos fendida e pele solta;
4 - Moderadamente gorda, gordura uniformemente distribuída sobre as costelas, ísquios e região lombar. Crista das vértebras com aparência ovalada;
5 - Gorda, acúmulo de gordura nas costelas, na espinha dorsal, na região lombar e na inserção da cauda.

O GS das novilhas e vacas foi determinado por informações obtidas em um programa de gerenciamento de rebanhos utilizado pela empresa, em que os dados de ascendência foram acompanhados pela Associação Brasileira de Criadores de Gado Holandês (ABCGH). Valores numéricos para os GS foram determinados como se segue: 3 = 3/4HZ; 4 = 7/8HZ; 5 = 15/16 HZ e 6 = PO e PC.

3.2. Protocolo experimental

As fêmeas foram distribuídas em quatro tratamentos (T), em um delineamento inteiramente casualizado, com uniformidade de ECC, GS, DPP e lotes de produção, como se segue:

T1 controle (vacas n = 16; novilhas n = 5) com aplicação de 2,5 mL intramuscular (i.m.) de soro fisiológico (SF) no momento da IA (d0);

T2 (vacas n = 15; novilhas n= 5) 10 μg de acetato de buserelina (AB*) (i.m.) no momento da IA;

T3 (vacas n =16; novilhas n = 5) 10 μg de AB* (i.m.) no 13º dia do ciclo estral;

T4 (vacas n = 15; novilhas n = 5) 10 μg de AB* (i.m.) no momento da IA e 10 μg de AB* (i.m.) no 13º dia do ciclo estral.

As aplicações de SF e AB, nos respectivos dias, foram realizadas após a coleta de sangue para dosagem de hormônios e metabólitos.

As amostragens de sangue para dosagem de P_4 (plasma), colesterol total e uréia (soro) foram feitas do dia da IA até 33 dias após ou na evidência de estro, via punção da veia/artéria coccígea, nos dias 0, 6, 10, 13, 16, 19, 22, 24, 30 e 33 do ciclo estral.

As amostras de plasma e soro, após centrifugação a 2.400 rpm por 15 minutos, foram armazenadas a -18°C, até o momento da dosagem de P_4

plasmática pelo método de radioimunoensaio usando-se kits comerciais **, colesterol pelo método Enzimático – Trinder *** e uréia pelo método de Urease colorimétrico ***.

As determinações de P_4, uréia e colesterol total foram realizadas apenas nas fêmeas que não repetiram o estro até 24 dias após a IA, sendo consideradas ao final do experimento como gestantes ou não.

---

* 2,5 mL Conceptal®, Hoechst
** Coat-A-Count®;
*** Analisa - Belo Horizonte, Brasil.

3.3. Análises estatísticas

Tabelas de freqüência e contingência foram elaboradas para análise da consistência dos dados, usando-se os procedimentos PROC FREQ e PROC MEANS, disponíveis no pacote estatístico computacional Statistical Analysis System (SAS®, versão 6.12, 1996).

Para vacas e novilhas, separadamente, foram realizadas análises de variância para uréia, colesterol total e progesterona, usando o procedimento PROC GLM. Foram analisados os efeitos de tratamento e amostra e incluídas as interações simples entre estes efeitos. As interações, quando não apresentaram significância, não foram consideradas no modelo final de análise.

O modelo considerado foi o seguinte:

$$\mathbf{Y_{ijk} = \mu + G_i + A_j + I_{ij} + e_{ijk}}$$

em que

Y_{ijk} = ijk^{ésima} observação (uréia, colesterol total e progesterona);
μ = média geral;
G_i = efeito fixo do i^{ésimo} tratamento ;
A_j = efeito fixo da j^{ésima} amostra;
I_{ij} = efeitos das ij^{ésimas} interações entre classes de efeitos fixos; e
e_{ijk} = erro associado a cada observação ij, N ~ (0, σ^2i).

Foram obtidas médias para cada característica e efetuada a comparação entre as médias pelo teste *t*.

ECC e DPP foram analisados por meio de análise de variância (PROC GLM - SAS). Para o estudo dos fatores que influenciam cada variável observada, foi ajustado um modelo a partir do modelo geral, descrito a seguir:

$$Y_{ijkl} = \mu + GS_i + NP_j + \beta\,(X_{ijk} - X) + e_{ijkl}$$

em que

y_{ijkl} = *ijkl*ésima observação (ECC e DPP);

μ = efeito médio;

GS_i = efeito fixo da *i*ésima classe de GS;

NP_j = efeito fixo da *j*ésima classe de NP;

β = coeficiente de regressão linear da característica, incluída no modelo como covariável;

X_{ijk} = ECC do animal ou DPP;

X = média do ECC ou DPP; e

e_{ijkl} = erro associado a cada observação ijk, $N \sim (0, \sigma^2 i)$.

Foram testadas as interações simples entre os efeitos principais. Devido à não significância, as mesmas não foram consideradas nas análises finais.

Foram obtidas médias para cada característica, em função das variáveis no modelo analisado, e efetuada a comparação entre as médias pelo teste ***t***.

As temperaturas máximas e mínimas foram analisadas usando o procedimento PROC GLM, de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + M_j + e_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} = ijkésima observação (temperatura máxima e temperatura mínima);

μ = média geral;

P_i = efeito fixo do iésimo período;

M_j = efeito fixo do jésimo mês;

e_{ijk} = erro associado a cada observação ij, $N \sim (0, \sigma^2 i)$.

O índice THI foi analisado de acordo com o seguinte modelo:

$$\mathbf{Y_{ijk} = \mu + P_i + H_j + e_{ijk}}$$

em que

Y_{ijk} = ijk ^{ésima} observação (THI);

μ = média geral;

P_i = efeito fixo do i^{ésimo} período;

H_j = efeito fixo da j^{ésima} hora;

e_{ijk} = erro associado a cada observação ij, N ~ (0, σ^2i).

Foram testadas as interações simples entre os efeitos principais. Devido à não significância, as mesmas não foram consideradas nas análises finais.

Foram obtidas médias para cada característica e efetuada a comparação entre as médias pelo teste ***t***.

Análises de correlação entre as diversas características, nas vacas e novilhas, foram calculadas pelo PROC CORR (SAS,1996).

3.3.1. Análise de regressão logística

A análise dos resultados de prenhez, variável categórica (positiva ou negativa), para vacas e novilhas, foi realizada por meio da metodologia de regressão logística (PROC LOGISTIC – SAS, 1996), com os objetivos de verificar a influência de algumas variáveis, assumidas como discretas, sobre estes resultados e verificar as mudanças na freqüência de prenhez positiva e negativa, em função das mudanças nos níveis das variáveis.

As variáveis testadas nas novilhas foram: tratamento, escore corporal e grau de sangue.

As variáveis testadas nas vacas foram: tratamento, dias no pós-parto, número de parto, escore corporal e grau de sangue.

Assumiu-se distribuição binomial para a prenhez, com a probabilidade Pi de a $i^{ésima}$ fêmea estar prenhe e a probabilidade Qi = 1 - Pi dela não estar prenhe após o tratamento aplicado.

O modelo logístico para estimação dos coeficientes de regressão foi o seguinte:

$$\mathbf{Pi = 1 / (1 + exp^{-modelo\ linear})} \qquad \mathbf{(i=1, 2, ...,n)}$$

sendo que o **modelo linear** geral tem a seguinte forma:

$$\beta_0 = \Sigma\ \beta_j \chi_{ij}$$

em que

β_0 = intercepto;

β_j = coeficientes de regressão; e

χ_{ij} = variáveis ou combinações entre elas.

Foram analisados o modelo completo, para verificar a significância dos diferentes regressores, e um modelo contendo as variáveis de interesse à predição.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Taxa de gestação

Observou-se efeito (P<0,05) do GS nos resultados da análise de regressão logística das novilhas sobre a taxa de gestação, assumindo os efeitos de tratamento, ECC e GS, como discretos (Tabela 3).

Avaliou-se o resultado da análise de regressão logística das vacas, assumindo as variáveis tratamento, NP, ECC e GS como discretas e DPP como contínua. Constatou-se efeito significativo (P<0,05) do GS sobre a taxa de gestação (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxas de gestação (%) de novilhas e vacas em lactação submetidas a diferentes tratamentos com acetato de buserelina

Tratamento	N	Vacas	N	Novilhas
1	16	37,52a	5	100a
2	15	33,34a	5	20a
3	16	31,25a	5	100a
4	15	40,00a	5	40a

Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P>0,05).

Verificou-se que as taxas de gestação dentre vacas e novilhas não foram diferentes entre tratamentos (P>0,05), embora no grupo das novilhas houve tendência de o serem. Considerando-se a ausência de diferença estatística e o pequeno número de repetições, houve tendência de diminuição das taxas de gestação das novilhas do T2 e T4, podendo sugerir interferências na fisiologia reprodutiva pela aplicação de AB no momento da IA.

Em novilhas manejadas sem maiores interferências do meio, o seu desempenho reprodutivo sem manipulação hormonal pode ser indicativo da sua vida reprodutiva posterior. Dessa forma, a primeira gestação sem o uso de hormonio-terapia pode auxiliar na seleção genética de fêmeas em um rebanho leiteiro, assim, não se justifica a adoção dos tratamentos utilizados neste experimento.

Quanto ao desempenho reprodutivo das vacas, em se tratando de uma exploração comercial, na qual foram verificadas prioridades de ação, verifica-se a interferência de condutas de manejo, sendo de maior relevância no manejo pré e pós-parto. Assim, estes fatores podem ter predisposto a subfertilidade interferindo nos resultados dos tratamentos utilizados no presente experimento.

Os achados influenciando negativamente a taxa de gestação de fêmeas com “predominância de sangue” da raça holandesa podem ser justificados por uma combinação de fatores ambientais ou bioclimáticos, incluindo temperatura, umidade, baixa qualidade de forragens (NEIVA et al., 1993) e doenças (ROMAM-PONCE et al., 1977).

Em rebanhos comerciais, verificam-se fatores que podem aumentar o erro experimental. No presente estudo, provavelmente houve prejuízo à fertilidade por falhas no manejo pré e pós-parto, não sendo recomendados, como rotina, os tratamentos propostos com a administração de AB em novilhas e vacas em lactação.

4.2. Colesterol total e progesterona

Na análise de variância do colesterol total circulante para novilhas e vacas, observou-se que as fontes de variação apresentaram efeitos significativos, devido somente ao tratamento, e não para o dia após a IA em novilhas e vacas.

Na análise de variância da P_4 circulante para novilhas e vacas, observou-se que as fontes de variação apresentaram efeitos significativos, devido ao tratamento e dia após a IA, em novilhas e vacas.

Os efeitos considerados no modelo de análise explicam em 5-6% (R^2) as variações nos níveis de colesterol total circulante nas novilhas e vacas, valor considerado muito baixo, que pode ser justificado pela influência de mecanismos fisiológicos e hormonais, variações individuais, dieta e dia do ciclo estral entre os animais, por isso o modelo quase não explica suas variações.

As médias do colesterol total e P_4, de acordo com os tratamentos, são apresentadas na Tabela 4.

Os valores médios e do desvio-padrão do colesterol total para as novilhas e vacas apresentaram-se similares aos citados por BORGES (1999) de 86,9 mg/dL com novilhas mestiças holandês-zebu; TALAVERA et al. (1985), de 86,3 mg/dL em novilhas ciclando e recebendo dieta normal; SMITH (1992), de 80 a 120 mg/dL; FRASER (1991), de 62,1 a 192,5 mg/dL; e AVARE et al. (1974), de 172,8 mg/dL com vacas. Todavia, os dados foram inferiores aos 121,4 mg/dL encontrados por AVARE et al. (1974) e aos 118,48 mg/dL de MANCIO (1994), ambos trabalhando com novilhas.

No presente experimento, verificaram-se níveis de colesterol total similares aos da literatura consultada. Este fato pode ser explicado pela exploração intensiva adotada (“free-stall”), que visa maximizar a produção animal por intermédio de dietas de alta densidade. Este sistema de produção é predominantemente adotado nos países da América do Norte e Europa, continentes de origem da maioria da bibliografia consultada.

Para a P_4, tanto nas novilhas quanto nas vacas, todas as fontes de variação apresentaram diferenças. Os valores da média e do desvio-padrão para as novilhas apresentaram-se similares aos citados por JIMÉNEZ et al.

(1988) entre 3,6 e 7,6 ng/mL, registrados do 7º ao 15º dia do ciclo. Todavia, níveis extremos foram citados variando de 2,3 (AGARWAL et al., 1977) a 16,0 ng/mL (BADINGA et al., 1994) e 20 ng/mL (FERNANDES, 1994).

Nas vacas, em virtude de a média e o desvio-padrão terem sido similares, realizou-se a transformação logarítmica dos dados e, posteriormente, foi novamente efetuada a análise de variância. A média e o desvio-padrão para as vacas apresentaram-se similares aos citados por AGARWAL et al. (1977), 2,3, e JIMÉNEZ et al. (1988), entre 3,6 e 7,6 ng/mL, registrados do 7º ao 15º dia do ciclo.

Tabela 4 - Médias e desvio-padrão do colesterol total e progesterona circulante em novilhas e vacas, de acordo com o tratamento

Tratamento	**N**	**Novilhas Colesterol mg/dL**	**Novilhas Progesterona ng/mL**	**N**	**Vacas Colesterol mg/dL**	**Vacas Progesterona ng/mL**
1	50	81,0±24,3ª	4,2±2,0a	118	194,6±77,3c	3,7±2,4a
2	37	89,3±13,8b	2,8±2,1b	97	154,6±39,3a	2,6±2,5b
3	50	83,2±22,2ª	4,3±2,2a	114	181,9±57,6b	3,0±4,4b
4	38	78,3±14,3ª	4,7±2,7a	98	168,1±54,6a	2,5±2,4b
Média	175	82,8±20,3	4,08±1,5	427	176,1±60,1	3,01±2,9

N = número de observações.
Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P<0,05).

Os resultados evidenciaram que as médias de colesterol total circulante em novilhas foram similares no T1, T3 e T4. Numericamente os valores foram menores no grupo de novilhas, quando comparadas com o grupo das vacas**.** Em novilhas, sugere-se que existe efeito inverso dos menores níveis deste metabólito sobre a gestação, assim como na concentração de P_4. No grupo das vacas, os menores níveis de colesterol encontrados foram no T2 e T4, que também apresentaram as menores concentrações de P_4, não comprovando o efeito benéfico das maiores concentrações deste hormônio sobre a taxa de gestação dos animais do T4 (40%). As vacas do T1 e T3 tiveram os maiores índices de colesterol e P_4, sem, contudo, apresentar maiores taxas de gestação.

As médias de P_4, nos grupos T3 + T4 e T1 + T2, de acordo com o dia após a IA, são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Médias e desvio-padrão da progesterona circulante (ng/mL) dos grupos T1 + T2 e T3 + T4 em cada dia após a inseminação artificial em novilhas e vacas

Grupo\Dia	**0**	**6**	**10**	**13**	**16**	**19**	**22**	**24**	**Média de grupos**
T1 + T2	0,31±1,13a	1,77±1,20a	3,34±1,72a	4,20±1,99a	4,26±2,13a	3,99±2,46a	3,56±2,33a	3,77±2,89a	3,15a
T3 + T4	0,08±0,14a	1,51±1,29a	2,82±1,99a	3,47±2,42a	4,01±2,58a	3,98±2,46a	4,28±3,32a	4,14±3,60a	3,03a
Médias de dias	0,19	1,64	3,08	3,83	4,13	3,98	3,92	3,96	-

Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P<0,05).

Não houve efeito da interação tratamento x amostra e, portanto, não foi considerada no modelo final de análise.

Os resultados evidenciaram que as médias de P_4 circulante assumiram valores crescentes e ligeiramente irregulares com o avançar dos dias de coleta. Não se observou influência da aplicação de AB no T3 + T4 sobre os níveis de P_4 circulante, e nem mesmo maiores médias deste hormônio, nestes tratamentos, influenciando as taxas de gestação, estando em desacordo com MacMILLAN et al. (1986), que afirmaram a possibilidade de formação de um Cl acessório.

O comportamento dos valores médios de P_4, nos diferentes dias, apresentaram-se como descrito por WILTBANK et al. (1995), segundo os quais, durante o ciclo estral, as variações na concentração de P_4 plasmática refletem a funcionalidade do CL entre as fases de crescimento e manutenção.

4.3. Uréia

Na análise de variância dos níveis de uréia circulante para novilhas e vacas (Tabela 5A), observou-se que as fontes de variação apresentaram efeitos díspares, verificando-se diferenças somente devido ao tratamento nas novilhas ($P<0,01$), entretanto, para vacas, houve diferenças tanto para tratamento como para dia após a IA ($P<0,01$).

Os efeitos considerados no modelo de análise explicam em 11% (R^2) as variações nos níveis de uréia circulante nas novilhas e vacas, o que pode ser explicado pelo fato desta ser uma característica muito influenciada por aspectos fisiológicos, além das variações individuais entre os animais.

Na Tabela 6 verificam-se as médias e os respectivos desvios-padrão para uréia e P_4 circulantes, de acordo com o tratamento, nas novilhas e vacas. Os valores para novilhas apresentam-se de acordo com ELROD e BUTLER (1993), em que novilhas gestantes e não-gestantes apresentaram 12,35 e 14,32 mg/dL, respectivamente, diferentes dos citados por KAIM et al. (1983), de 9,0 e 16,8 mg/dL, em vacas alimentadas com níveis baixo e alto de proteína na dieta, respectivamente. CANFIELD et al. (1992), ao final do experimento, obtiveram valores de 15,7 e 18,6 mg/dL em vacas gestantes e não-gestantes, respectivamente. Já CARROL et al. (1988) encontraram 24 mg/dL em vacas

em lactação alimentadas com dietas contendo alta concentração protéica e FERGUSON et al. (1988), 20 mg/dL em rebanhos como um todo.

Tabela 6 - Médias e desvio-padrão da uréia e P_4 circulantes de novilhas e vacas, de acordo com o tratamento

Tratamento	N	Novilhas		N	Vacas	
		Uréia mg/dL	P_4 ng/mL		Uréia mg/dL	P_4 ng/mL
1	50	14,2±4,9 a	4,2±2,0 a	118	36,0±9,6 b	3,7±2,4 a
2	37	16,1±4,4 a	2,8±2,1 b	97	37,8±10,0 c	2,6±2,5 b
3	50	18,3±8,3 b	4,3±2,2 a	114	34,9±8,6 a	3,0±4,4 b
4	38	18,2±6,6b	4,7±2,7 a	98	34,4±7,4a	2,5±2,4 b
Média	175	16,6±6,4	4,08±1,5	427	36,2±8,8	3,01±2,9

N = número de observações.
Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P<0,05).

As determinações de P_4 e uréia foram realizadas apenas nas fêmeas que não repetiram o estro até 24 dias após a IA, sendo consideradas ao final do experimento como gestantes ou não. Com o intervalo de repetição de estro menor ou igual a 24 dias, chegou-se à conclusão de não haver interferência do AB sobre este fator, não sendo justificadas as dosagens.

Na Tabela 6, nos tratamentos T3 e T4 das novilhas, verificou-se aumento entre os níveis de uréia que não resultou em diminuição da P_4, diferindo dos resultados de Swanson, (1989), citado por DIAZ GONZÁLES (1991), em que o excesso de proteína causou redução na secreção de P_4. Esta diferença pode ser explicada pela administração de AB nas novilhas destes tratamentos no 13º dia do ciclo estral (T3) e no momento da IA e no 13º dia do ciclo estral (T4), o que, segundo HARVEY et al. (1994), pode induzir a formação de corpos lúteos acessórios, promovendo a elevação da P_4 circulante e reduzindo as concentrações de estradiol sérico pela ovulação do folículo dominante da onda de crescimento folicular (MANN e LAMMING, 1995),

reduzindo, assim, os efeitos de uma das fases de grande vulnerabilidade embrionária, que é a do reconhecimento materno da gestação.

Verificou-se também que as maiores concentrações de uréia circulante no T3 e T4 das novilhas não provocaram menores taxas de gestação comparadas ao T1 e T2 (100; 40% e 100 e 20%, respectivamente), discordando das afirmações de ELROD e BUTLER (1993), os quais constataram que altas concentrações de nitrogênio uréico circulante provocam elevação no pH uterino alguns dias após a fecundação, originando um ambiente uterino inadequado ao embrião. Os achados do presente trabalho podem ser justificados pelo reduzido número de animais no experimento.

No grupo das vacas, verificou-se redução entre as concentrações de uréia circulante sem efeito nas taxas de gestação, sendo que as taxas foram 37,52; 33,34; 31,25 e 40,0%, respectivamente, para T1, T2, T3 e T4. Estes achados diferem dos de ELROD e BUTLER (1993) sobre altas concentrações de nitrogênio uréico circulante e elevação do pH uterino.

As correlações entre os níveis circulantes de uréia, colesterol e P_4, em novilhas e vacas, são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Correlações entre os níveis circulantes de uréia, colesterol e P_4, em novilhas e vacas

Dia / Variável	Uréia x Colesterol	Uréia x P_4	Colesterol x P_4
0	0,63	-0,38	-0,05
6	0,54	-0,22	-0,23
10	0,51	-0,22	-0,14
13	0,49	-0,30	-0,24
16	0,62	-0,20	-0,06
19	0,57	-0,18	-0,14
22	0,46	-0,30	-0,02
24	0,48	-0,31	-0,03

Analisando-se os dados contidos na Tabela 7, nota-se que, em todos os dias após a IA, houve correlação positiva entre os níveis circulantes de uréia e colesterol, o que caracteriza o balanço de dietas de alta densidade utilizadas no presente sistema de produção. Verificou-se baixa correlação negativa entre os níveis de uréia e P_4 e colesterol e P_4, não havendo prejuízos à síntese de P_4 ou sobrevivência embrionária por altos níveis de uréia circulante e também não utilização do colesterol para a síntese de P_4, respectivamente.

4.4. Escore de condição corporal

Na análise de variância do ECC (Tabela 6A), para novilhas e vacas, não se observaram efeitos de tratamento, GS e NP.

As médias do ECC, segundo tratamento, GS e NP, são apresentadas na Tabela 8. Os resultados evidenciaram que as médias dos animais por tratamento não diferiram.

A média e o desvio-padrão do ECC encontradas no presente experimento deveria resultar em uma maior eficiência reprodutiva, que corroboraria com os resultados de FERREIRA (1995) e SATURNINO e DIAS (1993), porém tal não aconteceu no presente experimento, o que poderia sugerir influências diversas.

Observou-se na Tabela 8 que não houve efeito do grau de sangue sobre o ECC quer de vacas ou novilhas.

Tabela 8 - Médias e desvio-padrão do escore de condição corporal de novilhas e vacas, de acordo com o tratamento, grau de sangue e número de partos

Tratamento	N	ECC Novilhas	Tratamento	N	ECC Vacas
1	5	3,72±0,11a	1	16	3,74±0,30a
2	5	3,72±0,18a	2	15	3,60±0,23a
3	5	3,68±0,11a	3	16	3,69±0,18a
4	5	3,78±0,11a	4	15	3,68±0,16a
Grau de sangue*			Grau de sangue		
4	6	3,82±0,12a	3	14	3,79±0,15a
3	1	3,7a	4	10	3,79±0,17a
6	13	3,68±0,11a	5	7	3,70±0,17a
			6	31	3,59±0,25a
			Número de parto		
			1	29	3,79±0,27a
			2	13	3,72±0,15a
			3	10	3,74±0,21a
			4	5	3,80±0,16a
			> 5	5	3,69±0,21a

GS (Grau de Sangue) * = 3 (3/4HZ**); 4 (7/8HZ); 5 (15/16 HZ) e 6 (PO e PC).
HZ ** = Holandês Zebu.
Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P>0,05).

4.5. Dias pós-parto

Na análise de variância de DPP das vacas (Tabela 7A), pode-se observar que as fontes de variação NP e GS apresentaram efeitos significativos.

As médias de dias pós-parto, segundo tratamento, GS e NP, são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 - Médias e desvio-padrão de dias pós-parto de vacas, de acordo com o tratamento, grau de sangue e número de partos

Tratamento	N	DPP Vacas
1	16	175,2±121,2 a
2	15	212,1±141,0 a
3	16	181,0±103,5 a
4	15	185,9±112,1 a
Grau de sangue		
3	14	182,2±109,9 b
4	10	99,8±32,6 c
5	7	302,6±121,4 a
6	31	193,6±118,5 b
Número de partos		
1	29	264,3±117,1 a
2	13	130,1±94,7 a
3	10	106,1±37,3 a
4	5	113,0±46,7 a
> 5	5	116,5±92,6 a

GS (Grau de Sangue) = 3 (3/4HZ*); 4 (7/8HZ); 5 (15/16 HZ) e 6 (PO e PC).
HZ* = Holandês-Zebu.
Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P>0,05).

A média e o desvio-padrão de DPP para as vacas na IA foram de 188,2 ± 91,6 dias. Estes valores representam o DPP no momento da IA acompanhada durante o experimento, portanto, sem influência dos tratamentos com AB. Neste caso, supondo uma taxa de gestação de 100%, seria obtido um intervalo de partos médio acima do preconizado para o sucesso reprodutivo e produtivo do rebanho utilizado neste trabalho, ressaltando a necessidade de utilização imediata de medidas que reduzam este índice.

Segundo os dados contidos na Tabela 9, verificou-se que as vacas com "predominância de sangue" da raça holandesa (GS = 5 e 6) apresentaram maior período em aberto à IA realizada durante o experimento, comparadas às de GS 4, mas não as de GS 3, o que pode ser justificado por uma combinação de todos os

fatores ambientais ou bioclimáticos, incluindo temperatura, umidade, baixa qualidade de forragens (NEIVA et al., 1993), doenças (ROMAM-PONCE et al., 1977), produção, enfim, interação do genótipo com o ambiente.

Também não houve efeito do NP sobre o DPP, com tendência de as primíparas terem um número de DPP maior que as multíparas, concordando com as afirmações de NEIVA et al. (1993), devido possivelmente a uma maior exigência nutricional desta categoria.

4.6. Correlações entre as características de escore de condição corporal, grau de sangue e número de estros

As características de ECC, GS e NEstros apresentaram correlações que indicam o grau de associação das mesmas e que podem ser decompostas em três componentes: genético, fenotípico e ambiental.

As correlações fenotípicas são as correlações entre as características, tal como observadas nos animais.

As correlações podem ser positivas ou negativas em seu sinal. O sinal positivo ou negativo indica se as características correlacionadas são influenciadas no mesmo sentido ou em sentido contrário, respectivamente.

4.6.1. Correlações entre as características de escore de condição corporal, grau de sangue e número de estros em novilhas

Constam da Tabela 10 as estimativas de correlações fenotípicas entre diversas características estudadas em novilhas não gestantes e gestantes.

Tabela 10 - Correlações fenotípicas entre diversas características associadas à reprodução, em novilhas não gestantes e gestantes

	Não gestantes		**Gestantes**	
Característica	NEstros	ECC	NEstros	ECC
ECC	-0,38	---	0,02	---
GS	0,22	-0,84	-0,04	-0,40

Nas novilhas não gestantes, a magnitude das correlações entre ECC e NEstros, GS e ECC apresentou-se negativa média e negativa elevada, respectivamente, ou seja, à medida que se aumentou o valor do ECC, diminuiu o NEstros, portanto, novilhas mais “azebuadas” tiveram melhor ECC e fertilidade. À medida que se aumentou o GS, reduziu-se o ECC, significando que novilhas com “predominância de sangue” da raça Holandesa têm menor adaptabilidade à dieta e ao manejo utilizados. Correlações positivas médias foram detectadas entre GS e NEstro, havendo aumento simultâneo do GS e do NEstros, com diminuição conseqüente da fertilidade.

Para as novilhas gestantes houve correlação negativa média entre GS e ECC, em que, à medida que se aumentou o GS, houve diminuição do ECC. Pode-se observar o mesmo para as novilhas não gestantes, provavelmente devido à menor adaptabilidade destas fêmeas com maior GS à dieta e ao manejo utilizados.

Os dados obtidos estão de acordo com ALLENSTEIN (1994), que afirmou a importância da interação genética x ambiente na adaptabilidade animal.

4.6.2. Correlações entre as características de escore de condição corporal, grau de sangue e número de estros em vacas

Na Tabela 11, apresentam-se estimativas de correlações fenotípicas entre diversas características estudadas em vacas não gestantes apresentando estro de manhã (até 12:00) e à tarde (a partir de 12:01).

Com o objetivo de avaliar a diferença de fertilidade entre vacas com início do estro de manhã ou à tarde, realizou-se a correlação separadamente. Para facilitar a análise comparativa, grifaram-se os valores com cores diferentes, desta forma, verifica-se que a correlação das características avaliadas foi similar em ambos os grupos.

Tabela 11 - Correlações fenotípicas entre diversas características associadas à reprodução em vacas não gestantes apresentando estro de manhã e à tarde

	Estro de manhã						Estro à tarde					
Caract	**Trat**	**NEstro**	**TP**	**DPP**	**NP**	**ECC**	**Trat**	**NEstro**	**TP**	**DPP**	**NP**	**ECC**
Trat	-						-					
NEstro	0,00	-					0,11	-				
TP	0,12	-0,10	-				-0,13	-0,37	-			
DPP	-0,11	0,73	-0,08	-			0,13	0,54	-0,32	-		
NP	0,14	-0,38	-0,21	-0,47	-		0,15	-0,21	0,02	-0,47	-	
ECC	-0,12	0,14	-0,32	0,12	0,35	-	0,05	0,37	-0,11	0,18	0,32	-
GS	0,10	-0,02	0,19	0,13	-0,50	-0,53	-0,20	-0,02	-0,17	-0,15	-0,17	-0,41

Trat = tratamento; NEstro = número de estros (ao entrar no experimento); TP = tipo de parto (1 normal e 2 distocia ou aborto); DPP = dias pós-parto; NP = número de parto; ECC = escore de condição corporal; GS = grau de sangue (1/2 HZ = 1; 5/8 HZ = 2; ¾ HZ = 3; 7/8 HZ = 4; 15/16 = 5; GC,PC e PO = 6).

A magnitude das correlações entre os tratamentos e as diversas características relacionadas à reprodução apresentou-se próxima de zero, denotando que existe uma baixa associação, significando uma baixa influência entre os tratamentos aplicados e as características consideradas.

As correlações fenotípicas entre número de estros e dias no pós-parto apresentaram-se altas, indicando que o problema de subfertilidade do rebanho não é por anestro nutricional, o que pode ser confirmado pela boa média de ECC (3,7±0,11) observada neste estudo e, de acordo com SATURNINO e DIAS (1993) e FERREIRA (1995), o que incrementaria a eficiência reprodutiva.

As correlações entre NEstro, TP, NP, ECC e GS apresentaram-se, quase sempre, com valores reduzidos.

Correlações de menor magnitude foram observadas entre DPP e as diversas características (Tabela 12). A correlação de -0,47 entre NP e DPP indica que as fêmeas com maior NP foram as que apresentaram menor número de DPP. Estes resultados estão de acordo com NEIVA et al. (1993) e podem ser explicados pela maior exigência nutricional das primíparas, aumentando, dessa forma, o período parto-IA.

O GS apresenta correlações próximas de zero com NEstro, TP e DPP e correlações médias e negativas com NP (-0,50 e -0,17) e ECC

(-0,53 e -0,41), podendo ser justificado por uma combinação de fatores ambientais ou bioclimáticos, incluindo temperatura, umidade, baixa qualidade de forragens (NEIVA et al., 1993) e doenças (ROMAM-PONCE et al., 1977), que atuam com maior intensidade sobre vacas com "predominância de sangue" da raça holandesa.

Tabela 12 - Correlações fenotípicas entre diversas características associadas à reprodução em vacas gestantes apresentando cio de manhã e à tarde

	Estro de manhã						**Estro à tarde**					
Caract	Trat	NEstro	TP	DPP	NP	ECC	Trat	NEstro	TP	DPP	NP	ECC
Trat	---						---					
NEstros	0,02	----					-0,07	----				
TP	0,49	0,01	----				0,29	-0,40	----			
DPP	-0,05	0,91	-0,18	---			-0,09	0,86	-0,52	---		
NP	-0,01	-0,25	0,03	-0,21	---		0,18	-0,61	0,79	-0,60	---	
ECC	-0,05	0,08	0,03	-0,09	-0,03	---	-0,15	0,42	-0,41	0,46	-0,47	---
GS	0,32	0,52	0,14	0,61	0,03	-0,72	0,13	0,45	-0,32	0,34	-0,34	0,43

Trat = tratamento; NEstros = número de estros (ao entrar no experimento); TP = tipo de parto (1 normal e 2 distocia ou aborto); DPP = dias pós-parto; NP = número de parto; ECC = escore de condição corporal; GS = grau de sangue (1/2 HZ = 1; 5/8 HZ = 2; ¾ HZ = 3; 7/8 HZ = 4; 15/16 = 5; GC,PC e PO = 6)

O GS apresentou altas correlações negativas com o ECC de manhã (-0,72) e positivas à tarde (0,43), sugerindo maior manifestação do estro de vacas com maior GS e melhor ECC à tarde. Pode-se atribuir este comportamento à redução da atividade de montas em horários mais quentes do dia (HANSEN e ARÉCHIGA, 1994), ao padrão noturno do comportamento sexual observado em estações quentes do ano (ESSLEMONT e BRYANT, 1976) e à menor capacidade de dissipação de calor por vacas com melhor ECC.

As demais correlações deste grupo foram semelhantes às das vacas não gestantes com início do estro de manhã e à tarde.

4.7. Índice THI, temperatura mínima e temperatura máxima

A análise de variância para índice THI, temperatura mínima e temperatura máxima é mostrada na Tabela 8A.

As médias do Índice THI, TMín e Tmáx, de acordo com o período, são apresentadas na Tabela 13. Os resultados evidenciaram que as médias ajustadas para temperatura mínima e máxima foram diferentes entre períodos.

Tabela 13 - Médias e desvio-padrão do índice THI, temperatura mínima e temperatura máxima, de acordo com o período

Período	THI	Temperatura Mínima	Temperatura máxima
1*	68,5±1,4 a	18,4±2,3 b	27,1±3,1 a
2*	68,0±1,4 a	20,1±2,3 a	25,6±3,1 b
Média	68,3±1,4	19,3±2,3	26±3,1

* Período 1 = 24/08/1999 a 02/10/1999 (inverno) e Período 2 = 03/10/1999 a 09/11/1999 (verão).
Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P>0,05).

As condições climáticas ideais para a produção de leite ocorrem em ambientes com temperatura entre 5 e 25°C (FONSECA e SANTOS, 2000). Apesar de os animais terem permanecido várias horas do dia, nos períodos 1 e 2, recebendo intensidade de calor que os colocavam sob condições de estresse, as demais horas do dia podem ter sido suficientes para compensá-los em termos de perda de calor e consumo de alimentos, situação relatada por BORGES (1999).

Verificou-se que a TMín e TMáx diferiram entre os períodos 1 e 2. Esperavam-se menores TMín e TMáx no período 1, mas, provavelmente, devido a fenômenos climáticos diversos, precipitação pluviométrica e, principalmente, à menor utilização dos sistemas de aspersão e ventilação obtiveram-se maiores TMáx no fim do inverno* / início da primavera* (Período 1), comparada ao restante da primavera (Período 2).

As médias do índice THI, de acordo com a hora e o período, são apresentadas na Figura 1.

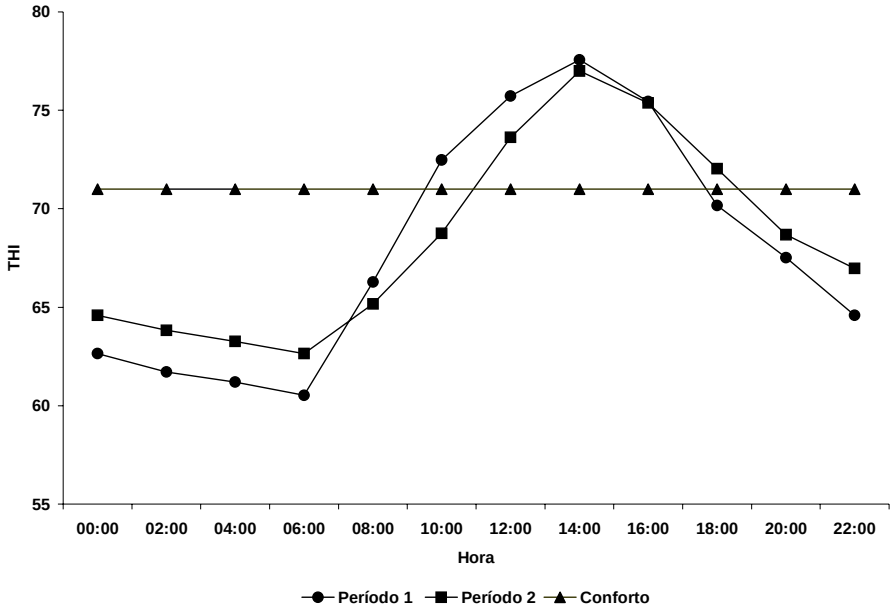

Figura 1 - Índice de temperatura e umidade (THI) diário, para os períodos P1 e P2. Os dados foram calculados a partir de mensurações feitas a cada quatro dias em uma mini-estação meteorológica alojada no estábulo experimental. A linha reta (contínua) indica o limite máximo do ideal de conforto térmico para gado de leite (THI = 71).

Ao se avaliarem os períodos do ano em que foi conduzido o experimento, pode-se calcular um índice de conforto térmico animal (THI), que corresponde a combinações entre a temperatura e umidade relativa do ar em determinado momento do dia. O índice médio calculado não demonstrou diferença (P>0,05) entre os dois períodos (Tabela 8A).

As médias das TMín e TMáx de acordo com o mês são apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 - Médias e desvio-padrão da temperatura mínima e temperatura máxima, de acordo com o mês

Mês	N	Temperatura Mínima	Temperatura Máxima
8	8	16,0±2,2 b	28,0±2,1 a
9	30	19,0±2,6 a	26,91±3,1 ac
10	31	20,0±2,2 a	25,48±3,5 bcd
11	9	20,5±2,1 a	25,83±2,6 ad

Médias em uma mesma coluna, seguidas pela mesma letra, não diferem entre si (P>0,05).

Segundo os dados contidos na Tabela 14, verificou-se menor valor de TMín no primeiro mês (8) e, com a evolução do período experimental, houve uma tendência de aumento deste valor, o que poderia ser esperado com a mudança das estações do ano. Entretanto, quanto à TMáx, observou-se queda ligeiramente irregular, indicando aumento do uso dos mecanismos de controle ambiental do galpão, porém aquém do ideal, devido à exposição, em determinadas horas do dia, a temperaturas acima de 25 °C, o que, de acordo com FONSECA e SANTOS (2000), é prejudicial à produção de leite.

A interação entre os dados obtidos de TMín, TMáx e THI com os índices reprodutivos considerados neste trabalho não foi possível, devido à dificuldade de alocação de dados de IA no final do período 1 e coleta de amostras no período 2.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

O presente estudo foi desenvolvido na Agropecuária Paraíso (Leite Fiore), distrito de Santo Antônio do Canaã, Santa Teresa - ES, no período de agosto a dezembro de 1999. Com o objetivo de avaliar o efeito do tratamento com acetato de buserelina (análogo do GnRH) sobre a fertilidade de novilhas e vacas em lactação, com grau de sangue variando de ¾ HZ (Holandês-Zebu) a PO Holandês. Vinte novilhas e 62 vacas foram submetidas a quatro diferentes tratamentos, em que:

T1 controle (vacas n = 16; novilhas n = 5) com aplicação de 2,5 mL intramuscular (i.m.) de soro fisiológico (SF) no momento da IA (d0);

T2 (vacas n = 15; novilhas n = 5) 10 μg de acetato de buserelina (AB) (i.m.) no momento da IA;

T3 (vacas n = 16; novilhas n = 5) 10 μg de AB (i.m.) no 13º dia do ciclo estral; e

T4 (vacas n = 15; novilhas n = 5) 10 μg de AB (i.m.) no momento da IA e 10 μg de AB (i.m.) no 13º dia do ciclo estral.

Todos as aplicações medicamentosas, nos respectivos dias, foram realizadas após a coleta de sangue para dosagem de hormônios e metabólitos.

As amostragens de sangue para dosagem de P_4 (plasma), colesterol total e uréia (soro) foram feitas do dia da IA até 33 dias após ou na evidência de estro, via punção da veia/artéria coccígea nos dias 0, 6, 10, 13, 16, 19, 22, 24, 30 e 33 do ciclo estral.

As amostras de plasma e soro, após centrifugação a 2.400 rpm por 15 minutos, foram armazenadas a -18 °C, até o momento da dosagem de P_4 plasmática pelo método de radioimunoensaio, usando-se kits comerciais, colesterol pelo método Enzimático – Trinder e uréia pelo método de Urease colorimétrico.

Pelos resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- O AB não afetou a taxa de gestação em novilhas e vacas;
- Nas novilhas a administração do AB no momento da IA (T2) aumentou a concentração de colesterol e diminuiu a de P_4, quando comparado ao controle, enquanto que os demais tratamentos não diferiram do controle;
- Nas vacas a administração do AB nos animais (T2, T3 e T4) diminuiu a concentração de colesterol e de P_4 em relação aos animais do tratamento controle, sendo que para o colesterol, a administração no momento da IA (T2 e T4) resultou em menor concentração que no 13º dia;
- A administração de AB nas novilhas no 13º dia (T3 e T4) reduziu a concentração de uréia, porém não afetou a concentração de P_4 quando comparado aos animais do tratamento controle. Contudo, o AB administrado somente no momento da IA reduziu a concentração de P_4;
- Nas vacas a administração de AB no 13º dia (T3 e T4) reduziu a concentração de uréia nos animais e a administração somente no momento da IA (T2) aumentou a concentração. A administração de AB (T2, T3 e T4) reduziu a concentração de P_4 em todos os animais;
- Verificou-se baixa correlação negativa entre os níveis de uréia e P_4 e colesterol e P_4, não havendo prejuízos à síntese de P_4 ou sobrevivência embrionária por altos níveis de uréia circulante e também não utilização do colesterol para a síntese de P_4, respectivamente;

- A taxa de gestação pela condição corporal dos animais deveria ter sido maior, o que não aconteceu no presente experimento;
- Para as novilhas não gestantes e gestantes, demonstrou-se importante a correlação negativa entre ECC e NEstros e GS e ECC;
- Verificou-se que a correlação de diversas características associadas à reprodução foi similar entre vacas com início do estro de manhã ou à tarde;
- As correlações fenotípicas entre NEstro e DPP, nas vacas não gestante, evidenciaram a subfertilidade por outros fatores que não a subnutrição;
- Para vacas gestantes, o GS apresentou correlação negativa com o ECC nos animais com início do estro de manhã e positiva, à tarde.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABILAY, T.A., JOHNSON, H.D., MADAN,M. Influence of enviromental heat on peripheral plasma progesterone and cortisol during the bovine estrous cycle. **J. Dairy Sci.**, v.58, p.1836-39, 1975.

ADEYEMO, O., HEATH, E. Plasma progesterone concentration in *Bos taurus* and *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.14, n.6, p.411-420, 1980.

AGARWAL, S.P., RAHMAN, S.A., LAUMAS, K.R., AGARWAL, V.K., AHMAD, A. Studies on steroid hormones: Progesterone concentration in the blood serum of zebu cows during oestrous cycle. **Indian J. Anim. Sci.**, v.47, n.11, p.715-719, 1977.

ALLENSTEIN, L.C. Distúrbios da locomoção dos bovinos. In: INTERLEITE, 1., 1994, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 1994. p.53-65.

ARMSTRONG, D.V. Heat stress interaction with shade and cooling. **J. Dairy Sci.**, v.77, p.2044-2050, 1994.

AVARE, C.W., MILLER, R.H., LAMB, R.C. Genetic and environmental effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. **J. Dairy Sci.**, v.58, n.3, p.423-427, 1974.

BADINGA, L., THATCHER, W.W., WILCOX, C.J. et al. of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17β, progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v.42, p.1263-1274, 1994.

BAO, B., THOMAS, M.G., WILLIAMS, G.L. Regulatory roles of high-density and low density lipoproteins in cellular proliferation and secretion of progesterone and insulin-like growth factor I by enriched cultures of bovine small and large luteal cells. **J. Anim. Sci.**, v.75, p.3235-45, 1997.

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **J. Dairy Sci.**, v.76, p.3864-81, 1993.

BEARD, A.P., LAMMING, G.E. Oestradiol concentration and the development of the oxytocin receptor and oxytocin induced prostaglandin $F_{2\alpha}$ release in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.100, p.469-75. 1994.

BIGGERS, B.G., BUCHANAN, D.S., WETTEMAN, R.P. et. al. **Effect of heat stress on early embryonic development and survival in beef cows**. Oklahoma: Agriculture Experimental Station, p.303-307, 1986.

BORGES, A.M. **Dinâmica folicular e superovulação em novilhas mestiças tratadas com somatotropina bovina (rBST) e efeito da temperatura na qualidade dos embriões**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999, 100p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.

BOSTEDT, H. Ovulation and pregnancy after treating cows with buserelin or a beta-blocker (carazolol) before insemination. **Tierarztliche-Umschau**. v.50, p.311-16, 1995.

BRANTIMEIR, S.A., GRUMMER, R.R., A.X., R.L. High density lipoprotein from bovine plasma and follicular fluid do not possess high affinity for glucosaminoglycans. **Lipids**, v.23, p.269-72, 1988.

BUCKLIN, R.A. et al. Methods to relieve heat stress for dairy cows in hot, humid climates. **Appl. Eng. Agric**. V.7, n.2, 1991.

BUHR, M.M. Effect of lipoproteins and luteinizing hormone on progesterone production by large and small luteal cells throughout the porcine estrus cycle. **J. Anim. Sci.**, v.65, p.1027-31, 1987.

CANFIELD, R.W., SNIFFEN, C.J., BUTLER, W.R. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.73, p.2342, 1990.

CARROL, D.J. et al. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.71, p.3470, 1988.

CARROL, P.J., GRUMMER, R.W., MAO, F.C. Progesterone production by cultured luteal cells in the presence of bovine low and high density lipoproteins purified by heparin affinity chromatography. **J. Anim. Sci.**, v.70, n.8, p. 2516-26, 1992.

CHRISTIE, M.H., STRAUSS, J.F., FLICKINGER, G.L. Effect of reduced blood cholesterol on sterol and steroid metabolism by rat luteal tissue. **Endocrinology**, v.105, p.92-98, 1979.

DELAZARI, J.A. **Desempenho reprodutivo, concentrações de progesterona e metabólitos lipídicos no pós-parto de vacas mestiças holandesas-zebu submetidas a uma dieta hiperlipidêmica.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996, 74p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1996.

DÍAZ GONZÁLEZ, F.H. **Efeito da condição corporal de novilhas sobre a fertilidade, o perfil metabólico pós-serviço e a sobrevivência embrionária.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 118p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1991.

DISKIN, M.G., SREENAN, J.M. Progesterone and embryo survival in the cow. In: SREENAN, J.M., DISKIN, M.G. (Eds.) **Embyonic mortality in farm animals.** Dordrecht: The Netherlands, Martimus Nijhoff Publishers, 1986.

DREW, S.B., PETERS, A.R. The effect of treatment with a gonadotrofin releasing hormone analogue on the fertility of dairy cows. **Proceedings of the British Society of Animal Production**, p.1121-3. 1991.

DREW, S.B., PETERS, A.R. Effect of buserelin on pregnancy rates in dairy cows. **Veterinary Record**, v.134, p.267-269, 1994.

DUPREEZ, J.H. TERBLANCHE, S.J., GIESECHE, W.H. et. al. Effect of heat stress on conception in a dairy herd model under south African conditions. **Theriogenology**. v. 35, n.5, p.1039-49, 1991.

EALY, A.D., DROST, M., HANSEN, P.J. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. **J. Dairy Sci.**, v.76, n.10, p.2899-2905, 1993.

EALY, A.D., HOWELL, J.L., MONTERROSO, V.H. et al. Developmental changes in sensitivity of bovine embryos to heat shock and use antioxidants as thermoprotectants. **J. Anim. Sci.**, v.73, n.5, p.1401-1407, 1995.

EDWARDS, J.L., HANSEN, P.J. Elevated temperatures increases heat shock protein 70 synthesis in bovine two-cell embryos and compromises function of maturing oocytes. **Biol. Reprod.**, v.55, p.340-346, 1996.

ELROD, C.C., BUTLER, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminaly degradable protein. **J. Anim. Sci.**, v.71, p.694, 1993.

ESSLEMONT, R.J., BRYANT, M.J. Oestrus behaviour in a herd of dairy cows. **Veterinary Record**, v.11, p.472-475, 1976.

FERGUSON, BLANCHARD, GALLIGAN, HOSHALL, CHALUPA. **J. AVMA**, v.192, p.659-662, 1988.

FERGUSON; CHALUPA. **J. Dairy Sci.**, v.72, p.746-66, 1989.

FERNANDES, C.A.C. **Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embrião.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 63p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1994.

FERREIRA, A.M., CARDOSO, R.M. **Clima e reprodução da fêmea bovina.** Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1993. 35p. (EMBRAPA-CNPGL. Documentos, 54).

FERREIRA, A.M. Novos conceitos sobre o anestro pós-parto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.62-70,1995.

FLINT, A.P.F. et al. Role of the oxytocin receptor in the choice between ciclicity and gestation in ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.45, p.53-8. 1992. (Suppl.)

FONSECA, L.F.L., SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. p.175.

FRASER, C.M. **Manual Merck de Veterinária**. São Paulo: Roca, 1991.

GOEHRING, C. Regulation of LH release in cattle. **Tierarztliche Hochscule Hanover**. 1998. 127p.

GOTO, K., OHKUTSU, S., NAKANISHI, Y. et al. Endocrine profiles and embryo quality in superovulated japanese black cattle. **Theriogenology**, v.29, n.3, p.615-629, 1988.

GRUMMER, R.R., CARROL, D.J. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.3160-73, 1988.

GRUMMER, R.R., CARROL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.3838-3852, 1991.

GWASDAUSKAS, F.C., LINEWEAVER, J.A., McGILLIARD, M.L. Environmental and management factors affecting estrous activity in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.48, p.222-27, 1985.

GWAZDAUSKAS, F.C., THATCHER, W.W., WILCOX, C.J. Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination which may affect conception. **J. Dairy Sci.**, v.56, n.7, p.873-877, 1973.

HANSEN, P.J., EALY, A.D. Effects of heat stress on establishment and maintenance of pregnancy in cattle. **R. Bras. Reprod. Anim.**, v.1, p.108-119, 1991.

HANSEN, P.J. ARÉCHIGA. Reducing effects of heat stress on reproduction of dairy cow. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON LIVESTOCK IN THE TROPICS, 1994, Gainsville. **Proceedings...** Gainsville, 1994. p.92-99.

HARVEY, M.J.A. et al. Ovarian and clinical response of cattle to buserelin. **Veterinary Record**, v.134, p.168-71, 1994.

INGRAHAM, R.H., STANLEY, R.W., WAGNER, W.C. Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in Hawaii. **J. Dairy Sci.**, v.59, n.12, p.2086-2090, 1976.

JIMÉNEZ, F., GALINA, C.S., DUCHATEAU, A. et al. Levels of LH, progesterone and estradiol-17β during natural and $PGF_{2\alpha}$ induced estrus in Indubrazil and Brown Swiss cows in the tropics. **Anim. Reprod. Sci.**, v.16, p.199-206, 1988.

JORDAN, E.R., SWANSON, L.V. Effect of crude protein on reproductive efficiency, serum total protein, and albumin in the high-producing dairy cow. **J. Dairy Sci.**, v.62, p.58, 1979.

JORDAN, E.R. et al. Relationship of dietary crude protein to composition on uterine secretions and blood in high-producing dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 66, p.1854, 1983.

KAIM, M.Y. et al. The effect of protein intake and lactation number on postpartum bodyweight loss and reproductive performance of dairy cows. **Anim. Prod.**, v.37, p.229, 1983.

LAJILI, H., HUMBLOT, P., THIBIER, M. Effect of PGF2 alpha treatment on conception rates of dairy cows treated with a GnRH agonist 12 to 14 days after artificial insemination. **Theriogenology**, v.3, p.335-47, 1991.

LAMMING, G.E., DARWASH, A.O., BACK, H.L. Corpus luteum function in dairy cows and embryo mortality. **J. Reprod. and Fertility**, v.37 p.245-52, 1989. (Suppl.)

MacMILLAN, K.L., THATCHER, W.W. Effect of GnRH analogue on ovarian follicular dynamics and corpus luteum lifespan in cattle. **J. Anim. Sci.**, v.66, p.432, 1988. (Suppl.1)

MacMILLAN, K.L., TAUFA, V.K., DAY, A.M. Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone (buserelin) in cattle. III. Pregnancy rates after a post-insemination injection during metaestrous or diestrous. **Anim. Reprod. Sci.**, v.11, p.1-10, 1986.

MALAYER, J.R. Effect of day of oestrus cycle, side of reproductive tract and heat shock on *in vitro* protein secretion by bovine endometrium. **J. Reprod. Fertility**, v.84, p.567-578, 1988.

MÂNCIO, A.B. **Plano nutricional, gonadotrofina coriônica humana (hCG) e amamentação na função reprodutiva e metabólica de fêmeas bovinas.** Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1994. 158p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1994.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. Effects of treatment with buserelin on plasma concentrations of oestradiol and progesterone and cycle length in the cow. **Br. Vet. J.**, v.151, p.427. 1995.

MIJTEN, P., KRUIF, A., DE KRUIF, A. Can the fertility of cows be improved by using gonadotropin releasing hormone? **Tijdschrift-voor-Diergeneeskunde**, v.118, n.8, p.257-263. 1993.

MONTY, D.E., RACOWSKY, C. In vitro evaluation of early embryo viability and development in summer heat-stressed, superovulated dairy cows. **Theriogenology**, v.28, n.4, p.451-465, 1987.

MORRIS, C.A., DAY, A.M., PETERSON, A.J. An experiment to measure the dose-response relationship of ovulation rate to FSH in cows selected with history of twinning. **New Zealand Vet. J.**, v.36, p.189-191, 1988.

NEIVA, R.S., COELHO, M.M., NETO, A.T. et al. Fatores que influenciaram a duração do período seco em um rebanho holandês no sul de Minas Gerais. **Ciênc. e Prát.**, v.17, n.2, p.182-88, 1993.

NIEMANN, H., SACHER, B., ELSAESSER, F. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of nonsurgical transfer frozen/thawed bovine embryos. **Theriogenology**, v.23, n.4, p.631-639, 1985.

PARK, C.S., RAFALOWSKI, W., MARKS, G.D. Effect of dietary fat supplement on lipid metabolism of Holstein heifers. **J. Dairy Sci.**, v.66, n.3, p.528-34, 1983.

PIRES, M.F.A., CAMPOS, A.T. Influência do estresse calórico no comportamento e desempenho animal. In: MINAS LEITE, 1, 1999, Juiz de Fora. Qualidade do leite e produtividade em rebanhos leiteiros. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999. 114p.

PIRES, M.F.A. **Comportamento, parâmetros fisiológicos e reprodutivos de fêmeas da raça holandesa confinadas em free-stall, durante o verão e o inverno.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 1997. 151p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.

PUTNEY, D.J. Heat stress-induced alterations in the synthesis and secretion of proteins and prostaglandins by cultured bovine conceptuses and uterine endometrium. **Biol. Reprod.**, v.39, p.717-728, 1988.

PUTNEY, D.J., MULLINS, S., THATCHER, W.W. et al. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. **Anim. Reprod. Sci.**, v.19, p.37-51, 1989.

RYAN, D.P. et al. Pregnancy rates in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid-cycle postinsemination. **Theriogenology**, v.36, n.3, 1991.

ROCHA, A., RANDEL, R.D., BROUSSARD, J.R. et al. High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.49, n.3, p.657-665, 1998.

ROMAN-PONCE, H., THATCHER, W.W., BUFFINGTON, D.E. Physiological and production responses of dairy cattle to shade structure environment. **J. Dairy Sci.**, v.60, p.424-35, 1977.

ROWLETT, R.S. et al. Activation and inhibition of bovine carbonic anhydrase III by dianions. **J. Biol. Chem.** p.266:933, 1991.

RUAS, J.R.M. **Eficiência reprodutiva e perfil metabólico de vaca zebu em relação a status reprodutivo, condição corporal, amamentação diferenciada e suplementação alimentar.** Viçosa, MG: - Universidade Federal de Viçosa, 1998. 105p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

SARATSIS, P. et al. Effect of buserelin on corpus luteum activity and the fertility of dairy cows. **Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v.49, n.1, p.34-38. 1998.

SATURNINO, H.M., DIAS, F.M.G.N. Condição corporal e eficiência reprodutiva em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., 1993, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993. v.2, p.153-167.

SAVION, N., LUI, G.M., LAHERTY, R. et al. Factors controlling proliferation and progesterone production by bovine granulosa cells in serum free medium. **Endocrinology**, v.109, p.409-20, 1981.

SAVION, N., LAHERTY, R., COHEN, D. et al. Role of lipoproteins and 3-hydroxy-3-metyl glutaryl coenzyme A reductase in progesterone production by cultured bovine granulosa cells. **Endocrinology**, v.11, p.13-22, 1982.

SCHMITT, E.J.P. et al. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. **J. Anim. Sci.**, v.74, n.8, p.1915-29. 1996.

SHELDON, I.M., DOBSON, H. Effects of gonadotropin releasing hormone administered 11days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. **Veterinary Record,** v.133, n.7, p.160-63. 1993.

SILVIA, W.J., TAYLOR, M.L. Relationship between uterine secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ induced by oxytocin and endogenous concentrations of estradiol and progesterone at three stages of the bovine estrous cycle. **J. Anim. Sci.**, v.67, p.2347-53. 1989.

SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna de grandes animais.** São Paulo: Manole, 1992. 1661p.

SPITZER, J.C. et al. Fertilization and blood levels of progesterone and LH in beef heifers on a restricted energy diet. **J. Anim. Sci.**, v.46, n.4, 1978.

SREENAN, J.M., DISKIN, M.G. Factors affecting pregnancy rates following embryo transfer in the cow. **Theriogenology**, v.27, p.99-113, 1987.

SAS INSTITUTE - Statistical Analysis System Institute. **SAS user's guide: statistics**. Version 6.12, Cary: 1996.

STEVENSON, J.S. et al. Post-insemination administration of receptal: folicular dynamics, duration of cycle, hormonal responses and pregnancy rates. **J. Dairy Sci.**, v.76, n.9, p.2536-47. 1993.

TALAVERA, F., PARK, C.S., WILLIAMS, G.L. Relationships among dietary lipid intake, serum cholesterol and ovarian function in Holstein heifers. **J. Anim. Sci.**, v.60, n.4, p.1045-51, 1985.

TWAGIRAMUNGU, H. et al. Buserelin alters the development of the corpora lutea in cyclic and early postpartum cows. **J. Anim. Sci.**, v.73, p.805-11, 1995.

VACA, L.A., GALINA, C., FERNÁNDEZ-BACA, S. et al. Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrous cycle in zebu cows. **Theriogenology**, v.20, n.1, p.67-76, 1983.

VAMERZANI, A.A., DUBEY, B.M., ARNEJA, D.V. Studies on pregnancy rate in different milk yield groups and efficacy of GnRH in cross bred cows. **Intern. J. Anim. Sci.**, v.11, n.2, p.353-55, 1996.

VELDHUIS, J.D.E., NESTLER, J.E., STRAUSS, J.F. et al. Insulin regulates low density lipoprotein metabolism by swine granulosa cells. **Endocrinology**, v.118, n.2, p.242-248, 1986.

WEST, J.W. Managing and feeding lactating dairy cows in hot weather. http://www.ces.uga.edy/pubcd/b956-w.html (capturado em 23 de janeiro de 2001).

WILLIAMS, G.L. Influence of dietary fat intake and metabolism on follicular growth in cattle. **Reprod. Dom. Anim.**, v.31, p.539-42, 1996.

WILTBANK, M.C., SHIAO, T.F., BERGFELT, D.R. et al. Prostaglandin F-2α receptors in the early bovine corpus luteum. **Biol. Reprod.**, v.52, p.74-78, 1995.

APÊNDICE

Apêndice

Tabela 1 - Estimativas dos coeficientes de regressão em novilhas para os níveis de taxa de gestação

Efeito	Graus de liberdade	Estimativa	Erro-padrão	Chi-quadrado	Prob
Intercepto	1	-56,191	30,712	3,347	0,07 ns
Tratamento	1	0,9757	0,652	2,241	0,13 ns
Escore de condição corporal	1	11,183	6,766	2,732	0,10 ns
Grau de sangue	1	2,098	1,097	3,656	0,05 *

* = efeito significativo (P<0,05).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).

Tabela 2 - Estimativas dos coeficientes de regressão nas Vacas para os níveis de taxa de gestação

Efeito	Graus de liberdade	Estimativa	Erro-padrão	Chi-quadrado	Prob
Intercepto	1	-0,2271	6,0692	0,0014	0,97 ns
Tratamento	1	-0,0300	0,2533	0,0141	0,90 ns
Dias pós-parto	1	-0,0025	0,0027	0,8510	0,35 ns
Número de parto	1	-0,0898	0,2191	0,1682	0,68 ns
Escore de condição corporal	1	-0,19870	1,4947	0,0177	0,89 ns
Grau de sangue	1	0,4827	0,2532	3,6355	0,05 *

* = efeito significativo (P<0,05).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).

Tabela 3 - Resultados da análise de variância do colesterol total circulante para novilhas e vacas

	Novilhas		Vacas	
Fontes de Variação	GL	QM Prob>F	GL	QM Prob>F
Tratamento	3	831,8 **	3	31733,3 **
Dia após IA	9	103,9 ns	9	1734,2 ns
Erro	162		414	
CV		24,5%		34,1%
R^2		5%		6%

** = efeito significativo (P<0,01).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).

Tabela 4 - Resultados da análise de variância da progesterona para novilhas e vacas

	Novilhas		Vacas	
Fontes de variação	GL	QM Prob>F	GL	QM Prob>F
Tratamento	3	27,1 **	3	3,2 **
Dia após IA	9	47,1 **	9	7,5 **
Tratamento* Dia após IA	27	5,6	--	--
Erro	135		414	
CV		36,9%		55,5%
R^2		69%		32%

** = efeito significativo (P<0,01).

Tabela 5 **-** Resultados da análise de variância da uréia para novilhas e vacas

	Novilhas		**Vacas**	
Fontes de variação	GL	QM Prob>F	GL	QM Prob>F
Tratamento	3	182,8 **	3	586,1 **
Dia após IA	9	32,7 ns	9	231,2 **
Erro	162		414	
CV		38,3%		24,3%
R^2		11%		11%

** = efeito significativo (P<0,01).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).

Tabela 6 - Análise de variância do escore corporal em novilhas e vacas

	Novilhas		**Vacas**	
Fontes de variação	GL	QM Prob>F	GL	QM Prob>F
Tratamento	3	0,01 ns	3	0,02 ns
Grau de sangue	2	0,04 ns	3	0,16 ns
Número de parto	-	----	6	0,04 ns
Erro	14	0,014	49	0,046
CV		3,1%		5,8%
R^2		35%		28%

* = efeito significativo (P<0,05).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).

Tabela 7 - Análise de variância de dias pós-parto de vacas de diferentes grau de sangue

		Vacas
Frontes de variação	GL	QM Prob>F
Tratamento	3	3368,4 ns
Número de parto	6	46964,0 **
Escore de condição corporal da vaca	11	10299,3 ns
Grau de sangue	3	24393,9 **
Erro	38	8386,9
CV		49%
R^2		62%

** = efeito significativo (P<0,05).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).

Tabela 8 - Análise de variância do Índice THI, temperatura mínima e temperatura máxima

Fontes de variação	**GL**	**QM Prob>F**	**GL**	**QM Prob>F**	**GL**	**QM Prob>F**
		THI		**T Mín**		**T Máx**
Período	1	1,55 ns	1	60,33 **	1	48,5 *
Hora	11	60,46 **	3	29,81 **	3	4,13 ns
Erro	23		74	74	74	74
CV		2,1%		12%		12%
R^2		97%		22%		7%

* = efeito significativo (P<0,01).
ns = efeito não-significativo (P>0,05).